



Synergistic Protective Effects of Hydroalcoholic Extract of *Echinophora platyloba* and Vitamin E against Testicular Ischemia–Reperfusion Injury: Evaluation of Oxidative Stress, Antioxidant Gene Expression, and Doppler Ultrasound Findings

Ashkan Sadeghi¹, Mehdi Farid¹, Elham Moghtadaei-Khorasgani^{2*}, Mehrdad Yadegari³,
Moosa Javdani⁴

¹ Department of Veterinary Surgery, ShK.C., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

² Department of Pathobiology, ShK.C., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

³ Department of Veterinary Imaging, ShK.C., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

⁴ Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

*Corresponding author: Elham Moghtadaei-Khorasgani, Department of Pathobiology, ShK.C., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Email: elham.moghtadaiee@iau.ac.ir- moghtadaiee@gmail.com

Received: 27 May 2026 Revised: 2026/07/13 Accepted: 13 July 2026

Abstract

Background and Aim: Testicular ischemia–reperfusion (I/R) injury is a major cause of male infertility, primarily mediated by excessive reactive oxygen species (ROS) production and disruption of the antioxidant defense system. This study aimed to investigate the synergistic effects of hydroalcoholic extract of *Echinophora platyloba* and Vitamin E on Doppler ultrasound indices, oxidative stress markers, antioxidant gene expression, sperm count, and testosterone levels in a rat model of testicular I/R injury.

Methods: In this experimental study, 30 adult male Wistar rats were randomly assigned to five groups: Sham, torsion–detorsion (T/D), T/D + *E. platyloba* extract (400 mg/kg), T/D + Vitamin E (160 mg/kg), and T/D + combination therapy. Color Doppler ultrasonography parameters, including echogenicity, resistance index, and testicular volume, were assessed on days 1 and 21. Malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC), SOD and CAT enzyme activities, and testosterone levels were measured using spectrophotometric, enzymatic, and ELISA methods. SOD and CAT gene expression was evaluated by Real-Time PCR.

Results: The T/D group exhibited increased oxidative stress and reduced antioxidant activity. Combination therapy resulted in a 44% reduction in MDA levels and a 2.67-fold increase in TAC compared with the T/D group ($P < 0.05$). Moreover, SOD and CAT gene expressions increased by 1.7-fold and 4.7-fold, respectively. Sperm count improved by 4.7-fold, and Doppler ultrasound parameters and testosterone levels approached those observed in the Sham group.

Conclusion: Co-administration of *E. platyloba* extract and vitamin E enhanced antioxidant capacity and modulated SOD and CAT gene expression, providing significant protective effects against testicular I/R injury. This combination improved sperm parameters and testosterone levels and may represent a potential adjunctive approach for preserving fertility following testicular torsion in future preclinical studies.

Keywords: *Echinophora platyloba*, Vitamin E, Sperm, Oxidative stress, Doppler ultrasound, Ischemia-reperfusion

Extended Abstract

Background and Objective

Testicular ischemia-reperfusion (I/R) injury is a major cause of male infertility and testicular dysfunction, primarily mediated by the excessive generation of reactive oxygen species (ROS) and the subsequent weakening of endogenous antioxidant defense systems. Given the potential of antioxidant compounds to mitigate such damages, this study aimed to investigate the synergistic effects of *Echinophora platyloba* hydroalcoholic extract and Vitamin E on Doppler ultrasound indices, oxidative stress parameters, antioxidant gene expression, sperm count, and testosterone levels in an animal model of testicular I/R injury.

Methods

In this experimental study, 30 adult male Wistar rats were randomly divided into five groups: Sham, torsion-detorsion without treatment (T/D), T/D plus *E. platyloba* extract (400 mg/kg), T/D plus Vitamin E (160 mg/kg), and a combination group (extract + Vitamin E). Sonographic parameters, including echogenicity, resistance index (RI), and testicular volume, were assessed using color Doppler ultrasonography (Medison SA 8000) on days 1 and 21 post-surgery. Biochemical markers, including malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzyme activities, and testosterone levels, were measured using spectrophotometric, enzymatic, and ELISA methods. Furthermore, the expression of *SOD* and *CAT* genes was evaluated via Real-Time PCR.

Results

The T/D group exhibited a significant increase in oxidative stress markers alongside a marked decrease in antioxidant

enzyme activities. In contrast, co-administration of *E. platyloba* extract and Vitamin E resulted in a 1.8-fold reduction in MDA levels (approximately 44% decrease) and a 2.67-fold increase in TAC compared to the T/D group ($P < 0.05$). Gene expression analysis revealed that the combination therapy upregulated *SOD* and *CAT* expression by 1.7-fold and 4.7-fold, respectively, relative to the T/D group. Additionally, sperm count in the combination group showed a remarkable 4.7-fold improvement compared to the T/D group. Sonographic parameters and testosterone levels were also restored to near-sham values in this group.

Conclusion

The findings of this study demonstrated that simultaneous administration of hydroalcoholic extract of *Echinophora platyloba* and vitamin E, through synergistic enhancement of antioxidant capacity and modulation of *SOD* and *CAT* gene expression, exerted significant protective effects against structural and functional damage induced by testicular ischemia-reperfusion injury. These effects were associated with a 1.8-fold reduction in MDA levels (approximately 44%), a 2.67-fold increase in TAC, and 1.7- and 4.7-fold upregulations in *SOD* and *CAT* gene expression, respectively, compared to the torsion-detorsion group. In addition to improving sonographic parameters, this intervention also enhanced sperm quality parameters and testosterone levels. Therefore, the combination of these two agents may be considered a potential adjunctive therapeutic approach in preclinical studies aimed at mitigating the complications of testicular torsion and preserving reproductive capacity.



اثرات محافظتی هم‌افزای عصاره هیدروالکلی خوشاریزه و ویتامین E بر آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه: ارزیابی استرس اکسیداتیو، بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و یافته‌های سونوگرافی داپلر

اشکان صادقی^۱، مهدی فرید^۱، الهام مقتدایی خوراسگانی^۲، مهرداد یادگاری^۳، موسی جاودانی^۴

^۱ گروه جراحی دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^۲ گروه پاتوبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^۳ گروه تصویربرداری دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^۴ گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۵/۰۳/۰۶ اصلاح مقاله: ۱۴۰۵/۰۴/۲۲ پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۰۴/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه یکی از علل مهم ناباروری مردان است که عمدتاً از طریق افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و اختلال در تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی اثرات هم‌افزای عصاره هیدروالکلی خوشاریزه (*Echinophora platyloba*) و ویتامین E بر شاخص‌های سونوگرافی داپلر، استرس اکسیداتیو، بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی، تعداد اسپرم و سطح تستوسترون در مدل حیوانی آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۰ رت نر بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی به پنج گروه شامل شم، تورشن-دتورشن (T/D)، دریافت‌کننده عصاره خوشاریزه (۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، دریافت‌کننده ویتامین E (۱۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و درمان ترکیبی تقسیم شدند. شاخص‌های سونوگرافی داپلر رنگی شامل اکوژنیسیته، شاخص مقاومت و حجم بیضه در روزهای ۱ و ۲۱ ارزیابی شد. سطوح مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC)، فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT و سطح تستوسترون اندازه‌گیری شد. همچنین، بیان ژن‌های SOD و CAT با روش Real-Time PCR بررسی شد.

یافته‌ها: در گروه T/D افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. درمان ترکیبی موجب کاهش ۴۴ درصدی سطح MDA و افزایش ۲/۶۷ برابری TAC نسبت به گروه T/D شد ($P < 0.05$). همچنین، بیان ژن‌های SOD و CAT به‌ترتیب ۱/۷ و ۴/۷ برابر افزایش یافت. تعداد اسپرم ۴/۷ برابر بهبود یافت و شاخص‌های سونوگرافیک و تستوسترون به سطح گروه شم نزدیک شد.

