

مقاله پژوهشی

اثر محافظتی ژرانیول بر مورفولوژی، بقا و تحرک اسپرم در ضایعات ناشی از متیلاسیون در بیضه

راحله رضایی^۱، عباسعلی دهپور^۱، سیدمحمد حسینی^۲، مریم غلامی تبار طبری^۳، فرخنده نعمتی^۱

^۱ گروه زیست‌شناسی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

^۲ گروه آسیب‌شناسی دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

^۳ مرکز تحقیقات باروری سالم، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

* (نویسنده مسئول مکاتبات): dehpour@gmail.com

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۳

چکیده

مقدمه: هیپروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای باعث ایجاد ضایعات بافتی در جوندگان شده که منجر به اثرات سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی می‌شود. خواص جهش‌زایی این مواد بر سلول‌های دستگاه تناسلی نیز قابل توجه است. ژرانیول (Ge)، یک ترکیب فنلی، دارای خواص آنتی اکسیدانی و پتانسیل قابل توجهی در جلوگیری از آسیب ناشی از این مواد سمی است.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۸ هفته‌ای، موش‌های صحرایی نر به طور تصادفی در چهار گروه پنج تایی قرار گرفتند. دی‌متیل بنزآنتراسن (DMBA) با تک دوز واحد ۳۰ میلی گرم برای هر حیوان از طریق تزریق داخل صفاقی در روز اول برای ایجاد ضایعه تجویز شد. ژرانیول نیز با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم هفتگی از طریق گاواژ تجویز شد. در پایان دوره، نمونه‌ی اسپرم از اپیدیدیم‌ها اخذ شده و بررسی پارامترهای اسپرم و آنالیز مورفولوژیک انجام شد.

نتایج: یافته‌ها نشان دادند که ماده‌ی DMBA منجر به کاهش تعداد و تحرک اسپرم، افزایش میزان بقا و ضایعات در مورفولوژی اسپرم مانند ناهنجاری‌های دم، پیچش دم، کوتاه شدن دم، میکروسفالی و خم شدن دم می‌شود. ژرانیول نیز باعث کاهش ضایعات در گروه درمان شد.

نتیجه‌گیری: ژرانیول با کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش التهاب، به طور موثری ضایعات پارامترهای اسپرم را کاهش داد و پتانسیل آن را به عنوان یک عامل محافظ در برابر آسیب ناشی از هیپروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای برجسته کرد.

کلیدواژه‌ها: ژرانیول، متیلاسیون، اسپرم، موش صحرایی.

۱. مقدمه

ایجاد کرده است. عواملی نظیر تغییرات سبک زندگی، افزایش تماس با سموم محیطی، و استرس‌های اکسیداتیو به عنوان دلایل اصلی این بحران شناخته شده‌اند. این عوامل می‌توانند با تأثیر بر فرآیند اسپرم‌سازی، کیفیت و تحرک اسپرم را کاهش داده و به

اختلالات تولیدمثلی و کاهش باروری مردان یکی از مشکلات بهداشتی جدی در جهان است که با توجه به روند افزایشی آن در دهه‌های اخیر، نگرانی‌های بسیاری را در جامعه علمی و پزشکی

