



Original Article

Protective Effects of *Alhagi maurorum* Extract on Epididymal Sperm Parameters and *In Vitro* Fertilization in Rats with Experimental Varicocele

Ali Jahanghir¹ , Mohammadreza Hosseini^{2*} , Tohid Mohammadi² 

¹ Doctor of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran

² Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran

*Corresponding author: Mohammadreza Hosseini, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran. Email: hosseini.m@iau.ac.ir

DOI: [10.22034/nkums.17.4.77](https://doi.org/10.22034/nkums.17.4.77)

How to Cite this Article:

Jahanghir A, Hosseini M, Mohammadi T. Protective Effects of *Alhagi maurorum* Extract on Epididymal Sperm Parameters and *In Vitro* Fertilization in Rats with Experimental Varicocele. J North Khorasan Univ Med Sci. 2025;17(4): 77-86 DOI: 10.22034/nkums.17.4.77

Received: 10 June 2025

Accepted: 14 September 2025

Keywords:

Alhagi Maurorum

Fertility

Rat

Varicocele

Abstract

Introduction: Varicocele is characterized by abnormal dilation and twisting of the pampiniform plexus veins in the spermatic cord. It is the leading surgically treatable cause of male infertility. This study examined the protective effects of *Alhagi maurorum* (AM) extract on sperm parameters and in vitro fertilization (IVF) outcomes in a rat model of varicocele.

Method: In this experimental study, 60 male rats were randomly assigned into five groups (n=12): control, varicocele, varicocele with high-dose AM (200 mg/kg), varicocele with medium-dose AM (100 mg/kg), and varicocele with low-dose AM (50 mg/kg). After 60 days of treatment, malondialdehyde levels, total antioxidant capacity (TAC), sperm parameters, and IVF outcomes were evaluated.

Results: The results showed that the varicocele group significantly decreased (P<0.05) in TAC, sperm count, motility, viability, as well as in the number of zygotes, two-cell embryos, and blastocysts, compared to the control group. AM administration significantly (P<0.05) improved sperm parameters, fertilization rates, and embryo development.

Conclusion: These results indicate that AM can reduce the harmful effects of varicocele on fertility in rats, likely due to its antioxidant properties and ability to neutralize free radicals.



تأثیرات محافظتی عصاره خارشر (*Alhagi Maurorum*) بر پارامترهای اسپرم اپیدیدیمی و لقاح آزمایشگاهی در موش‌های صحرایی واریکوسلی تجربی

علی جهانگیر^۱، محمدرضا حسینچی^{۲*}، توحید محمدی^۲

^۱ دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران
^۲ گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

* نویسنده مسئول: محمدرضا حسینچی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران. ایمیل: hosseinchi.m@iau.ac.ir

DOI: 10.22034/nkums.17.4.77

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۲۰	چکیده
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۳	مقدمه: واریکوسل با اتساع غیرطبیعی و پیچ‌خوردگی وریدهای شبکه پامپینیفرم در طناب اسپرماتیک مشخص می‌شود و شایع‌ترین علت قابل درمان جراحی ناباروری مردان است. این مطالعه با هدف بررسی آثار محافظتی عصاره خارشر (<i>Alhagi Maurorum</i>) بر پارامترهای اسپرم و نتایج لقاح آزمایشگاهی (IVF) در مدل موش صحرایی مبتلابه واریکوسل انجام شد.
واژگان کلیدی:	روش کار: در این مطالعه تجربی، شصت موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به پنج گروه (n=۱۲) تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه واریکوسل، گروه واریکوسل با دوز بالای عصاره خارشر (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، گروه واریکوسل با دوز متوسط عصاره خارشر (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و گروه واریکوسل با دوز پایین عصاره خارشر (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم). پس از شصت روز دوره درمان، سطوح مالون دی‌آلدئید (MDA)، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC)، پارامترهای اسپرم و نتایج لقاح آزمایشگاهی ارزیابی شدند.
خارشر باروری موش صحرایی واریکوسل	یافته‌ها: نتایج نشان داد که گروه واریکوسل در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری (p<۰/۰۵) در TAC، تعداد اسپرم، تحرک زنده‌مانی اسپرم و همچنین تعداد زیگوت‌ها، جنین‌های دوسلولی و بلاستوسیست‌ها داشت. تجویز عصاره خارشر باعث بهبود معنی‌داری (p<۰/۰۵) پارامترهای اسپرم، نرخ لقاح و تکامل جنین شد.
	نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهند که عصاره خارشر می‌تواند آثار مضر واریکوسل را در باروری، در موش صحرایی کاهش دهد که احتمالاً به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و فعالیت رادیکال‌های آزاد آن است.

مقدمه

واریکوسل است. اگرچه واریکوسلکتومی (جراحی واریکوسل) می‌تواند پارامترهای مایع منی (تعداد اسپرم، تحرک و مورفولوژی) را بهبود بخشد و شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد این جراحی به نتایج بهتر منجر می‌شود، نقش اصلاح واریکوسل در درمان مردان ناباروری نسبی در طول دهه‌های گذشته مورد بحث بوده است [۷]. برخی مطالعات نشان می‌دهند که ترمیم واریکوسل لزوماً به افزایش شانس باروری زوجین منجر نمی‌شود [۸]. در نتیجه، ترمیم واریکوسل همیشه برای تمام مردان نابارور مبتلابه واریکوسل توصیه نمی‌شود و دستورالعمل‌های فعلی ملاحظات خاصی را برای انتخاب گزینه‌های مناسب به‌منظور درمان جراحی یا رادیولوژیک ارائه می‌دهند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از طریق واکنش‌های تک‌الکترونی به رادیکال‌های آزاد واکنش نشان می‌دهند و از آسیب اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند. بنابراین، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هم در پیشگیری از بیماری‌ها و هم در درمان کمکی، نقش مهمی ایفا می‌کنند؛ ضمن اینکه عوارض جانبی را نیز برای سلامت انسان به حداقل می‌رسانند. برای

واریکوسل در حدود ۱۵ درصد از تمام مردان و ۱۹ تا ۴۱ درصد از مردانی که با ناباروری اولیه مراجعه می‌کنند، وجود دارد و آن را به شایع‌ترین علت قابل درمان جراحی ناباروری مردان تبدیل می‌کند. در مردان ناباروری ثانویه، واریکوسل در ۴۵ تا ۸۱ درصد موارد به‌عنوان علت زمینه‌ای شناسایی شده است [۱]. واریکوسل‌ها پیش‌رونده‌اند، معمولاً در دوران بلوغ ایجاد می‌شوند و طرف چپ بیشتر درگیر می‌شود (۹۰ درصد). تحقیقات نشان داده‌اند که در مردان، واریکوسل با کاهش تعداد اسپرم، تحرک و مورفولوژی اسپرم مرتبط است [۲،۳]. تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مانند رادیکال‌های آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، اکسیژن تک‌حالتی و رادیکال‌های پراکسی نیتریت، در بروز واریکوسل نقش داشته است [۴]. این گونه‌های بسیار واکنش‌پذیر می‌توانند با ایجاد تغییرات اکسیداتیو در لیپیدها و پروتئین‌های سلولی، آسیب‌های پاتولوژیک ایجاد کنند که به اختلال در عملکرد اسپرم منجر می‌شود [۵،۶]. بنابراین، سطح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) عامل مهمی در ارزیابی درمان ناباروری ناشی از

به حیوانات هیچ دارویی داده نشد.

