مقاله پژوهشی

ارزیابی اثر حفاظتی کرایزین بر روند اسپرماتوژنزیس و پارامترهای اسپرم در موش‌های سفید صحرایی دریافت‌کننده سم دیازینون

فاطمه مجیبی[۱]، غلامعلی جورسرایی[۲*]، اسماعیل فتاحی[۱]، سهراب کاظمی[۳]، مریم غلامی‌تبار طبری[٤]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۲- گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۳- مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

٤- مرکز تحقیقات باروری سالم، واحد ساری، دانشگاه ازاد اسلامی، ساری، ایران

[*]مسئول مکاتبات: drjorsara@gmail.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1963232.1401

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲٤

چکیده

ترکیباتی نظیر کرایزین، مانع از ایجاد تغییرات حاصل از اثر مواد سمی نظیر دیازینون روی ارگان‌های احشایی شده و تحقیق حاضر، بمنظور اثر حفاظتی کرایزین بر روند اسپرماتوژنزیس با مداخله سم دیازینون انجام شد. در این مطالعه تجربی، تعداد ٤۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۱۸۰ گرم انتخاب و بطور تصادفی به هفت گروه شامل: کنترل، شم، دیازینون با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، کرایزین با غلظت ۱۰، کرایزین با غلظت ۲۰، کرایزین با غلظت ۱۰ و دیازینون با غلظت ۲۰ و کرایزین با غلظت ۲۰ و دیازینون با غلظت۲۰ ملی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. در پایان دوره‌ی تیمار، با پروسه تهیه بافت، با نرم افزار Motic، تعداد رده‌های سلولی در واحد سطح مشخص و در گروه‌های مختلف با یکدیگر مقایسه گردید. بین میانگین تعداد اسپرم و تحرک اسپرم در گروه شم و کنترل با گروه‌های دیازینون و کرایزین با غلظت ۱۰ و دیازینون با غلظت ۲۰ (p < ۰/۰۰۱) و گروه دیازینون با غلظت ۲۰ و کرایزین با غلظت ۲۰ (p <۰/۰۱) تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود داشت. همچنین مرگ و میر اسپرم در در گروه شم و کنترل با گروه‌های آزمون دیازینون، کرایزین با غلظت ۱۰ و دیازینون با غلظت ۲۰ و دیازینون با غلظت ۲۰ و کرایزین با غلظت (p < ۰/۰۰۱)، تفاوت معنی‌داری به صورت افزایشی وجود داشت. نتایج نشان داد که در میانگین تعداد اسپرم، تحرک اسپرم، مرگ و میر اسپرم، مورفولوژی اسپرم، تعداد سلول‌های لیدیگ، تعداد سلول‌های ژرمینال، تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه و تعداد اسپرماتید در گروه شم و کنترل با بعضی گروه‌های آزمون تفاوت معنی‌داری وجود داشته، بنابراین کرایزین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی می‌تواند سمیت ناشی از سم دیازینون را جبران کند.

کلمات کلیدی: کرایزین، پارامترهای اسپرم، اسپرماتوژنزیس، سم دیازینون.

مقدمه

آفت‌کش‌های ارگانوفسفره گروه اصلی حشره‌کش‌های شیمیایی است که استفاده از آنها در سراسر جهان، به ویژه در کشورهای در حال توسعه افزایش یافته است (۲۱). استفاده فراوان از ترکیبات ارگانوفسفره به طرق

مختلف منجر به عواقب ناخوشایندی از جمله سمیت برای انسان و آلودگی محیط زیست شده است (۱۹). همچنین سمیت آن‌ها اثرات نامطلوبی بر روی سیستم-عصبی، سیستم‌ایمنی، کبد، ماهیچه‌ها، سیستم ادراری، سیستم تولیدمثل و سیستم خونی برجای می‌گذارد (۳). دیازینون با فرمول بسته ($C_{12}H_{21}N_2O_3PS$) یکی از حشره‌کش‌های ارگانوفسفره است که به طور گسترده‌ای در کشاورزی و باغات برای از بین بردن کرم ساقه خوار و آفات درختان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). این ترکیب از طریق دستگاه گوارش، تنفس و پوست جذب شده و مانع از فعالیت آنزیم استیل کولین استراز شده، (۹) افزایش تجمع استیل کولین در سلول، اتصال آن را به گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی در سیستم‌های عصبی مرکزی و محیطی افزایش داده (۱۰) که انتقال عصبی-عضلانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۷) و علائم مسمومیت ناشی از آن، پس از مهار تقریباً ۵۰ درصد استیل کولین استراز ظاهر می‌شود (۹). هیچ مدرکی وجود ندارد که قرار گرفتن طولانی مدت در معرض سطح پایین دیازینون باعث ایجاد اثرات مضر در افراد شود (۲). سمیت **دیازینون** به طور گسترده ای در مدل‌های حیوانی مورد مطالعه قرار گرفته است، اما داده‌های انسانی بسیار محدود است (۲٤). طبق نتایج تحقیقی در مورد اثرات تراتوژنیک دیازینون بر جنین موش‌ها در روزهای سوم تا ششم بارداری، نشان داد که تأثیرات منفی بر روی جنین دارد و تراتوژن است (۲۲). برخی مطالعات نشان داده‌اند که دیازینون قادر به ایجاد برخی تغییرات بیوشیمیایی در تخمدان‌ها و بیضه‌ها است، همچنین می تواند در دستگاه تناسلی مردان با کاهش در تعداد سلول‌های لایدیگ، اندازه بیضه و تغییردر سطح گنادوتروپین بر اسپرماتوژنز تأثیر منفی بگذارد (۲۱). همچنین قرار گرفتن در معرض دیازینون بر تحرک اسپرم و یکپارچگی DNA تأثیر منفی می‌گذارد، در نتیجه سبب کاهش کیفیت مایع منی و کاهش میزان باروری می‌شود (۱). دیازینون از طریق سست کردن بافت همبند و عضلات صاف لوله‌های اسپرم ساز، قطر آن را تغییر می‌دهد. همچنین سبب کاهش قطر سلول‌های ژرمینال می‌شود (٤). مطالعات متعدد نشان داده است که قرار گرفتن در معرض دیازینون باعث افزایش پراکسیداسیون لیپید با تغییرات بافتی در کبد، کلیه، قلب، بیضه‌ها و مغز می‌شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بخش مهمی از دفاع سلولی علیه ROS هستند که به طور مداوم در سلول‌ها به وسیله متابلیسم هوازی و منابع خارجی مانند آفت‌کش‌ها و دیگر انواع آلودگی محیطی تولید می‌شوند. اخیراً، در سراسر جهان به نقش گیاهان دارویی در طب سنتی توجه شده است. عصاره‌های تهیه شده از گیاهان دارویی و سایر منابع طبیعی حاوی انواع مختلفی از مولکول‌ها با فعالیت-های بیولوژیکی قوی است (۲).

