

Research Article**Effect of Berberine on Sperm Profile in Varicocele-Induced Rats****Sogol Fami Tafreshi¹, Akram Eidi^{1*}, Pejman Mortazavi², Ahmad Asghari³**

1- Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Veterinary Pathology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3- Department of Veterinary Clinical Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Corresponding author: akeidi@iau.ac.ir

Received: 23 November 2024

Accepted: 31 May 2025

DOI: 10.60833/ascij.2025.1191336

Abstract

Berberine (C₂₀H₁₉NO) is a quaternary isoquinoline extracted from a variety of medicinal plants including *Berberis aquifolium*, *Berberis aristata*, *Phellodendron amurense*, *Berberis vulgaris* and *Hydrastis canadensis*. This substance has many medicinal properties including antihypertensive, antianxiety, antihyperglycemic, antidepressant, analgesic, anticancer, antioxidant, neuroprotective, anti-inflammatory, antiarrhythmic and cholesterol-lowering. In the present study, the protective effects of berberine on sperm profile in varicocele-induced mice were evaluated. The animals were randomly divided into 9 groups: healthy control, sham, healthy experimental receiving berberine at doses of 25, 50 and 100 mg/kg body weight, varicocele control and experimental varicocele varicocele mice treated with berberine at doses of 25, 50 and 100 mg/kg body weight. After 30 days of treatment, the animals were anesthetized and sperm parameters were examined. The results showed that varicocele induction significantly reduced sperm motility, viability, and count compared to the healthy control group. In addition, sperm abnormalities were significantly increased in varicocele-induced mice. Berberine treatment at doses of 50 and 100 mg/kg body weight significantly increased all sperm quality parameters and reduced the adverse effects of varicocele induction. Berberine treatment did not significantly change sperm characteristics in healthy mice. Therefore, the findings indicate that berberine may have therapeutic potential on the male reproductive system as an antioxidant and has potential clinical application for the treatment of varicocele disorders.

Keywords: Berberine, Varicocele, Sperm, Infertility, Rat.

اثر بربرین بر پارامترهای اسپرم در ناباروری القا شده توسط واریکوسل در موش‌های صحرایی نر

سوگل فمی تفرشی^۱، اکرم عیدی^{۱*}، پژمان مرتضوی^۲، احمد اصغری^۳

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه پاتوبیولوژی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*مستول مکاتبات: akeidi@iau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۰۳

DOI: 10.60833/ascij.2025.1191336

چکیده

بربرین ($C_{20}H_{19}NO$) یک ایزوکینولین چهارتایی است که از انواع گیاهان دارویی از جمله *Berberis aquifolium*، *Berberis aristata*، *Phellodendron amurense*، *Berberis vulgaris* و *Hydrastis canadensis* استخراج می‌شود. این ماده از خواص دارویی فراوانی از جمله ضد فشار خون بالا، ضد اضطراب، ضد افزایش قند خون، ضد افسردگی، ضد درد، ضد سرطان، آنتی اکسیدان، محافظت از مغز و اعصاب، ضد التهاب، ضد اریتمی و کاهش کلسترول برخوردار است. در تحقیق حاضر، اثرات حفاظتی بربرین بر پروفایل اسپرم در موش‌های با القا واریکوسل ارزیابی گردید. حیوانات به صورت تصادفی به ۹ گروه تقسیم گردیدند: کنترل سالم، شم، تجربی سالم با دریافت بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، کنترل واریکوسل و تجربی واریکوسل موش‌های واریکوسلی با تیمار بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن. پس از ۳۰ روز تیمار، حیوانات بیهوش گردیده و پارامترهای اسپرم بررسی شد. نتایج نشان داد که القای واریکوسل به صورت معنی‌داری باعث کاهش تحرک، زنده‌مانی و تعداد اسپرم در مقایسه با گروه کنترل سالم شد. علاوه بر این، ناهنجاری‌های اسپرم به صورت معنی‌داری در موش‌های القا شده با واریکوسل افزایش یافته است. تیمار بربرین در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن به صورت معنی‌داری در تمام پارامترهای کیفیت اسپرم موجب افزایش گردید و اثرات نامطلوب القای واریکوسل را کاهش داد. تیمار بربرین تغییر معنی‌داری در ویژگی‌های اسپرم در موش‌های سالم ایجاد نکرد. بنابراین، یافته‌ها نشان می‌دهد که بربرین احتمالاً دارای پتانسیل درمانی بر سیستم تولیدمثلی مردان به عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌باشد و کاربرد بالینی بالقوه‌ای برای درمان اختلالات واریکوسل دارد.

کلمات کلیدی: بربرین، واریکوسل، اسپرم، ناباروری، موش صحرایی.

مقدمه

می‌شود. واریکوسل در ۱۵ درصد جمعیت عمومی اتفاق می‌افتد و اولین بار در بزرگسالی پدیدار می‌شود (۱). واریکوسل اغلب در مردان نابارور شناسایی می‌شود و در ۴۴ درصد از مردان مبتلا به ناباروری

واریکوسل مجموعه‌ای از سیاهرگ‌های پریپچ و خم شبکه پامپینی‌فرم است که به طور غیرطبیعی بزرگ شده‌اند. این شبکه از وریدها تخلیه بیضه‌ها را فراهم می‌کند و با یک سیاهرگ اسپرماتیک داخلی ادغام

مضری بر بافت‌های مختلف انسان و همچنین بر روی مدل‌های حیوانی ندارد (۶). در مطالعه حاضر اثرات بربرین بر پارامترهای اسپرم در موش‌های صحرایی مدل واریکوسل مورد بررسی قرار داده شد.

