

## **Effect of *Origanum vulgare* on Histological Damage, Oxidative Stress and Sperm Parameters Following Induction of Ischemia/Reperfusion in Adult Rat Testis**

**Sajjad Abbasi<sup>1</sup>, Sohrab Azin<sup>2</sup>, Masoumeh Fani<sup>3</sup>, Malihe Soltani<sup>4</sup>, Seyed-Hosein Abtahi-Eivary<sup>5</sup>, Maryam Moghimian<sup>6</sup>**

1.Medical student, Student Research Committee, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.  
ORCID ID: 0000-0001-9023-3294.

2.Medical student, Student Research Committee, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.  
ORCID ID: 0000-0001-7573-076X.

3.Instructor, Department of anatomy, School of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3085-8983.

4.Instructor, Department of anatomy, School of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran. ORCID ID: 0000-0002-3107-8834.

5.Associate Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran. ORCID ID: 0000-0001-5807-8933.

6.Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran. (Corresponding author), Tel: 051-57223028, Email: moghimian.m@gmu.ac.ir, ORCID ID: 0000-0001-9181-3477.

### **ABSTRACT**

**Background and Aim:** The aim of this study was to investigate the effect of *Origanum vulgare* administration on testicular injury induced by torsion/detorsion .

**Materials and Methods:** In this experimental study, 64 adult rats were divided into 8 equal groups, as following:1-Sham: the abdominal cavity was opened and then closed. 2.Torsion/detorsion: the rats underwent spermatic cord twisting for 4 hours and then untwisting (30 minutes before untwisting normal saline was injected). 3.Torsion/detorsion+ *Origanum vulgare*: Similar to group 2, the only difference was injections of *Origanum vulgare* with different doses (400 mg/kg, 250, 100) which were given to 3 separate groups. 4. *Origanum vulgare* recipient: without any surgery, injections of *Origanum vulgare* were given to 3 separate groups with different doses (400 mg/kg, 250, 100). Twenty-four hours after surgery, blood samples were taken to measure oxidative stress factors. Testicular tissue was removed for assessment of histological changes, and the epididymis tissue was used to measure sperm parameters. Data were analyzed by SPSS software.

**Results:** We found significant decreases in Johnson's score, epithelium height, and seminiferous tubule diameter (data obtained from histological examination), number and morphology of sperm parameters and oxidative stress factors (Malondialdehyde, Superoxide dismutase, Glutathione Peroxidase and, Catalase) in the torsion/detorsion group compared to those in the sham group ( $P=0.0001$ ), while they improved in the torsion/detorsion groups receiving *Origanum vulgare* group compared to those in the torsion/detorsion group, but in most cases, the results were not significant.

**Conclusion:** It seems that *Origanum vulgare* can partially reduce the damage caused by testicular torsion/detorsion.

**Keywords:** Torsion/Detorsion, Testis, Spermatozoa, Oxidative Stress, *Origanum*.

**Received:** July 3, 2021

**Accepted:** June 13, 2021

**How to cite the article:** Sajjad Abbasi, Sohrab Azin, Masoumeh Fani, Malihe Soltani, Seyed-Hosein Abtahi-Eivary, Maryam Moghimian. Effect of *Origanum vulgare* on Histological Damage, Oxidative Stress and Sperm Parameters Following Induction of Ischemia/Reperfusion in Adult Rat Testis . SJKU 2022;27(2):1-14.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

## تأثیر مرزنگوش بر آسیب بافتی، استرس اکسیداتیو و پارامترهای اسپرم متعاقب القا ایسکمی/ریپ فیوژن در بیضه موش صحرایی بالغ

سجاد عباسی<sup>۱</sup>، سهراب آذین<sup>۲</sup>، معصومه فانی<sup>۳</sup>، ملیحه سلطانی<sup>۳</sup>، سید حسین ابطحی ایوری<sup>۴</sup>، مریم مقیمیان<sup>۵</sup>

۱.دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران. کد ارجید: ۰۰۰۰۰۰۰۱-۹۰۲۳-۳۲۹۴

۲.دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران. کد ارجید: ۰۰۰۰۰۰۰۱-۷۵۷۳-۰۷۶۸

۳.مری، گروه علوم تشريح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران. کد ارجید: ۰۰۰۰۰۰۳-۳۰۸۵-۸۹۸۳

۴.مری، گروه علوم تشريح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران. کد ارجید: ۰۰۰۰۰۰۰۲-۳۱۰۷-۸۸۳۴

۵.دانشیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران. کد ارجید: ۰۰۰۰۰۰۰۱-۵۸۰۷-۸۹۳۳

۶.دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران. (مؤلف مسئول)، تلفن: ۰۵۱-۵۷۲۲۳۰۲۸، پست الکترونیک: moghimian.m@gmail.com، کد ارجید: ۰۰۰۰۰۰۰۱-۹۱۸۱-۳۴۷۷

### چکیده

**زمینه و هدف:** هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تجویز مرزنگوش بر آسیب بیضه ناشی از تورشن/دتورشن است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ۶۴ موش صحرایی بالغ به ۸ گروه مساوی تقسیم شدند. ۱. شم: حفره شکم باز و سپس بسته شد. ۲. تورشن/دتورشن: پیچش طناب اسپرماتیک به مدت ۴ ساعت و پس از آن باز کردن پیچش، ۳۰ دقیقه قبل از باز کردن پیچش، تزریق نرمال سالین انجم شد. ۳. تورشن/دتورشن + مرزنگوش: مشابه گروه ۲ با این تفاوت که در ۳ گروه مجزا مرزنگوش با دوزهای متفاوت (۱۰۰ mg/kg، ۴۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰) تزریق شد. ۴. دریافت کننده مرزنگوش: بدون هیچ گونه عمل جراحی در ۳ گروه مجزا تزریق مرزنگوش با دوزهای متفاوت (۱۰۰ mg/kg، ۴۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰) انجام شد. ۲۴ ساعت پس از جراحی، جهت بررسی فاکتورهای استرس اکسیداتیو خون گیری انجام شد، همچنین بافت بیضه جهت بررسی تغییرات بافت‌شناسی و نیز اپیدیدم برای بررسی پارامترهای اسپرم برداشته شد. داده‌ها توسط نرم افزار spss مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** داده‌های حاصل از بررسی بافت‌شناسی (نمره جانسون، ارتفاع اپیتلیوم و قطر لولهای منی ساز)، آنالیز اسپرم (تعداد و مورفو‌لولوژی) و فاکتورهای استرس اکسیداتیو (مالون دی آلدھید، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاکتون پراکسیداز و کاتالاز) در گروه تورشن/دتورشن نسبت به گروه شم به طور معنی‌داری کاهش داشت ( $P=0.0001$ ) در حالی که در گروه‌های تورشن/دتورشن دریافت کننده مرزنگوش نسبت به گروه تورشن/دتورشن این موارد بهبود یافته بود؛ ولی در بیشتر موارد نتایج معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد مرزنگوش تا حدودی می‌تواند آسیب‌های ناشی از تورشن/دتورشن بیضه را کاهش دهد.

**کلمات کلیدی:** تورشن/دتورشن، بیضه، اسپرم، استرس اکسیداتیو، مرزنگوش

وصول مقاله: ۱۴۰۰/۳/۲۳؛ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۱؛ نهایی: ۱۴۰۰/۴/۱۲؛ اصلاحیه: ۱۴۰۰/۲/۲۱

**مقدمه**

امروزه تلاش‌های بسیاری جهت شناسایی ترکیباتی که قادر به کاهش عوارض ناشی از تورشن/دتورشن بافت بیضه باشند به عنوان یک روش درمانی در حال انجام است. در چند سال گذشته، توجه زیادی به استفاده از ترکیبات مشتق از گیاهان دارویی به عنوان آنتیاکسیدان طبیعی معطوف شده است(۱۲).