اسپرماتوژنز یک فرایند پیچیده است که طی آن سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی اسپرم‌ها را ایجاد می کنند (۲۵). انجام مطالعات روی عوامل آنتی‌اکسیدانی جدید به منظور جلوگیری از آسیب‌های سوختوساز سلول اسپرم ممکن است باعث افزایش تحرک، مورفولوژی طبیعی و افزایش ظرفیت لقاح یابی در اسپرم شود (۲۳).

فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات طبیعی هستند که به طور گسترده در گیاهان یافت می‌شوند و حاوی گروه‌های بزرگی از ترکیبات پلی‌فنولی با وزن مولکولی کم هستند. تاکنون، تقریباً ۵۰۰۰ فلاونوئید متنوع در جهان شناسایی شده اند. کرایزین (با نام شیمیایی ۵ و ۷ دی هیدروکسی فلاون) یک تیپ فلاونول (فلاونوئید) موجود در عسل، پروپلیس زنبور، عصاره‌ی گیاهان طبیعی زیادی بوده و طبق نظر محققان، خصوصیات درمانی مختلفی شامل: آنتی-

آلرژیک، آنتی‌اکسیدان، آنتی‌ویروس، تنظیم ایمنی و فعالیت ضدالتهابی دارد (۱۱). این ترکیبات به عنوان یکی از بزرگترین گروه‌های ترکیبات طبیعی شناخته می‌شوند و به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی با تأثیرات قابل توجه بر روی زیست‌شناسی سلولی در نظر گرفته می‌شوند یکی از این تأثیرات مهم آن، مهار رادیکال‌های آزاد است که علاوه بر آسیب رساندن به سلول‌ها، در گسترش تومورهای سرطانی نیز نقش بسزایی دارد (۱۸). کرایزین دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضدسرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی است. بااین‌حال، مکانیسم اثر این ترکیب به‌طور دقیق شناخته شده نیست. تصور بر این است که اثرات سودمند کرایزین شاید به دلیل توانایی در حذف رادیکال‌های آزاد باشد (۸).

محمدی می‌آبادی و همکاران (۱۵) در تحقیق خود در مورد اثر عصاره هیدروالکلی دانه کرچک بر روند اسپرماتوژنز و آسیب‌های آن در اسپرم درموش صحرایی نر نشان دادند که عصاره دانه کرچک باعث کاهش معنی‌دار در سلول‌های رده اسپرمی و میزان هورمون‌های جنسی می‌شود و میزان دناتوره شدن DNAی اسپرمی در غلظت‌های بالاتر افزایش می‌یابد. در نتیجه این عصاره می‌تواند بر باروری تأثیر داشته و آنرا کاهش دهد. نجفی و همکاران (۱۷) در تحقیق خود در مورد اثر سم دیازینون بر روی بافت بیضه در موش بالغ رت نشان دادند که اتصال‌های بین سلولی در لوله‌های اسپرم ساز کاهش یافته و ادم مشخصی در بافت بینابینی بیضه دیده شد. قطر لوله‌های اسپرم ساز و ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم ساز نیز کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد.

ملیجی و همکاران (۱٤) در تحقیق خود در مورد اثر دیازینون بر هورمون‌های جنسی و اینترفرون گاما، اینترلوکین ٤ و ۱۰ در موش‌های صحرایی نر نشان دادند که دیازینون سبب افزایش معنی‌دار سطح اینترلوکین ۱۰ و افزایش تستوسترون و کاهش هورمون FSH موش صحرایی می‌گردد. پردل و همکاران (۲۰) در تحقیق خود در مورد اثر سمیت سلولی و آنتی‌اکسیدانی کرایزین بر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی جداشده از نوزاد موش کوچک آزمایشگاهی نشان دادند که کرایزین در غلظت‌های پایین می‌تواند اثر حفاظتی روی سلول‌های بنیادی اسپرم‌ساز موش سوری داشته باشد که از طریق افزایش زیستایی سلول‌ها، کاهش آپوپتوز سلول‌ها و مهار رادیکال‌های آزاد اثر خود را ایفا می کند. با توجه به استفاده گسترده از آفت‌کش‌ها در کشاورزی و اثرات شناخته شده‌ی ارگانوفسفره‌ها بر سیستم تولید مثل انسان از یک سو و عدم وجود شواهدی مبنی بر اثرات کرایزین بر روی کیفیت منی و اسپرم زایی در حیوانات مسموم شده با ارگانوفسفره‌ها از سوی دیگر سبب شد تا در این مطالعه اثرات حفاظتی کرایزین بر روند اسپرماتوژنز در رت‌های دریافت کننده **دیازینون** مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تعداد ٤۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستاربا وزن تقریبی ۲۵۰-۱۸۰ گرم از پژوهشکده‌ی شمال انیستیتو پاستور ایران خریداری گردید. حیوانات در اتاق حیوانات با رطوبت نسبی ۵۵ درصد و دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتیگراد در شرایط ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از یک دوره انطباق، موش‌ها به طور تصادفی به ۷ گروه (در هر گروه ٦ سر) تقسیم شدند: گروه کنترل: گروهی که هیچ تزریقی در آن صورت نگرفت. گروه شم: محلول ۱۰ درصد توئین۸۰ به عنوان حلال دیازینون دریافت کرد. گروه آزمایشی دیازینون: گروهی که دیازینون را با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرد. گروه آزمایشی C10: گروهی که کرایزین را با غلظت ۱۰

میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرد. گروه آزمایشی C20: گروهی که کرایزین را با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرد.

گروه آزمایشی DC10: گروهی که کرایزین را با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دیازینون را با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرد. گروه آزمایشی DC20: گروهی که کرایزین را با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دیازینون را با غلظت ۲۰ میلی-گرم بر کیلوگرم دریافت کرد. تزریق در همه‌ی گروه‌ها به صورت روزانه به صورت درون صفاقی و روزانه (۵ روز تزریق ۲ روز استراحت) به مدت ۱ ماه انجام گردید. در گروه‌هایی که دو تزریق روزانه داشتند این تزریق‌ها ٦ ساعت فاصله زمانی لحاظ گردید.