مواد و روش‌ها

موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم در یک محیط کنترل شده، در دمای ۲۰±۲۳ درجه سانتیگراد و رطوبت ۵±۵ درصد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفته و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. مطالعه حاضر با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1402.210 به ثبت رسیده است. حیوانات در این مطالعه ابتدا با تزریق کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بصورت تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند. القاء مدل واریکوسل به روش Turner انجام گردید که بر گرفته از پدیده فندق‌شکن (Nutcracker Phenomenon) است. حیوانات در حالت سوپاین قرار گرفتند و یک برش در خط وسط بصورت عمودی در شکم در حدود ۳-۴ سانتی‌متر ایجاد شد. پس از باز کردن شکم، احشای شکمی با کمک یک گاز خیس به آرامی به طرف راست بدن انتقال یافتند. یافتن ورید کلیوی چپ و محل ورود ورید اسپرماتیک داخلی به آن صورت گرفت و سپس اطراف ورید کلیوی چپ باز گردید. به موازات ورید کلیوی یک سرسوزن به قطر ۰/۸۵ میلی‌متر قرار داده شد و بوسیله نخ سیلک ۴ صفر روی ورید کلیوی چپ گره زده شد به طوریکه محل گره بعد از محل ورود اسپرماتیک داخلی به ورید کلیوی باشد. بعد از ایجاد گره، سر سوزن خارج گردیده تا ورید به حالت اولیه خود برگردد. با این کار، قطر ورید کلیوی تا ۵۰ درصد کاهش یافته و باعث می‌شود که فشار داخل وریدی افزایش یابد و به ورید اسپرماتیک چپ انتقال

اولیه وجود دارد. همچنین معمولاً در ۸۱-۴۵ درصد از مردان مبتلا به ناباروری ثانویه یافت می‌شود، زیرا تصور می‌شود که واریکوسل در طول زمان اثرات سویی بر عملکرد بیضه دارد (۲). در حالی که رابطه دقیق بین واریکوسل و ناباروری هنوز به طور کامل مشخص نشده است، واریکوسل می‌تواند بر غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرم و همچنین یکپارچگی DNA اسپرم تأثیر منفی بگذارد. مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژی این بیماری بطور دقیق شناخته نشده است اما می‌توان به استرس اکسیداتیو، هیپوترمی اسکروتال، رفلکس متابولیت‌ها، آپوپتوزیس اشاره کرد (۳). استرس اکسیداتیو عامل اختلال در تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و ظرفیت بافری آنتی‌اکسیدان‌ها است (۴). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث آسیب به غشای اسپرم و DNA شود، اسپرم‌زایی را مختل کرده و تحرک اسپرم را کاهش دهد (۴). روش‌های درمانی متفاوتی مانند واریکوسلکتومی بطور معمول برای مردان واریکوسلی انجام می‌گردد که اگرچه پارامترهای اسپرمی و هورمونی را بهبود می‌بخشد به همین دلیل وجود عوارض بسیار در اثر واریکوسلکتومی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های معمولاً می‌تواند پارامترهای اسپرمی را بهبود بخشد (۵). بربرین آلکالوئیدی است که در گیاهانی از جمله زرشک (*Berberis vulgaris*)، عصاره ریشه قبیطی چینی (*Coptis chinensis*) و خوک طلائی (*Hydrastis canadensis*) یافت می‌شود. بربرین دارای ویژگی‌های دارویی متعددی از جمله خواص ضد اضطراب، ضد التهاب، ضد افسردگی، ضد درد و ضد فراموشی است. اثرات درمانی بربرین بر ایسکمی مغزی و سکنه نشان داده شده است. علاوه بر این، اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی بربرین نیز قبلاً گزارش شده است و نشان داده شده است که بربرین هیچ اثر

یابد و واریکوسل ایجاد گردد. احشای شکمی به آرامی به محل خود باز گردانده شدند و محل برش شکمی بوسیله نخ ۴ صفر سیلک بخیه زده شد و آنتی-بیوتیک تتراسایکلین به محل بخیه زده شد (۷). حیوانات در ۹ گروه به صورت تصادفی تقسیم بندی شدند، هر گروه شامل ۶ سر موش بودند. ۱- گروه کنترل سالم که حیوانات هیچ گونه درمان و مداخله ای دریافت نکردند. ۲- گروه شم، حیوانات در این گروه تحت عمل جراحی قرار گرفتند ولی القای واریکوسل در آنها صورت نگرفت. ۳ تا ۵- گروه‌های تجربی سالم که بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. ۶- گروه کنترل نابارور که القای واریکوسل در این گروه حیوانات صورت گرفت. ۷ تا ۹- گروه‌های تجربی نابارور حیوانات با القای واریکوسل نابارور شده و بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. مدت تیمار ۲۸ روز و بصورت گاوژ بود. پس از ۲۸ روز حیوانات بیهوش شدند و برای جمع‌آوری نمونه‌های اسپرم، اپی دیدیم چپ در شرایط استریل جدا شد و درون فالكون حاوی ۱ میلی لیتر محلول T6 + حاوی ۱۰ درصد BSA ۱۵ درصد که از قبل در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد قرار داده شد و اپی دیدیم به قطعاتی تقسیم شد. با مشاهده محلول همگن اطمینان از استخراج اسپرم‌ها حاصل شد. برای تخلیه کامل اسپرم‌ها درون محلول، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد ۵ درصد CO_2 قرار داده شد. مایع کدر رنگی حاصل شد که برای مخلوط کردن چندبار پیپت شد. ۱۰ میکرولیتر از محلول حاصل بر روی لام گذاشته شد. برای بررسی تعداد اسپرم‌ها از لام هماسیتومتر استفاده شد. محلولی حاوی ۵ میکرولیتر فرمالین (شامل $NaHCO_3$ ۵ درصد و تریپان بلوی ۰/۲۵ درصد) با ۹۵ میکرولیتر محلول اسپرم مخلوط