۳. گروه واریکوسل+دوز بالای عصاره خارشتر (VAR + HAM): حفره شکمی باز شد، واریکوسل القا شد و به حیوانات روزانه ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره خارشتر (AM) به صورت خوراکی با حجم ۰/۲ میلی لیتر به مدت شصت روز تجویز شد.

۴. گروه واریکوسل + دوز متوسط عصاره خارشتر (VAR + MAM): حفره شکمی باز شد، واریکوسل القا شد و به حیوانات روزانه ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره خارشتر (AM) به صورت خوراکی با حجم ۰/۲ میلی لیتر به مدت شصت روز تجویز شد.

۵. گروه واریکوسل + دوز پایین عصاره خارشتر (VAR + LAM): حفره شکمی باز شد، واریکوسل القا شد و به حیوانات روزانه ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره خارشتر (AM) به صورت خوراکی با حجم ۰/۲ میلی لیتر به مدت شصت روز تجویز شد.

تهیه عصاره اتانولی خارشتر (AM)

گیاه خارشتر از فروشگاه گیاهان دارویی در ارومیه خرید و پس از تأیید متخصصان گیاه شناسی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه با شماره هرباریوم ۴۹۲۷، تأیید شد. بخش های هوایی گیاه AM جمع آوری شد، سه بار با آب شیر و دو بار با آب مقطر شسته شد، در سایه خشک شد و با آسیاب ویلی به پودر نرم تبدیل شد. گیاه آسیاب شده (۱۰۰ گرم) با یک لیتر اتانول ۷۰ درصد به مدت یک ساعت تحت رفلکس قرار گرفت. پس از فیلتراسیون، حلال ها تحت فشار کاهش یافته در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه تبخیر دوار حذف شدند و با دستگاه لیوفیلیزاتور (خشک کن انجمادی) خشک شدند تا عصاره های خشک به دست آیند [۲۱].

لقای واریکوسل

تمامی اقدامات جراحی تحت بیهوشی ناشی از تزریق داخل صفاقی ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین هیدروکلراید (۱۰ درصد) و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم زایلازین هیدروکلراید (۲ درصد) انجام شد. ابتدا موش های صحرایی به پشت روی میز جراحی قرار داده شدند و ناحیه جراحی اصلاح و سپس استریل و پوست ناحیه با تیغ اسکالپل به صورت عمودی برش داده شد. پس از برش دادن خط سپید، عضلات شکم کنار زده شد و ورید کلیوی چپ و محل ورود ورید اسپرماتیک داخلی به آن شناسایی و اطراف آن آزادسازی شد. سپس قطر ورید کلیوی چپ قبل از محل اتصال ورید اسپرماتیک به آن با انجام لیگاتور با نخ بخیه نایلون ۴-۰، به ۱ میلی متر کاهش یافت. برای این کار، ابتدا یک لیگاتور دور سرسوزن blunt قرار داده و سپس سرسوزن به آرامی خارج شد تا ورید در محدوده لیگاتور متسع شود. این روش به کاهش قطر ورید کلیوی به حدود نصف اندازه اصلی آن منجر شد. علاوه بر این، شاخه های آناستوموز بین ورید بیضه چپ و ورید ایلپاک مشترک چپ نیز بسته شدند. در نهایت، برش خط میانی دیواره شکم و عضلات قدامی شکم جداگانه ترمیم شدند [۲۲].

شمارش اسپرم

اسپرم های اپیدیدیمی با تشریح ناحیه کادوا اپیدیدیم به قطعات کوچک

مثال، مطالعه ای روی ۲۱۹ مرد مبتلا به واریکوسل نشان داد که پس از چهار ماه درمان با ال-کارنیتین و استیل-ال-کارنیتین، بهبود معنی داری در غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرم مشاهده شده است [۹].

گیاه خار شتر با نام علمی *Alhagi Maurorum* (AM) متعلق به خانواده Fabaceae Leguminosae یا نخودیان است. این خانواده شامل حدود ۵۵۰ جنس و بیش از ۱۳۰۰۰ گونه گیاهی است که به عنوان یکی از گیاهان دارویی در طب سنتی، برای درمان بیماری های متابولیک، گوارشی و کبدی، اختلالات روماتیسمی، میگرن و زگیل استفاده می شود. مطالعات آزمایشگاهی نشان می دهد که عصاره AM باعث کاهش دمای بدن و ضربان قلب می شود. این عصاره همچنین با مهار اثر استیل کولین موجب شل شدن عضلات می شود و در بازکردن مجاری ادراری و دفع سنگ کلیه مؤثر است [۱۰، ۱۱].

تحقیقات شیمیایی دیگر روی این گیاه نشان می دهد که حاوی ترکیبات ارزشمندی از جمله استرول های گیاهی و اسیدهای چرب است. این ترکیبات فعال زیستی می توانند در خواص دارویی و درمانی گیاه نقش داشته باشند [۱۲، ۱۳]. فلاونوئیدها، کومارین ها، آلکالوئیدها و ویتامین ها؛ حدود دوازده نوع فلاونوئید از این گیاه جدا شده است. مطالعات نشان داده اند که فلاونوئیدها بر سیستم تولیدمثل سگ ها آثار ضدآندروژنی و ضدباروری دارند [۱۴، ۱۵]. مطالعات روی ترکیبات زیست فعال با پتانسیل مهار یا توقف سلول های سرطانی می توانند راه را برای کشف داروهای مؤثرتر هموار کنند [۱۶].

امروزه، مردم به طور فزاینده ای از میوه ها و سبزیجات، به دلیل آثار محافظتی آن ها در برابر بیماری هایی مانند سرطان، بیماری های قلبی - عروقی و کبدی، استفاده می کنند [۱۷، ۱۸]. امروزه، مردم بیش از پیش به مصرف میوه ها و سبزیجات روی آورده اند؛ چراکه این مواد غذایی در برابر بیماری هایی نظیر سرطان، بیماری های قلبی - عروقی و کبدی از خود آثار محافظتی نشان می دهند [۱۹، ۲۰]. در مطالعه حاضر، تأثیر عصاره بخش های هوایی گیاه خارشتر بر پارامترهای اسپرم و لقاح آزمایشگاهی (IVF) در موش های صحرایی مبتلا به واریکوسل بررسی شد.