وزن بدن هر گروه در هفته اول و چهار هفته پس از تیمار با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. در پایان دوره‌ی تیمار، پس از بیهوش کردن حیوانات با اتر، به روش آرام و با رعایت اخلاق در پژوهش (کد اخلاق: IR.BABOL.REC.1399.032)، قربانی شدند. سپس در کوتاه‌ترین زمان پوست ناحیه اسکروتوم موزدایی و استریل و بیضه‌ها خارج شدند. بیضه‌های راست برای بررسی بافتی در نظر گرفته شدند. نمونه-های بافتی بیضه به مدت ٢٤ ساعت در داخل محلول بوئن و در دمای اتاق قرار داده شد تا کاملاً فیکس شوند. همچنین اپیدیدیم از بیضه‌ها جدا شده و در ۵ میلی‌لیتر محیط کشت T6 (توفیق دارو، ایران) حاوی BSA به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور CO_2 قرار داده شد. پارامترهای اسپرمی با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار داده شد. از بافت بیضه بلوک‌های پارافینی تهیه شده و برش‌هایی سریالی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. تمامی برش‌های بافتی را کنار هم قرار داده شدند و با در نظر گرفتن Inter wall روتین، تعداد ۳ الی ۵ برش روی لام‌ها قرار گرفتند تا آماده رنگ‌آمیزی شوند. پس از رنگ‌آمیزی، هماتوکسیلین و ائوزین سلول‌های اسپرماتوگونیا، اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه (رشته-های متراکم کروماتین) و اسپرماتیدهای گرد (کلاهک آکروزوم)، ارزیابی شد. با استفاده از نرم افزار Motic، تعداد رده‌های سلولی در واحد سطح مشخص شد و در گروه‌های مختلف با یکدیگر مقایسه گردید. بعد از انجام پروسه تهیه بافت، لام‌های میکروسکوپی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این مطالعه از آزمون آماری آنووای یک‌طرفه و آزمون توکی و post Hoc-test با درجه آزادی (آلفا) ۰/۰۵ استفاده شده است. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک و رایانه با استفاده از نرم افزار SPSSو Excle ۲۰۱۷ انجام شد.

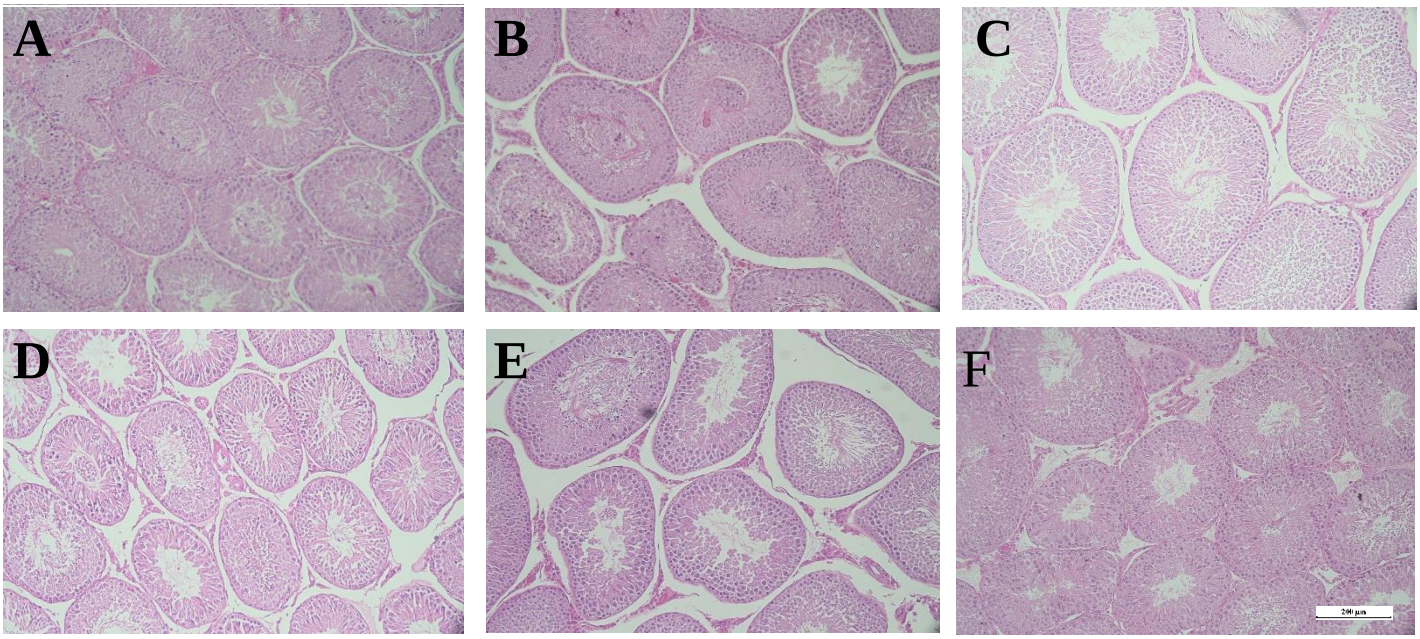
نتایج

شکل‌های ۱ و ۲ مربوط به مقطع عرضی تهیه شده از بیضه موش‌ها در گروه‌های مختلف مورد آزمایش می-باشد. در هر دو شکل به دلیل عدم وجود تفاوت در شاخص‌ها و به منظور تقارن شکل؛ به جای گروه کنترل صرفا گروه شم نمایش داده شده است. در شکل ۲ مسیر اسپرماتوژنز در گروه‌های مختلف قابل مشاهده است. چنانچه از شکل‌ها قابل مشاهده است، در گروه دیازینون و سایر گروه‌های تیماری DC10 و DC20 تفاوت‌های ایجاد شده در قطر اپیتلیوم و تعداد سلول‌های اسپرم‌ساز موجب تغییرات به وجود آمده در آنالیز اسپرم می‌باشد.