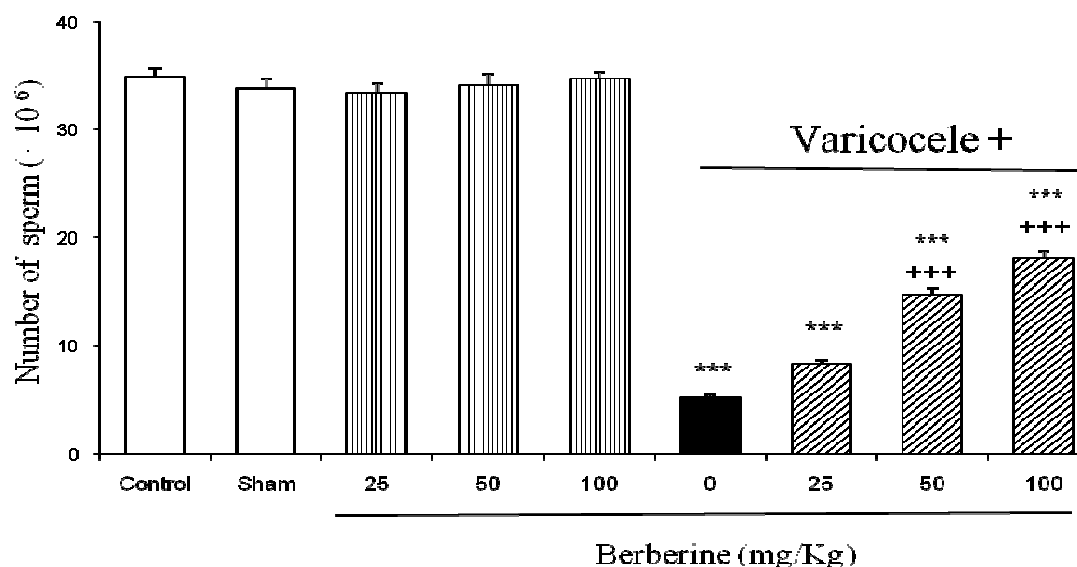
شد. این مخلوط، در لام بارگذاری شد. ۴ مربع ۱۶ خانه‌ای (متوسط) از لام هماسیتومتر با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ مورد شمارش قرار گرفت (۸). از رنگ‌آمیزی اتوزین-نکروزین برای بررسی میزان زنده‌مانی اسپرم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. از نسبت ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون اسپرم به ۱۰۰ میکرولیتر محلول استفاده شد. اتوزین ۱ درصد به میکروتیوب وارد شد و به دنبال آن محلول فوق به مدت ۳۰ ثانیه در مجاورت ۱۵۰ میکرولیتر نکروزین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از یکنواخت شدن رنگ و سوسپانسیون اسپرم، یک قطره از سوسپانسیون رنگ شده روی لام گذاشته شد و اسمیر ایجاد شد. اسمیر حاصل در هوا خشک شده و مستقیماً زیر میکروسکوپ (CKX41; Olympus, Tokyo, Japan) با بزرگنمایی ۱۰۰۰ مورد بررسی قرار گرفت و ۲۰۰ اسپرم در یک زمان شمارش گردید. به این صورت که اسپرم‌های مرده به رنگ صورتی تا قرمز در می آیند و اسپرم‌های زنده بدون رنگ می‌مانند (۵). جهت بررسی تحرک اسپرم، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپرم بر روی لامی که از قبل گرم شده بود گذاشته شد. ۱۰ میدان میکروسکوپی با استفاده از یک میکروسکوپ معمولی با بزرگنمایی ۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفت. سه نوع حرکت پیشرونده (Progressive Motility)، حرکت غیرپیشرونده (Non-progressive motility) و بدون‌تحرک (Immotile) مورد بررسی قرار گرفت. درصد تحرک اسپرم با کمک میکروسکوپ کنتراست فاز معکوس ثبت گردید (۵). برای بررسی مورفولوژی اسپرم یک قطره از سوسپانسیون اسپرم بر روی لام گذاشته شد و در هوا خشک شد. اسلاید با الکل ۹۵ درصد تثبیت شد و سپس طبق پروتکل Sperm Blue رنگ‌آمیزی انجام گرفت. ۳۰۰ اسپرم در هر حیوان از نظر شکل با بزرگنمایی ۱۰۰ بررسی شد و درصد اسپرم‌های

حرکت پیشرونده، حرکت غیر پیشرونده و زنده‌مانی و مورفولوژی اسپرم در حیوانات گروه کنترل واریکوسل در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی‌داری نشان داد. درصد اسپرم‌های غیر پیشرونده و بدون حرکت در حیوانات گروه کنترل واریکوسل در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری در سطح $0/001$ $p <$ ایجاد نمود. از طرفی، تیمار با بربرین در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن موجب بهبود در پارامترهای فوق گردید. نمودارهای ۱ تا ۶ اثر تیمارها بر پارامترهای مختلف را نشان می‌دهند.

غیرطبیعی ثبت شد (۹). داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ گزارش شدند. مقایسه آماری جهت داده‌های کمی به روش ANOVA دوطرفه انجام شد و از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید.