روش کار

حیوانات

در این مطالعه از شصت سر موش صحرایی نژاد ویستار دوازده هفته ای با وزن 170 ± 26 گرم استفاده شد. موش های صحرایی از مرکز منابع حیوانی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه ایران تهیه و به مدت یک هفته در اتاقی با شرایط کنترل شده محیطی (دما: ۲۱-۲۴ درجه سانتی گراد، چرخه نوری دوازده ساعت روشنایی/ دوازده ساعت تاریکی) برای انطباق با محیط نگهداری شدند. آب و غذا به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار داده شد.

پس از اتمام دوره سازگاری، شصت سر موش صحرایی نژاد ویستار به صورت تصادفی در پنج گروه ($n=12$ در هر گروه) به شرح زیر تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل (CO): به حیوانات هیچ دارویی داده نشد و حفره شکمی بدون ایجاد واریکوسل باز شد.

۲. گروه واریکوسل (VAR): حفره شکمی باز و واریکوسل القا شد، اما

آکریدین اورنج (AO)

آزمایش آکریدین اورنج (AO) نوعی روش ساده میکروسکوپی برای بررسی ساختار کروماتین اسپرم و میزان دناتوراسیون آن است. در این روش، ابتدا یک قطره از سوسپانسیون اسپرم روی لام شیشه‌ای پخش شد و در دمای اتاق خشک شد. سپس نمونه‌ها به مدت دو ساعت در محلول متانول - استیک اسید با نسبت حجمی ۱:۳ تثبیت شدند. پس از اتمام مرحله تثبیت، لام‌ها با ۲ تا ۳ میلی‌لیتر از محلول ۱۹ درصد آکریدین اورنج در بافر فسفات سترات به مدت پنج دقیقه رنگ‌آمیزی و سپس با آب دیونیزه شست‌و شو داده شدند. در نهایت، نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس (شرکت زایس آلمان) بررسی شدند. در این ارزیابی، دو الگوی رنگی متمایز مشاهده شد: اسپرم‌های با رنگ سبز که نشان‌دهنده DNA دورشته‌ای بودند و اسپرم‌های با رنگ زرد که حاکی از وجود DNA تک‌رشته‌ای در آن‌ها بود. این تکنیک امکان تشخیص دقیق آسیب‌های وارده به DNA اسپرم را فراهم کرده است و به‌عنوان روشی ارزشمند در ارزیابی سلامت کروماتین اسپرم به کار می‌رود.

رنگ آبی آنیلین (AB)

یک قطره از سوسپانسیون اسپرم روی لام‌های شیشه‌ای پخش و در دمای محیط خشک شد. سپس گسترش‌ها در محلول ۳ درصد گلو تارآلدئید در بافر فسفات سالین (PBS) تثبیت شدند. پس از تثبیت، لام‌ها با محلول ۵ درصد آبی آنیلین در اسید استیک ۴ درصد با pH برابر با ۳/۵ به مدت پنج دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. در این روش، سر اسپرم‌های دارای کروماتین هسته‌ای نابالغ به رنگ آبی درآمدند، درحالی‌که اسپرم‌های با هسته‌های بالغ رنگ ننگرفتند. درصد اسپرماتوزوهای رنگ‌گرفته با آبی آنیلین با شمارش دوپست سلول اسپرم تعیین شد [۲۵].

اندازه‌گیری سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

نمونه‌های بیضه به‌دقت خرد و در محیط یخ هموژنیزه شدند. بافت‌های بیضه در محلول ۱/۱۵ درصد از KCl سرد (حاوی یخ) هموژنیزه شدند تا هموژنات ۱۰ درصد (وزنی/حجمی) تهیه شود. سپس ۳۰۰ میکرولیتر از تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (TCA) به ۱۵۰ میکرولیتر از نمونه هموژنیزه‌شده اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ده دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت به لوله آزمایش منتقل شد و ۳۰۰ میکرولیتر تیوباربیتوریک اسید (TBA) 67 درصد به آن افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از پنج دقیقه سردکردن، رنگ صورتی ناشی از واکنش MDA-TBA ظاهر شد. جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر (Pharmacia Novaspec II, Biochrom, England) در طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. سطح پراکسیدهای لیپیدی براساس میکرومول MDA به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد [۲۶].

اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC)

ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC) با استفاده از روش FRAP (توان احیای آنتی‌اکسیدانی آهن فریک) ارزیابی شد. در این روش، در pH پایین، که با بافر استات (۳/۶، pH = ۳، ۳۰۰ mM) ایجاد می‌شود، احیای

جمع‌آوری شدند. سپس در ۵ میلی‌لیتر محیط mR\ECM حاوی ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلبومین سرم گاوی (Bovine Serum Albumin) قرار داده شدند. مخلوط به مدت سی دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و اتمسفر حاوی ۵ درصد دی‌اکسید کربن انکوبه شد. تا اسپرم‌ها از توپول‌های اپیدیمی خارج شوند. تعداد اسپرم‌ها با استفاده از هموسیتر تعیین شد. نتایج به‌صورت میلیون اسپرم در میلی‌لیتر بیان شد. چند قطره از سوسپانسیون رقیق‌شده اسپرم روی محفظه شمارش نئوبار بهبودیافته منتقل شد و به مدت پنج دقیقه ساکن ماند تا قبل از شمارش تهنشین شود [۲۳].

ارزیابی مورفولوژی اسپرم

اسپرم‌های جمع‌آوری‌شده از بخش دنباله‌ای اپیدیم چپ برای ارزیابی مورفولوژی بررسی شدند. بخشی از نمونه برای تهیه گسترش‌های اسپرمی به‌منظور ارزیابی ناهنجاری‌های اسپرماتوزواها استفاده شد. از رنگ ائوزین/نیگروزین برای بررسی مورفولوژی اسپرم استفاده شد. برای تهیه رنگ، یک قطره از محلول ائوزین/نیگروزین به سوسپانسیون اسپرم اضافه و به‌آرامی مخلوط شد. سپس لام‌ها زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی چهارصد برابر بررسی شدند. در هر لام، تعداد ۳۰۰ اسپرماتوزوا از نظر ناهنجاری‌های سر و دم تحلیل شدند. این ارزیابی به‌منظور شناسایی و طبقه‌بندی انواع ناهنجاری‌های مورفولوژیک انجام پذیرفت [۲۴].