ناباروری منجر شوند. بر اساس آمارهای اخیر، حدود ۵۰ درصد از موارد ناباروری زوج‌ها ناشی از مشکلات تولیدمثلی مردان است که تأثیرات اجتماعی، اقتصادی، و روانی گسترده‌ای را به همراه دارد [۱-۳]. یکی از چالش‌های اصلی در این حوزه، متیلاسیون غیرطبیعی DNA در بافت‌های تولیدمثلی است که به دلیل نقش حیاتی آن در تنظیم بیان ژن‌ها و پایداری ژنوم، مورد توجه قرار گرفته است. متیلاسیون در سطوح متفاوت، به عنوان یک عامل اپی‌ژنتیکی، باعث تغییرات بیان الگوها و ساختار DNA و نهایتاً ایجاد اختلالات در الگوی متیلاسیون شده که می‌توانند منجر به کاهش عملکرد سلول‌های بنیادی اسپرم‌ساز و افزایش آسیب‌های ژنتیکی شوند. این مسئله به ویژه در مواجهه با سموم محیطی یا ترکیبات شیمیایی دارویی اهمیت بیشتری پیدا می‌کند، چرا که تغییرات متیلاسیونی می‌توانند اثرات بلندمدتی بر باروری و سلامت نسل‌های بعدی داشته باشند [۴، ۵]. بیضه‌ها به عنوان یکی از اندام‌های اصلی تولیدمثل در مردان، نقش مهمی در تولید اسپرم و تنظیم هورمون‌های جنسی ایفا می‌کنند. سلامت بیضه‌ها مستقیماً با کیفیت اسپرم و باروری مرتبط است. آسیب‌های متیلاسیونی به DNA و دیگر ترکیبات سلولی در بیضه می‌توانند اثرات جبران‌ناپذیری بر تولید اسپرم و بیان ژن‌های مرتبط با باروری داشته باشند. متیلاسیون DNA، که یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های تنظیم اپی‌ژنتیکی است، نقش کلیدی در تثبیت ژنوم و تنظیم بیان ژن‌ها ایفا می‌کند. با این حال، متیلاسیون غیرطبیعی ناشی از عوامل محیطی یا ترکیبات سمی می‌تواند منجر به تغییرات ژنتیکی و عملکردی شود که در نهایت به کاهش باروری یا ایجاد بیماری‌های مرتبط با دستگاه تناسلی منجر می‌شود [۴، ۶].

پارامترهای اسپرم، از جمله تعداد، تحرک و مورفولوژی، نقش حیاتی در باروری مردان دارند. تعداد اسپرم‌ها باید در محدوده طبیعی باشد تا احتمال رسیدن اسپرم به تخمک افزایش یابد. تحرک اسپرم نیز عامل مهمی در موفقیت لقاح است، زیرا اسپرم‌های با تحرک بالا توانایی بیشتری برای رسیدن به تخمک و نفوذ به آن دارند. علاوه بر این، مورفولوژی یا شکل اسپرم تأثیر مستقیمی بر قابلیت باروری دارد؛ اسپرم‌هایی با ساختار غیرطبیعی ممکن است در حرکت یا نفوذ به تخمک دچار مشکل شوند. کیفیت اسپرم می‌تواند بر شانس بارداری طبیعی تأثیر

گذاشته و در مواردی که کیفیت اسپرم پایین باشد، ممکن است نیاز به روش‌های درمانی مانند لقاح آزمایشگاهی (IVF) باشد [۷].

در این زمینه، استفاده از ترکیبات طبیعی مانند ژرانیول به عنوان یک استراتژی درمانی غیرتهاجمی و کم‌هزینه مطرح شده است. ژرانیول نه تنها به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود می‌تواند از بافت‌های تولیدمثلی در برابر آسیب‌های متیلاسیونی محافظت کند، بلکه بهبود کیفیت اسپرم، افزایش تحرک و تعداد آن را نیز تسهیل می‌کند. با توجه به اهمیت حفظ سلامت تولیدمثلی و نقش کلیدی آن در پایداری نسل‌های آینده، بررسی اثرات ژرانیول به عنوان یک رویکرد نوین و طبیعی می‌تواند راه‌حل‌های جدیدی برای پیشگیری و درمان ناباروری مردان ارائه دهد [۸]. ژرانیول یک ترکیب ترپنوئیدی طبیعی است که عمدتاً در روغن‌های ضروری گیاهانی مانند شمع‌دانی و مرکبات یافت می‌شود. این ترکیب به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، و ضدسرطانی خود مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات نشان داده‌اند که ژرانیول می‌تواند از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو و آسیب‌های ناشی از ترکیبات سمی محافظت کند و همچنین در تنظیم مسیرهای سیگنال‌دهی مولکولی که در رشد سلولی و مرگ برنامه‌ریزی شده (آپتوز) نقش دارند، موثر باشد. به دلیل این ویژگی‌ها، ژرانیول به عنوان یک عامل بالقوه در پیشگیری و درمان بیماری‌های ناشی از اختلالات سلولی و مولکولی مورد بررسی قرار گرفته است [۹، ۱۰].