نتیجه‌گیری: ترکیب عصاره خوشاریزه و ویتامین E با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و تعدیل بیان ژن‌های SOD و CAT، اثرات محافظتی قابل توجهی در برابر آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه نشان داد و موجب بهبود شاخص‌های باروری و عملکرد هورمونی شد. این ترکیب می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد مکمل در مطالعات پیش‌بالینی مرتبط با حفظ باروری پس از پیچ‌خوردگی بیضه مورد بررسی قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: خوشاریزه، ویتامین E، اسپرم، استرس اکسیداتیو، Ischemia-reperfusion, Doppler ultrasound

مقدمه

پیچ‌خوردگی بیضه در اثر چرخش طناب اسپرماتیک و متعاقب آن انسداد جریان خون ایجاد می‌شود و با کاهش اکسیژن‌رسانی، موجب بروز ایسکمی در بافت بیضه می‌گردد [۱]. اگرچه بازگشت جریان خون برای حفظ حیات بافت ضروری است، ری‌پرفیوژن می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مرتبط با آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن، آسیب بافتی را تشدید کند [۲]. بیضه به دلیل متابولیسم بالا، نیاز زیاد به اکسیژن و غنی‌بودن غشاهای سلول‌های زایا از اسیدهای چرب چندغیراشباع، حساسیت بالایی نسبت به استرس اکسیداتیو دارد [۳]. افزایش تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) طی مرحله ری‌پرفیوژن، از طریق القای پراکسیداسیون لیپیدی، اختلال عملکرد میتوکندری، التهاب و آپوپتوز، می‌تواند موجب آسیب ساختاری و اختلال در عملکرد فیزیولوژیک بیضه شود [۴].

استرس اکسیداتیو از مهم‌ترین مکانیسم‌های آسیب بافتی در ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه بوده و می‌تواند با آسیب غشای سلولی، اختلال عملکرد اندوکرینی و اختلال در اسپرماتوژنز، موجب کاهش تعداد، تحرک و کیفیت اسپرم و افزایش خطر ناباروری شود [۵]. کاهش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی نیز حساسیت بافت بیضه را در برابر این آسیب‌ها افزایش می‌دهد؛ در مقابل، تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اثرات مخرب گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن را تعدیل کند [۶]. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بیضه شامل آنزیم‌هایی همچون سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز، در کنار آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی، است که با حذف گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن، مهار پراکسیداسیون لیپیدی و محافظت از DNA و پروتئین‌ها، نقش مهمی در حفظ ساختار و عملکرد طبیعی بافت بیضه ایفا می‌کند [۳].

با توجه به نقش محوری استرس اکسیداتیو در آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان یکی از راه‌کارهای بالقوه برای کاهش این آسیب مورد توجه قرار گرفته است [۷، ۸]. در این میان، ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی محلول در چربی، با مهار پراکسیداسیون لیپیدی و تقویت ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی، اثرات محافظتی قابل‌توجهی در بافت بیضه تحت شرایط ایسکمی-ری‌پرفیوژن نشان داده است [۹]. افزون بر این، ویتامین E از طریق تثبیت غشاهای سلولی غنی از اسیدهای چرب غیراشباع، می‌تواند در حفظ فرایند اسپرماتوژنز، بهبود کیفیت و کمیت اسپرم و حمایت از عملکرد سلول‌های تولیدکننده تستوسترون نقش داشته باشد [۱۰، ۱۱]. در سال‌های اخیر، ترکیبات طبیعی با منشأ گیاهی و خواص آنتی‌اکسیدانی مورد توجه قرار گرفته‌اند. خوشاریزه، به‌عنوان یکی از گیاهان دارویی بومی ایران، حاوی ترکیبات زیست‌فعال با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضدالتهابی است [۱۲-۱۴].

مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده‌اند که اسانس و عصاره‌های گونه‌های مختلف جنس *Echinophora*، با کاهش تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و مهار استرس اکسیداتیو، از ظرفیت بالقوه‌ای برای محافظت در برابر آسیب‌های بافتی برخوردارند [۱۲-۱۴]. همچنین، عصاره اندام‌های هوایی خوشاریزه در مدل‌های حیوانی، تحمل‌پذیری مناسب و اثرات محافظتی بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی، از جمله پروفایل لیپیدی و عملکرد کبد و کلیه، نشان داده است [۱۵، ۱۶]. استفاده از این گیاه در ترکیبات گیاهی به‌کاررفته در مطالعات بالینی برای برخی اختلالات، از جمله علائم سندرم پیش‌قاعدگی، نیز نشان‌دهنده ایمنی نسبی آن در انسان است [۱۷].

ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در عصاره‌های گیاهی با خنثی‌سازی گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن، شلاته‌کردن یون‌های فلزی و مهار مسیرهای التهابی، نقش‌های آنتی‌اکسیدانی و سیتوپروتکتیو ایفا می‌کنند [۱۸، ۱۹]. در مقابل، ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان محلول در چربی، با استقرار در لایه‌های لیپیدی غشا، از پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع جلوگیری می‌کند [۹، ۱۰، ۲۰]. بنابراین، ترکیب آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنولی با منشأ گیاهی و ویتامین E، با اثرگذاری در فازهای آبی و لیپیدی، می‌تواند مکانیسم‌های محافظتی مکملی ایجاد کرده و اثرات هم‌افزای بالقوه‌ای در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو داشته باشد [۲۱]. بر این اساس، در مطالعه حاضر اثر هم‌زمان این دو ترکیب بر کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه بررسی شد؛ زیرا این رویکرد تاکنون به‌طور اختصاصی ارزیابی نشده است. پتانسیل حفاظتی آن‌ها با بررسی شاخص‌های سونوگرافیک، مارکرهای بیوشیمیایی استرس اکسیداتیو، پارامترهای اسپرم و هورمون‌های تولیدمثلی ارزیابی شد. ارزیابی سونوگرافیک به‌عنوان روشی غیرتهاجمی و تکرارپذیر، امکان بررسی تغییرات ساختاری و همودینامیک بیضه را فراهم می‌کند و شاخص‌هایی مانند مقاومت عروقی (RI)، ابعاد بیضه و اکوژنیسیته می‌توانند وضعیت پرفیوژن، مورفولوژی و یکپارچگی پارانشیم را منعکس کنند [۲۰، ۲۲]. همچنین، بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی مرتبط با استرس اکسیداتیو، شامل فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT)، غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC)، برای ارزیابی شدت آسیب و وضعیت دفاع آنتی‌اکسیدانی ضروری است [۲، ۲۳-۲۸]. افزون بر این، سطح سرمی تستوسترون و تعداد اسپرم به‌عنوان شاخص‌های عملکرد سلول‌های لیدیگ و اسپرماتوژنز، اطلاعاتی درباره عملکرد تولیدمثلی در شرایط ایسکمی-ری‌پرفیوژن فراهم می‌کنند [۲۰، ۲۸، ۲۹]. بر این اساس، در مدل استاندارد چرخش-بازچرخش بیضه در رت، اثرات محافظتی تجویز هم‌زمان عصاره هیدروالکلی خوشاریزه (EPHE) و ویتامین E با ارزیابی شاخص‌های سونوگرافیک،

استرس اکسیداتیو، پارامترهای اسپرم و سطح سرمی تستوسترون بررسی شد.