گیاه مرزنجوش با نام علمی (Origanum vulgare, OV)، در ایران با نام‌های پونه کوهی و آویشن کوهی شناخته می‌شود(۱۳، ۱۴)، مطالعات قبلی اثرات ضد التهابی و آنتیاکسیدانی فلاونوئیدهای موجود در مرزنجوش را نشان داده‌اند(۱۵، ۱۶). گیاه مرزنجوش سرشار از آنتیاکسیدان‌های فنولی است که با افزایش قدرت آنتیاکسیدانی، رادیکال‌های آزاد حاوی اکسیژن را به دام می‌اندازد. مطالعات پیشین نشان داده است که فلاونوئیدهای موجود در مرزنجوش با کاهش ROS موجب بهبود روند التهابی شده و دارای نقش حفاظتی نیز است(۱۷، ۱۸). علاوه بر این مرزنجوش دارای اثرات ضد سلطانی، ضد التهابی، آرامبخش، ضد عفونی کننده و التیام دهنده زخم‌ها است(۱۳، ۱۴). همچنین در درمان بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های تنفسی، هیپوگلیسمی و لوسیمی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱۹).

با توجه به اینکه آنتیاکسیدان‌ها مانع از تشکیل رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لپیدها می‌شوند(۲۰) و از آنجا که اثرات آنتیاکسیدانتیو عصاره گیاه مرزنجوش به اثبات رسیده است(۱۷، ۱۸). هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات احتمالی عصاره گیاه مرزنجوش بر آسیب‌های بافتی، استرس اکسیدانتیو و پارامترهای اسپرم ناشی از تورشن/دتورشن در بیضه موش صحرایی بالغ است.

**مواد و روش‌ها**

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی گناباد تکثیر و

تورشن بیضه (Testicular Torsion, TD) یا چرخش طناب اسپرماتیک یکی از اورژانس‌های جراحی محسوب می‌شود(۱)، که می‌تواند در تمام رده‌های سنی اتفاق افتد؛ ولی شیوع آن در سنین ۱۲ تا ۱۸ سال است و تخمین زده می‌شود که ۱ نفر از هر ۴۰۰۰ مرد زیر ۲۵ سال به این عارضه مبتلا می‌شوند(۲). پیچش بیضه حول محور طناب اسپرماتیک موجب اختلال در خونرسانی بافت بیضه شده و به دنبال آن هیپوکسی و ایسکمی رخ خواهد داد(۳). همچنین شدت ایسکمی به میزان چرخش و مدت زمان آن بستگی دارد(۴). در حال حاضر جراحی و انجام عمل دتورشن، تنها راه درمان این عارضه است و اگر جراحی در کمتر از ۶ ساعت انجام شود احتمال نجات بافت ۹۰٪ خواهد بود و هر چه عمل دیرتر صورت گیرد، احتمال حفظ بافت نیز کاهش خواهد یافت به طوری که این مقدار بعد از ۱۲ ساعت به ۵۰٪ و بعد از ۲۴ ساعت به کمتر از ۱۰٪ می‌رسد(۵).

مهم‌ترین پاتوفیزیولوژی در تورشن/دتورشن (ایسکمی/ریپرفوژن) بیضه تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species, ROS) است(۶). ایسکمی/ریپرفوژن (ischemia/reperfusion, I/R) همان قطع جریان خون و سپس برقراری مجدد آن است، که در نتیجه افزایش ناگهانی جریان خون به بافت، موجب تولید بیش از حد ROS شده و در نتیجه پراکسیداسیون لپیدهای غشای سلول، دناتوره شدن پروتئین‌ها، اختلال در عملکرد سلول، آسیب به DNA و در نهایت موجب مرگ سلول خواهد شود(۷، ۸). همچنین تحقیقات اخیر نشان داده است I/R از طریق آسیب به سد خونی-بیضه‌ای و پاسخ‌های ایمونولوژیک و واکنش‌های آماسی روند بلوغ سلول‌های زایا در بافت بیضه مقابل را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد(۹، ۱۰). بر همین اساس در صورت عدم تشخیص به موقع و روش درمانی مناسب اختلال در باروری یکی از مهم‌ترین پیامد این نوع آسیب خواهد بود(۱۱).

برای انجام جراحی، موش‌ها با استفاده از تزریق داخل صفائی کتامین (شرکت آلفاسان هلند) ( $40\text{ mg/kg}$ ) و زایلازین (شرکت آلفاسان هلند) ( $5\text{ mg/kg}$ ) تحت بیهوشی قرار گرفتند و سپس برای ایجاد تورشن، بیضه سمت چپ را از طریق ایجاد برش در اسکروتوم خارج کرده و پس از آن چرخش طناب اسپرماتیک به میزان  $720$  درجه در خلاف جهت عقربه‌های ساعت انجام شد. سپس بیضه با دقت به کیسه بیضه باز گردانده شده و بهمنظر جلوگیری از باز شدن طناب اسپرماتیک با سه بخیه منفرد (با  $0/6$ ) بیضه در موقعیت‌های قطب تحتانی و دو قطب لترال به عضله دارتوس ثابت شد( $21$ ). پس از گذشت  $4$  ساعت مجدداً پس از بیهوشی، اسکروتوم باز و جهت برقراری جریان خون پیچش ایجاد شده، باز گشت. رنگ بیضه قبل از عمل تورشن، روشن بود در حالی که پس از پیچش تغییر رنگ به صورت ارغوانی تیره مشاهده شد.  $24$  ساعت پس از جراحی، حیوانات مجدداً با استفاده از کتامین/زایلازین بی‌هوش گشتند و جهت بررسی فاکتورهای استرس اکسیداتیو خون‌گیری انجام شد، همچنین بافت بیضه جهت بررسی تغییرات بافت‌شناسی و نیز اپیدیدم برای بررسی پارامترهای اسپرم برداشته شد.

#### بررسی بافت‌شناسی:

ابتدا نمونه‌ها در فرمالین  $10\%$  به مدت یک هفته فیکس و پس از آن مراحل آماده‌سازی شامل آبگیری که توسط درجات صعودی الكل انجام شد و شفاف‌سازی با استفاده از زایلن صورت گرفت و در نهایت با کمک پارافین قالب‌گیری انجام شد. از بلوک‌های پارافینی توسط میکروتوم برش‌هایی به ضخامت  $5\text{ }\mu\text{m}$  تهیه شد و سپس با روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی انجام گرفت( $21$ ). برای اندازه‌گیری ارتفاع اپیتیلیوم زایا و قطر لوله‌های منی ساز از عدسی چشمی میکروسکوپی مدرج که ابتدا کالیبره شده بود، استفاده گردید. همچنین جهت بررسی رده سلول‌های اسپرماتوژنیک در لوله‌های منی ساز، از روش نمره دهی جانسون استفاده شد. در این سیستم از

نگهداری شدند. رت‌ها آزادانه به آب و غذا کافی دسترسی داشتند و در دمای  $21-23$  درجه سانتی‌گراد و دوره روشانی  $-$  تاریکی  $12$  ساعته، در قفس‌های مخصوص به صورت گروه‌های چهارتایی نگهداری می‌شدند. این طرح با کسب مجوز از کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گناباد (IR.GMU.REC.1396.2) انجام شد. حیوانات به طور تصادفی به  $8$  گروه ( $n=8$ ) به صورت زیر تقسیم شدند:

- ۱. شم (Sham):** در این گروه فقط حفره شکم باز و سپس بسته شد.