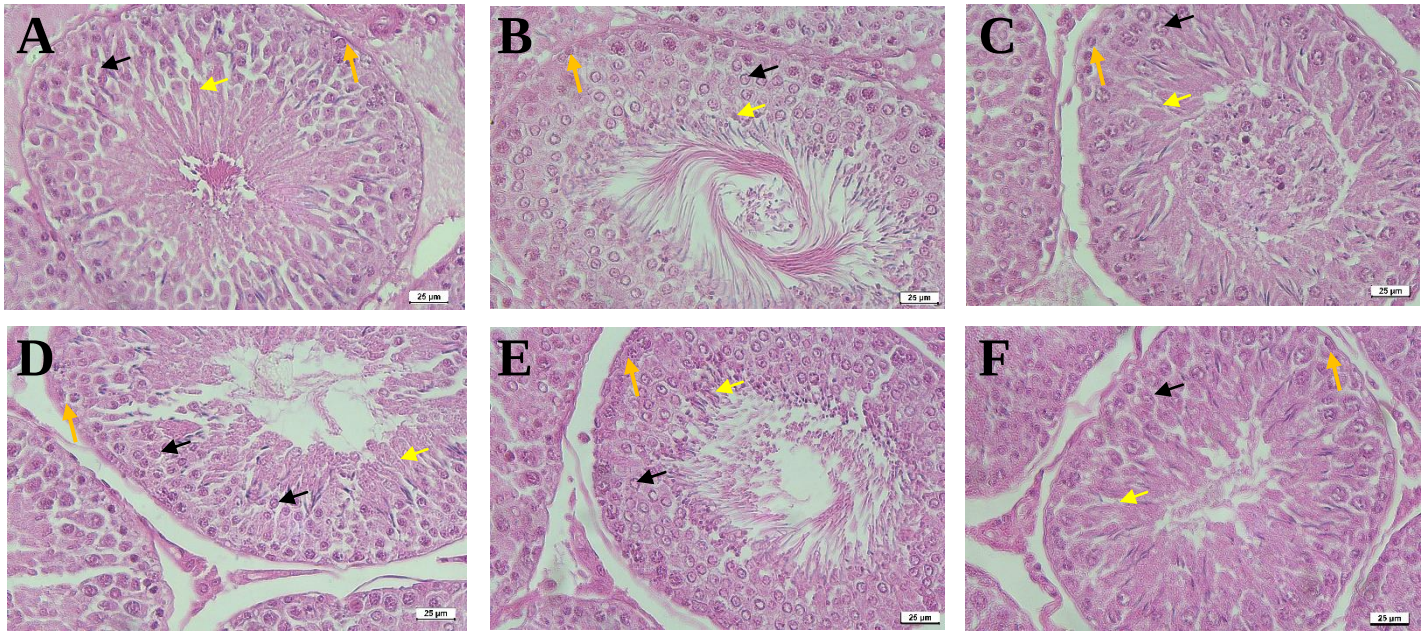
ارزیابی میانگین وزن اولیه بدن در موش‌های صحرایی سفید، نشان داد که بین گروه‌های هفتگانه، تفاوت معنی داری وجود نداشت. بررسی تفاوت میانگین وزن بیضه و نسبت وزن بیضه/ وزن بدن مشخص نمود که هر دو شاخص در گروه‌های کنترل و شم با گروه آزمون DC20 (p <۰/۰۵) تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود دارد، در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی داری وجود نداشت.

تفاوت میانگین تعداد اسپرم مشخص نمود که میانگین تعداد اسپرم در گروه‌های کنترل و شم با گروه‌های آزمون دیازینون و DC10 (p <۰/۰۰۱) و گروه آزمون DC20 (p <۰/۰۱) به طور معنی داری بالاتر بوده، لذا تیمارها به صورت کاهشی بوده است، در حالی که در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. بررسی تفاوت میانگین تحرک اسپرم مشخص نمود که بین میانگین تحرک اسپرم در گروکنترل و شم با گروه‌های آزمون دیازینون و DC10 (p <۰/۰۰۱) و گروه آزمون DC20 (p <۰/۰۱) و بین میانگین تحرک اسپرم در گروه آزمون دیازینون با گروه‌های آزمون DC10 و DC20 (p < ۰/۰۵)، تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود دارد، در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی داری وجود نداشت. بررسی تفاوت میانگین مرگ و میر اسپرم مشخص نمود که بین میانگین مرگ و میر اسپرم در گروه کنترل و شم با گروه‌های آزمون دیازینون، DC10 و DC20 (p ۰/۰۰۱ >)، تفاوت معنی‌داری به صورت افزایشی وجود دارد، در حالی که در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. بررسی تفاوت میانگین مورفولوژی اسپرم مشخص نمود که بین میانگین مورفولوژی اسپرم در گروه شم و کنترل با گروه آزمون دیازینون (p ۰/۰۰۱ >) و گروه آزمون DC10 (p < ۰/۰۵) و بین میانگین مورفولوژی اسپرم در گروه آزمون دیازینون با گروه آزمون DC20 (p <۰/۰۵)، تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود دارد، در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بررسی تفاوت میانگین تعداد سلول‌های لیدیگ مشخص نمود که بین میانگین تعداد سلول‌های لیدیگ در گروه شم و کنترل با گروه آزمون (۱/۳۲ ± ٤/۸۲***) دیازینون (p <۰/۰۰۱) و گروه‌های آزمون (۱/۳۳ ± ٥/٥٧**) DC10 و (۱/٦٦ ± ٥/۰۷**) DC20 (p <۰/۰۱) تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود دارد، در حالی که در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. بررسی تفاوت میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی مشخص نمود که بین میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه کنترل و شم با گروه آزمون (۰/۸۷ ± ٦/۱۲***) دیازینون (p <۰/۰۰۱) و گروه‌های آزمون (۱/۰٥ ± ٦/۸۷**) DC10 و DC20 (p <۰/۰۱) تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود دارد، در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بررسی تفاوت میانگین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه مشخص نمود که بین میانگین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه در گروه شم (٦/٦٦ ± ٤۹/۰۰) و کنترل (۸/۱٤ ± ٤۹/۳۳) با گروه آزمون دیازینون (p <۰/۰٥) تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود دارد، در حالی که بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی داری وجود نداشت.

بررسی تفاوت میانگین تعداد اسپرماتید مشخص نمود که بین میانگین تعداد اسپرماتید در گروه (۳۹/۰ ± ۱٥٦/۳) شم و (۳٤/۷ ± ۱٦۱/۸) کنترل با گروه آزمون (٤۱/۱ ± ۱۱۸/٥*) دیازینون (p <۰/۰٥) تفاوت معنی-داری به صورت کاهشی وجود دارد، در حالی که در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است.