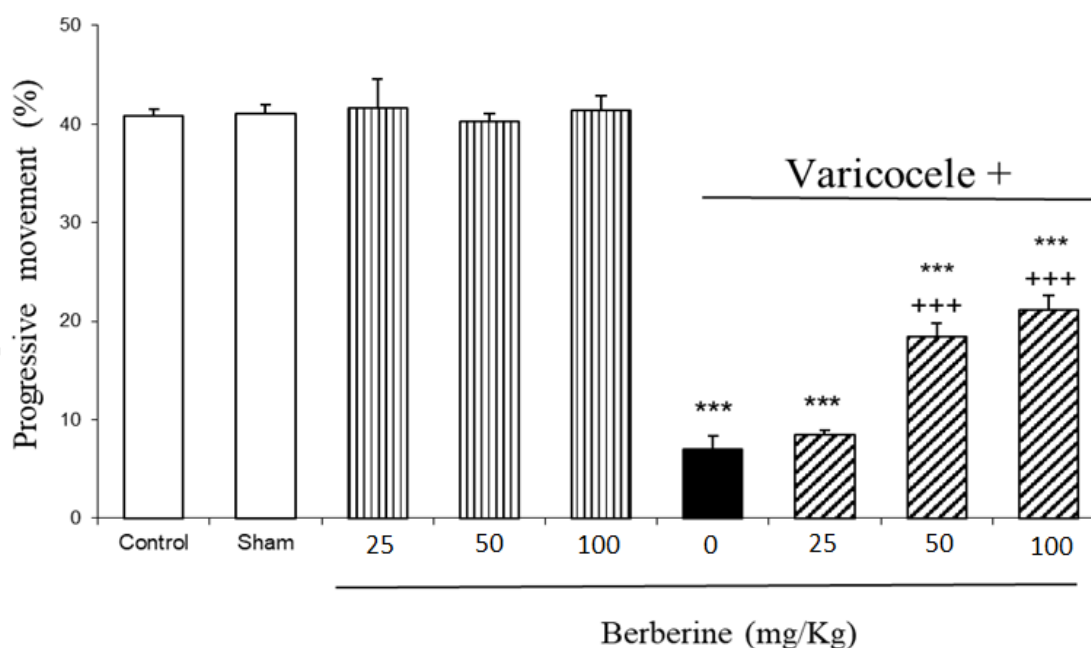
نتایج

پژوهش حاضر نشان داد که تیمار حیوانات سالم با بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، تغییر معنی‌داری در تعداد، حرکت پیشرونده، اسپرم‌های بدون حرکت، زنده‌مانی و مورفولوژی اسپرم در مقایسه با حیوانات گروه کنترل سالم ایجاد نکرد. نتایج گویای آن است که تعداد،



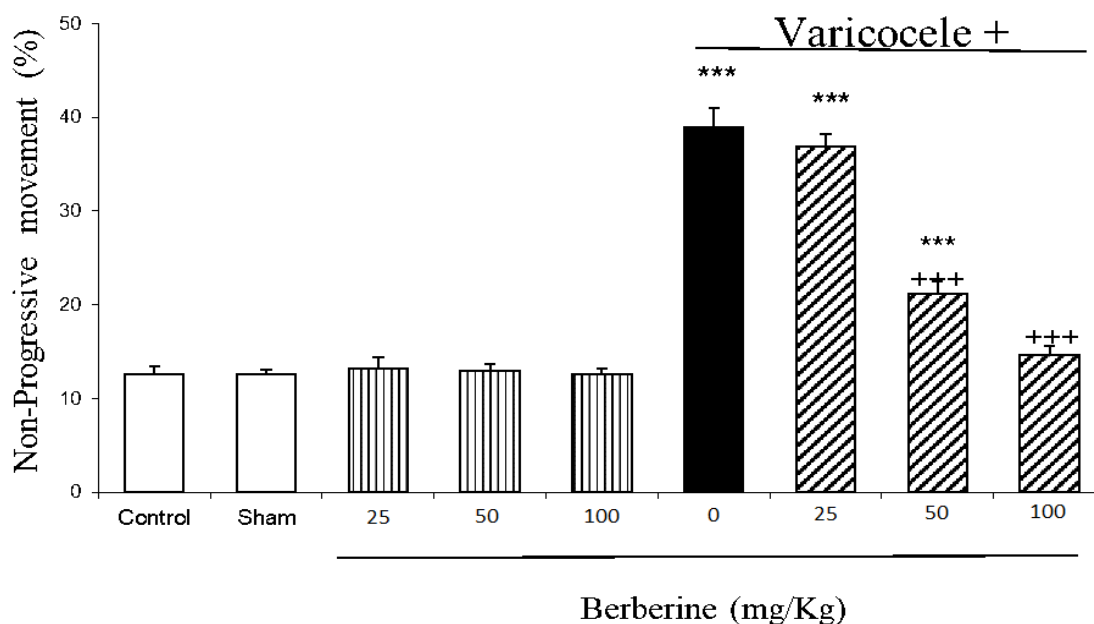
نمودار ۱- اثر تیمار خوراکی بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن بر تعداد اسپرم در رت‌های نر سالم و نابارور القا شده توسط واریکوسل. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین برای ۶ سر رت در هر گروه ارائه شده است. $0/001 < p < ***$ اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. $0/001 < p < +++$ اختلاف از گروه کنترل واریکوسل را نشان می‌دهد.

Fig. 1. Effect of oral berberine treatment at doses of 25, 50 and 100 mg/kg body weight on sperm count in healthy and infertile male rats induced by varicocele. Results are presented as $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ for 6 rats in each group. $***p < 0.001$ indicates difference from healthy control group. $+++p < 0.001$ indicates difference from varicocele control group.