**۲. تورشن / دتورشن (TD):** پیچش طناب اسپرماتیک به مدت  $4$  ساعت و پس از آن باز کردن پیچش،  $30$  دقیقه قبل از باز کردن پیچش تزریق نرمال سالین انجام شد.

**۳. تورشن / دتورشن + مرزنجوش (TD+OV):** مشابه گروه  $2$  با این تفاوت که به جای نرمال سالین، در  $3$  گروه مجزا تزریق مرزنجوش با دوزهای متفاوت ( $250$ ،  $400\text{ mg/kg}$ ) انجام شد.

**۴. گروه‌های دریافت کننده مرزنجوش (OV):** بدون هیچ گونه عمل جراحی در  $3$  گروه مجزا تزریق مرزنجوش با دوزهای متفاوت ( $100$ ،  $250$ ،  $400\text{ mg/kg}$ ) انجام شد.

#### عصاره‌گیری:

گیاه مرزنجوش از عطاری‌های شهر گناباد خردباری شد و سپس توسط مرکز رشد فناوری گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی گناباد از نظر تاکسونومیکی تأیید گردید. پس از تهیه پودر،  $100$  گرم از پودر با الكل  $70\%$  داخل ارلن مخلوط شد، به طوری که حلال  $2$  سانتی‌متر بالاتر از پودر قرار گرفت. درب ارلن با ورق آلومینیومی پوشانده و به مدت  $24$  ساعت نگهداری شد. پس از آن مخلوط در دستگاه روتاری با دمای  $50$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا حلal جدا شود. پس از تغییط، عصاره در آون با دمای  $50$  درجه قرار گرفت تا پودر عصاره به دست آید( $13$ ).

#### روش جراحی:

محلول ۱٪ مولار بافر فسفات با pH ۷ و ۰.۱ میلی لیتر از همولیزات، ۰.۱ میلی لیتر از گلوتاتیون ردوکتاز و ۰.۱ میلی لیتر از گلوتاتیون احیا شده با غلظت ۱۰ میلی مول به همولیزات اضافه شد. این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد و سپس ۰.۱ میلی لیتر از نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH) ۰.۱۵ میلی مول اضافه و اکسیداسیون NADPH در مدت ۳ دقیقه کنترل شد. واکنش با افزودن ۱.۵ میلی مول آب اکسیژنه به حجم ۰.۱ میلی لیتر شروع و کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر برای مدت ۵ دقیقه با دستگاه اسپکتروفوتومتر کنترل شد (۲۵).

اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase, SOD) میزان M<sub>0.067</sub> بافر سدیم فسفات با pH ۷/۸ M ۱/۵ نیتروبلو ترازو لیوم، M<sub>0.12</sub> ریبوفلاوین، M<sub>0.1</sub> اتین دی امین ترا استیک اسید و M<sub>0.3</sub> سدیم سیانید با هم مخلوط و سپس به مدت ۱۲ دقیقه زیر نور لام فلورستن ۸ وات قرار داده شد. جذب نوری کنترل شد و میزان جذب در نمونه ها در فاصله زمانی صفر و ۵ دقیقه قرائت و محاسبه شد. درصد مهار محاسبه و با استفاده از رقت های مختلف آنزیم منحنی استاندارد رسم گردید (۲۵).

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: از طریق تعیین میزان تخریب H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در طول موج ۲۴۰ نانومتر به روش اسپکتروفوتومتری در مقابل بلانک آب سنجیده شد. در این روش از آب اکسیژنه ۳۰ mm در بافر فسفات M با pH ۷ استفاده شد و فعالیت کاتالاز با کمک ضرب خاموشی M<sup>-</sup> ۱ cm<sup>-۱</sup> برای H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> محاسبه شد (۲۵).

آنالیز آماری:

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۲۲ انجام شد. پس از بررسی توزیع نرمال داده ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov، در صورت نرمال بودن داده ها، آزمون One way ANOVA و به دنبال آن تست تکمیلی Tukey انجام گرفت و در صورتی که توزیع

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرددستان / دوره بیست و هفت / فرداد و تیر ۱۴۰۱

نمره ۱ ( فقط دارای سلول های سرتولی ) تا نمره ۱۰ ( نرمال ) استفاده می شود و به طور کلی نمره ۳-۱ اسپرما توژنر ضعیف، ۷-۴ متوسط و ۸ تا ۱۰ دارای اسپرما توژنر خوب است ( ۲۲ ). از هر نمونه بیضه به طور تصادفی ۲۰ لوله انتخاب و مورد مطالعه قرار گرفت.

بررسی تعداد و مورفولوژی اسپرم:

پس از خارج کردن اپیدیدیم چپ از بدن حیوان، داخل ۱ میلی لیتر نرمال سالین قرار گرفت. سپس با استفاده از قیچی قطعه، قطعه و با پنس کمی فشرده شد. بعد از آن با افزودن ۵ میلی لیتر نرمال سالین رقیق گردید و به مدت ۱۰ دقیقه داخل انکوباتور CO<sub>2</sub> با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. مخلوط توسط هم زدن کاملاً همگن گردید و قطره ای از آن توسط سمپلر روی لام شتابار قرار گرفت. با کمک میکروسکوپ نوری عدسی شی X<sub>۴۰</sub> تعداد اسپرم ها شمارش گردید. بعلاوه جهت بررسی مورفولوژی اسپرم، از این محلول اسپیر نیز تهیه و رنگ آمیزی پاپانیکلا انجام گرفت ( ۲۳ ). در هر لام اسپرم ها از نظر مورفولوژی بررسی و اسپرم های غیر نرمال ( اسپرم های بدون دم، دارای پیچش دم، گردن خم و ..... ) با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی و شمارش شدند.

اندازه گیری پارامتر های بیوشیمیایی:

سنجدش میزان مالون دی آلدھید ( Malondialdehyde, MDA ): ۱/۵ میلی لیتر اسیدفسفوریک ۱ درصد، ۵ میلی لیتر تیوباریتوريک اسید ۶،۰ درصد و ۲۵۰ میکرو لیتر از همولیزات را با هم مخلوط کرده و سپس در بن ماری به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد. پس از سرد شدن ۴ میلی لیتر - n بوتانول اضافه و همزده شد و با دور g ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه ساتریفیوژ شد و پس از آن محلول رویی جدا و مورد استفاده قرار گرفت. جذب نوری محلول در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید ( ۲۴ ).

اندازه گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione Peroxidase, GPx) ۰.۵ میلی لیتر از

معنی داری را نشان داد ( $P=0.0001$ ,  $P<0.05$ ), در حالی که بین گروه های OV نسبت به گروه Sham تفاوت معنی داری دیده نشد و نیز در گروه های TD+OV نسبت به گروه TD این مقدار افزایش داشت که از این میان فقط در گروه دریافت کننده مرزنجوش با دوز  $400 \text{ mg/kg}$  این افزایش معنی داری بود ( $P<0.01$ ). نتایج حاصل از ارتفاع اپیتلیوم (the height epithelium, HE) کاهش معنی داری را در گروه های TD+OV 250 و TD+OV 100، TD نسبت به گروه Sham نشان داد ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.0001$ ), همین طور در گروه های OV نسبت به گروه Sham اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P=0.44$ ), در مقایسه بین گروه های TD+OV نیز نسبت به گروه TD میزان ارتفاع اپیتلیوم افزایش داشت؛ ولی این افزایش معنی دار نبود ( $P=0.31$ ,  $P=0.03$ ) (جدول ۱، شکل ۱).