روش‌ها

جامعه و نمونه آماری

– نوع مطالعه و ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه تجربی، با هدف بررسی اثر هم‌زمان عصاره هیدروالکلی گیاه خوشاریزه (*Echinophora platyloba*) و ویتامین E بر شاخص‌های بیوشیمیایی، سونوگرافیک و هورمونی در مدل ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه در موش صحرایی نر، از ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سالم با وزن تقریبی ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات با استفاده از تصادفی‌سازی ساده (simple randomization) بر اساس جدول اعداد تصادفی، به پنج گروه شش‌تایی تقسیم شدند. حیوانات در قفس‌های مجزا و تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی، شامل دمای 23 ± 3 درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته و رطوبت کنترل‌شده، نگهداری شدند و به آب و غذای استاندارد به‌صورت آزاد دسترسی داشتند. پیش از آغاز مطالعه، حیوانات از نظر ناهنجاری‌های مادرزادی و بیماری‌های مزمن بررسی شدند و نمونه‌های دارای این شرایط، به‌منظور حفظ همگنی گروه‌ها، از مطالعه حذف شدند. تمامی مراحل آزمایش در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران، انجام گرفت. حجم نمونه برای هر گروه با در نظر گرفتن توان آزمون ۸۰ درصد و سطح خطای نوع اول ۰/۰۵ و بر اساس داده‌های متغیرهای اصلی در مطالعات پیشین در مدل ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه و با استفاده از برآوردهای آماری تعیین شد تا توان آزمون‌های آماری در سطح قابل قبول حفظ شود.

القای مدل ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه

مدل آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه بر اساس پروتکل استاندارد تورشن-دیتورشن بیضه در رت القا شد [۳۰، ۳۱]. حیوانات ابتدا تحت بیهوشی عمومی با تزریق داخل‌صفافی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) قرار گرفتند [۳۲]. پس از آماده‌سازی آسپتیک ناحیه اسکروتوم با محلول کلرهگزیدین ۲ درصد، از طریق ایجاد یک برش عرضی در ناحیه اسکروتوم، بیضه چپ با حفظ تمامیت لایه تونیکا واژینالیس خارج شد. به‌منظور ایجاد ایسکمی حاد، بیضه تحت تورشن ۷۲۰ درجه‌ای [۳۰، ۳۱]. در جهت پادساعت‌گرد قرار گرفت و با استفاده از تکنیک ارکیوپکسی موقت، توسط نخ نایلون ۶-۰ به فاشیای دارتوس فیکس شد. پس از سپری‌شدن دوره ایسکمی به مدت ۱۸۰ دقیقه، با بازگرداندن بیضه به موقعیت آناتومیک اولیه و برقراری مجدد خون‌رسانی، فاز ری‌پرفیوژن آغاز شد. در نهایت، محل جراحی با استفاده از بخیه مونوفیلament ۵-۰ ترمیم و بسته شد.

گروه‌بندی حیوانات و مداخلات دارویی

تعداد ۳۰ سر رت نر ویستار به‌طور تصادفی در پنج گروه آزمایشی (۶ سر در هر گروه) تقسیم شدند:

گروه Sham: حیوانات تمامی مراحل جراحی، شامل بیهوشی و ایجاد برش در ناحیه اسکروتوم، را بدون القای تورشن بیضه طی کردند و تنها حلال‌ها) سالین نرمال و حلال مناسب ویتامین E را دریافت کردند.

گروه I/R (تورشن-دیتورشن): رت‌ها تحت ۳ ساعت تورشن بیضه و متعاقب آن ری‌پرفیوژن قرار گرفتند و تنها حلال (سالین نرمال) دریافت کردند.

گروه I/R + عصاره خوشاریزه: رت‌ها تحت پروتکل ایسکمی-ری‌پرفیوژن قرار گرفتند و عصاره هیدروالکلی *E. platyloba* با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به‌صورت روزانه و از طریق تزریق داخل‌صفافی (IP)، به مدت ۲۱ روز متوالی دریافت کردند.

گروه I/R + ویتامین E: رت‌ها تحت پروتکل ایسکمی-ری‌پرفیوژن قرار گرفتند و ویتامین E را با دوز ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به‌صورت روزانه و از طریق تزریق داخل‌عضلانی (IM)، به مدت ۲۱ روز متوالی دریافت کردند.

گروه I/R + درمان ترکیبی (عصاره خوشاریزه + ویتامین E): رت‌ها تحت پروتکل ایسکمی-ری‌پرفیوژن قرار گرفته و به‌طور هم‌زمان عصاره هیدروالکلی خوشاریزه (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، IP) و ویتامین E (۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، IM) را به مدت ۲۱ روز متوالی دریافت کردند.

انتخاب دوز عصاره هیدروالکلی خوشاریزه (۴۰۰ mg/kg) بر اساس مطالعات تجربی پیشین بر روی اندام‌های هوایی این گیاه در رت و در محدوده دوزهای مؤثر و قابل تحمل گزارش شده در مدل‌های حیوانی انجام شد [۱۵، ۱۶]. همچنین، دوز ویتامین E (۱۶۰ mg/kg/day) و دوره درمان ۲۱ روزه، با توجه به بازه دوزهای مؤثر گزارش شده در مطالعات پیشین بر روی مدل‌های ایسکمی-ری‌پرفیوژن و استرس اکسیداتیو در رت و با هدف پوشش تقریبی یک چرخه کامل اسپرماتوزن، انتخاب شد [۲۰، ۳۳].

تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه خوشاریزه:

نمونه‌های گیاه *Echinophora platyloba* پس از جمع‌آوری از مناطق کوهستانی استان چهارمحال و بختیاری، در شرایط سایه و به‌دور از تابش مستقیم نور خورشید، به‌مدت چند روز خشک شدند. یک نمونه شاهد از گیاه جمع‌آوری شده به‌منظور شناسایی و مستندسازی در هرباریوم دانشکده علوم پزشکی شهرکرد نگهداری شد. مواد گیاهی خشک شده با استفاده از آسیاب برقی پودر و از الک استاندارد عبور داده شدند تا یکنواختی اندازه ذرات حفظ شود. به‌منظور تهیه عصاره هیدروالکلی، مقدار ۱۰۰۰ گرم از پودر گیاه در مخلوط اتانول ۹۶ درصد و آب مقطر با نسبت

RNA تام با استفاده از کیت RNX Plus (یکتا تجهیز آزما، ایران) و مطابق دستورالعمل سازنده انجام شد. کیفیت و خلوص RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه NanoDrop ND 1000 spectrophotometer (Thermo Scientific, USA) ارزیابی و سلامت RNA نیز از طریق الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱ درصد بررسی شد. برای سنتز cDNA، مقدار ۱ میکروگرم RNA تام در واکنش نهایی با حجم ۲۰ میکرولیتر، حاوی آغازگر oligo(dT) و آنزیم M-MuLV reverse transcriptase، مورد استفاده قرار گرفت. پروتکل انکوباسیون شامل ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، ۴۵ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد و ۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد بود. cDNAهای سنتز شده تا زمان انجام Real-Time PCR در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

واکنش های Real-Time PCR با استفاده از دستگاه واکنش Rotor-Gene Q (Qiagen, Germany) و کیت BioFACT™ 2X SYBR Green I Master Mix در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر انجام شدند. برنامه حرارتی شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه و سپس ۴۰ چرخه شامل ۱۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و ۲۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد بود. تمامی واکنش ها در سه تکرار فنی (technical replicates) انجام شدند. برای تأیید اختصاصیت محصولات تکثیر شده، آنالیز منحنی ذوب (melt curve analysis) در پایان واکنش انجام شد. بیان نسبی ژن های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) نسبت به ژن مرجع GAPDH محاسبه و نتایج با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ بیان شدند. توالی آغازگرها، دمای ذوب و طول قطعه تکثیر شده در جدول ۱- ارائه شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ژن های SOD، CAT و GAPDH در واکنش Real-Time PCR

Gene	Sequence (5'-3')	Tm (°C)	length (bp)
Catalase	F: ATGGCTTTTGACCCAAGCA	62	68
	R: CGGCCCTGGAGCATCTTGT		
SOD	F: CACTCTAAGAAACATGGCG	54	124
	R: CTGAGAGTGAGATCACACG		
GAPDH	F: CCATCAACGACCCCTTCAT	58	193
	R: CACGACATACTCAGCACCA		
	GC		

پرایمرهای استفاده شده اختصاصاً برای ایزوform SOD1 (Cu/Zn-SOD) سیتوزولی و کاتالاز پراکسی زومی طراحی شده بودند.