شکل ۱- (A-F) میکروگراف بیضه موش‌های سفید صحرایی. تغییر در قطر لوله های اسپرم ساز و فضای بین لوله‌ها قابل مشاهده است. قطر اپیتلیوم ژرمینال در گروه دیازینون کاهش یافته است. بزرگنمایی ۱۰۰X: شم (A) ، C10 (B)، C20 (C)، دیازینون (D) ، DC10 (E) و DC20 (F)



شکل ۲- میکروگراف بیضه موش‌های سفید صحرایی. در شکل سلول‌های اسپرماتوگونی (فلش‌های نارنجی)، اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه (فلش‌های مشکی) و سلول‌های اسپرماتید (فلش‌های زرد) قابل مشاهده می‌باشد. در شکل تغییرات مربوط به میکروتوبول‌ها، تغییر در قطر توبول‌ها و ایجاد فضای بین آن‌ها، تغییر در تعداد سلول‌ها قابل مشاهده است. بزرگنمایی ۴۰۰ X Shm (A)، C10 (B)، C20 (C)، دیازینون(D) ، DC10 (E) و DC20 (F)

جدول ۱- شاخص‌های وزن حیوانات در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (میانگین ± انحراف معیار)

گروه‌ها	وزن اولیه بدن (گرم)	وزن نهایی بدن (گرم)	وزن بیضه (گرم)	نسبت وزن بیضه/وزن بدن (درصد)
کنترل	۲۰۴ ± ۱۵/۸	۲۵۵ ± ۱۷/۵	۱/۶۳ ± ۰/۱۴۸	۰/۶۳۹ ± ۰/۰۴۱
شم	۲۰۳ ± ۲۴/۲	۲۵۸ ± ۲۱/۶	۱/۶۶ ± ۰/۱۲۰	۰/۶۴۷ ± ۰/۰۸۲
دیازینون	۲۰۴ ± ۱۶/۱	۲۴۱ ± ۱۷/۷	۱/۵۱ ± ۰/۱۵۳	۰/۶۳۰ ± ۰/۰۸۰
C10	۲۰۷ ± ۲۱/۸	۲۶۵ ± ۲۴/۱	۱/۶۲ ± ۰/۱۱۲	۰/۶۱۶ ± ۰/۰۷۷
C20	۲۰۵ ± ۱۷/۴	۲۶۰ ± ۱۶/۰	۱/۶۴ ± ۰/۱۸۸	۰/۶۳۰ ± ۰/۰۷۰
DC10	۲۰۴ ± ۱۹/۰	۲۴۶ ± ۲۰/۳	۱/۵ ± ۰/۱۱۸	۰/۶۱۶ ± ۰/۰۸۲
DC20	۲۰۶ ± ۱۳/۲	۲۵۲ ± ۱۷/۵	*۱/۴۵ ± ۰/۱۳۴	*۰/۵۷۷ ± ۰/۰۶۵

جدول ۲- شاخص‌های آنالیز اسپرم در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (میانگین ± انحراف معیار)

گروه‌ها	تعداد اسپرم (در میلی‌مترمربع)	درصد تحرک اسپرم	درصد مرگ و میر اسپرم	درصد مورفولوژی اسپرم
کنترل	۵۴/۲ ± ۳/۳۷	۸۷/۰ ± ۵/۰۶	۱۷/۳ ± ۴/۰۳	۸۲/۸ ± ۴/۷۹۲
شم	۵۴/۸ ± ۳/۷۱	۸۷/۲ ± ۵/۷۸	۱۷/۰ ± ۲/۷۶	۸۲/۳ ± ۵/۳۵۴
دیازینون	***۳۸/۲ ± ۶/۶۵	***۵۴/۲ ± ۱۰/۶۷	***۳۴/۸ ± ۶/۰۸	***۶۴/۵ ± ۹/۰۹۴
C10	۵۵/۸ ± ۲/۹۳	۸۹/۳ ± ۴/۱۸	۱۵/۲ ± ۴/۰۲	۸۱/۸ ± ۴/۰۷۰
C20	۵۴/۷ ± ۴/۶۳	۸۸/۲ ± ۶/۱۱	۱۶/۸ ± ۳/۴۹	۸۱/۰ ± ۴/۳۸۲
DC10	***۴۲/۰ ± ۵/۷۶	***†۶۳/۷ ± ۸/۸۹	***۳۲/۵ ± ۶/۴۱	*۷۲/۵ ± ۸/۴۵۶
DC20	**۴۲/۸ ± ۶/۵۵	**†۶۸/۷ ± ۱۰/۲۹	***۲۹/۸ ± ۶/۱۵	†۷۶/۸ ± ۹/۶۰۰

* تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵،**تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۱،***تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱(نسبت به گروه کنترل)؛ † تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵،††تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ (نسبت به گروه دیازینون)

جدول ۳- میانگین± انحراف معیارهای تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک در گروه‌های مختلف مطالعه (تعداد در میلیمتر مربع)

گروه‌ها	سلول‌های لیدیگ	سلول‌های اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه	اسپرماتید
کنترل	۷/۸۸ ± ۰/۹۸	۸/۶۷ ± ۰/۶۴	۴۹/۳۳ ± ۸/۱۴	۱۶۱/۸ ± ۳۴/۷
شم	۷/۶۰ ± ۰/۸۹	۸/۶۰ ± ۰/۷۲	۴۹/۰۰ ± ۶/۶۶	۱۵۶/۳ ± ۳۹/۰
دیازینون	***۴/۸۲ ± ۱/۳۲	***۶/۱۲ ± ۰/۸۷	*۳۹/۱۷ ± ۱۰/۵۰	*۱۱۸/۵ ± ۴۱/۱
C10	۷/۸۵ ± ۰/۶۹	۸/۸۷ ± ۰/۶۹	۴۸/۱۷ ± ۷/۲۸	۱۵۷/۸ ± ۳۸/۱
C20	۷/۴۲ ± ۰/۸۸	۹/۰۵ ± ۰/۸۴	۴۹/۰۰ ± ۸/۹۲	۱۵۴/۸ ± ۳۲/۸
DC10	**۵/۵۷ ± ۱/۳۳	**۶/۸۷ ± ۱/۰۵	۳۹/۵۰ ± ۱۱/۰۸	۱۲۶/۷ ± ۴۵/۴
DC20	**۵/۰۷ ± ۱/۶۶	**۶/۷۰ ± ۱/۱۴	۴۱/۱۷ ± ۱۰/۳۴	۱۳۵/۰ ± ۴۱/۳

* تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵،**تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۱،***تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۰۱

بحث

طبق یافته‌های تحقیق حاضر، ارزیابی تفاوت میانگین وزن اولیه بدن، وزن نهایی بدن و اسپرماتوگونیوم رت‌های نر، حاکی از آن بوده که بین گروه‌های هفتگانه، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. طبق نتایج پژوهش حاضر، بین میانگین وزن بیضه و نسبت وزن بیضه/وزن بدن در گروه کنترل و شم با گروه آزمون DC20 و میانگین تعداد اسپرم در گروه کنترل و شم با گروه‌های آزمون دیازینون و DC10 و گروه آزمون

DC20 تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی مشاهده گردید. همچنین میانگین تحرک اسپرم در گروه کنترل و شم با گروه‌های آزمون دیازینون و DC10 و گروه آزمون DC20 و میانگین تحرک اسپرم در گروه آزموندیازینون با گروه‌های آزمون DC10 و DC20، تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود داشت. اثر حفاظتی کرایزین بر روند اسپرماتوژنز در رت‌های دریافت‌کننده‌ی دیازینون مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز اسپرم نشان داد که دریافت دیازینون با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت یک ماه سبب کاهش قابل توجهی در سلول‌های اسپرماتوگونی، سلول‌های لایدیگ، تعداد اسپرم و تحرک اسپرم گردید. مطالعات نشان دادند که موش‌هایی که به مدت ۳ ماه در معرض ٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیازینون و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم قرار گرفتند کاهش قابل توجهی در تعداد اسپرم‌های متحرک و اسپرم‌های طبیعی از نظر مورفولوژی نشان دادند (۱).

نتایج پژوهش محمدی می‌آبادی در خصوص بررسی اثر عصاره هیدروالکلی دانه کرچک بر اسپرماتوژنز در موش نشان داد که عصاره دانه کرچک باعث کاهش معنی‌دار در سلول‌های رده اسپرمی و میزان هورمون‌های جنسی می‌شود و میزان دناتوره شدن DNA اسپرمی در غلظت‌های بالاتر افزایش می‌یابد (). در نتیجه این عصاره می‌تواند بر باروری تأثیر داشته و آنرا کاهش دهد. نجفی و همکاران (۱۷) در تحقیق در خصوص اثر سم دیازینون بر روی بافت بیضه در موش بالغ رت، نشان دادند که دیازینون می‌تواند باعث تغییرات مورفولوژی و آتروفی واضح در ساختار بافتی بیضه شده و نقص در عملکرد دستگاه تناسلی نر را به بار آورد.

حقیقی و همکاران (١٦) در پژوهش خود بر این نکته تاکید کردند که پس از تزریق طولانی‌مدت دیازینون، تعداد سلول‌های ژرمینال، اسپرماتوگونی‌ها، سلول‌های لایدیگ، تعداد عروق خونی، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و قطر بیضه نسبت به گروه شاهد و شم کاهش معنی‌داری پیدا کرده و دیازینون به عنوان یک فاکتور محیطی می‌تواند بر روی بافت بیضه اثر منفی داشته باشد. همچنین، کاهش تعداد سلول‌های ژرمینال که برای تولید اسپرم ضروری هستند می‌تواند احتمال ناباروری را افزایش دهد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بین میانگین مرگ و میر اسپرم در گروه کنترل و شم با گروه‌های آزمون دیازینون، DC10 و DC20 و میانگین مورفولوژی اسپرم در گروه های مورد مطالعه با گروه آزمون دیازینون و DC10 و بین میانگین مورفولوژی اسپرم در گروه آزمون دیازینون با گروه آزمون DC20 تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود داشت. میانگین تعداد سلول‌های لیدیگ در گروه‌های مورد مطالعه با گروه آزموندیازینونDC10 و DC20 تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی مشاهده گردید. دیازینون پس از جذب در بدن، از طریق دسولفوراسیون، به دیازوکسون (آنالوگ‌های اکسیژن) که سمی‌تر از ترکیب اصلی است، تبدیل می‌شود. اثرات اولیه دیازینون از طریق مهار آنزیم استیل کولین استراز در سیستم عصبی محیطی و مرکزی ایجاد می‌شود این تغییرات مولکولی منجر به کاهش کیفیت اسپرم در مردان همراه می‌شود. حشره‌کش‌های ارگانوفسفره عملکرد تولیدمثل مردان را که باعث ایجاد اختلالات اسپرماتوژنیک می‌شوند، از طریق مکانیسم‌های هورمونی یا ژنوتوکسیک تغییر می دهند. علاوه بر این، القای استرس اکسیداتیو ناشی از تماس با دیازینون سبب اختلال در اسپرماتوژنز و کاهش قدرت باروری در مردان می‌گردد. همسو با نتایج مطالعه حاضر مطالعات دیگری نیز نشان دادن که قرار گرفتن طولانی مدت در معرض دیازینون، سبب تغییر در کیفیت اسپرم و کروماتین اسپرم، کاهش تحرک و

زنده ماندن اسپرم و افزایش ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم می‌شود (۱).

قاسمی و همکاران در تحقیق خود در مورد اثر عصاره هیدروالکلی کرفس بر کیفیت منی و اسپرم‌زایی در سمیت تحت مزمن با دیازینون در موش صحرایی، نشان دادند که تعداد و تحرک اسپرم‌ها در گروه دیازینون در مقایسه با گروه شم به طور معنی‌داری کاهش یافت (۱۲). تعداد اسپرم در گروه دریافت‌کننده دیازینون و دوز بالای عصاره کرفس به طور قابل توجه‌ی در مقایسه با گروه دیازینون افزایش یافت. عصاره کرفس با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و اسپرماتیدها را به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه دیازینون افزایش داد. به علاوه دوز پایین عصاره کرفس (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به طور قابل توجهی توانست حرکت اسپرم را در مقایسه با گروه دیازینون افزایش دهد (۱۲).