داده ها نرمال نبود از آزمون nonparametric Kruskal-Wallis استفاده شد. نتایج به صورت Mean $\pm$ SEM میان شده است و  $P<0.05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

## یافته ها

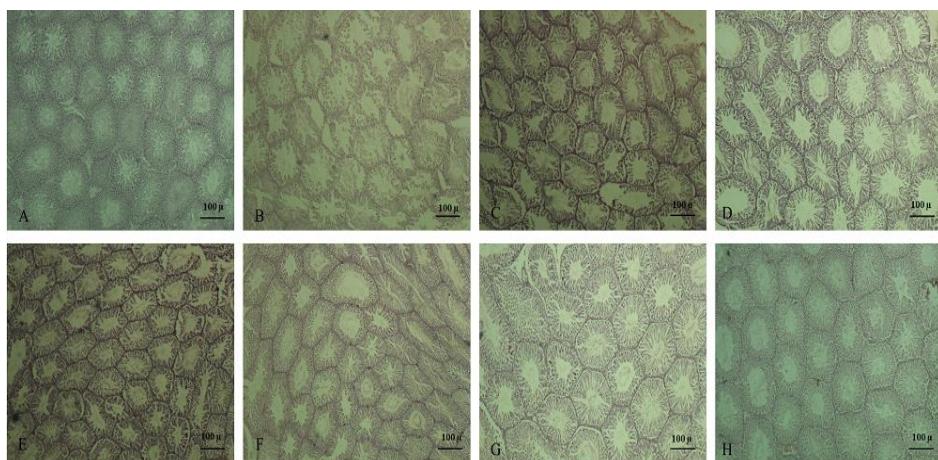
ارزیابی بافت شناسی:

نتایج حاصل از نمره جانسون (Johnson's Score) در گروه TD، تمام گروه های TD+OV و گروه دریافت کننده مرزنجوش با دوز  $400 \text{ mg/kg}$  (OV100) به طور قابل توجهی نسبت به گروه Sham کمتر بود ( $P=0.0001$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ) و در گروه های TD+OV نسبت به گروه TD افزایش معنی داری در نمره جانسون مشاهده شد ( $P=0.0001$ ,  $P=0.0001$ ). همچنین نتایج حاصل از مقایسه قطر لوله های منی ساز (seminiferous tubule diameter, STD) در گروه های TD و TD+OV 100 نسبت به گروه Sham کاهش

جدول ۱: مقایسه میانگین نمره جانسون، قطر لوله های منی ساز و ارتفاع اپیتلیوم بین گروه های مختلف.

گروه	نمره جانسون	قطر لوله های منی ساز	ارتفاع اپیتلیوم
sham	۹/۲ $\pm$ ۰/۲۰	۱۵۸/۴۱ $\pm$ ۰/۳۰	۳۴/۵۹ $\pm$ ۰/۲۱
TD	۲/۴۰ $\pm$ ۰/۲۴***	۷۰/۸۵ $\pm$ ۰/۲۹***	۲۰/۰۴ $\pm$ ۰/۲۹***
TD+OV100	۳/۶۰ $\pm$ ۰/۲۴***, ##	۱۱۵/۵۲ $\pm$ ۱۵/۹۷*	۲۵/۰۲ $\pm$ ۰/۶۳**
TD+OV250	۵/۴۰ $\pm$ ۰/۲۴***, ###۱۸	۱۳۰/۸۹ $\pm$ ۳/۹۵	۲۹/۰۹ $\pm$ ۰/۸۷*
TD+OV400	۵/۶۰ $\pm$ ۰/۲۴***, ###	۱۳۷/۹۰ $\pm$ ۳/۳۵##	۳۰/۰۵۴ $\pm$ ۱/۲۰
OV100	۷/۶۰ $\pm$ ۰/۱۳*	۱۳۹/۹۴ $\pm$ ۴/۲۸	۳۱/۲۵ $\pm$ ۰/۵۳
OV250	۸/۶۰ $\pm$ ۰/۱۰	۱۴۰/۷۹ $\pm$ ۲/۳۰	۳۲/۹۳ $\pm$ ۰/۴۶
OV400	۸/۷۰ $\pm$ ۰/۱۰	۱۵۰/۶۹ $\pm$ ۲/۷۴	۳۳/۰۲ $\pm$ ۰/۵۴

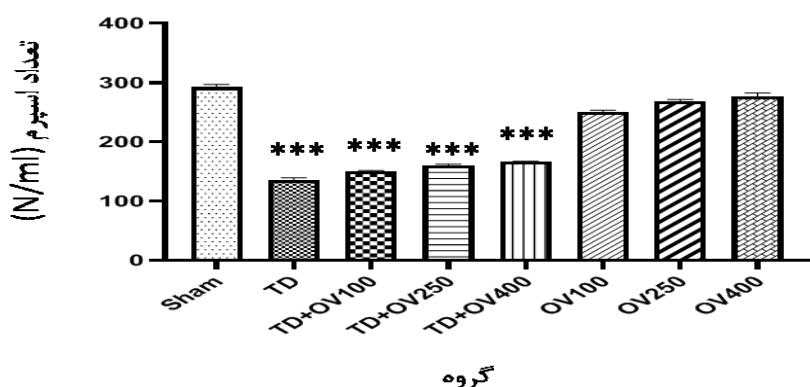
Sham: گروه کنترل، TD: پیچش طناب اسپرماتیک، TD+OV: پیچش طناب اسپرماتیک و دریافت مرزنجوش با دوز های  $400 \text{ mg/kg}$  و  $250 \text{ mg/kg}$  و  $100 \text{ mg/kg}$ . فقط دریافت مرزنجوش با دوز های  $100$ ,  $250$  و  $400 \text{ mg/kg}$  در هر گروه مقادیر میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل سنجش تعداد ۸ نمونه محاسبه شده است. مقدار  $P$  کمتر از  $0.05$  به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. \* نشان دهنده مقایسه با گروه Sham و # نشان دهنده مقایسه با گروه TD است ( $P<0.0001$ ,  $#P<0.01$ ,  $*P<0.05$ ,  $##P=$ ).



شکل ۱: مقطع بافت شناسی بیضه با رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین در گروههای مختلف. A: Sham (گروه کنترل)، B: TD (پیچش طناب اسپرماتیک)، C: TD+OV (پیچش طناب اسپرماتیک و دریافت مرزنجوش با دوزهای ۴۰۰ و ۲۵۰ mg/kg (فقط دریافت مرزنجوش با دوزهای ۴۰۰ و ۲۵۰ mg/kg ( فقط دریافت مرزنجوش با دوزهای ۱۰۰ mg/kg)).

نسبت به گروه Sham (OV) اختلاف معنی‌داری دیده نشد ( $P=0.6$ ,  $P=1$ ) و در گروههای TD+OV نیز نسبت به گروه TD تعداد اسپرم‌ها افزایش یافته بود؛ ولی این افزایش معنی‌دار نبود ( $P=0.3$ ,  $P=1$ ) (نمودار ۱).