علاوه بر این، تحقیقات در این حوزه نه تنها از نظر بالینی، بلکه از نظر علمی نیز اهمیت دارند؛ چرا که می‌توانند به درک بهتری از مکانیسم‌های مولکولی و اپی‌ژنتیکی آسیب‌های تولیدمثلی کمک کنند. چنین مطالعاتی می‌توانند به توسعه پروتکل‌های درمانی جدید، کاهش هزینه‌های درمان ناباروری، و بهبود کیفیت زندگی بیماران کمک کنند. از این رو، بررسی اثرات ژرانیول بر متیلاسیون بافتی بیضه و سلامت اسپرم، گامی مهم در مسیر حل یکی از چالش‌های اساسی سلامت مردان است.

۲. روش کار

۲-۱. طراحی مطالعه

۲۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار آلبینو ۱۰ تا ۱۲ هفته و وزن بین

پس از انکوباسیون، نمونه با استفاده از پیت کوچک به آرامی مخلوط شد تا اسپرم‌ها به طور یکنواخت در محیط کشت پخش شوند. برای حذف باقی‌مانده‌های بافتی، مخلوط حاصل با کمک گاز استریل یا سانتریفیوژ کوتاه (۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه) تصفیه شد. نمونه‌ها روی لام ریخته شد و با میکروسکوپ نوری، پارامترهای اسپرم بررسی شدند [۱۵].

۳-۲. بررسی پارامترهای تعداد و حرکت اسپرم

برای بررسی سلامت حرکت اسپرم، مقداری از نمونه (اپیدیدیم) که در داخل انکوباتور قرار داشت، برداشته و بر روی لام نئوبار قرار داده و نمونه را زیر میکروسکوپ نوری گذاشته و با بزرگنمایی ۱۰ بررسی شد. اسپرم‌هایی که حرکت نداشتند، شمارش شدند. سپس نمونه را فیکس کرده و کل تعداد اسپرم‌ها را شمارش نمودیم. برای بررسی تعداد اسپرم‌ها هم از لام نئوبار استفاده شد؛ به این طریق که نمونه بدست آمده از اپیدیدیم ۴۰ برابر با فرمالدهید ۵٪ رقیق گردید و سپس آن را روی لام نئوبار گذاشته و تعداد اسپرم‌ها در چهار مربع بزرگ شمارش شد، و عدد بدست آمده در ۵۰۰۰ ضرب گردید [۱۶].

۴-۲. بررسی مورفولوژی اسپرم با رنگ آمیزی H&E

برای بررسی مورفولوژی اسپرم‌ها از همان نمونه‌ای که برای بررسی موتیلیتی اسپرم تهیه شده بود، استفاده گردید؛ بدین صورت که گستره‌ای بر روی لام تهیه شد، و بعد در مجاورت هوا خشک گردید. سپس یکبار به آرامی با آب مقطر شستشو داده شد و دوباره در مجاورت هوا خشک گردید. سپس با کیت مخصوص رنگ‌آمیزی اسپرم رنگ شد. سپس زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ مورد بررسی قرار گرفت [۱۷].

۵-۲. آنالیز نتایج

از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ برای آنالیز اعداد استفاده شده و از تست تعقیبی Tukey برای بررسی معنی‌داری تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. تمامی مقادیر کمی بصورت میانگین نشان داده شده است. در ارزیابی آماری داده‌های کیفی، شدت ضایعات به صورت بدون ضایعه (-)، ضایعات خفیف (+)، ضایعات متوسط (++) و ضایعات شدید (+++) تعریف شد [۱۶، ۱۸]. حداقل سطح معنی‌داری نیز $P < 0.05$ تعیین شد [۱۹].

۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم در مرکز حیوانات انستیتو پاستور ایران نگهداری شدند. شرایط محیطی در دمای ۲۰ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۰ درصد با چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعت حفظ شد. در طول آزمایش، حیوانات به رژیم غذایی استاندارد و آب دسترسی داشتند.

موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه که هر گروه شامل پنج عضو بود تقسیم شدند. ۱. گروه کنترل هیچ درمانی دریافت نکرد. ۲. گروه DMBA با دوز واحد ۳۰ میلی گرم برای هر حیوان در روز اول از طریق تزریق داخل صفاقی تجویز شد [۱۱]. ۳. گروه سوم دوز کل هفتگی ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ژرانیول را از طریق گاوژ دو بار در هفته دریافت کردند که هر دوز آن ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود [۱۰]. ۴. گروه نهایی هر دو درمان را دریافت کردند. در پایان دوره ۸ هفته‌ای، همه موش‌ها هنوز زنده بودند و با استفاده از کوکتل کتامین (۱۰٪ Bremer Pharma GmbH) با غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم همراه با زایلازین (۲٪ Alfasan Diergeneesmiddelen BV) با دوز ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی بیهوش شدند. نمونه‌های اسپرم جمع‌آوری و سپس برای ارزیابی استفاده شد.

۲-۲. نمونه‌گیری

محیط DMEM (Iran Bioteck) خریداری شده و با افزودن ۱۰٪ سرم جنین گاو (FBS) (Iran Bioteck) غنی شد. به منظور پیشگیری از آلودگی، آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰ U/mL) و استرپتومایسین (۱۰۰ µg/mL) نیز به محیط اضافه شدند [۱۲].

جهت اخذ اسپرم، موش صحرایی با استفاده از کوکتل کتامین و زایلازین بی‌هوش شد. ناحیه پایین شکم با محلول ضد عفونی‌کننده (الکل ۷۰ درصد) تمیز شد [۱۳]. با ایجاد برشی کوچک در ناحیه تحتانی شکم، اپیدیدیم به آرامی بیرون آورده شد [۱۴]. دم اپیدیدیم با استفاده از قیچی جراحی استریل جدا شده و به سرعت در یک ظرف حاوی ۱ تا ۲ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. برای آزادسازی اسپرم‌ها، دم اپیدیدیم به قطعات کوچک تقسیم شده و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در محیط کشت انکوبه شد. در طی این مدت، اسپرم‌ها به صورت طبیعی از بافت اپیدیدیم آزاد شدند.

۳. نتایج

۳-۱. تعداد، تحرک، و بقای اسپرم‌ها

در بررسی فاکتورهای اسپرم مانند تعداد، تحرک و بقا، هیچ گونه اختلافی در گروه کنترل و ژرانیول (GE) مشاهده نشد. با این حال، در گروه DMBA، تعداد و تحرک اسپرم کمتر از حد نرمال بود، و همچنین بقای اسپرم بالاتر از حد انتظار بود که تفاوت معنی‌داری ($P < 0.001$) را با گروه کنترل و ژرانیول نشان داد. در گروه درمان با ژرانیول (DMBA + GE)، شرایط به طور قابل توجهی بهبود یافت، با افزایش قابل توجهی در تعداد و تحرک اسپرم در مقایسه با گروه DMBA. علاوه بر این، میزان بقای اسپرم به طور قابل توجهی در مقایسه با گروه DMBA کاهش یافت. (جدول ۱)

جدول ۱. شاخص‌های مربوط به اسپرم در گروه‌های مختلف.

گروه‌ها	تعداد اسپرم (M/ml)	میزان اسپرم‌های متحرک (%)	میزان مرگ اسپرم‌ها (%)
کنترل	54.27 ^a	89.89 ^a	10.69 ^c
ژرانیول	57.31 ^a	89.88 ^a	11.67 ^c
DMBA	41.00 ^c	73.59 ^c	33.32 ^a
ژرانیول + DMBA	47.00 ^b	80.95 ^b	22.25 ^b
P Value	0.001	0.001	0.001

معنی‌داری بین گروه‌ها بر اساس حروف انگلیسی به شکل نزولی مشخص شده‌اند. حروف انگلیسی به شکل نزولی، نشان‌دهنده بیشترین تا کمترین مقادیر مربوط به هر پارامتر است. اختلاف تفاوت بین حروف در هر پارامتر، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($P \text{ value} < 0.001$) بین آن دو گروه می‌باشد.