حجمی-حجمی ۷۰:۳۰ معلق شد. مخلوط حاصل به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق و تحت هم زدن ملایم قرار گرفت و هر ۲۴ ساعت یکبار به طور کامل تکان داده شد تا استخراج ترکیبات فعال به صورت مؤثر انجام شود [۳۴]. پس از پایان مرحله خیساندن (ماسریشن)، محلول از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. فیلتریت حاصل با استفاده از تبخیرکننده دورانی (Rotary evaporator) تحت فشار کاهش یافته و در دمای ۴۵ تا ۵۰ درجه سانتی گراد تغلیظ شد تا بخش عمده حلال تبخیر شود [۳۵، ۳۶]. باقیمانده نیمه جامد به منظور حذف کامل رطوبت، به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و پس از خشک شدن کامل، عصاره خشک با بازده استخراج ثبت و جمع آوری شد. عصاره خشک شده در ظروف شیشه ای تیره و در دمای ۴ درجه سانتی گراد تا زمان مصرف نگهداری شد. به منظور تهیه محلول تزریقی، مقدار ۱۰۰۰ میلی گرم از عصاره خشک در ۵ میلی لیتر آب مقطر استریل حل شد تا محلولی با غلظت نهایی ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر حاصل شود. محلول تهیه شده پیش از هر بار تزریق به طور کامل یکنواخت سازی شد [۳۷].

ارزیابی سونوگرافی داپلر

ارزیابی سونوگرافیک بیضه ها با استفاده از دستگاه سونوگرافی داپلر رنگی (SonoAce 8000, Medison, Seoul, South Korea) و تحت شرایط استاندارد تصویربرداری انجام شد. حیوانات پس از بیهوشی سبک روی تخت مخصوص حیوانات قرار گرفتند و ژل سونوگرافی روی ناحیه اسکروتوم اعمال شد. در این مرحله، ابعاد ماکروسکوپی بیضه (طول و عرض) و شاخص های همودینامیک جریان خون داخل پارانشیمی، شامل حداکثر سرعت سیستولیک و سرعت انتهای دیاستولیک، ثبت و تحلیل شدند. سونوگرافی در آغاز و پایان دوره ۲۱ روزه تیمار انجام شد تا تغییرات ایجاد شده در طول زمان ارزیابی شود.

جمع آوری نمونه های خون و بافت بیضه

پس از پایان دوره ۲۱ روزه تیمار، حیوانات مجدداً تحت بیهوشی قرار گرفتند و نمونه های خون از طریق پونکسیون قلبی (cardiac puncture) جمع آوری شدند. نمونه ها پس از سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه، برای جداسازی سرم پردازش شدند و سرم حاصل تا زمان انجام آزمایش ها در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. غلظت سرمی تستوسترون با استفاده از کیت اختصاصی ELISA و مطابق دستورالعمل سازنده اندازه گیری شد.

در ادامه، بیضه چپ در شرایط کاملاً عاری از RNase برداشت شد، بلافاصله در نیتروژن مایع فریز و تا زمان انجام آنالیزهای مولکولی در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

استخراج RNA و Real-Time PCR

برای استخراج RNA، بافت های منجمد در حضور نیتروژن مایع و با استفاده از هاون سرد به طور کامل پودر شدند. استخراج

سنجش‌های بیوشیمیایی و شمارش اسپرم

سنجش‌های بیوشیمیایی و ارزیابی پارامترهای اسپرم بر اساس پروتکل‌های معتبر و استاندارد انجام شد. به‌منظور بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو، میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) با روش‌های بیوشیمیایی و اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند [۳۸-۴۰]. همچنین، بیان ژن‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) با استفاده از روش Real-Time PCR بررسی شد. برای ارزیابی پارامترهای اسپرم، دم اپیدیدیم (Cauda epididymis) جدا و در ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین (NaCl) که تا دمای فیزیولوژیک ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم شده بود، قرار گرفت. پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون به‌منظور انتشار کامل اسپرم‌ها، سوسپانسیون یکنواختی تهیه شد. سپس، نمونه‌های حاصل برای بررسی کمی و کیفی اسپرم (تعداد، تحرک و مورفولوژی) روی لام نتوبار قرار گرفته و با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر ارزیابی شدند.

به‌منظور به‌حداقل‌رساندن سوگیری در نتایج، تمامی ارزیابی‌های آزمایشگاهی، شامل سونوگرافی، سنجش‌های بیوشیمیایی و آنالیز اسپرم، توسط محقق انجام شد که از کدهای شناسایی حیوانات و گروه‌های آزمایشی بی‌اطلاع بود. این رویکرد با هدف پیشگیری از تأثیر سوگیری مشاهده‌گر بر نتایج نهایی اتخاذ شد.

محاسبات آماری: تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۷ و GraphPad Prism انجام شد. نرمال‌بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف ارزیابی و نرمال‌بودن تمامی متغیرها تأیید شد. برای مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون ANOVA یک‌طرفه استفاده شد و در صورت مشاهده اختلاف معنی‌دار، آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه‌های چندگانه به‌کار رفت. سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. تمامی داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) گزارش شدند. برای بررسی شدت و جهت رابطه بین تعداد اسپرم و میزان بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد.

ملاحظات اخلاقی: تمامی مراحل این مطالعه مطابق با دستورالعمل‌های ملی و استانداردهای بین‌المللی مرتبط با کار با حیوانات آزمایشگاهی، از جمله دستورالعمل OECD Guideline 407، انجام شد. همچنین، پروتکل پژوهش پیش از آغاز مطالعه به تأیید کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با کد IR.IAU.SHK.REC.1402.093 رسید.

نتایج

یافته‌های حاصل از ارزیابی سونوگرافی داپلر رنگی و داپلر موج پالسی (PW) در روز اول پس از القای ایسکمی-ری‌پرفیوژن و روز بیست‌ویکم پس از پایان دوره درمان، تغییرات معنی‌داری را در پارامترهای ساختاری و همودینامیک بیضه در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد. در روز اول، اختلالات قابل‌توجهی در الگوی جریان خون و شاخص‌های مورفولوژیک بیضه در گروه ایسکمی-ری‌پرفیوژن مشاهده شد. در مقابل، گروه‌های دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی EPHE، ویتامین E و ترکیب آن‌ها در پایان دوره درمان، بهبود نسبی در شاخص‌های سونوگرافیک و پارامترهای جریان خون نشان دادند.

اندازه بیضه در طی دوره مطالعه دچار تغییرات معنی‌دار شد؛ به‌گونه‌ای که افزایش اولیه داشته و پس از آن روندی کاهشی و تدریجی نشان داد. در روز اول آزمایش، گروه شم اندازه طبیعی بیضه‌ها را حفظ کرد ($8/63 \text{ mm}^3 \pm 131/04$) در مقابل، تمامی گروه‌های تحت القای ایسکمی-ری‌پرفیوژن شامل T/D، EPHE، ویتامین E و درمان ترکیبی، افزایش نسبی در اندازه بیضه نسبت به گروه شم نشان دادند؛ با این حال، این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبودند (جدول ۲). در روز بیست و یکم پس از مداخله، تفاوت‌های معنی‌داری در الگوی نتایج میان گروه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. گروه T/D کمترین اندازه بیضه را نشان داد ($5/74 \text{ mm}^3 \pm 70/72$) که در مقایسه با گروه شم به‌طور معنی‌داری کوچک‌تر بود ($P \leq 0.001$). در مقابل، تمامی گروه‌های درمانی شامل ($4/78 \text{ mm}^3 \pm 123/88$) EPHE، ویتامین E ($4/58 \text{ mm}^3 \pm 124/61$) و درمان ترکیبی EPHE و ویتامین E ($9/83 \text{ mm}^3 \pm 131/65$) افزایش معنی‌داری در اندازه بیضه نسبت به گروه T/D نشان دادند ($P \leq 0.001$).