بختیاری و همکاران در پژوهش خود در خصوص اثرات محافظتی کرایزین بر هیستومورفومتری بیضه و پارامترهای سرولوژیکی در موش‌های سوری بالغ تحت درمان با سیکلوفسفامید نشان دادند که کرایزین باعث افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و هورمون تستوسترون و کاهش تغییرات هیستوپاتولوژیک بیضه در موش‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید می‌گردد (۷).

مطالعات نشان داده‌اند که وقتی برخی از افراد در معرض دیازینون قرار می‌گیرند، سبب هایپرگلیسمی و اختلال در متابولیسم گلوکز و کاهش قابل توجه در وزن می‌شود (۱۳).

نتایج نهایی تحقیق حاضر نشان داد که بین میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه مورد مطالعه با گروه آزمون‌های دیازینون، DC10، DC20 و همچنین میانگین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه در گروه کنترل و شم با گروه آزمون دیازینون تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی وجود دارد. بین میانگین تعداد اسپرماتید در گروه‌های مورد مطالعه با گروه آزمون دیازینون تفاوت معنی‌داری به صورت کاهشی مشاهده گردید، در حالی که بین سایر گروه‌ها، برای شاخص‌های مذکور تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

نتیجه‌گیری

دیازینون یک ترکیب سمی است که مخاطرات زیادی را برای انسان ایجاد می‌کند و در مطالعه حاضر اثرات سوء این سم ارگانوفسفره بر روند اسپرماتوژنز و در نتیجه تولید مثل به اثبات رسیده است. متأسفانه امروزه وجود این سموم به دلیل کم توجه‌ی ارگان‌های ناظر خصوصاً در کشورهای در حال توسعه به اکولوژی زیستی انسان‌ها و حیوانات آسیب رسانده و لذا وجود ناگزیر این سموم در مواد غذایی نیازمند چاره ای در کاهش مخاطرات است. ما توانستیم نشان دهیم کرایزین که یک فلاونوئید قابل استحصال از گیاهان دارویی و در دسترس است؛ توانسته است اثرات سوء ناشی از این سم و احتمالاً سموم مشابه را کاهش دهد. اگرچه علت قطعی این اثرات مفید محافظتی کرایزین نسبت به اثرات سوء دیازینون در این مطالعه مورد پژوهش واقع نشده است اما با توجه به روند تخریب دیازینون می‌توان آن را به توان آنتی‌اکسیدانی آن منتصب نمود. صرف نظر از اینکه علت را بدانیم یا خیر، اما این واقعیت پابرجاست که کرایزین توانسته است اثرات مفیدی را بروز دهد و البته بشریت امروز ناچار از بکارگیری ترکیبات محافظتی جهت مقابله با سموم دفع آفات و پرتوهای یونیزانی است که حذف آنها خارج از اختیار ما می‌باشد. نتایج نشان داد که در میانگین وزن بیضه و نسبت وزن بیضه/وزن بدن، تعداد اسپرم، تحرک اسپرم، مرگ و میر اسپرم، مورفولوژی اسپرم، تعداد سلول‌های لیدیگ، تعداد

سلول‌های ژرمینال، تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه و تعداد اسپرماتید در گروه کنترل و شم با بعضی گروه‌های آزمون تفاوت معنی‌داری وجود داشته که حاکی از اثر حفاظتی کرایزین بر روند اسپرماتوژنزیس در موش‌های سفید صحرایی دریافت کننده سم دیازینون است. با توجه به نتایج این تحقیق و تحقیقات مشابه پیشنهاد می‌گردد تا ضمن انجام مطالعات تکمیلی در جهت شناخت هر چه بیشتر خواص دارویی گیاهان دارای خواص آنتی اکسیدانی مانند کرایزین در درمان مشکلات ناباروری مردان، از تجویز خوراکی این گیاهان دارویی ارزشمند در رژیم-های غذایی که به منظور بهبود توان باروری در مردان داده می‌شود، استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر اساس نتایج تحقیقات رساله دکتری در پاییز ۱۴۰۰ در دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت ا... آملی تهیه شده است. از کلیه‌ی همکارانی که ما را در انجام این تحقیق یاری رساندند، کمال تشکر را داریم.

منابع

1. Adamkovicova M., Toman R., Martiniakova M., Omelka R. 2016. Sperm motility and morphology changes in rats exposed to cadmium and diazinon. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14:42.

2. Al-Attar A.M., Abu Zeid I.M. 2012. Effect of Tea (Camellia sinensis) and Olive (*Olea europaea* L.) Leaves Extracts on Male Mice Exposed to Diazinon. *BioMed Research International*, 2013:461415.

3. Al-Attar A.M., Elnaggar M.H.R., Almalki E.A. 2017. Protective effect of some plant oils on diazinon induced hepatorenal toxicity in male rats. *Saudi Journal* of *Biological Sciences*, 24(6): 1162–1171.

4. Al-Otaibi A.M., Al-Balawi H.F.A., Ahmad Z., Suliman E.M. 2018. Toxicity bioassay and sub-lethal effects of diazinon on blood profile and histology of liver, gills and kidney of catfish, *Clarias gariepinus*. *Brazilian Journal of Biology*, 79:326-336.

5. Anbarkeh F.R., Nikravesh M.R., Jalali M., Sadeghnia H.R., Sargazi Z. 2019. The effect of diazinon on cell proliferation and apoptosis in testicular tissue of rats and the protective effect of vitamin E. *International Journal of Fertility and Sterility*, 13(2): 154.

6. Bakhtiary Z., Shahrooz R., Ahmadi A., Malekinejad H., Mostafavi M. 2014. Study of protective effects of crocin on testicular histomorphomtryand serological parameters incyclophosphosphamide on treated adult adult mice. *Studies in* Medical Sciences, 25(7):663-673. [In Persian]

7. Boussabbeh M., Ben Salem I., Hamdi M. 2016. Diazinon, an organophosphate pesticide, induces oxidative stress and genotoxicity in cells deriving from large intestine. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(3):2882–2889.

8. Ciftci O., Ozdemir I., Aydin M., Beytur A. 2012. Beneficial effects of chrysin on the reproductive system of adult male rats. *Andrologia*, 44(3):181-186.

9. Duysen E.G., Cashman J.R., Schopfer L.M. 2012. Differential sensitivity of plasma carboxylesterase-null mice to parathion, chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon, but not to diazinon, dichlorvos, diisopropy lfluorophosphate, cresyl saligenin phosphate, cyclosarin thiocholine, tabun thiocholine, and carbofuran. *Chemico-Biological Interactions*, 195(3): 189-198.