قابلیت حیات‌مندی اسپرم‌ها

برای ارزیابی حیات‌مندی اسپرم‌ها، ۱۰ میکرولیتر از محلول ائوزین/نیگروزین به حجم مساوی از سوسپانسیون اسپرماتوزوا اضافه شد. پس از انکوباسیون، به مدت دو دقیقه در دمای اتاق، لام‌ها تحت میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی چهارصد برابر بررسی شدند. اسپرم‌هایی با غشای پلاسمایی تغییر یافته به‌رنگ صورتی مشاهده شدند. اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم بدون رنگ‌آمیزی باقی ماندند. در هر نمونه، دوپست سلول اسپرم شمارش شد و درصد اسپرم‌های زنده (نسبت اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم) محاسبه شد [۲۴].

ارزیابی تحرک اسپرم

تحرک اسپرم‌ها به روش مشاهده‌ای با استفاده از میکروسکوپ نوری ساخت شرکت المپوس توکیو ژاپن با بزرگ‌نمایی چهارصد برابر ارزیابی شد. برای این منظور، ابتدا یک قطره از سوسپانسیون اسپرم روی لام شیشه‌ای قرار داده و با لامل پوشانده شد. سپس تعداد اسپرم‌های دارای حرکت پیش‌رونده سریع (RPFM)، حرکت پیش‌رونده آهسته (SPFM)، حرکت چرخشی (CM) و همچنین اسپرم‌های کاملاً بی‌حرکت (ML) در چندین میدان میکروسکوپی شمارش شدند. در نهایت، درصد اسپرم‌های متحرک و غیرمتحرک براساس مشاهدات انجام‌شده در ده میدان مختلف از هر نمونه محاسبه شد. این روش استاندارد، که مطابق با پروتکل‌های سازمان جهانی بهداشت (WHO) انجام می‌شود، امکان ارزیابی دقیق کیفیت تحرک اسپرم‌ها را با تفکیک انواع الگوهای حرکتی فراهم می‌کند [۲۴].

فالوپ برداشته و در محیط mR\ECM با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

با استفاده از تکنیک‌های تشریح، اووسیت‌ها خارج و با محیط mR\ECM شست‌وشو داده شدند و به قطرات لقاح حاوی محیط mR\ECM+BSA زیر روغن معدنی منتقل شدند. پس از مرحله ظرفیت‌پذیری، اسپرم‌ها (با غلظت 1×10^6 اسپرم در ۱ میلی‌لیتر محیط mR\ECM) به محیط اضافه شدند. لقاح حدود چهار تا شش ساعت پس از آزادسازی اسپرم‌ها با مشاهده دو پیش‌هسته تعیین شد. پس از حذف سلول‌های گرانولوزا و شست‌وشو، این زیگوت‌ها به محیط تازه و از قبل متعادل منتقل و به‌مدت پنج روز کشت داده شدند [۲۷].

ارزیابی رشد جنین دوسلولی

توسعه جنین دوسلولی ۲۴ ساعت پس از لقاح ارزیابی شد. درصد جنین‌ها در مرحله بلاستوسیست در روز پنجم پس از لقاح بررسی شد.

تحلیل‌های آماری

تحلیل‌های آماری با استفاده از آزمون ANOVA دوطرفه در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ روی تمام داده‌ها انجام پذیرفت. تمامی مقادیر به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) گزارش شده‌اند. سطح معنی‌داری آماری ($p < 0.05$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

شمارش اسپرم

ارزیابی‌های هموسایتمتری تعداد اسپرم کاهش معنی‌دار آماری را در تعداد اسپرم پس از القای واریکوسل در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($p < 0.05$). در گروه‌های واریکوسل تحت درمان با دوزهای مختلف AM (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم)، افزایش در تعداد اسپرم مشاهده شد. باین‌حال، این افزایش تنها در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم AM در مقایسه با گروه واریکوسل درمان‌نشده از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). دوز ۵۰ میلی‌گرمی AM بهبود آماری معنی‌داری در تعداد اسپرم نشان نداد (جدول ۱).

قابلیت حیات‌مندی اسپرم‌ها

درصد اسپرم‌های زنده در گروه واریکوسل به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($p < 0.05$). در گروه‌های مبتلابه واریکوسل، که با سه دوز مختلف AM (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم) تحت درمان قرار گرفتند، در تعداد اسپرم‌های زنده افزایش مشاهده شد. باین‌حال، این افزایش تنها در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم AM در مقایسه با گروه واریکوسل درمان‌نشده از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (جدول ۱).

کمپلکس FeIII-TPTZ به فرم فروز به ایجاد رنگ آبی شدید منجر می‌شود که می‌تواند در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شود. شدت رنگ کمپلکس پس از افزودن حجم مناسب سرم به محلول FeIII-TPTZ، مستقیماً با قدرت احیای کلی آنتی‌اکسیدان‌های دهنده الکترون در ارتباط است. در این آزمایش، محلول آبی FeII (سولفات آهن هفت‌آبه) به‌عنوان محلول شاهد و محلول تازه تهیه‌شده اسید آسکوربیک به‌عنوان محلول استاندارد استفاده شدند [۲۶].

روش جمع‌آوری اووسیت‌ها از موش‌های صحرایی ماده

به هر موش صحرایی ماده، یک تزریق داخل صفاقی از ۱۵ واحد بین‌المللی گنادوتروپین سرم مادبان باردار (PMSG, Boxmeer, Netherlands) ۴۸ ساعت قبل از دریافت تزریق دوم داخل صفاقی ۱۵ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفتی انسان (HCG, Folligon, Netherlands) داده شد. حیوانات دوازده تا چهارده ساعت پس از تجویز HCG با روش دررفتگی گردن اتانازی شدند. آمپول لوله‌های فالوپ خارج شدند و در یک پتری دیش حاوی ۱ میلی‌لیتر مایع لوله فالوپ انسانی (HTF, Sigma, St. Louis, USA) مکمل شده با ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلبومین سرم گاوی (BSA, Sigma, St. Louis, USA) قرار داده شدند. با استفاده از استریومیکروسکوپ (Model TL۲Olympus, Tokyo, Japan)، بخش آمپولاری لوله فالوپ شناسایی و اووسیت‌ها به‌دقت جدا شدند. این روش استاندارد با رعایت دقیق دستورالعمل‌های اخلاقی و علمی انجام گرفت، تا بالاترین کیفیت اووسیت‌ها برای مطالعات بعدی فراهم شود. تمام مراحل در شرایط کاملاً استریل و با کنترل دقیق دما و محیط کشت انجام پذیرفت تا سلامت و کیفیت اووسیت‌ها حفظ شود.