تعداد اسperm: نتایج حاصل از شمارش اسperm نشان داد که تعداد اسperm در گروههای TD و تمام گروههای TD+OV نسبت به گروه Sham به طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $P=0.001$ )، در گروههای دریافت‌کننده مرزنجوش



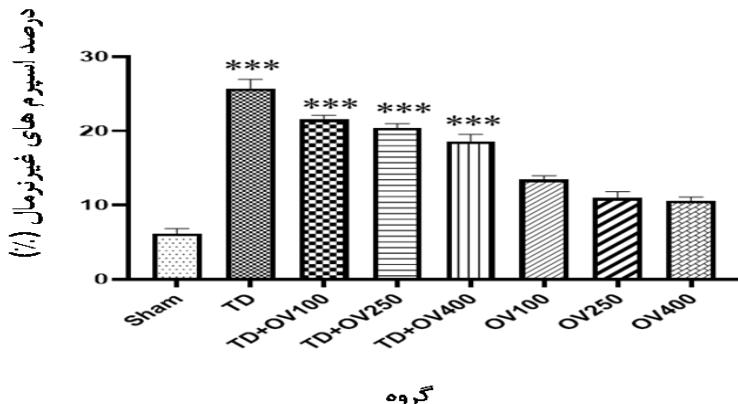
نمودار ۱: مقایسه میانگین تعداد اسperm‌ها در بین گروههای مختلف. Sham: گروه کنترل، TD: پیچش طناب اسپرماتیک و دریافت مرزنجوش با دوزهای (۴۰۰ و ۲۵۰ mg/kg (۱۰۰ mg/kg (فقط دریافت مرزنجوش با دوزهای ۴۰۰ و ۲۵۰ mg/kg (۱۰۰ mg/kg ( گروه مقادیر میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل سنجش تعداد ۸ نمونه محاسبه شده است. مقدار  $P$  کمتر از ۰.۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است. نشان‌دهنده مقایسه با گروه Sham است ( $P=0.001$ ).

معنی‌داری داشت ( $P=0.001$ ), در گروههای دریافت‌کننده مرزنجوش (OV) نسبت به گروه Sham اختلاف معنی‌داری دیده نشد ( $P=0.5$ ,  $P=1$ ) و همچنین

مورفوولوژی اسperm: نتایج حاصل از بررسی مورفوولوژی اسperm نشان داد که درصد اسperm‌های غیرطبیعی در گروه TD و تمام گروههای TD+OV نسبت به گروه Sham افزایش

معنی دار نبود ( $P=0.4$ ) (نمودار ۲).

در گروه‌های TD+OV نیز نسبت به گروه TD درصد اسپرم‌های غیرطبیعی کاهش یافته بود؛ ولی این کاهش

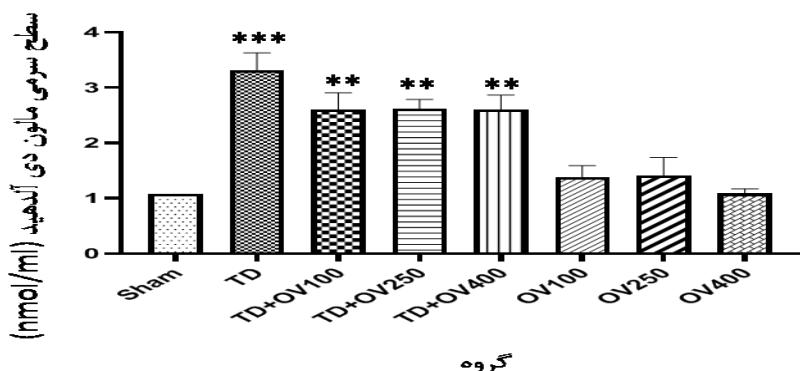


نمودار ۲: مقایسه درصد اسپرم‌های غیرطبیعی بین گروه‌های مختلف. Sham: گروه کنترل، TD: پیچش طناب اسپرماتیک و دریافت مرزنجوش با دوزهای (۱۰۰، ۲۵۰، ۴۰۰ mg/kg) فقط دریافت مرزنجوش با دوزهای (۱۰۰، ۲۵۰، ۴۰۰ mg/kg). در هر گروه مقدار میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل سنجش تعداد ۸ نمونه محاسبه شده است. مقدار  $P$  کمتر از ۰.۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. \* نشان‌دهنده مقایسه با گروه Sham است ( $P=0.0001$ ). \*\*\* $P<0.0001$ .

Sham تفاوت معنی داری دیده نشد ( $P=1$ ). مرزنجوش تا حدودی توانسته میزان MDA را در گروه‌های تورشن/دتورشن (TD+OV) کاهش دهد؛ ولی این کاهش نسبت به گروه TD معنی دار نبود ( $P=1$ ) (نمودار ۳).

نتایج پارامترهای بیوشیمیایی:

غلظت MDA: سطح سرمی MDA در گروه TD و تمام گروه‌های TD+OV نسبت به گروه Sham به طور معنی داری افزایش داشت ( $P<0.01$ ,  $P=0.0001$ ) و در گروه‌های دریافت‌کننده مرزنجوش (OV) نسبت به گروه



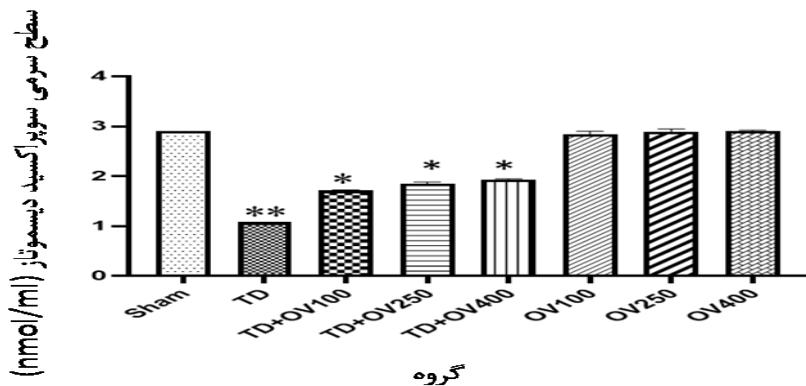
نمودار ۳: مقایسه میانگین غلظت مالون دی‌آلدهید در بین گروه‌های مختلف. Sham: گروه کنترل، TD: پیچش طناب اسپرماتیک و دریافت مرزنجوش با دوزهای (۱۰۰، ۲۵۰، ۴۰۰ mg/kg) فقط دریافت مرزنجوش با دوزهای (۱۰۰، ۲۵۰، ۴۰۰ mg/kg). در هر گروه مقدار میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل سنجش تعداد ۸ نمونه محاسبه شده است. مقدار  $P$  کمتر از ۰.۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. \* نشان‌دهنده مقایسه با گروه Sham است ( $P=0.0001$ ). \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.0001$ .

میزان SOD در گروه TD و تمام گروه‌های TD+OV نسبت به گروه Sham به طور معنی داری کاهش داشت

:SOD غلظت

SOD را در گروههای تورشون/دتورشون (TD+OV) افزایش دهد؛ ولی این افزایش نسبت به گروه TD معنی دار نبود ( $P=1$ ) (نمودار ۴).

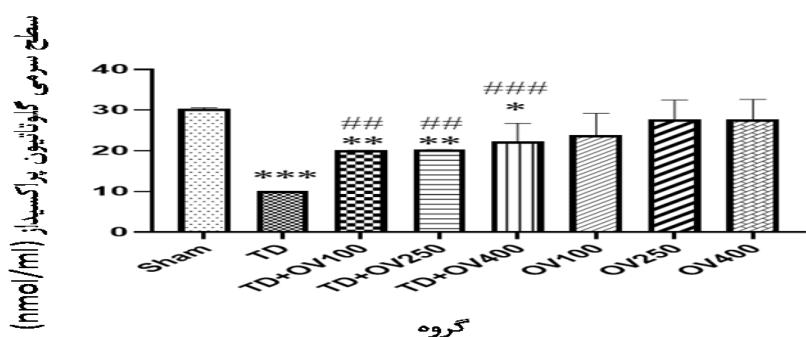
دیده نشد ( $P=1$ ). مزنجوش تا حدودی توانسته میزان مرتضوی شام (OV) نسبت به گروه Sham تفاوت معنی داری  $P<0.01$ ) و در گروههای دریافت کننده  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ).