در میان گروه‌های درمانی، گروه دریافت‌کننده درمان ترکیبی EPHE و ویتامین E بیشترین اندازه بیضه را نشان داد ($9/83 \text{ mm}^3 \pm 131/65$). با این حال، اگرچه میانگین این گروه نسبت به گروه شم ($3/64 \text{ mm}^3 \pm 128/43$) بالاتر بود، این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

همچنین گروه‌های دریافت‌کننده EPHE و ویتامین E به‌صورت تک‌درمانی اندازه‌های تقریباً مشابهی از بیضه را نشان دادند ($4/78 \text{ mm}^3 \pm 123/88$ و $4/58 \text{ mm}^3 \pm 124/61$)، به‌طوری که هر دو گروه در مقایسه با گروه T/D افزایش معنی‌داری داشتند ($P \leq 0.001$) (جدول ۳).

اندکس مقاومتی (RI) در روز نخست و بلافاصله پس از القای آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن، شاخص مقاومت عروقی (RI) با استفاده از داپلر موج پالسی (PW) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که مقادیر RI در تمامی

در همان روز مقادیر RI بالاتری نسبت به گروه شم، اما پایین‌تر از گروه T/D نشان دادند. اختلاف این گروه‌ها با گروه T/D از نظر آماری معنی‌دار بود ($P \leq 0.001$)، درحالی‌که میان خود گروه‌های درمانی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). (جدول-۲).

در روز ۲۱ نیز این الگو تداوم یافت؛ به‌گونه‌ای که شاخص مقاومت عروقی (RI) در گروه تورشن-دتورشن بدون درمان (T/D) همچنان در بالاترین سطح قرار داشت. در مقابل، مقادیر این شاخص در گروه‌های دریافت‌کننده خوشاریزه (EPHE)، ویتامین E و درمان ترکیبی EPHE + ویتامین E به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه T/D کاهش یافت و به مقادیر نزدیک‌تری به گروه شم رسید. باین‌حال، میان سه گروه درمانی در این زمان اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). (جدول-۳، نمودار-۱)

گروه‌های تحت مداخله شامل گروه‌های T/D، EPHE، ویتامین E و درمان ترکیبی در مقایسه با گروه شم به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته بود ($P < 0.001$). این افزایش حاد RI به‌صورت نسبتاً مشابه در تمامی گروه‌های آسیب‌دیده مشاهده شد؛ به‌طوری‌که در این مرحله اولیه پس از آسیب، اختلاف آماری معنی‌داری میان گروه‌های تحت مداخله مشاهده نشد ($P > 0.05$). در هر دو زمان روز ۱ و روز ۲۱، شاخص مقاومت عروقی بیضه بین گروه‌ها تفاوت معنی‌دار نشان داد.

در روز ۱، گروه شم (جراحی بدون تورشن-دتورشن) کمترین مقدار شاخص مقاومت عروقی (RI) را نشان داد. در مقابل، گروه تورشن-دتورشن بدون درمان (T/D) بالاترین میزان RI را داشت و این افزایش در مقایسه با گروه شم از نظر آماری معنی‌دار بود ($P \leq 0.001$). گروه‌های دریافت‌کننده عصاره خوشاریزه (EPHE)، ویتامین E و درمان ترکیبی EPHE + ویتامین E نیز

جدول-۲. مقایسه میانگین حجم بیضه و شاخص مقاومت عروقی بیضه در گروه‌های مورد مطالعه در روز ۱ پس از القای ایسکمی-ری‌پرفیوژن

گروه	تعداد	سایز بیضه (mm^3)	مقاومت عروق بیضه
شم	۶	$131/047 \pm 8/633^a$	$0/580 \pm 0/013^a$
T/D	۶	$138/105 \pm 11/533^a$	$0/903 \pm 0/016^b$
خوشاریزه	۶	$139/535 \pm 13/649^a$	$0/898 \pm 0/010^b$
ویتامین E	۶	$139/155 \pm 12/888^a$	$0/895 \pm 0/013^b$
خوشاریزه + ویتامین E	۶	$138/113 \pm 12/507^a$	$0/902 \pm 0/018^b$

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها است ($P < 0.05$)

جدول-۳. مقایسه میانگین حجم بیضه و شاخص مقاومت عروقی بیضه در گروه‌های مورد مطالعه در روز ۲۱ پس از القای ایسکمی-ری‌پرفیوژن

گروه	تعداد	سایز بیضه (mm^3)	مقاومت عروق بیضه
شم	۶	$128/430 \pm 3/646^b$	$0/575 \pm 0/010^a$
T/D	۶	$72/705 \pm 5/743^a$	$0/888 \pm 0/015^c$
خوشاریزه	۶	$123/882 \pm 4/782^b$	$0/652 \pm 0/026^b$
ویتامین E	۶	$124/613 \pm 4/586^b$	$0/637 \pm 0/020^b$
خوشاریزه + ویتامین E	۶	$131/658 \pm 9/831^b$	$0/598 \pm 0/023^a$

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها است ($P < 0.05$)

شده‌اند. معنی‌داری آماری با استفاده از آزمون ANOVA یک‌طرفه و

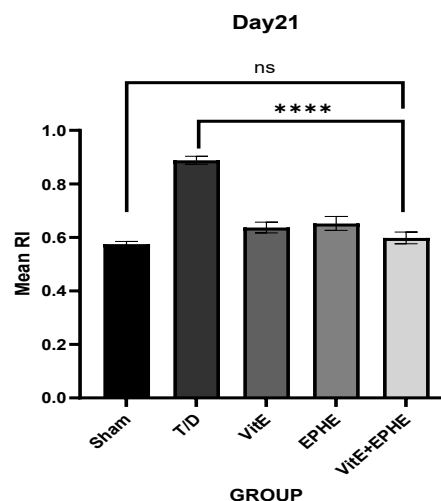
سپس آزمون تعقیبی توکی تعیین شد.

* نشان‌دهنده اختلاف آماری هستند ($P < 0.05$).

** $P < 0.01$ ، *** $P < 0.001$ ، **** $P < 0.0001$

اکوتکستچر

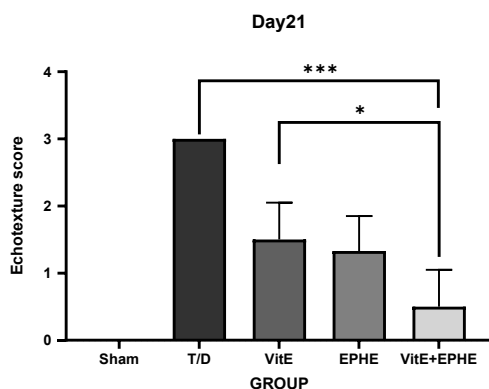
در این مطالعه، اکوتکستچر بیضه با استفاده از یک سیستم امتیازدهی نیمه کمی چهاردرجه‌ای (۰-۳) بر اساس میزان ناهمگنی و تغییرات اکوژنیسیته پارانشیم ارزیابی شد. با توجه به نبود یک سیستم درجه‌بندی استاندارد برای ارزیابی اکوتکستچر بیضه در منابع موجود، این طبقه‌بندی به‌صورت عملیاتی و با هدف پژوهشی تعریف شد. در این سیستم، درجه ۰ نشان‌دهنده پارانشیم طبیعی با اکوتکستچر یکنواخت و اکوژنیسیته طبیعی بود. درجه ۱ بیانگر تغییرات خفیف، شامل کاهش جزئی هموژنیسیته یا تغییرات محدود در اکوژنیسیته بود. درجه ۲ نشان‌دهنده ناهمگنی متوسط همراه با نواحی قابل تشخیص هیپواکو یا هایپراکو در پارانشیم