آماده‌سازی اسپرم

موش‌های صحرایی نر با روش دررفتگی مهره‌های گردنی کشته شدند تا اسپرم مورد نیاز آماده شود. سپس پوست ناحیه شکم با اتانول ۷۰ درصد (Merck, USA) ضدغفونی شد و پس از ایجاد برش در ناحیه شکمی و برداشتن بافت‌های پیوندی اطراف، بخش دنباله‌ای اپیدیدیم از بیضه‌ها جدا شد و در پتری دیش حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط mR\ECM حاوی ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر BSA، که قبلاً متعادل شده بود، قرار داده شد. پس از ایجاد چندین برش در ناحیه دنباله‌ای اپیدیدیم و اعمال فشار در مجرای دفران، خروجی اسپرم به‌مدت سی دقیقه در انکوباتور با شرایط ۵ درصد CO_2 و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس اسپرم‌ها در محیط پخش شدند. درخصوص تخمک‌گذاری و لقاح در آزمایشگاه لقاح مصنوعی، بین چهارده تا شانزده ساعت پس از تزریق HCG (صبح روز بعد)، موش‌های صحرایی ماده با روش دررفتگی مهره‌های گردنی کشته شدند و سپس آمپول لوله‌های

جدول ۱. تأثیر AM بر پارامترهای اسپرم در موش‌های صحرایی مبتلابه واریکوسل (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه	شمارش اسپرم ($\times 10^6$)	تحرك اسپرم (RPFM) (درصد)	حیات‌مندی اسپرم (درصد)	اسپرم دارای آسیب DNA (درصد)	اسپرم نابالغ (درصد)	مالون‌دی‌آلدهید (میکرومول بر گرم بافت)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (میکرومول بر گرم بافت)
کنترل	۵۳/۲۴ \pm ۶/۳ ^a	۸۸/۴۷ \pm ۱۲/۴۶ ^a	۸۹/۱۱ \pm ۵/۳۴ ^a	۶/۵۶ \pm ۰/۶۷ ^a	۱۰/۷۶ \pm ۰/۵۶ ^a	۷/۳۳ \pm ۰/۸۶ ^a	۸/۱۱ \pm ۰/۶۵ ^a

۴/۱۲±۰/۶۸ ^b	۱۴/۲۶±۰/۸۲ ^b	۱۹/۵۴±۱/۶۸ ^b	۱۸/۰۵±۱/۴۳ ^b	۵۱/۵۷±۴/۸۷ ^b	۵۱/۷۶±۳/۹۸ ^b	۲۵/۱۱±۵/۴۵ ^b	واریکوسل
۴/۹۷±۰/۳۸ ^b	۱۲/۶۲±۰/۹۰ ^b	۱۷/۸۸±۰/۸۲ ^b	۱۷/۳۴±۰/۸۸ ^b	۵۲/۶۹±۶/۷۶ ^b	۵۹/۴۸±۴/۰۶ ^c	۲۷/۰۹±۲/۱۰ ^b	واریکوسل + ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم AM
۵/۲۳±۰/۵۶ ^c	۸/۶۵±۰/۵۲ ^c	۱۱/۷۴±۰/۷۴ ^c	۹/۶۵±۰/۵۵ ^c	۷۶/۸۶±۴/۹۱ ^b	۶۹/۳۳±۷/۶۷ ^c	۴۳/۶۵±۵/۲۷ ^c	واریکوسل + ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم AM
۷/۰۴±۰/۴۳ ^c	۷/۸۹±۰/۷۴ ^c	۷/۴۵±۰/۶۳ ^c	۷/۹۹±۰/۵۸ ^c	۷۶/۹۰±۴/۷۱ ^c	۷۳/۰۲±۶/۰۳ ^c	۴۸/۳۸±۴/۰۹ ^c	واریکوسل + ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم AM

حروف فوق نویسی متفاوت نشان دهنده تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه‌ها در همان ستون است. مقایسه ابتدا بین گروه کنترل با واریکوسل انجام شد و سپس گروه‌های تیمار با AM در دوزهای مختلف با گروه واریکوسل مقایسه شدند ($p < 0.05$).

قابلیت تحرک اسپرم در گروه‌های واریکوسل تیمار شده با AM با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، سطح MDA به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه واریکوسل بودند (جدول ۱).

تغییرات در ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC)

نتایج نشان داد که پس از القای واریکوسل، کاهش معنی‌داری در ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.05$). در مقابل، گروه‌های واریکوسل تیمار شده با AM در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، افزایش معنی‌داری در ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC) نشان دادند ($p < 0.05$) (جدول ۱).

لقاح و تکوین جنینی

نتایج این مطالعه نشان داد که در موش‌های صحرایی مبتلابه واریکوسل، کاهش معنی‌داری در نرخ لقاح و درصد جنین‌های دوسلولی، بلاستوسیست و جنین‌های خارج شده از زونا پلوسیدا مشاهده شد ($p < 0.05$). همچنین، نتایج این مطالعه نشان داد که AM در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش نرخ لقاح و درصد جنین‌های دوسلولی، بلاستوسیست و جنین‌های خارج شده از زونا پلوسیدا در مقایسه با گروه واریکوسل شد. اگرچه در موش‌های صحرایی مبتلابه واریکوسل، که AM با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند، افزایشی در تعداد جنین‌های دوسلولی و جنین‌های خارج شده مشاهده شد، این تفاوت در مقایسه با گروه واریکوسل از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین، بین هر سه دوز مصرفی AM تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p < 0.05$) (جدول ۲، شکل ۱).

قابلیت تحرک اسپرم

در گروه واریکوسل، کاهش معنی‌داری در تحرک اسپرم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.05$). در گروه‌های واریکوسل تحت درمان با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم AM، بهبود معنی‌داری در تحرک اسپرم در مقایسه با گروه واریکوسل درمان نشده مشاهده شد ($p < 0.05$) (جدول ۱).

درصد اسپرم‌های نابالغ و اسپرم‌های دارای آسیب DNA

داده‌های این مطالعه نشان داد که در گروه واریکوسل، افزایش قابل توجهی در درصد اسپرم‌های نابالغ و اسپرم‌های با آسیب DNA در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد.

داده‌های این مطالعه نشان داد که در گروه واریکوسل، درصد اسپرم‌های نابالغ و اسپرم‌هایی با آسیب DNA به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($p < 0.05$). در گروه‌های واریکوسل درمان شده با AM در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم، در درصد اسپرم‌های نابالغ و اسپرم‌های دارای آسیب DNA کاهش مشاهده شد. این کاهش تنها در گروه‌های واریکوسل دریافت‌کننده AM با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در مقایسه با گروه واریکوسل معنی‌دار بود. ($p < 0.05$) (جدول ۱).

سنجش سطح MDA

القای واریکوسل به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت بیضه منجر شد که با افزایش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در گروه واریکوسل، در مقایسه با گروه کنترل مشهود بود ($p < 0.05$).