10. El-Sisi A.E., El-Sayad M.E, Abdelsalam N.M. 2017. Protective effects of mirtazapine and chrysin on experimentally induced testicular damage in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2017:1059-1066.

11. Elexpe A., Sánchez-Sánchez L., Tolentino-Cortez T., Astigarraga E., Torrecilla M., Barreda-Gómez G. 2022. Analysis of Mitochondrial Function in Cell Membranes as Indicator of Tissue Vulnerability to Drugs in Humans. *Biomedicines*, 10(5):980.

12. Ghasemi R., MirMohammadrezaei F., Nasri S., Nili Ahmadabadi A. 2019. Effect of Hydroalcoholic Extract of Apium graveolens on Semen Quality and Spermatogenesis in Subchronic Toxicity by Diazinon in Rats. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 26(5):61-70. [In Persian]

13. Khaksar M.R., Rahimifard M., Baeeri M. 2017. Protective effects of cerium oxide and yttrium oxide nanoparticles on reduction of oxidative stress induced by sub-acute exposure to diazinon in the rat pancreas. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 41:79-90. [In Persian]

14. Maliji G., Jorsaraei S.Gh., Zabihi E., Fattahi E., Rezaie E., Sohan-Faraji A. 2014. Diazinon alters sex hormones, Interferon-gamma, Interleukin-4 and 10 in male Wistar rats. *Journal* of *Gorgan University* of *Medical Sciences*, 16(1):22-28. [In Persian]

15. Mohammadi Meyabadi R, Heydari Nasrabadi M, Khodarahmi P, Siadat S. 2014. The Effect of Hydroalcoholic Castor Bean Extract on Spermatogenesis in Mice. *Journal* of. *Medicinal Plants Research*, 13(50):35-44. [In Persian]

16. Momayez-Haghighi M., Nasiraei-Moghadam S., Sadoughi M. 2020. The Study of the Effects of Diazinon on Histomorphometrical Changes of Hippocampus in the Balb/c Mouse Embryo. *Journal of Animal Biology*, 12(2): 69-82.

17. Najafi G.R., Salami S., Karimi A. 2010. The effect of the effect of diazinon on testicular tissue in adult male rat: A histopathological study. *Studies in* Medical Sciences. 20(4):313-319. [In Persian]

18. Norouzi M., Rezazadeh S.L, Moghadamnia A.A, Bahramifar N. 2018. The effect of chrysin nanoparticles in preventing the growth of Mcf-7 cancer cells. *Journal* of *Babol University* of *Medical Sciences*; 20(10):56-62. [In Persian]

19. Parthasarathy S., Sagar A.L., Siddavattam D. 2022. Biodegradation of organophosphates: biology and biotechnology.*In Microbial Biodegradation and Bioremediation*, 2022: 145-159.

20. Pordel M., Baharara J., Amini E. 2017. Cytotoxic and antioxidant effect of chrysin on neonate mouse spermatogenic stem cells. journal *of Kashan University of Medical Sciences*, 21(2):126-133. [In Persian]

21. Rahimi Anbarkeh F., Nikravesh M.R., Jalali M., Soukhtanloo M. 2022. Protective effects of alpha-lipoic acid on diazinon-induced renal toxicity in rats: an immunohistochemistry study. Toxin Reviews, 41(1):1-10.

22. Saffari, S., Torabzadeh, P., Rastgar Gharahshiran, S. 2019. The Teratogenic Effects Pesticide of Diazinon On the development of Balb/C Mouse Embryos 3Th to 6Th Days Of Pregnancy. *journal of veterinary clinical research,* 9(2):135-146.

23. Spina E., Simundza J., Incassati A., Chandramouli A., Kugler M.C., Lin Z., Cowin P. 2022. Gpr125 is a unifying hallmark of multiple mammary progenitors coupled to tumor latency. *Nature communications*, 13(1):1-17.

24. Toman R., Hluchy S., Cabaj M. 2016. Effect of separate and combined exposure of selenium and diazinon on rat sperm motility by computer assisted semen analysis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 38:144-149.

25. Zhang D., Xie D., Lin X., Ma1 L., Chen J., Zhang D. 2018. The transcription factor SOX30 is a key regulator of mouse spermiogenesis. *The Company of Biologists Ltd/Development*. 145:164723.

Evaluation of the Protective Effect of Chrysin on Sperm Parameters on the Process of Spermatogenesis in Rats Receiving Diazinon Toxin

Fatemeh Mojibi[1], Seyed Gholam Ali Jorsaraei[2]*, Esmail Fattahi[1], Sohrab Kazemi[3], Maryam Gholami Tabar Tabari[4]

1- Department of Biology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
2- Professor of Anatomical Siences, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Siensces, Babol, Iran
3- Cellular and Molecular Biology Resarch Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
4- Health Reproductive Research Center, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

Abstract

Compounds such as chrysin inhibit the effects of toxic substances such as diazinon on visceral organs and the present study was performed to evaluate the protective effect of chrysin on spermatogenesis by interfering with diazinon toxin. In this experimental study, 42 male Wistar rats weighing approximately 250-180 g were selected and randomly divided into 7 groups including control, sham, diazinon with a concentration of 20 mg/kg BW, chrysin with a concentration of 10, Chrysin with a concentration of 20 mg/kg, chrysin with a concentration of 10 mg/kg and diazinon with a concentration of 20 mg/kg and chrysin with a concentration of 20 mg/kg and diazinon with a concentration of 20 mg/kg were divided. At the end of the treatment period, with the process of tissue preparation, with Motic software, the number of cell lines per unit area was determined and compared with each other in different groups. There was a significant difference between the mean number of sperm count and sperm motility in the Sham and Control groups with Diazinon and DC10 groups ($p < 0.001$), and DC20 groups ($p < 0.01$). Also, there was a significant difference in sperm mortality in Shm and Cnt groups with Diazinon, DC10 and DC20 test groups ($p < 0.001$). The results showed that there was a significant difference in the mean number of sperm count, sperm motility, sperm mortality, sperm morphology, number of Leydig cells, number of germ cells, number of primary and secondary spermatocytes, and number of spermatids in Sham and Control groups compared to some test groups. Thus, CHR as a potent antioxidant can compensate for the toxicity of Diazinon toxin.

Keywords: Chrysin, Sperm Parameters, Spermatogenesis, Diazinon Toxin.