نمودار ۲- اثر تیمار خوراکی بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن بر حرکت پیشرونده اسپرم در رت-های نر سالم و نابارور القا شده توسط واریکوسل. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین برای ۶ سر رت در هر گروه ارائه شده است. $p < 0/001$ *** اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. $p < 0/001$ +++ اختلاف از گروه کنترل واریکوسل را نشان می‌دهد.

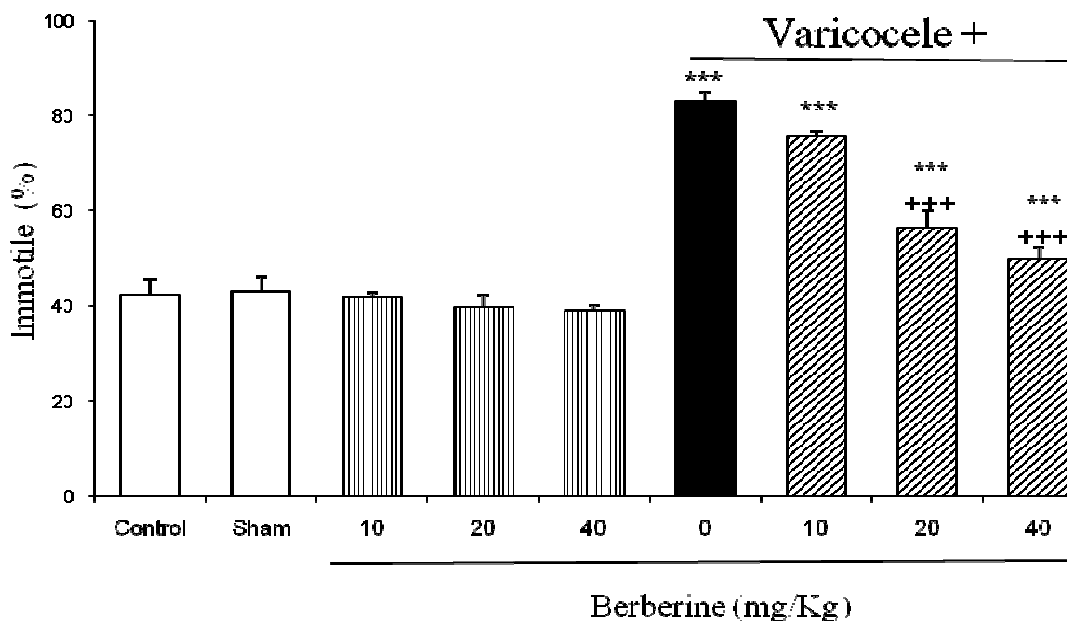
Fig. 2. Effect of oral barbering treatment at doses of 25, 50 and 100 mg/kg body weight on sperm motility in healthy and infertile male rats induced by varicocele. Results are presented as Mean $\pm$ SEM for 6 rats in each group. *** $p < 0.001$ indicates difference from healthy control group. +++ $p < 0.001$ indicates difference from varicocele control group.



نمودار ۳- اثر تیمار خوراکی بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن بر حرکت غیرپیشرونده اسپرم در

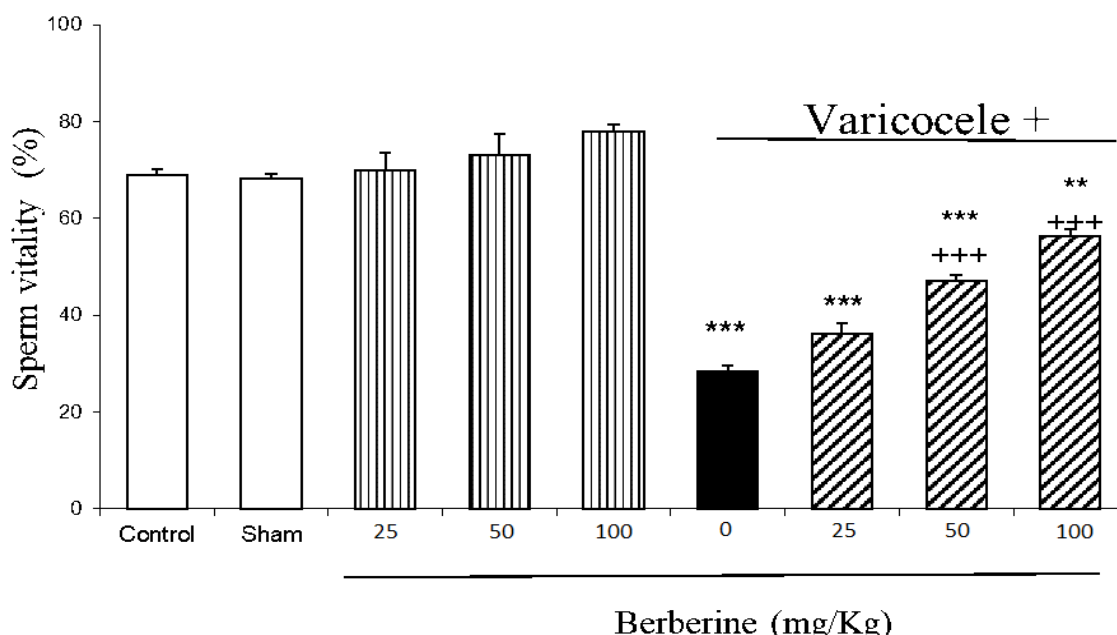
رت‌های نر سالم و نابارور القا شده توسط واریکوسل. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین برای ۶ سر رت در هر گروه ارائه شده است. $p < 0.001$ *** اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. $p < 0.001$ +++ اختلاف از گروه کنترل واریکوسل را نشان می‌دهد.