جدول ۲: تأثیر AM بر مراحل مختلف تکوین جنینی در موش‌های صحرایی مبتلابه واریکوسل (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه	لقاح (درصد)	جنین دو سلولی (درصد)	بلاستوسیست (درصد)	جنین خارج شده (درصد)
کنترل	۸۲/۵۴±۴/۶۸ ^a	۷۶/۰۴±۶/۲۳ ^a	۵۶/۷۴±۳/۲۴ ^a	۴۲/۱۸±۲/۳۹ ^a
واریکوسل	۵۱/۰۷±۵/۰۰ ^b	۳۴/۱۱±۴/۷۵ ^b	۲۱/۳۶±۲/۰۸ ^b	۱۹/۸۹±۱/۷۲ ^b
واریکوسل + ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم AM	۵۲/۶۷±۳/۸۵ ^b	۳۹/۰۸±۵/۲۳ ^b	۲۴/۰۱±۱/۵۲ ^b	۲۴/۳۳±۲/۷۴ ^b
واریکوسل + ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم AM	۷۵/۳۶±۷/۸۱ ^c	۶۵/۹۲±۶/۰۷ ^c	۴۲/۶۹±۳/۱۷ ^c	۳۲/۶۹±۴/۰۵ ^c
واریکوسل + ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم AM	۷۴/۹۱±۴/۱۳ ^c	۷۰/۲۲±۸/۰۶ ^c	۷۰/۲۲±۸/۰۶ ^c	۳۱/۷۴±۳/۸۰ ^c

حروف فوق نویسی متفاوت نشان دهنده تفاوت‌های آماری معنی‌دار بین گروه‌ها در ستون مربوطه است. مقایسه ابتدا بین گروه کنترل با واریکوسل انجام شد و سپس گروه‌های تیمار با AM در دوزهای مختلف با گروه واریکوسل مقایسه شدند ($p < 0.05$).



شکل ۱: تخمک لقاح‌یافته (A)، جنین دو سلولی (B)، جنین بلاستوسیست (C) و جنین خارج‌شده از زونا پلوسیدا (D)

ناباروری درگیرند. با این حال، این نرخ در کشورهای مختلف و در مطالعات گوناگون متفاوت است [۳۵].

مطالعات نشان داده‌اند که بروز واریکوسل با تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مرتبط است. رادیکال آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، اکسیژن سینگلت و رادیکال پراکسی نیتريت، گونه‌های بسیار واکنش‌پذیرند [۳۶]. این گونه‌ها می‌توانند با ایجاد تغییرات اکسیداتیو در لیپیدها و پروتئین‌های سلولی، آسیب‌های پاتولوژیک ایجاد کنند و به اختلال در عملکرد اسپرم منجر شوند. بنابراین، سطح ROS عامل مهمی برای ارزیابی درمان ناباروری ناشی از واریکوسل محسوب می‌شود [۳۷]. تأثیرات منفی واریکوسل بر باروری به خوبی شناخته شده است. مطالعه حاضر یافته‌های مطالعات قبلی را تأیید می‌کند که القای واریکوسل در موش‌های صحرایی به افزایش معنی‌دار سطح MDA در بافت بیضه منجر می‌شود. همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کلی در موش‌های صحرایی مبتلا به واریکوسل به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. طیف وسیعی از آنتی‌اکسیدان‌ها نیز از نظر توانایی مقابله با استرس اکسیداتیو ناشی از واریکوسل از طریق مکانیسم‌های جایگزین ارزیابی شده‌اند. مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از AM در موش‌های صحرایی مبتلا به واریکوسل موجب افزایش محتوای TAC بیضه در مقایسه با گروه کنترل می‌شود.

در مطالعه حاضر نشان دادیم که در موش‌های صحرایی مبتلا به واریکوسل القایی، اختلال در انتقال هیستون - پروتامین اسپرم، نقص در یکپارچگی DNA و در نتیجه کاهش تحرک اسپرم، افزایش می‌یابد. در نهایت، نتایج ما نشان داد که کیفیت محتوای اسپرم در اثر واریکوسل کاهش می‌یابد و میزان لقاح آزمایشگاهی کمتری را نشان می‌دهد. واریکوسل شایع‌ترین اختلال اندرولوژیک با میزان بروز ۱۰ تا ۲۰ درصد در جمعیت عمومی است [۳۷] و معمولاً در مردان

بحث

گیاهان دارویی قدیمی‌ترین شکل پزشکی هستند و به‌صورت گسترده در اشکال کاربردی پزشکی استفاده می‌شوند [۲۸]. خارشتر یک سرده از خانواده Fabaceae (بقولات) است که در بسیاری از کشورهای آسیا، اروپا و استرالیا پراکندگی دارد. این گیاه معمولاً نام‌های متعددی مانند خارشتر یا عاقل دارد [۲۹]. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که گیاه حاوی متابولیت‌های ثانویه متعددی است و آثار ضدباکتریایی، ضدالتهابی، تب‌بر، مسکن، آنتی‌اکسیدانی، گوارشی، قلبی - عروقی، ادرارآور، پوستی و بسیاری آثار دیگر از خود نشان می‌دهند [۳۰،۳۱]. مطالعات بسیار محدودی اثر عصاره آبی گیاه خارشتر را در باروری جنس نر بررسی کرده‌اند. مطالعه احمد و همکاران نشان می‌دهد گیاه خارشتر می‌تواند باعث افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم، زنده‌بودن، طبیعی‌بودن، کاهش مرگ‌ومیر، ناهنجاری و MDA در موش‌های صحرایی در معرض تتراکلرید کربن (CCl₄) شود. مطالعه قدسی و همکاران نشان می‌دهد عصاره خارشتر به کاهش قابل توجه وزن پروستات و کاهش بیان ژن‌های α -۵-ردوکتاز و گیرنده آندروژن، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و کاهش سطح مالون دی‌آلدئید پروستات منجر می‌شود [۳۲،۳۳].

امروزه، با پیشرفت‌های علمی و فناوری مشخص شده است که ناباروری تنها مشکل زنان نیست، عوامل مردانه نیز درگیرند. ناباروری به‌عنوان وضعیتی تعریف می‌شود که در آن، پس از یک سال فعالیت جنسی بدون استفاده از روش‌های پیشگیری از بارداری، حاملگی رخ ندهد. هنگام بحث درباره ناباروری، مردم عموماً بر این باورند که بیشتر مشکلات مربوط به زنان است [۳۴]. در حقیقت، نزدیک به ۳۰ درصد مشکلات ناباروری مربوط به مردان و ۲۰ درصد مشکلات مشترک بین زنان و مردان است. بنابراین، ۵۰ درصد از مردان در مشکلات مرتبط با

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات آقای کریم احمدی، کارشناس دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، تشکر می‌کنیم.

ملاحظات اخلاقی

تمامی روش‌های آزمایشگاهی مرتبط با حیوانات مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی تعیین شده توسط کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه با شناسه IR.IAU.URMIA.REC.1403.183 انجام شد.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافعی در این مقاله وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در آماده سازی این مقاله مشارکت داشتند

حمایت مالی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه با شماره پایاننامه 162948725 انجام شده است.