نمودار-۱. مقایسه شاخص مقاومت عروقی (RI) بیضه در

گروه‌های sham، تورشن-دتورشن (T/D)، عصاره *Echinophora platyloba* و ویتامین E و ترکیب عصاره و ویتامین E در روز ۲۱ پس از ایجاد مدل تورشن-دتورشن. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه

مقایسه گروه‌های تک‌درمانی نشان داد که میانگین امتیاز اکوتکستچر در گروه EPHE کمتر از گروه ویتامین E بود؛ با این حال، این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). الگوی توزیع امتیازها در گروه EPHE عمدتاً با تغییرات خفیف‌تر پارانشیمی همراه بود، در حالی که در گروه ویتامین E درجات بیشتری از اختلال اکوتکستچر و ناهمگنی پارانشیمی مشاهده شد. این نتایج می‌تواند بیانگر ظرفیت حفاظتی بیشتر EPHE در محدودسازی آسیب‌های ساختمانی ناشی از فرایند ایسکمی-ری‌پرفیوژن باشد. (نمودار-۲)



نمودار -۲. ارزیابی اکوتکستچر بیضه در گروه‌های مختلف در روز ۲۱ بیضه در گروه‌های sham، تورشن-دتورشن (T/D)، عصاره *Echinophora platyloba*، ویتامین E و ترکیب عصاره و ویتامین E در روز ۲۱ پس از ایجاد مدل تورشن-دتورشن. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معنی‌داری آماری با استفاده از آزمون ANOVA یک‌طرفه و سپس آزمون تعقیبی توکی تعیین شد. ستاره‌های روی نمودار نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری هستند ($P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$, $P < 0.001^{***}$, $P < 0.0001^{****}$)

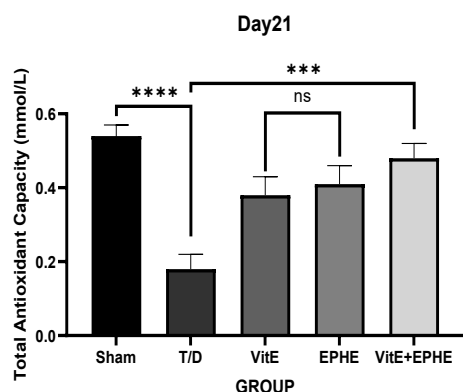
شاخص استرس اکسیداتیو مالون‌دی‌آلدئید (MDA) بررسی شاخص استرس اکسیداتیو مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در بافت بیضه، تفاوت‌های بارزی را در میان گروه‌های مختلف نشان داد. گروه تورشن-دتورشن (T/D) که هیچ‌گونه مداخله درمانی دریافت نکرده بود، بالاترین سطح MDA را نشان داد (4.50 ± 0.30 نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین) که به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شم بود (2.14 ± 0.45 نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین)؛ ($P < 0.001$) در مقابل، تمامی مداخلات درمانی موجب کاهش معنی‌دار سطح MDA در مقایسه با گروه T/D شدند ($P < 0.001$). مقادیر MDA در گروه‌های دریافت‌کننده EPHE، ویتامین E و درمان ترکیبی به ترتیب (3.58 ± 0.35 ، 2.8 ± 0.28 و 2.50 ± 0.20) نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین بود. در میان گروه‌های درمانی، گروه دریافت‌کننده درمان ترکیبی EPHE + ویتامین E کمترین سطح MDA را نشان داد؛ به گونه‌ای که این کاهش در مقایسه با گروه T/D از نظر آماری کاملاً معنی‌دار بود ($P < 0.001$). علاوه بر این، مقادیر MDA در این گروه اختلاف معنی‌داری با گروه شم نداشت ($P > 0.05$) و به سطوح فیزیولوژیک نزدیک شد؛ یافته‌ای که

بیضه بود. درجه ۳ بیانگر اختلال شدید در معماری پارانشیم، ناهمگنی منتشر و یا کاهش واضح اکوتکستچر بیضه بود. این سیستم امتیازدهی به منظور ارزیابی شدت آسیب‌های ساختاری ناشی از فرایند ایسکمی-ری‌پرفیوژن و تغییرات التهابی متعاقب آن به کار گرفته شد.

بررسی‌های سونوگرافیک انجام‌شده طی ۲۴ ساعت نخست پس از القای آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن نشان داد که اکوتکستچر بیضه در تمامی گروه‌ها، شامل گروه Sham و گروه‌های مداخله، عمدتاً الگوی طبیعی و همگن داشت و امتیاز اکوتکستچر در اغلب نمونه‌ها برابر با درجه ۰ ثبت شد. این یافته نشان می‌دهد که در فاز بسیار حاد آسیب، تغییرات میکروسکوپی اولیه ناشی از ایسکمی، از جمله ادم بینابینی، اختلالات عروقی اولیه و آسیب سلولی، هنوز به اندازه‌ای پیشرفت نکرده‌اند که موجب تغییرات قابل تشخیص در نمای سونوگرافیک پارانشیم بیضه شوند. به نظر می‌رسد بروز تغییرات واضح، نظیر کاهش همونزیسته پارانشیم همراه با نواحی هیپو اکو و در موارد شدید، الگوهای مختلط اکوتکستچر، نکروز یا فیبروز، نیازمند گذشت زمان بیشتر و پیشرفت آسیب‌های بافتی ثانویه باشد؛ به طوری که در ساعات اولیه پس از ایسکمی، علی‌رغم وجود آسیب سلولی اولیه، نمای سونوگرافیک بیضه ممکن است همچنان طبیعی یا نزدیک به طبیعی باقی بماند.

در روز بیست و یکم، تفاوت‌های معنی‌داری در امتیاز اکوتکستچر بیضه بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. گروه Sham در طول دوره مطالعه وضعیت طبیعی بافت بیضه را حفظ کرد؛ به طوری که میانگین امتیاز اکوتکستچر در روز اول و روز بیست و یکم به ترتیب 0.17 ± 0.41 و 0.00 ± 0.00 بود که بیانگر حفظ ساختار همون پارانشیم در طول مطالعه است. در مقابل، در گروه تورشن-دتورشن (T/D) میانگین امتیاز اکوتکستچر در روز اول 0.33 ± 0.52 ثبت شد، اما در روز بیست و یکم تمامی حیوانات امتیاز ۳ دریافت کردند و میانگین به 0.00 ± 0.00 رسید. این یافته نشان‌دهنده بروز آسیب شدید پارانشیمی شامل ناهمگنی بارز اکوتکستچر، تغییرات سونوگرافیک سازگار با نکروز سلولی، الگوهای فیبروز پیش‌رونده و تجمع فرآورده‌های التهابی در بافت بیضه است.

در روز بیست و یکم، تمامی گروه‌های درمانی شامل EPHE (0.33 ± 0.52)، ویتامین E (0.55 ± 0.15) و درمان ترکیبی EPHE + ویتامین E (0.55 ± 0.50) امتیاز اکوتکستچر به طور معنی‌داری پایین‌تری نسبت به گروه T/D (0.00 ± 0.30) نشان دادند ($P < 0.001$) که بیانگر کاهش قابل توجه شدت آسیب پارانشیمی در اثر مداخلات درمانی است. در میان گروه‌های درمانی، گروه دریافت‌کننده درمان ترکیبی EPHE + ویتامین E به طور معنی‌داری پایین‌ترین امتیاز اکوتکستچر بیضه را در مقایسه با سایر مداخلات نشان داد ($P < 0.05$) که بیانگر حداقل اختلالات پارانشیمی و حفظ نسبی معماری طبیعی بافت بیضه است.