Fig. 3. Effect of oral barbering treatment at doses of 25, 50 and 100 mg/kg body weight on non-progressive sperm motility in healthy and infertile male rats induced by varicocele. Results are presented as Mean $\pm$ SEM for 6 rats in each group. *** $p < 0.001$ indicates difference from healthy control group. +++ $p < 0.001$ indicates difference from varicocele control group.



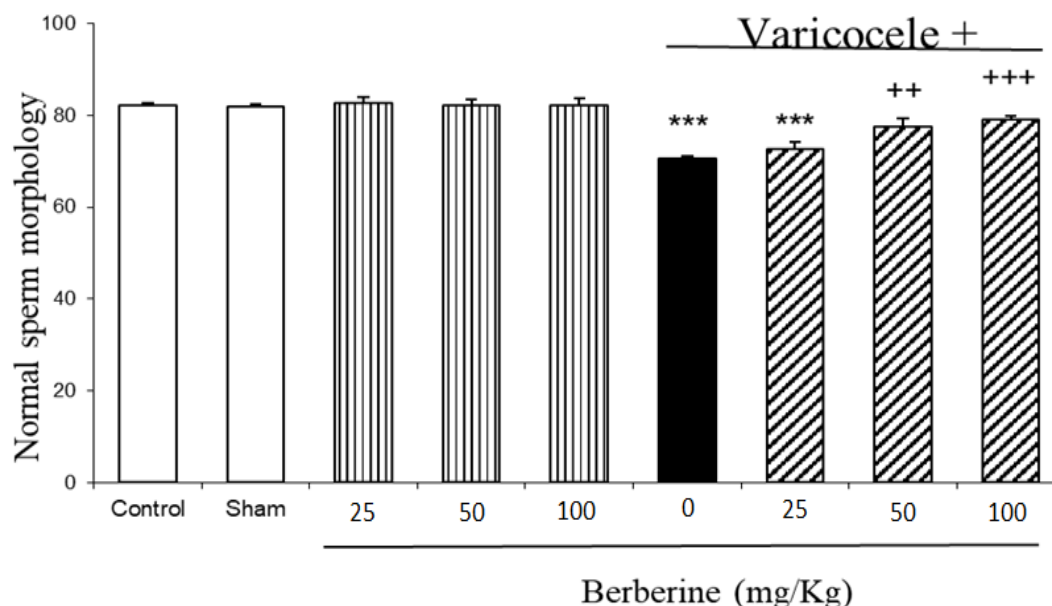
نمودار ۴- بررسی اثر تیمار خوراکی بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن بر تعداد اسپرم‌های بدون حرکت در رت‌های نر سالم و نابارور القا شده توسط واریکوسل. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین برای ۶ سر رت در هر گروه ارائه شده است. $p < 0.001$ *** اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. $p < 0.001$ +++ اختلاف از گروه کنترل واریکوسل را نشان می‌دهد.

Fig 4. Study of the effect of oral barbering treatment at doses of 25, 50 and 100 mg/kg body weight on the number of non-motile sperm in healthy and infertile male rats induced by varicocele. Results are presented as Mean $\pm$ SEM for 6 rats in each group. *** $p < 0.001$ indicates difference from the healthy control group. +++ $p < 0.001$ indicates difference from the varicocele control group.



نمودار ۵- اثر تیمار خوراکی بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن بر زنده‌مانی اسپرم در رت‌های نر سالم و نابارور القا شده توسط واریکوسل. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین برای ۶ سر رت در هر گروه ارائه شده است. $p < 0.001$ ، $***$ ؛ $p < 0.01$ ، $**$ اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. $p < 0.001$ ، $+++$ اختلاف از گروه کنترل واریکوسل را نشان می‌دهد.

Fig. 5. Effect of oral barbering treatment at doses of 25, 50 and 100 mg/kg body weight on sperm viability in healthy and infertile male rats induced by varicocele. Results are presented as Mean $\pm$ SEM for 6 rats in each group. $***p < 0.001$, $**p < 0.01$ indicates difference from healthy control group. $+++p < 0.001$ indicates difference from varicocele control group.



نمودار ۶- اثر تیمار خوراکی بربرین در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن بر مرفولوژی اسپرم در رت‌های نر سالم و نابارور القا شده توسط واریکوسل. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین برای ۶ سر رت در هر گروه ارائه شده است.

شده است. $p < 0/001$ *** اختلاف از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد. $p < 0/001$ +++، $p < 0/01$ ++ اختلاف از گروه کنترل واریکوسل را نشان می‌دهد.

Fig. 6. Effect of oral berberine treatment at doses of 25, 50 and 100 mg/kg body weight on sperm morphology in healthy male rats and infertile male rats induced by varicocele. Results are presented as Mean $\pm$ SEM for 6 rats in each group. *** $p < 0.001$ indicates difference from the healthy control group. +++ $p < 0.01$ indicates difference from the varicocele control group.