نابارور تشخیص داده می‌شود [۳۸]. عوامل مختلف مرتبط با واریکوسل ممکن است از طریق مسیرهای مختلفی به آسیب DNA منجر شوند که شامل موارد زیر است: استرس گرمایی، محرومیت از آندروژن و مواجهه با عوامل سمی [۳۹،۴۰،۴۱]، هیپوکسی بیضه و افزایش استرس اکسیداتیو [۴۲،۴۳]. گزارش‌های متعدد مستقل حاکی از آن است که پس از افزایش دمای اسکروتوم یا استرس اکسیداتیو شدید، سلول‌های درحال اسپرماتوژنز دچار آپوپتوز می‌شوند که این موضوع به کاهش چشمگیر سلولی در لوله‌های سمینفر (STs) پس از آپوپتوز شدید منجر می‌شود [۴۴،۴۵]. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر محافظتی *Alhagi maurorum* بر اختلال عملکرد باروری ناشی از واریکوسل در موش‌های صحرایی طراحی شد [۳۰،۳۱]. در این پژوهش، اثر تجویز AM در استرس اکسیداتیو، پارامترهای اسپرم و لقاح درون‌کشتگاهی بررسی شد. تجویز AM به مدت شصت روز، آثار نامطلوب واریکوسل بر اسپرم و باروری را کاهش داد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که مصرف خارشتر (AM) می‌تواند آثار مفیدی در استرس اکسیداتیو، پارامترهای اسپرم و تکوین جنین در موش‌های صحرایی مبتلابه واریکوسل داشته باشد.

References

- Pastuszak A, Wang R. Varicocele and testicular function. *Asian J Androl.* 2015;17(4):659-67. [DOI: 10.4103/1008-682X.153539] [PMID: 25926610]
- Agarwal A, Allamaneni SS, Nallella KP, George AT, Mascha E. Correlation of reactive oxygen species levels with the fertilization rate after in vitro fertilization: a qualified meta-analysis. *Fertil Steril.* 2005;84(1):228-31. [DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.12.057] [PMID: 16009190]
- Agarwal A, Sharma R, Harlev A, Esteves SC. Effect of varicocele on semen characteristics according to the new 2010 World Health Organization criteria: a systematic review and meta-analysis. *Asian J. Androl.* 2016;18(2):163-70. [DOI: 10.4103/1008-682X.172638] [PMID: 26780872]
- Saravanan P, Panneer P, Walter TM. Preliminary phytochemical screening and antioxidant activity of a polyherbal Siddha formulation Chandra Prakasam with reference to eye diseases. *J Res Sid Med.* 2025;8(1):65-70. [DOI: 10.4103/jrsmjrsm_18_24]
- Smith R, Kaune H, Parodi D, Madariaga M, Rios R, Morales I, et al. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Hum Reprod* 2006;21(4):986-93. [DOI: 10.1093/humrep/dei429] [PMID: 16361286]
- Bromfield EG, Aitken RJ, Anderson AL, McLaughlin EA, Nixon B. The impact of oxidative stress on chaperone-mediated human sperm-egg interaction. *Hum Reprod.* 2015;30(11):2597-613. [DOI: 10.1093/humrep/dev214] [PMID: 26345691]
- Cho KS, Seo JT. Effect of varicocelectomy on male infertility. *Korean J Urol.* 2014;55(11):703-9. [DOI: 10.4111/kju.2014.55.11.703] [PMID: 25405011]
- de Campos Freire G. Surgery or embolization for varicoceles in subfertile men. *São Paulo Med J.* 2013;131(1):67. [DOI: 10.1590/s1516-31802013000100014] [PMID: 23538601]
- Balercia G, Regoli F, Armeni T, Koverech A, Mantero F, Boscaro M. Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. *Fertil Steril.* 2005;84(3):662-71. [DOI: 10.1016/j.fertnstert.2005.03.064] [PMID: 16169400]
- Marashdah MS, Farraj AI. Pharmacological activity of 2% aqueous acetic acid extract of *Alhagi maurorum* roots. *J Saudi Chem Soc.* 2010;14(3):247-50. [DOI: 10.1016/j.jscs.2010.02.015]
- Awaad Amani AS, Maitland DJ, Soliman GA. Antitumor activity of *Alhagi maurorum*. *Pharm Biol.* 2006;44(4):292-6. [DOI: 10.1080/13880200600714160]
- Samejo MQ, Memon S, Bhangar MI, Khan KM. Chemical composition of essential oils from *Alhagi maurorum*. *Chem Nat Compd.* 2012;48(5):898-900. [DOI: 10.1007/s10600-012-0417-8]
- N Hussein N, R Marzooq T, E Al-Niaame A. The Antibacterial, antiheamolytic, and antioxidant activities of *Laurus nobilis* and *Alhagi maurorum* native to Iraq. *Baghdad Sci J.* 2019;16(3):707-12. [DOI.org/10.21123/bsj.2019]
- Zhang J, Zhang H, Xin X, Zhu Y, Ye Y, Li D. Efficacy of flavonoids on animal models of polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2022;14(19):4128. [DOI: 10.3390/nu14194128] [PMID: 36235780]
- Vuong QV, Hirun S, Phillips PA, Chuen TL, Bowyer MC, Goldsmith CD, et al. Fruit-derived phenolic compounds and pancreatic cancer: perspectives from Australian native fruits. *J*