۳-۲. تغییرات ظاهری و ساختاری اسپرم‌ها

در بررسی مورفولوژی اسپرم، گروه‌های کنترل و ژرانیول (G) هیچ ضایعه‌ای مانند ناهنجاری‌های دم، پیچش دم، دم کوتاهی، میکروسفالی یا خم شدن دم را نشان ندادند. در مقابل، گروه DMBA موارد متوسطی از خم شدن دم و میکروسفالی، همراه با موارد خفیف دم نامنظم، پیچش دم، و کوتاه شدن دم را نشان داد. با این حال، در گروه درمان با ژرانیول (DMBA + G)، بهبود قابل توجهی مشاهده شد. تعداد موارد خم شدن دم و میکروسفالی از

متوسط به خفیف کاهش یافت. علاوه بر این، ناهنجاری‌های نامنظم دم، پیچش دم، و کوتاه شدن دم که به طور خفیف در گروه DMBA وجود داشت، دیگر در گروه‌های درمان مشاهده نشد. (تصویر ۱ و جدول ۲)

جدول ۲. تغییرات مورفولوژیک اسپرم در بین گروه‌ها.

گروه‌ها	کوتاه شدن دم	پیچش دم	ناهنجاری‌های دم	میکروسفالی	تعداد
کنترل	-	-	-	-	-
ژرانیول	-	-	-	-	-
DMBA	++	++	+	+	+
DMBA + ژرانیول	+	-	-	+	-

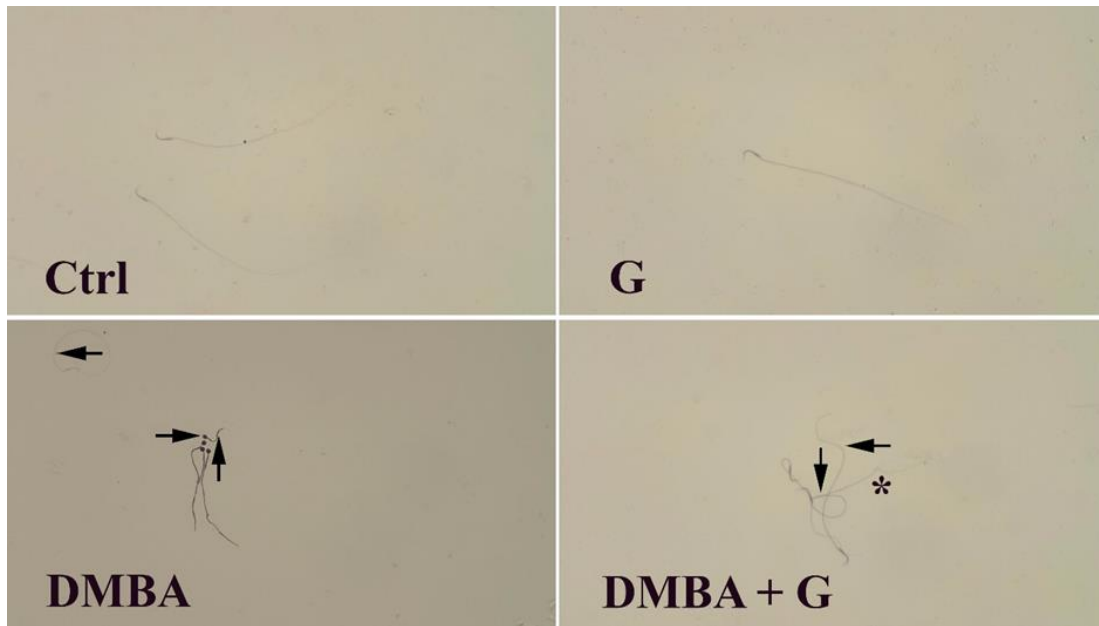
بدون ضایعه (-)، ضایعات خفیف (+)، و ضایعات متوسط (++).