نمودار ۴: مقایسه میانگین غلظت سوپراکسید دیسموتاز در بین گروههای مختلف. Sham: گروه کنترل، TD: پیچش طباب اسپرمازیک، TD+OV: پیچش طباب اسپرمازیک با دوزهای (۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ mg/kg) و OV: فقط دریافت مرزنجوش با دوزهای (۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ mg/kg). در هر گروه مقدار میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل سنجش تعداد ۸ نمونه محاسبه شده است. مقدار  $P$  کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. \* نشان دهنده مقایسه با گروه Sham است  $P<0/05$ . \*\*  $P<0/01$ .

مرنجزووش موجب بهودی سطح GPx در گروههای تورشن/دتورشن (TD+OV) شد، به طوری که میزان GPx در این گروهها (TD+OV) نسبت به گروه TD به شکل معنی‌داری افزایش داشت ( $P<0.0001$ ,  $P=0.01$ ). (نمودار ۵).

بررسی نتایج میزان GPx در گروه TD و تمام گروه‌های TD+OV نسبت به گروه Sham به طور معنی‌داری کاهش داشت ( $P<0.0001$ ,  $P<0.05$ ,  $P=0.001$ ) و در گروه‌های دریافت کننده مرزنجوش (OV) نسبت به گروه Sham تفاوت معنی‌داری دیده نشد ( $P=0.2$ ,  $P=0.9$ ).

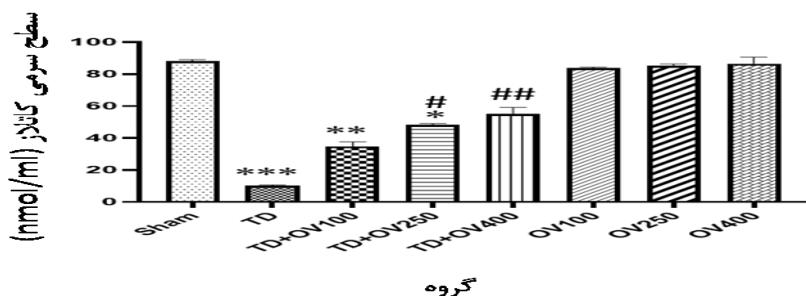


نمودار ۵: مقایسه میانگین غلظت گلوتاتیون پراکسیداز در بین گروههای مختلف. Sham: گروه کنترل، TD: پیچش طباب اسپرمازیک، OV: آسپرمازیک و دریافت مرزنجوش با دوزهای (۴۰۰ mg/kg و ۲۵۰ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg)، فقط دریافت مرزنجوش با دوزهای (۴۰۰ mg/kg و ۲۵۰ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg). در هر گروه مقدادیر میانگین  $\pm$  انحراف معیار حاصل سنجش تعداد ۸ نمونه محاسبه شده است. مقدار  $P$  کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. \* نشان دهنده مقایسه با گروه Sham و # نشان دهنده مقایسه با گروه TD است ( $P<0/01$ ,  $*P<0/05$ ,  $#P<0/001$ ,  $***P<0/001$ )

غلظت :CAT

موجب افزایش میزان CAT در گروههای تورشن/دتورشن (TD+OV) شد؛ ولی این افزایش فقط در گروههای TD+OV 250 و TD+OV 400 نسبت به گروه TD معنی دار بود ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P=0.0001$ ). (نمودار ۶).

میزان CAT در گروههای TD, TD+OV 100 و TD+OV 250 نسبت به گروه Sham به طور معنی داری کاهش داشت ( $P=0.0001$ ,  $P<0.05$ ,  $P=0.01$ ) و در گروههای دریافت کننده مرزنجوش (OV) نسبت به گروه Sham تفاوت معنی داری دیده نشد ( $P=1$ ). مرزنجوش



نمودار ۶: مقایسه میانگین غلظت کاتالاز در بین گروههای مختلف. Sham: گروه کنترل، TD: پیچش طناب اسپرماتیک، TD+OV: پیچش طناب اسپرماتیک و دریافت مرزنجوش با دوزهای (۱۰۰، ۲۵۰، ۴۰۰ mg/kg). در هر گروه مقادیر میانگین  $\pm$  انحراف میانگین تعداد ۸ نمونه محاسبه شده است. مقدار  $P$  کمتر از  $0.05$  به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. \* نشان دهنده مقایسه با گروه Sham و # نشان دهنده مقایسه با گروه TD است ( $P<0.05$ ,  $*P<0.01$ ,  $**P<0.001$ ,  $##P<0.01$ ,  $###P<0.001$ ,  $***P=0.0001$ ,  $**P<0.0001$ ).

اختلال در خونرسانی یک اندام، می تواند منجر به آسیب و مرگ سلولی شود(۲۶)، هرچند برقراری مجدد خونرسانی موجب نجات بافت خواهد شد؛ اما این امر نیز می تواند موجب بروز آسیب های بیشتری گردد(۲۷). عوامل بسیاری نظیر افزایش تولید رادیکال های آزاد، سایتوکین های التهابی و همچنین آسیب عروق خونی کوچک در شکل گیری جراحات متعاقب ریپر فیوژن می توانند نقش داشته باشند(۲۸). برقراری مجدد خونرسانی به بافت ایسکمیک موجب تشكیل گونه های فعال اکسیژن می شود(۲۹) و این رادیکال های آزاد موجب آسیب به غشای سلول و افزایش میزان چسبندگی لکوسیت ها به اندوتلیوم خواهند شد(۸). تورشن بافت پیشه موجب مرگ سلول های زایا نیز می شود که علت آن عدم تأمین اکسیژن مورد نیاز، تجمع متabolیت های سمی و تخلیه انرژی ذخیره شده سلول است.(۳۰).

## بحث

در مطالعه حاضر به بررسی اثرات عصاره گیاه مرزنجوش بر آسیب های بافتی، استرس اکسیداتیو و پارامترهای اسپرم ناشی از تورشن/دتورشن در پیشه موش صحرایی بالغ پرداخته شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد تورشن پیشه موجب آسیب بافتی شامل کاهش ضخامت اپتیلیوم زایا، قطر لوله های منی ساز و نمره جانسون می شود، علاوه بر این بر کیفیت اسپرم اتوژن نیز اثر منفی دارد به طوری که موجب کاهش تعداد اسپرم و افزایش اسپرم های غیرطبیعی می شود. همچنین در رابطه با فاکتورهای استرس اکسیداتیو ایسکمی بیشه موجب افزایش میزان MDA و کاهش سطح SOD و CAT می شود. از طرفی مرزنجوش با دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی توانست آسیب های ناشی از تورشن پیشه را کاهش دهد.

پراکسیداز و کاتالاز بیشتر شده و منجر به آسیب به لیپیدها در غشا سلول، پروتئین، DNA و یا RNA می‌شود(۱۳). در بخش دیگری از مطالعه به بررسی فاکتورهای استرس اکسیداتیو پرداخته شد، که نتایج حاصل نشان داد ایسکمی/ ریپرفیوژن موجب افزایش سطح MDA به عنوان مارکر اکسیداسیون لیپیدی و نیز کاهش میزان SOD و GPx و کاتالاز می‌شود.

در این راستا مطالعه Shokoohi و همکاران که به بررسی اثرات محافظتی عصاره هیدرولالکلی شاه تره بر آسیب بافت بیضه ناشی از ایسکمی/ ریپرفیوژن بیضه در موش‌های صحرایی بالغ پرداختند نشان داد که تورشن/ دتورشن بیضه موجب افزایش سطح MDA و کاهش میزان SOD و GPx می‌شود و درمان با عصاره هیدرولالکلی شاه تره موجب کاهش میزان MDA و افزایش سطح SOD و GPx می‌شود(۲۱).

امروزه تلاش‌های بسیاری در جهت شناسایی عوامل و ترکیباتی که موجب مهار یا کاهش عوارض تورشن/ دتورشن بیضه باشند به عنوان یک روش درمانی در حال انجام است. طبق مطالعات انجام شده مرزنجوش سرشار از آنتی اکسیدان‌های قوی است که می‌تواند فعالیت رادیکال‌های آزاد را خنثی نماید(۳۴، ۳۵).