- ethnopharmacol. 2014;152(2):227-42. [DOI: 10.1016/j.jep.2013.12.023] [PMID: 24463158]
16. Jenča A, Mills DK, Ghasemi H, Saberian E, Jenča A, Karimi Forood AM, et al. Herbal therapies for cancer treatment: a review of phytotherapeutic efficacy. *Biologics*. 2024;18:229-55. [DOI: 10.2147/BTT.S484068] [PMID: 39281032]
 17. Pyo YH, Lee TC, Logendra L, Rosen RT. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food chem*. 2004;85(1):19-26. [DOI: 10.1016/S0308-8146(03)00294-2]
 18. Niyomchan A, Chatgat W, Chatawatee B, Keereekoch T, Issuriya A, Jaisamut P, et al. Safety evaluation of the polyherbal formulation NawaTab: acute and subacute oral toxicity studies in rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2023;2023:9413458. [DOI: 10.1155/2023/9413458] [PMID: 37528898]
 19. Sun F, Hayami S, Ogiri Y, Haruna S, Tanaka K, Yamada Y, et al. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1500(2):181-5. [DOI: 10.1016/S0925-4439(99)00100-3] [PMID: 10657587]
 20. Yang CS, Landau JM, Huang MT, Newmark HL. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu Rev Nutr*. 2001;1(1):381-406. [DOI: 10.1146/annurev.nutr.21.1.381] [PMID: 11375442]
 21. Sheweita SA, Mashaly S, Newairy AA, Abdou HM, Eweda SM. Changes in oxidative stress and antioxidant enzyme activities in streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats: role of *Alhagi maurorum* extracts. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:5264064. [DOI: 10.1155/2016/5264064] [PMID: 26885249]
 22. Rahmanifar G, Khaki A, Teymoori A, Khatami A, Rezaei A. Protective effect of anthocyanin on testicular damage and oxidative stress induced by experimental varicocele in adult rats: a histological and biochemical study. *Crescent J Med Biol Sci*. 2024;11(3):147-53. [DOI: 10.34172/cjmb.2023.4005]
 23. Ghanbari M, Mortazavi SB, Khavanin A, Khazaei M. Simultaneous effects of exposure to microwaves and noise on male rats' sperm parameters and total antioxidant capacity. *Health Scope*. 2012;1(4):178-84. [DOI: 10.5812/jhs.8230]
 24. Momeni HR, Daneshpajoh F. Protective effect of vitamin e on sperm parameters in adult rat treated with para-nonylphenol (In Persian). *J Cell Tissue*. 2012;2(4):415-24. [Link]
 25. Najafi GR, Razi M, Hoshyar A, Shahmohammadloo S, Feyzi S. The effect of chronic exposure with imidacloprid insecticide on fertility in mature male rats. *Int J Steril Fertil* 2010;9(1):9-16. [DOI: 10.22074/IJFS.2010.45815]
 26. Müller L, Fröhlich K, Böhm V. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (α TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. *Food Chem*. 2011;129(1):139-48. [DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.04.045]
 27. Hosseinchi M, Soltanalinejad F, Najafi G, Roshangar L. Effect of gibberellic acid on the quality of sperm and in vitro fertilization outcome in adult male rats. *Vet Res Forum*. 2013;4(4):259-64 [PMID: 25568681]
 28. Neamah NF. A pharmacological evaluation of aqueous extract of *Alhagi maurorum*. *Glob J Pharmacol*. 2012;6(1):41-46. [Link]
 29. Loizzo M, Rashed K, Said A, Bonesi M, Menichini F, Tundis R. Antiproliferative and antioxidant properties of *Alhagi maurorum* Boiss (Leguminosae) aerial parts. *Indus Crop Prod*. 2014;53(1):289-95. [DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.12.049]
 30. Muhammad G, Hussain MA, Anwar F, Ashraf M, Gilani AH. *Alhagi*: a plant genus rich in bioactives for pharmaceuticals. *Phytother Res*. 2015;29(1):1-13. [DOI: 10.1002/ptr.5222] [PMID: 25256791]
 31. Al-Snafi A. *Alhagi maurorum* as a potential medicinal herb: an overview. *Int J Pharm Rev Res*. 2015;5(2):130-6. [Link]
 32. Ahmed MA. Protective effect of aqueous extract of *Alhagi maurorum* in spermatogenesis and antioxidant status of adult rats exposed to carbon tetrachloride. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 2019;33(1):1-7. [Link]
 33. Ghodsi V, Raad SA, Ebrahimi M, Parham A. Evaluation of camelthorn (*Alhagi maurorum*) as a feed replacement for *Alfalfa* hay on ram reproductive performance. *Trop Anim Health Prod* 2025;57(4):212. [DOI: 10.1007/s11250-025-04459-8] [PMID: 40335878]
 34. Hanson B, Johnstone E, Dorais J, Silver B, Peterson CM, Hotaling J. Female infertility, infertility-associated diagnoses, and comorbidities: a review. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34(2):167-77. [DOI: 10.1007/s10815-016-0836-8] [PMID: 27817040]
 35. Hajjshafiha M, Garehagaji R, Salemi S, SadeghAsadi N. A Survey of Association among BMI with Semen Factors and Sex Hormones in Men (in Persian). *Med J Mashhad Univ Med Sci*. 2012;55:102-9. [DOI: 10.22038/MJMS.2012.5297]
 36. Asadi N, Kheradmand A, Gholami M, Moradi FH. Effect of ghrelin on the biochemical and histopathology parameters and spermatogenesis cycle following experimental varicocele in rat. *Andrologia*. 2018;50(10):e13106. [DOI: 10.1111/and.13106] [PMID: 30003582]
 37. Smith R, Kaune H, Parodi D, Madariaga M, Ríos R, Morales I, et al. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Hum Reprod* 2006;21(4):986-93. [DOI: 10.1093/humrep/dei429] [PMID: 16361286]
 38. Cannarella R, Calogero AE, Condorelli RA, Giacone F, Aversa A, La Vignera S. Management and treatment of varicocele in children and adolescents: an endocrinologic perspective. *J Clin Med*. 2019;8(9):1410. [DOI: 10.3390/jcm8091410] [PMID: 31500355]
 39. Majzoub A, Esteves SC, Gosálvez J, Agarwal A. Specialized sperm function tests in varicocele and the future of andrology laboratory. *Asian J Androl*. 2016;18(2):205-12. [DOI: 10.4103/1008-682X.172642] [PMID: 26780873]
 40. Pastuszak AW, Wang R. Varicocele and testicular function. *Asian J Androl*. 2015;17(4):659-67. [DOI: 10.4103/1008-682X.153539] [PMID: 25926610]
 41. Ok F, Erdogan O, Durmus E. Can pre-operative gonadotropin and testosterone levels predict the success of varicocelectomy? *Andrologia*. 2020;52(11):e13887. [DOI: 10.1111/and.13887] [PMID: 33125763]
 42. Benoff SH, Millan C, Hurley IR, Napolitano B, Marmar JL. Bilateral increased apoptosis and bilateral accumulation of cadmium in infertile men with left varicocele. *Hum Reprod* 2004;19(1):616-27. [DOI: 10.1093/humrep/deh139] [PMID: 14998961]
 43. Li H, Dubocq F, Jiang Y, Tiguert R, Gheiler EL, Dhabuwala CB. Effect of surgically induced varicocele on testicular blood flow and Sertoli cell function. *Urology*. 1999;53:1258-62. [DOI: 10.1016/S0090-4295(99)00013-8] [PMID: 10367865]
 44. Cho CL, Esteves SC, Agarwal A. Novel insights into the pathophysiology of varicocele and its association with reactive oxygen species and sperm DNA fragmentation. *Asian J androl*. 2016;18(2):186-93. [DOI: 10.4103/1008-682X.170441] [PMID: 26732105]
 45. Fallara G, Capogrosso P, Pozzi E, Belladelli F, Corsini C, Boeri L,

et al. The effect of varicocele treatment on fertility in adults: a systematic review and meta-analysis of published prospective

trials. Eur Urol Focus. 2023;9(1):154-61.
[\[DOI: 10.1016/j.euf.2022.08.014\]](https://doi.org/10.1016/j.euf.2022.08.014) [\[PMID: 36151030\]](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36151030/)