۴. بحث

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده اثرات محافظتی ژرانیول بر پارامترهای سلامت اسپرم مانند تعداد، تحرک، و مورفولوژی طبیعی است. این یافته‌ها با مطالعات قبلی همخوانی دارد که نشان می‌دهند ژرانیول به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود می‌تواند از سلول‌های تولیدمثلی در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو و عوامل سمی محافظت کند [۲۰].

یکی از مکانیسم‌های اصلی که بهبود سلامت اسپرم توسط ژرانیول را توضیح می‌دهد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی آن است. آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها می‌تواند از غشاهای اسپرم و محتوای DNA در برابر آسیب محافظت کنند. این ترکیبات همچنین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را مهار کرده و تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های داخلی را برقرار می‌کند، که این امر به افزایش بقای اسپرم و بهبود تحرک آن کمک می‌کند [۲۱].

[۲۲]. مکانیسم دیگر اثر ژرانیول می‌تواند مرتبط با تعدیل مسیرهای سیگنال‌دهی التهابی باشد. مطالعات نشان داده‌اند که ژرانیول با کاهش بیان سایتوکاین‌های التهابی مانند $\text{TNF-}\alpha$ و IL-6 در بافت‌های تولیدمثلی، به حفظ محیط مناسب برای تولید اسپرم کمک می‌کند. کاهش التهاب در بیضه و اپیدیدیم می‌تواند



تصویر ۱. مورفولوژی اسپرم‌ها. Ctrl: گروه کنترل. G: گروه ژرانیول. شرایط طبیعی در گروه کنترل (Ctrl) و ژرانیول (G) مشاهده شد. DMBA: گروه ضایعه که خم شدن دم (پیکان چپ)، میکروسفالی (پیکان سمت راست)، کوتاهی دم (فلش بالا)، پیچش دم (فلش پایین)، دم نامنظم (ستاره) در این گروه دیده شد. DMBA + G: گروه درمان که میزان ضایعات کمتری را نسبت به گروه DMBA نشان داد.

از تخریب سلول‌های تولیدمثلی جلوگیری کرده و باعث بهبود کیفیت اسپرم شود [۲۳]. علاوه بر این، ژرانیول ممکن است از طریق تنظیم اپی‌ژنتیکی و حفاظت از DNA اثرات مفیدی داشته باشد. این ترکیب می‌تواند از متیلاسیون غیرطبیعی DNA که توسط عوامل سمی ایجاد می‌شود، جلوگیری کند. حفاظت از الگوی متیلاسیون DNA در ژن‌های کلیدی مرتبط با اسپرماتوژنز نقش مهمی در حفظ تعداد و کیفیت اسپرم دارد [۲۴].

سطح بالای استرس اکسیداتیو، به علت عدم تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، در مردان نابارور بارها گزارش شده که می‌تواند اثرات مخربی بر روی فرآیند اسپرماتوژنز داشته باشد. درمان آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اثرات مخرب استرس اکسیداتیو بر اسپرم را بهبود بخشد. مشابه مطالعه کنونی که از یک آنتی‌اکسیدان برای کاهش ضایعات استفاده شد، در مطالعه‌ی دیگری مشاهده شده بود که یک آنتی‌اکسیدان طبیعی با حذف رادیکال‌های آزاد و احیا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توانسته موجب بهبود کیفیت اسپرم، آسیب DNA اسپرم و نتایج درمانی شود [۲۵]. در مطالعه‌ی دیگری، یک عصاره گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی توانست اثرات سمیت سلولی را در اسپرم‌های موش کاهش دهد [۲۶].