در مطالعه‌ای که توسط خیراندیش و همکاران به بررسی اثر گیاه مرزنجوش بر تغییرات مورفولوژیک و هیستولوژیک بافت تخدمان پس از دریافت طولانی مدت مس بر موش‌های صحرایی پرداختند، نتایج نشان داد خاصیت آنتی اکسیدانی مرزنجوش موجب کاهش آسیب‌های تخدمانی می‌شود(۱۳).

همچنین در مطالعه‌ای که فلاخ و همکاران به بررسی تأثیر دوزهای مختلف مرزنجوش (۵۰۰ mg/kg) بر روند اسپرماتوژن و غلظت اسپرم در آسیب اکسیداتیو ناشی از کادمیوم در موش‌های صحرایی پرداختند، نشان داد که مرزنجوش در دوز مناسب (۲۵۰ mg/kg) دارای اثرات مثبتی بر اسپرماتوژن بوده و همچنین استرس اکسیداتیو ایجاد شده را نیز کنترل می‌کند(۳۶).

در همین زمینه مطالعه Davoodi و همکاران که به بررسی اثرات عصاره مریم گلی در مقابل آسیب‌های بافت‌شناسی ناشی از ایسکمی/ خونرسانی مجدد بافت بیضه در موش‌های صحرایی بالغ پرداختند نشان داد که تورشن/ دتورشن بیضه با واسطه تخریب سلول‌های اپیتلیوم زایا موجب تغییرات بافتی از جمله ادم، کاهش ضخامت اپیتلیوم زایا و کاهش قطر لوله‌های منی ساز می‌شود(۳۱). از طرفی Yulug و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که تورشن بیضه به مدت ۴ ساعت و به میزان ۷۲۰ درجه موجب آسیب بافت بیضه و کاهش اسپرماتوژن می‌شود(۳۲)، و در مطالعات قبلی ما نیز همین نتایج به دست آمد(۲۱). نتایج حاصل از این مطالعه نیز نشان داد که تورشن بیضه به مدت ۴ ساعت و به دنبال آن دتورشن موجب تخریب بافت و کاهش کیفیت اسپرماتوژن می‌شود.

نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو موجب شکل‌گیری ROS و مهار اسپرماتوژن می‌شود، به شکلی که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاهش یافته و سبب ایجاد آپوپتوز در سلول‌های اسپرماتوگونی می‌گردد، در حالی که استفاده از عصاره مریم گلی به عنوان آنتی اکسیدان می‌تواند دارای اثرات محافظتی باشد(۳۱).

به طور مشابه ایسکمی/ خونرسانی مجدد بافت بیضه علاوه بر ایجاد آسیب به بافت، می‌تواند بر روند اسپرماتوژن نیز تأثیر بگذارد؛ به عبارت دیگر تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد موجب کاهش کیفیت اسپرم می‌شود. مطالعات متعددی نیز نشان دادند که ایسکمی/ ریپرفیوژن بیضه موجب کاهش کیفیت اسپرم از جمله کاهش تحرک، کاهش غلظت اسپرم و افزایش اسپرم با مورفولوژی غیرطبیعی می‌شود(۲۱، ۳۳).

در مطالعه حاضر نیز نتایج نشان‌دهنده کاهش اسپرم و افزایش اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه تورشن/ دتورشن نسبت به گروه شم بود.

سلول‌های بدن به طور طبیعی قادر به حذف رادیکال‌های آزاد هستند. استرس اکسیداتیو زمانی بروز می‌کند که میزان رادیکال‌های آزاد تولید شده از توان آنتی اکسیدانی سلول‌ها از جمله فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون

شود، از جمله آسیب شدید بافت به دلیل مدت زمان زیاد تورشن (۴ ساعت) باشد. همچنین اگرچه فلاونوییدها در غلظت پایین به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی عمل می کنند؛ ولی نشان داده شده است که غلظت بالای آن می تواند موجب تولید رادیکال های آزاد شود<sup>(۳۸)</sup> و در این مطالعه نیز ممکن است دلیلی بر عدم تأثیر عصاره مرزنگوش بر کاهش عوارض ناشی از تورشن باشد.

بر این اساس با توجه به اثرات متفاوتی که دوز های مختلف عصاره مرزنگوش در بافت های متفاوت نشان داده است، نیاز به مطالعات بیشتری وجود دارد.

### نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد تورشن بیضه موجب آسیب بافتی شامل کاهش ضخامت اپیتلیوم زایا، کاهش قطر لوله های منی ساز و کاهش نمره جانسون می شود، علاوه بر این بر کیفیت اسپرم اتوژنر نیز اثر منفی دارد. همچنین در رابطه با فاکتورهای استرس اکسیداتیو ایسکمی بیضه موجب افزایش MDA و کاهش سطح SOD، GPx و CAT می شود. استفاده از مرزنگوش تا حدودی به همراه جراحی می تواند تواند عوارض ناشی از آسیب تورشن را کاهش دهد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گناباد با کد (IR.GMU.REC.1396.2) است که از این معاونت تشکر به عمل می آید. هیچ کدام از نویسندهای این مطالعه، افراد و دستگاه ها تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

در مطالعه رئیس زاده و همکاران که به بررسی تأثیر غلظت های مختلف عصاره آبی مرزنگوش (۵۰۰ mg/kg) در آسیب تحت حاد ناشی از استرس اکسیداتیو کادمیم در کلیه موش صحرایی پرداخته شد، نتایج نشان دهنده تأثیر قابل توجه عصاره مرزنگوش با دوز ۵۰۰ mg/kg بر آسیب های کلیوی ناشی از کلرید کادمیوم بود<sup>(۳۷)</sup>.

همچنین در مطالعه کاشانی و همکاران که به بررسی اثرات ناهنجاری زایی عصاره گیاه دارویی مرزنگوش بر جنین های موش سوری پرداختند، نتایج نشان داد دوز بالای عصاره مرزنگوش موجب سقط و ناهنجاری در جنین مادران دریافت کننده این عصاره می شود<sup>(۳۸)</sup>.

مطالعه حاضر نیز نشان داد تزریق مرزنگوش با دوز های مختلف (۱۰۰، ۲۵۰، ۴۰۰ mg/kg) در گروه های درمانی در مقایسه با گروه تورشن / دتورشن، توانست ضخامت اپیتلیوم زایا، قطر لوله های منی ساز و نمره جانسون را افزایش دهد، علاوه بر این موجب افزایش تعداد اسپرم و کاهش اسپرم های غیر طبیعی شد. همچنین در رابطه با فاکتورهای استرس اکسیداتیو تزریق مرزنگوش میزان MDA را کاهش و مقدار آنزیم های CAT، GPx و SOD را افزایش داد. به طور کلی عوارض ناشی از تورشن بیضه توسط مرزنگوش کاهش یافت، هر چند این کاهش به جز در مورد نمره جانسون و میزان GPx در سایر موارد معنی دار نبود.

اثرات عصاره مرزنگوش در بهبود آسیب های ناشی از تورشن / دتورشن احتمالاً مربوط به خواص عوامل آنتی اکسیدانی است که در این گیاه اثبات شده است. دلایل مختلفی می تواند وجود داشته باشد که مرزنگوش نتوانسته موجب کاهش قابل توجه آسیب های ناشی از تورشن

### منابع

- 1.Sari E, Aksit H, Erken HA, Yay A, Aksit D, Amasyali AS, et al. Protective effect of 2-APB on testicular ischemia-reperfusion injury in rats. J Urol. 2015;193(3):1036-41.
- 2.Moghimian M, Abtahi-Evari S-H, Shokoohi M, Amiri M, Soltani M. Effect of Syzygium aromaticum (clove) extract on seminiferous tubules and oxidative stress after testicular torsion in adult rats. Physiol Pharmacol. 2017;21(4):343-50.