بحث

پروستاگلاندین‌ها سبب کاهش تعداد سلول‌های لیدیگ و کاهش سطح هورمون تستوسترون می‌گردد. تستوسترون برای بلوغ لوله‌های منی ساز لازم است و ترشح آن سبب گسترش و رشد لوله‌های منی‌ساز می‌شود (۱۴). به نظر می‌رسد که هیپوکسی و استرس اکسیداتیو ناشی از واریکوسل ممکن است باعث کاهش حرکت پیشرونده اسپرم‌ها شوند. تحرک اسپرم یکی از عوامل اصلی تعیین کننده در ظرفیت اسپرم برای عبور از لوله‌های فالوپ به منظور لقاح است. آنتی‌اکسیدان‌ها با تنظیم عملکردهای مختلف بر روی حرکت اسپرم موثر واقع می‌شوند (۱۵). رسپتورهای جهت بیان آنزیم سیکلواکسیژناز و پروستاگلاندین E2 در سلول‌های اسپرماتوژنیک وجود دارد که تولید پروستاگلاندین‌ها به‌خصوص پروستاگلاندین E2 در سلول‌های اسپرم‌ساز بر مورفولوژی اسپرم تاثیر می‌گذارد و میزان باروری را کاهش می‌دهند. اینترفرون گاما، اینترلوکین-۱۰ و اینترلوکین-۸ باعث لیپید پراکسیداسیون در غشا اسپرم شده و میزان MDA را افزایش می‌دهند که در نهایت سبب کاهش ظرفیت اسپرم و ناباروری می‌گردند (۱۶). همچنین شاخص‌های التهابی دخیل در بیماری واریکوسل سبب افزایش میزان تولید نیتریک اکساید می‌شوند که تحرک اسپرم را کاهش می‌دهند (۱۷). خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی ناشی از بربرین و همچنین اثر غیرسمی آن بر بافت‌های انسانی، آن را به عنوان یک عامل درمانی تازه کشف شده تبدیل کرده است. مسیرهای

نتایج این مطالعه نشان داد که القا واریکوسل باعث کاهش تعداد اسپرم، حرکت پیشرونده، افزایش اسپرم‌های غیرپیشرونده یا بدون حرکت شده است. از طرفی القا واریکوسل سبب کاهش تعداد اسپرم با مورفولوژی طبیعی گردید. تیمار بربرین در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم باعث بهبود پارامترهای اسپرمی می‌شود. القا واریکوسل با ایجاد تغییرات در پارامترهای اسپرم توسط مکانیسم‌های زمینه‌ای مختلف از جمله استرس اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوز منجر به ناباروری می‌گردد (۱۰). در مطالعه‌ای توسط Russo در سال ۲۰۲۴ صورت گرفته است نقش بالقوه استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بیضه با آسیب واریکوسل تایید گردیده است (۱۰). القا واریکوسل مرتبط با افزایش استرس اکسیداتیو است که با افزایش سطوح MDA در بافت بیضه می‌باشد. MDA محصول جانبی پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از عدم تعادل ROS است و به عنوان نشانگر استرس اکسیداتیو عمل می‌کند. در مراحل اولیه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند تا حدی کیفیت پارامترهای اسپرمی را بهبود ببخشد (۱۰). تحرک اسپرم در بسیاری از مردان نابارور مبتلا به واریکوسل به تنهایی یا همراه با سایر پارامترهای اسپرمی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۱). Gabriela و همکاران نشان دادند که واریکوسل باعث کاهش تحرک اسپرم می‌شود و تعداد اسپرم‌های با شکل غیرطبیعی در گروه واریکوسل بیشتر است (۱۲، ۱۳). واریکوسل با افزایش سطح

سیگنالینگ که از طریق آن بربرین اثرات خود را اعمال می‌کند حائز اهمیت می‌باشد. بربرین استرس اکسیداتیو را از طریق القای مسیر فاکتور هسته‌ای فاکتور ۲ (Nrf2) مرتبط با اریترئید ۲ سرکوب می‌کند. Nrf2 یک فاکتور رونویسی است که منجر به رونویسی آنزیم‌های فاز II و ژن‌های پروتئین‌های محافظ سلولی مانند NAD(P)H کینون اکسیدوردوکتاز-۱ (NQO-1) و هم اکسیژناز-۱ می‌شود. (HO-1) با طیف گسترده‌ای از فعالیت‌ها در تنظیم حالت ردوکس و متابولیسم انرژی در سلول‌ها نقش دارد. Nrf2 به‌عنوان یک واسطه مهم بربرین در کاهش استرس اکسیداتیو شناخته شده است، زیرا مسدود کردن Nrf2 فعالیت آنتی‌اکسیدانی بربرین را از بین می‌برد. بربرین از طریق مکانیسم‌های پیچیده التهاب را سرکوب می‌کند. علاوه بر فعالیت آنتی-اکسیدانی، مسیر AMPK نیز برای اثر ضدالتهابی بربرین مهم است. مسدود کردن AMPK می‌تواند اثر مهار بربرین را بر تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند نیتریک اکسید سنتاز القایی (iNOS) و COX2 در ماکروفاژها از بین ببرد (۱۸). از بربرین به علت داشتن خواص آنتی‌اکسیدان، ضد آپوپتوز و ضد ایسکمی می‌توان برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان و بیماری‌های گوارشی، متابولیک، قلبی عروقی و عصبی استفاده کرد (۱۹). این گیاه در سیستم تولیدمثلی بویژه در مردان موثر واقع شده است. بربرین در ترکیب با کوآنزیم Co Q10 و/یا به تنهایی، پارامترهای اسپرم را افزایش داده و آسیب DNA اسپرم را در موش‌های مبتلا به واریکوسل کاهش می‌دهد. بربرین افزایش سطح تستوسترون و اینهیین خون، توانایی غدد درون ریز بیضه را افزایش می‌دهد و از سلول‌های لیدیگ در برابر آسیب‌های التهابی و استرس اکسیداتیو ناشی از واریکوسل محافظت می‌کند. علاوه بر این، بربرین سطح هورمون‌های جنسی

سرم را در واریکوسل تجربی افزایش می‌دهد و با کاهش فعالیت LH، FSH، GnRH و آکالین فسفاتاز، پاسخ‌های التهابی ناشی از واریکوسل را کاهش می‌دهد (۲۰). حسنی بافرانی و همکاران نشان دادند که تیمار با بربرین زنده‌مانی، تعداد و حرکت اسپرم‌ها را افزایش داد که به علت کاهش پارامترهای التهابی IL-6 و TNF- α و کاهش MDA و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی SOD بود (۶). همچنین نجاران و همکاران گزارش کردند که تیمار با بربرین تعداد، حرکت، مورفولوژی و زنده‌مانی اسپرم‌ها را بهبود بخشیده است (۲۱). تحقیق حاضر نشان داد که واریکوسل تعداد، درصد اسپرم‌ها با حرکت پیشرونده و بدون حرکت، مورفولوژی طبیعی اسپرم‌ها را دستخوش تغییر می‌کند. تمامی پارامترهای اسپرمی از جمله تراکم، تحرک و مورفولوژی در افراد مبتلا به واریکوسل نسبت به افراد سالم غیرطبیعی می‌باشند.