اثرات ناباروری هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای مانند ۷ و ۱۲-دی متیل بنزوآنتراسن (DMBA) بر تولید مثل حیوانات و انسان‌ها شناخته شده است، و مطالعات بسیاری نقش این هیدروکربن‌ها را در واسطه اثرات مضر جدی بر سیستم تولید مثل مردان ثبت کرده‌اند [۲۷]. در مطالعه حاضر، قرار گرفتن در معرض DMBA باعث کاهش قابل توجه تعداد و تحرک اسپرم و افزایش قابل توجهی در مرگ و میر اسپرم شد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که قرار گرفتن در معرض DMBA بر پارامترهای اسپرم در حیوانات و انسان تأثیر منفی می‌گذارد [۲۸]. در موش‌ها، تجویز DMBA منجر به کاهش تعداد، تحرک و زنده ماندن اسپرم شد. مطالعه دیگری رابطه معناداری بین کاهش حرکت اسپرم و کاهش تعداد و مورفولوژی طبیعی اسپرم نشان داد که این تغییرات را با افزایش سطح سرمی هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای مرتبط می‌کند [۲۹]. علاوه بر این، تحقیقاتی که به بررسی اثر هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای بر کیفیت اسپرم می‌پردازد، نشان می‌دهد که مردان در سنین باروری به دلیل قرار گرفتن در معرض این سموم، کاهش قابل توجهی در تعداد، مورفولوژی و تحرک اسپرم‌ها را تجربه کردند [۳۰].

- Research in Ayurvedic Sciences. 2024; 9(3): 173-81.
- [12] Frank DA. Culture of animal cells: a manual of basic technique. The Yale Journal of Biology and Medicine. 1984; 57(2): 247.
- [13] Leitão SAT, dos Santos Soares D, Junior NC, Zimmer R, Ludwig NF, Andrades M. Study of anesthetics for euthanasia in rats and mice: A systematic review and meta-analysis on the impact upon biological outcomes (SAFE-RM). Life Sciences. 2021; 284: 119916.
- [14] Goyal H, Braden T, Mansour M, Williams C, Kamaleldin A, Srivastava K. Diethylstilbestrol-treated adult rats with altered epididymal sperm numbers and sperm motility parameters, but without alterations in sperm production and sperm morphology. Biology of Reproduction. 2001;64(3):927-34.
- [15] Meistrich ML. Separation of spermatogenic cells and nuclei from rodent testes. Methods in cell biology: Elsevier; 1977. p. 15-54.
- [16] Seed J, Chapin RE, Clegg ED, Dostal LA, Foote RH, Hurtt ME, et al. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. Reproductive toxicology. 1996; 10(3): 237-44.
- [17] Ichihara G, Yu X, Kitoh J, Asaeda N, Kumazawa T, Iwai H, et al. Reproductive toxicity of 1-bromopropane, a newly introduced alternative to ozone layer depleting solvents, in male rats. Toxicological Sciences. 2000; 54(2): 416-23.
- [18] Rahimi O, Asadi Louie N, Salehi A, Faed Maleki F. Hepatorenal Protective Effects of Hydroalcoholic Extract of Solidago canadensis L. against Paracetamol-Induced Toxicity in Mice. Journal of Toxicology. 2022; 2022(1): 9091605.
- [19] Salehi A, Hosseini SM, Kazemi S. Propolis ameliorates renal, liver, and pancreatic lesions in Wistar rats. Biotechnology and Applied Biochemistry. 2024.
- [20] Said AA, Nasr Y, Galal AA, Abdelhamid AE, Mohamed HA, Metwally MM, et al. Concerns with male infertility induced by exposure to titanium nanoparticles and the supporting impact of Pelargonium graveolens essential oil: morphometric records in male-Wistar rats. Life. 2022; 12(5): 639.
- [21] De Luca MN, Colone M, Gambioli R, Stringaro A, Unfer V. Oxidative stress and male fertility: role of antioxidants and inositols. Antioxidants. 2021; 10(8): 1283.
- [22] Qamar AY, Naveed MI, Raza S, Fang X, Roy PK, Bang S, et al. Role of antioxidants in fertility preservation of sperm—A narrative review. Animal bioscience. 2022; 36(3): 385.
- به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ژرانیول به عنوان یک عامل درمانی طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌تواند اثرات مثبتی بر پارامترهای سلامت اسپرم داشته باشد. نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه می‌توانند زمینه‌ساز تحقیقات بیشتر در زمینه استفاده از ژرانیول در درمان ناباروری مردان باشند.
- ### منابع
- [1] Aitken RJ, Drevet JR, Moazamian A, Gharagozloo P. Male infertility and oxidative stress: a focus on the underlying mechanisms. Antioxidants. 2022; 11(2): 306.
- [2] Bisht S, Faiq M, Tolahunase M, Dada R. Oxidative stress and male infertility. Nature Reviews Urology. 2017;14(8):470-85.
- [3] Giwercman A, Bonde JP. Declining male fertility and environmental factors. Endocrinology and metabolism clinics of North America. 1998; 27(4): 807-30.
- [4] Rotondo JC, Lanzillotti C, Mazziotta C, Tognon M, Martini F. Epigenetics of male infertility: the role of DNA methylation. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2021; 9: 689624.
- [5] Giacone F, Cannarella R, Mongioi LM, Alamo A, Condorelli RA, Calogero AE, et al. Epigenetics of male fertility: effects on assisted reproductive techniques. The World Journal of Men's Health. 2019;37(2):148-56.
- [6] Gunes S, Esteves SC. Role of genetics and epigenetics in male infertility. Andrologia. 2021; 53(1): e13586.
- [7] Agarwal A, Tvrda E, Sharma R. Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility. Reproductive Biology and Endocrinology. 2014;12:1-8.
- [8] Oyediji TA, Olosore HS, Oluwole-Banjo AK, Isong JA, David BO, Ekpere C, et al. Geraniol ameliorates testicular damage in diabetic rats via inhibition of redox parameters and mitochondrial-mediated apoptosis. Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine. 2023; 8: 100268.
- [9] Chen W, Viljoen AM. Geraniol—a review update. South African Journal of Botany. 2022; 150: 1205-19.
- [10] Lei Y, Fu P, Jun X, Cheng P. Pharmacological properties of geraniol—a review. Planta medica. 2019; 85(01): 48-55.
- [11] Kaur S, Anika A, Kumar S, Sadwal S. Mitigation of testicular damage induced by DMBA/TPA through *Murraya koenigii* (L.) Spreng.: Insights into antioxidant and anti-apoptotic mechanisms. Journal of Drug