نمودار ۳-. ظرفیت کل آنتی اکسیدانی (TAC) در روز ۲۱ در گروه‌های sham، تورشن-دتورشن (T/D)، عصاره *Echinophora platyloba* و ویتامین E و ترکیب عصاره و ویتامین E در روز ۲۱ پس از ایجاد مدل تورشن-دتورشن. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معنی‌داری آماری با استفاده از آزمون ANOVA یک‌طرفه و سپس آزمون تعقیبی توکی تعیین شد. ستاره‌های روی نمودار نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری هستند ($P < 0.05^*$ ، $P < 0.01^{**}$ ، $P < 0.001^{***}$ ، $P < 0.0001^{****}$)

سطح تستوسترون

سطح سرمی تستوسترون در گروه‌های مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری نشان داد. گروه تورشن-دتورشن (T/D) کمترین غلظت تستوسترون سرم را داشت (0.46 ± 0.08 نانوگرم/میلی‌لیتر) که در مقایسه با گروه شم (1.06 ± 0.11 نانوگرم/میلی‌لیتر) کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.001$). تجویز EPHE و ویتامین E موجب افزایش معنی‌دار سطح تستوسترون در مقایسه با گروه T/D شد ($P < 0.001$). در میان گروه‌های درمانی، گروه دریافت‌کننده درمان ترکیبی EPHE + ویتامین E بالاترین میزان تستوسترون سرم را نشان داد (0.97 ± 0.09 نانوگرم/میلی‌لیتر) که در مقایسه با گروه T/D افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.001$)، اگرچه مقدار آن همچنان به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شم بود ($P > 0.05$). در گروه دریافت‌کننده EPHE به‌تنهایی نیز سطح تستوسترون به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و به 0.79 ± 0.10 نانوگرم/میلی‌لیتر رسید ($P < 0.001$) در مقایسه با (T/D). همچنین در گروه vitamin E میزان تستوسترون سرم 0.70 ± 0.09 نانوگرم/میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد که افزایش معنی‌داری نسبت به گروه T/D نشان داد ($P < 0.001$). مقایسه بین گروه‌های درمانی نشان داد که تجویز EPHE نسبت به vitamin E به‌تنهایی تأثیر بیشتری در افزایش سطح تستوسترون داشته است ($P > 0.05$). (جدول ۴)

بیانگر اثر محافظتی بارز درمان ترکیبی در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و مهار استرس اکسیداتیو ناشی از آسیب ایسکمی-پرفیوژن بیضه است. (جدول ۴)

اگرچه هر دو درمان EPHE و ویتامین E به‌تنهایی نیز موجب کاهش معنی‌دار سطح MDA در مقایسه با گروه T/D شدند ($P < 0.001$)، مقادیر MDA در این گروه‌ها همچنان بالاتر از گروه درمان ترکیبی بود. در این میان، گروه دریافت‌کننده درمان ترکیبی EPHE + ویتامین E کمترین سطح MDA را در میان گروه‌های درمانی نشان داد و مقادیر آن به سطح گروه Sham نزدیک بود ($P > 0.05$). این یافته‌ها حاکی از آن است که درمان ترکیبی می‌تواند اثر محافظتی مطلوب‌تری در کاهش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از آسیب ایسکمی-ری پرفیوژن بیضه داشته باشد.

ظرفیت آنتی اکسیدان کل (TAC)

ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAC) در بافت بیضه نشان‌دهنده بروز تغییرات قابل توجه در وضعیت دفاع آنتی اکسیدانی میان گروه‌های آزمایشی بود. القای آسیب ایسکمی-ری پرفیوژن در گروه تورشن-دتورشن (T/D) با کاهش چشمگیر TAC همراه بود، به‌گونه‌ای که این گروه کمترین مقدار TAC را در مقایسه با سایر گروه‌ها نشان داد (0.18 ± 0.04 میلی‌مول بر لیتر) و این کاهش در مقایسه با گروه شم (0.55 ± 0.04) از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.001$). این یافته بیانگر تضعیف ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی بافت در پی افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از فرایند ایسکمی-ری پرفیوژن است. در مقابل، مداخله‌های درمانی موجب بهبود معنی‌دار سطح TAC نسبت به گروه T/D شدند ($P < 0.001$). بیشترین میزان TAC در میان گروه‌های درمانی در گروه دریافت‌کننده درمان ترکیبی EPHE + ویتامین E مشاهده شد.

(0.48 ± 0.04 میلی‌مول بر لیتر)، به‌طوری که این مقدار به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه T/D بود ($P < 0.001$)، هرچند همچنان به سطح فیزیولوژیک مشاهده‌شده در گروه شم نرسید ($P < 0.05$). تجویز ویتامین E به‌تنهایی نیز موجب افزایش قابل توجه TAC شد (0.38 ± 0.05 میلی‌مول بر لیتر؛ $P < 0.001$) در مقایسه با (T/D) و اختلاف آن با گروه درمان ترکیبی از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). همچنین، گروه دریافت‌کننده EPHE به‌تنهایی افزایش معنی‌داری در TAC نشان داد (0.41 ± 0.05 میلی‌مول بر لیتر؛ $P < 0.001$) در مقایسه T/D، اگرچه مقادیر TAC در این گروه در مقایسه با گروه درمان ترکیبی پایین‌تر بود. (نمودار ۳)

جدول ۴- مقایسه مقادیر تستوسترون، TAC و MDA در گروه‌های مختلف

گروه	MDA(nmol/mgprotein)	TAC(mmol/L)	Testosterone(ng/ml)
شم	$2/14 \pm 0/45^a$	$0/55 \pm 0/04^a$	$1/06 \pm 0/11^a$
T/D	$4/50 \pm 0/30^d$	$0/18 \pm 0/04^d$	$0/46 \pm 0/08^d$
خوش‌اریزه	$3/58 \pm 0/35^c$	$0/41 \pm 0/06^c$	$0/79 \pm 0/10^c$
E ویتامین	$3/65 \pm 0/28^c$	$0/38 \pm 0/05^c$	$0/7 \pm 0/09^c$
E خوش‌اریزه + ویتامین	$2/50 \pm 0/20^a$	$0/48 \pm 0/04^b$	$0/97 \pm 0/10^b$

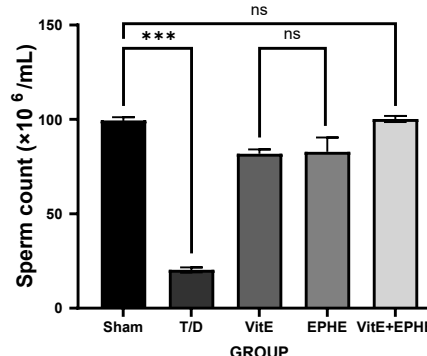
حروف لاتین متفاوت (a-d) نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها هستند ($P < 0/001$).