نتیجه‌گیری

بربرین با خواص آنتی‌اکسیدانی خود باعث بهبود پارامترهای اسپرمی از طریق کاهش مکانیسم‌های زمینه‌ای از جمله استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی واریکوسلی گردیده است.

منابع

1. Jensen CFS, Østergren P, Dupree JM, Ohl DA, Sønksen J, Fode M. Varicocele and male infertility. *Nat Rev Urol*. 2017;14(9):523-533.
2. Jarow JP, Coburn M, Sigman M. Incidence of varicoceles in men with primary and secondary infertility. *Urology*. 1996;47(1):73-76.
3. Marmar JL. Varicocele and male infertility: part II: the pathophysiology of varicoceles in the light of current molecular and genetic information. *Hum Reprod Update*. 2001; 7(5):461-472.

varicocele-induced adult rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 1:2172981.

13. Vazquez-Levin MH, Friedmann P, Goldberg SI, Medley NE, Nagler HM. Response of routine semen analysis and critical assessment of sperm morphology by Kruger classification to therapeutic varicocelectomy. *J Urol*. 1997;158(5):1804-1807.

14. Walczak-Jedrzejowska R, Slowikowska-Hilczek J, Marchlewski K, Oszukowska E, Kula K. During seminiferous tubule maturation testosterone and synergistic action of FSH with estradiol support germ cell survival while estradiol alone has pro-apoptotic effect. *Folia Histochem Cytobiol*. 2007;45(I):59-64.

15. Hamada A, Sharma R, Du Plessis SS, Willard B, Yadav SP, Sabanegh E, Agarwal A. Two-dimensional differential in-gel electrophoresis-based proteomics of male gametes in relation to oxidative stress. *Fertil Steril*. 2013;99(5):1216-1226.

16. Martínez P, Proverbio F, Camejo MI. Sperm lipid peroxidation and pro-inflammatory cytokines. *Asian J Androl*. 2007; 9(1):102-107.

17. Lampiao F, du Plessis SS. TNF- α and IL-6 affect human sperm function by elevating nitric oxide production. *Reprod Biomed Online*. 2008;17(5):628-31.

18. Cicero AF, Baggioni A. Berberine and Its Role in Chronic Disease. *Adv Exp Med Biol*. 2016;928:27-45.

19. Song D, Hao J, Fan D. Biological properties and clinical applications of berberine. *Front Med*. 2020; 14:564-582.

20. Mushtaq Z, Imran M, Saeed F, Imran A, Ali SW, Shahbaz M, et al. Berberine: A comprehensive Approach to combat human maladies. *Int J Food Prop*. 2023;26(1):787-807.

21. Najaran H, Rashtbari H, Mohammadi A, Soleimanifar F, Izadpanah F, Haddad

4. Saleh RA, HCLD AA. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl*. 2002;23(6):737-752.

5. Lorian K, Kadkhodae M, Kianian F, Abdi A, Ranjbaran M, Ashabi G, Seifi B. Long-term NaHS administration reduces oxidative stress and apoptosis in a rat model of left-side varicocele. *Andrologia*. 2020; 52(2):e13496.

6. Hassani-Bafrani H, Najaran H, Razi M, Rashtbari H. Berberine ameliorates experimental varicocele-induced damages at testis and sperm levels; evidences for oxidative stress and inflammation. *Andrologia*. 2019;51(2):e13179.

7. Turner T. The study of varicocele through the use of animal models. *Hum Reprod Update*. 2001;7(1):78-84.

8. Kuster C. Sperm concentration determination between hemacytometric and CASA systems: Why they can be different. *Theriogenology*. 2005;64(3):614-617.

9. Van der Horst G, Maree L. SpermBlue®: a new universal stain for human and animal sperm which is also amenable to automated sperm morphology analysis. *Biotech Histochem*. 2010;84(6):299-308.

10. Russo GI, Saleh R, Finocchi F, Juma AR, Durairajanayagam D, Kahraman O, et al. Impact of Varicocele on Testicular Oxidative Stress and Sperm Parameters in Experimental Animals: A Systematic Review and Meta-Analysis. *World J Mens Health*. 2024;42(3):563.

11. Villanueva-Diaz C, Vega-Hernandez E, Diaz-Perez M, Echavarría-Sánchez M, Karchmer-Krivitsky S. Sperm dysfunction in subfertile patients with varicocele and marginal semen analysis. *Andrologia*. 1999; 31(5):263-267.

12. Missassi G, dos Santos Borges C, de Lima Rosa J, Villela e Silva P, da Cunha Martins Jr A, Barbosa Jr F, De Grava Kempinas W. Chrysin administration protects against oxidative damage in

Kashani H, Hassani Bafrani H. The protective effect of coenzyme Q10 and berberine on sperm parameters, with and without varicocelelectomy in rats with surgically induced varicoceles. *Comp Clin Pathol*. 2019;28:479-485.