3. Asghari A, Akbari G, Meghdadi A, Mortazavi P. Effects of melatonin and metformin co-administration on testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *J Pediatr Urol.* 2016;12(6):410.
4. Erdem AO, Ozkisacik S, Mersinli B, Sirinyildiz F, Ek R, Culhaci N, et al. Long-term protective effects of the combination of intermittent reperfusion and hypothermia on reperfusion injury in an experimental testicular torsion model. *J Pediatr Surg.* 2020;12:14-21.
5. Ringdahl EN, Teague L. Testicular torsion. *Am Fam Physician.* 2006;74(10):1739-43.
6. Hamed GM, Ahmed RM, Emara MM, Mahmoud MH. Effect of erythropoietin on experimental unilateral testicular torsion detorsion in rat model. *Life Sci J.* 2011;8(2):405-12.
7. Wei S-M, Yan Z-Z, Zhou J. Psoralea corylifolia protects against testicular torsion/detorsion-induced ischemia/reperfusion injury. *J Ethnopharmacol.* 2011;137(1):568-74.
8. Mauny MP, Danarto R, Heriyanto DS. Protective role of methylprednisolone and mRNA expression of BAX, BCL-2 gene in testicular torsion-detorsion of male albino wistar rats. *Berkala Ilmu Kedokteran.* 2020;52(3): 205-213.
9. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev.* 2001;53(1):135-59.
10. Harrison R, De Marval MM, Lewis-Jones D, Connolly R. Mechanism of damage to the contralateral testis in rats with an ischaemic testis. *The Lancet.* 1981;318(8249):723-5.
11. Bartke A. Apoptosis of male germ cells, a generalized or a cell type-specific phenomenon?. *Endocrinology.* 1995;136(1):3-4.
12. Pratheeshkumar P, Kuttan G. Ameliorative action of Vernonia cinerea L. on cyclophosphamide-induced immunosuppression and oxidative stress in mice. *Inflammopharmacology.* 2010;18(4):197-207.
13. Kheirandish R, ABSHENAS J, SAKHAEI E, AZIZI S, Aghaabbasi S. Effects of Origanum vulgare on morphometric and histopathologic of ovary following long-term administration of copper. *J Anim Res.* 2018;31(4):85-96.
14. Mirzaee A, Jaberihafashani H, Madani A. Antioxidant activities, total phenols and total Flavonoids assay of Origanum vulgare, Teucrium polium and Thymus daensis. *Hormozgan Med J.* 2012;15(4):285-94.
15. Morshedloo M, Pirali Hamedani M, Yazdani D. An over review to Origanum vulgare L. and its pharmacological properties. *J Med Plants.* 2018;17(68):15-31.
16. Oniga I, Puşcaş C, Silaghi-Dumitrescu R, Olah N-K, Sevastre B, Marica R, et al. *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical composition and biological studies. *Molecules.* 2018;23(8):2077.
17. Alma MH, Mavi A, Yildirim A, Digrak M, Hirata T. Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biol Pharm Bull.* 2003;26(12):1725-9.
18. Ivanova D, Gerova D, Chervenkov T, Yankova T. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2005;96(1-2):145-50.
19. Habibi E, Shokrzadeh M, Chabra A, Naghshvar F, Keshavarz-Maleki R, Ahmadi A. Protective effects of *Origanum vulgare* ethanol extract against cyclophosphamide-induced liver toxicity in mice. *Pharm Biol.* 2015;53(1):10-5.
20. Pryor WA, Stanley J, Blair E. Autoxidation of polyunsaturated fatty acids: II. A suggested mechanism for the formation of TBA reactive materials from prostaglandin like endoperoxides. *Lipids.* 1976;11(5):370-9.

21. Shokoohi M, Shoorei H, Soltani M, Abtahi-Eivari SH, Salimnejad R, Moghimian M. Protective effects of the hydroalcoholic extract of *Fumaria parviflora* on testicular injury induced by torsion/detorsion in adult rats. *Andrologia*. 2018;50(7):e13047.
22. Glander H, Horn L, Dorschner W, Paasch U, Kratzsch J. Probability to retrieve testicular spermatozoa in azoospermic patients. *Asian J Androl*. 2000;2(3):199-206.
23. Seidabadi M, Najafi G, Hasanzadeh S. The effects of ceftriaxone on sperm parameters, DNA damage and in vitro fertilization in mice. *Sci J Kurdistan Univ Medical Sci*. 2017;22(2).
24. Lapenna D, Ciofani G, Pierdomenico SD, Giamberardino MA, Cuccurullo F. Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. *Free Radic Biol Med*. 2001;31(3):331-5.
25. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress. *Sports Med*. 2006;36(4):327-58.
26. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia—reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci*. 2004;49(9):1359-77.
27. Cho SS, Rudloff I, Berger PJ, Irwin MG, Nold MF, Cheng W, et al. Remifentanil ameliorates intestinal ischemia-reperfusion injury. *BMC Gastroenterol*. 2013;13(1):1-9.
28. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol*. 2000;190(3):255-66.
29. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*. 2001;94(6):1133-8.
30. Wilhelm Filho D, Torres MA, Bordin AL, Crezcynski-Pasa TB, Boveris A. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med*. 2004;25(1-2):199-210.
31. Davoodi F, Taheri S, Raisi A, Rajabzadeh A, Ahmadvand H, Hablolvarid MH, et al. Investigating the sperm parameters, oxidative stress and histopathological effects of *salvia miltiorrhiza* hydroalcoholic extract in the prevention of testicular ischemia reperfusion damage in rats. *Theriogenology*. 2020;144:98-106.
32. Karagüzel E, Kutlu Ö, Yuluğ E, Mungan S, Kazaz İO, Tok DS, et al. Comparison of the protective effect of dipyridamole and acetylsalicylic acid on long-term histologic damage in a rat model of testicular ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg*. 2012;47(9):1716-23.
33. Kurcer Z, Hekimoglu A, Aral F, Baba F, Sahna E. Effect of melatonin on epididymal sperm quality after testicular ischemia/reperfusion in rats. *Fertil Steril*. 2010;93(5):1545-9.
34. Ghaderi A, Karimi SA, Talaei F, Shahidi S, Faraji N, Komaki A. The effects of aqueous extract of *Origanum vulgare* on learning and memory in male rats. *J HerbMed Pharmacol*. 2020;9(3):239-44.
35. Raeeszadeh M, Rezaee M, Akbari A, Khademi N. The comparison of the effect of *Origanum vulgare* L. extract and vitamin C on the gentamycin-induced nephrotoxicity in rats. *Drug Chem Toxicol*. 2021;1-8.
36. Falah MM, Raeeszadeh M, Salimi Naghani E. The Different Doses of Aqueous Extract of Marjoram Effects on Spermatogenesis and Sperm Concentration in Cadmium-induced Oxidative Damage in Rats. *SSU\_Journals*. 2017;25(3):230-40.
37. Raeeszadeh M, Mortazavi P, Khademi N, Falah M. The effect of the different concentrations of aqueous extracts of *Origanum vulgaris* in subacute damage of oxidative stress caused by cadmium in kidney of rat. *J Comp Pathol*. 2017;14(3):2257-66.
38. Kashani IR, Ansari M, Mehrannia K, Moazzemi K, Joybary SV. Teratogenic effects of *Origanum Vulgare* extract in mice fetals. *Tehran Univ Med J*. 2013;71(8).