- [23] Yuan H-L, Zhao Y-L, Ding C-F, Zhu P-F, Jin Q, Liu Y-P, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Curcuma kwangsiensis* and its bioactive terpenoids in vivo and in vitro. *Journal of ethnopharmacology*. 2020; 259: 112935.
- [24] Pascoal GdFL, Geraldi MV, Maróstica Jr MR, Ong TP. Effect of paternal diet on spermatogenesis and offspring health: Focus on epigenetics and interventions with food bioactive compounds. *Nutrients*. 2022; 14(10): 2150.
- [25] Akhavan farid G R, Ghandehari Alavijeh R, Shaygannia E, Tavalae M, Nasr-Esfahani M H. Effect of alpha-lipoic acid antioxidant on sperm parameters and treatment of infertile men. *MEDICAL SCIENCES* 2020; 30 (1): 16-24
- [26] ORYAN, Shahrbanoo; GHANBARI, Ali y KHAZAEI, Mozafar. Protective Effect of *Tribulus terrestris* Hydroalcoholic Extract against Cisplatin-Induced Cytotoxicity on Sperm Parameters in Male Mice. *Int. J. Morphol.* [online]. 2014, vol. 32, N. 2, pp. 551-557
- [27] Yıldırım S, Belhan S, Uyar H, Huyut Z, Oto G, Sağlam YS. Effects of chronically exposure to flr and 7, 12-dimethylbenzanthracene (DMBA) on spermatogenesis and testicular histopathology in rats. 2018.
- [28] Saad AA, Hussein T, El-Sikaily A, Abdel-Mohsen MA, Mokhamer E-H, Youssef AI, et al. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons exposure on sperm DNA in idiopathic male infertility. *Journal of Health and Pollution*. 2019; 9(21): 190309.
- [29] Raj A, Katz M. Inhibitory effects of α - and β -naphthoflavones on DMBA-induced anomalies in germ cells assessed by sperm abnormality assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology*. 1984; 136(1): 81-4.
- [30] Gaspari L, Chang S-S, Santella RM, Garte S, Pedotti P, Taioli E. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in human sperm as a marker of DNA damage and infertility. *Mutation research/genetic toxicology and environmental mutagenesis*. 2003; 535(2): 155-60.