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده‌اند

تعداد اسپرم

نتایج ارزیابی تعداد اسپرم نشان داد که گروه‌ها از نظر این شاخص تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($P < 0/05$). تعداد اسپرم در گروه تورشن-دتورشن به طور قابل توجهی نسبت به گروه شم کاهش یافت ($21/30 \pm 1/30$ در برابر $1/69 \pm 1/40$). به طوری که کمترین مقدار در میان تمام گروه‌های مورد مطالعه به این گروه اختصاص داشت. تجویز ویتامین E ($2/30 \pm 1/80$) و عصاره EPHE ($7/60 \pm 1/2/8$) موجب افزایش معنی‌دار تعداد اسپرم نسبت به گروه T/R شد؛ با این حال، بین دو گروه مذکور اختلاف آماری مشاهده نشد ($P > 0/05$) درمان ترکیبی + EPHE ویتامین E بیشترین اثر محافظتی را نشان داد و با تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر گروه‌ها، بالاترین مقدار اسپرم را به خود اختصاص داد ($100/2 \pm 1/64$) میلیون اسپرم/میلی لیتر. علاوه بر این، بین گروه ترکیبی و گروه شم اختلاف معنی‌داری یافت نشد که نشان می‌دهد این درمان توانسته است کاهش ناشی از آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن را جبران کند. این الگو در نمودار نیز به وضوح قابل مشاهده است. (نمودار-۴)

Day21



نمودار ۴- شمارش اسپرم در روز ۲۱ در گروه‌های sham، تورشن-دتورشن (T/D)، عصاره *Echinophora platyloba* و ویتامین E و ترکیب عصاره و ویتامین E در روز ۲۱ پس از ایجاد مدل تورشن-دتورشن. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. معنی‌داری آماری با

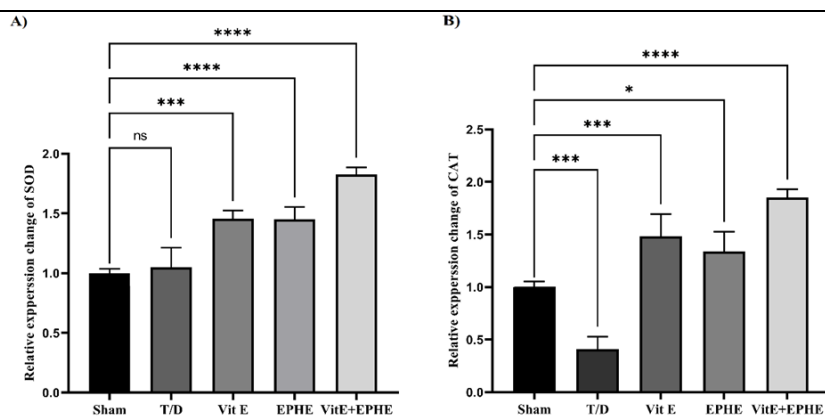
استفاده از آزمون ANOVA یک‌طرفه و سپس آزمون تعقیبی توکی تعیین شد. ستاره‌های روی نمودار نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری هستند. ($P < 0/001$ ***, $P < 0/001$ ***, $P < 0/01$ ** , $P < 0/05$ *)

بیان ژن کاتالاز (CAT)

در گروه T/D که تحت آسیب تورشن - دتورشن قرار گرفته و هیچ درمانی دریافت نکرده بود، بیان ژن CAT به میزان $0/06 \pm 0/40$ کاهش یافت که نسبت به گروه sham $0/06 \pm 0/10$ کاهش معناداری را نشان داد ($P < 0/001$) در مقابل، گروه EPHE بیان ژن CAT را به میزان $1/30 \pm 0/08$ افزایش داد که نسبت به گروه Sham افزایش معناداری داشت ($P < 0/05$). همچنین، گروه ویتامین E نیز موجب افزایش بیان ژن CAT تا سطح $1/45 \pm 0/07$ شد که این افزایش نسبت به گروه Sham معنادار بود ($P < 0/001$). بیشترین میزان بیان ژن CAT در گروه درمان ترکیبی VitE+EPHE مشاهده شد، به طوری که میزان بیان به $1/90 \pm 0/03$ رسید که نسبت به گروه Sham افزایش معناداری نشان داد ($P < 0/001$).

بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

در گروه T/D، بیان ژن SOD به میزان $1/05 \pm 0/08$ مشاهده شد که نسبت به گروه شم $1/00 \pm 0/05$ اختلاف معناداری نداشت ($P > 0/05$). در مقابل، گروه EPHE بیان ژن SOD را به $1/55 \pm 0/09$ افزایش داد که نسبت به گروه شم معنادار بود ($P < 0/001$). همچنین، در گروه ویتامین E میزان بیان ژن SOD برابر با $1/45 \pm 0/10$ بود که نسبت به گروه شم افزایش معناداری نشان داد ($P < 0/001$). بیشترین افزایش بیان ژن SOD در گروه درمان ترکیبی VitE+EPHE مشاهده شد که میزان بیان ژن را به $1/80 \pm 0/15$ رساند و این افزایش نسبت به گروه شم معنادار بود ($P < 0/001$). این نتایج در نمودارهای مربوط به ژن‌های CAT و SOD به همراه سطح معنی‌داری گروه‌ها ارائه شده‌اند. (نمودار-۵)



نمودار ۵. سطح بیان نسبی ژن های SOD (A) و CAT (B) در گروه های آزمایشی مختلف. داده ها به صورت میانگین تغییرات نسبی (Fold Change) $\pm$ انحراف معیار نسبت به گروه شم ارائه شده اند. معنی داری آماری با استفاده از آزمون ANOVA یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی توکی تعیین شد. ستاره ها نشان دهنده اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه شم هستند ($P < 0.0001$ ****, $P < 0.001$ ***, $P < 0.01$ **, $P < 0.05$ *)

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آسیب تورشن-دتورشن بیضه با اختلال در پاسخ آنتی اکسیدانی بافت همراه بود؛ به طوری که بیان ژن CAT در گروه T/D به طور معنی داری کاهش یافت، در حالی که بیان ژن SOD در مقایسه با گروه Sham تغییر معنی داری نشان نداد و تنها روند افزایشی خفیفی در آن مشاهده شد. این الگوی متفاوت در پاسخ ژن های آنتی اکسیدانی با ماهیت پیچیده آسیب ایسکمی-ری پرفیوژن سازگار است؛ زیرا در شرایط استرس اکسیداتیو شدید، همه اجزای سیستم دفاع آنتی اکسیدانی به یک اندازه پاسخ نمی دهند و شدت آسیب، مدت ایسکمی، مرحله ری پرفیوژن و زمان نمونه گیری می تواند بر نوع و شدت این پاسخ تأثیرگذار باشند [۳۳، ۳].

کاهش معنی دار بیان CAT در گروه T/D احتمالاً نشان دهنده تضعیف ظرفیت آنتی اکسیدانی بافت بیضه در برابر افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن است. از آنجا که کاتالاز نقش مهمی در تجزیه هیدروژن پراکسید و جلوگیری از تجمع فرآورده های اکسیداتیو دارد، کاهش بیان آن می تواند با افزایش آسیب اکسیداتیو و حساسیت بیشتر بافت به صدمات ناشی از ایسکمی-ری پرفیوژن همراه باشد. این تفسیر با گزارش های پیشین نیز همخوانی دارد؛ به طوری که در مطالعات مرتبط با تورشن-دتورشن بیضه و سایر مدل های ایسکمی-ری پرفیوژن، کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی و اختلال در فعالیت آنزیم های دفاعی، از جمله CAT، به عنوان یکی از پیامدهای مهم استرس اکسیداتیو گزارش شده است [۴۱، ۴۲].

همچنین گزارش شده است که افزایش بار اکسیداتیو در مرحله ری پرفیوژن می تواند سیستم های آنزیمی مسئول تجزیه پراکسیدها را مختل کرده و کارایی آن ها را کاهش دهد [۳]. در مقابل، عدم کاهش معنی دار بیان SOD و مشاهده روند افزایشی خفیف آن در گروه T/D ممکن است بازتاب یک پاسخ تطابقی یا جبرانی در برابر افزایش ROS باشد. SOD به عنوان یکی از

ارزیابی ضریب همبستگی بین تعداد اسپرم و بیان ژن های SOD و CAT

ارزیابی همبستگی میان شاخص های عملکردی و بیوشیمیایی نشان دهنده وجود یک ارتباط مستقیم و معنادار بین تعداد اسپرم و سطح بیان ژن های آنتی اکسیدانی در تمامی گروه های مورد مطالعه بود. بر اساس آزمون همبستگی پیرسون، همبستگی مثبت و بسیار قوی میان تعداد اسپرم و بیان ژن کاتالاز (CAT) مشاهده شد. ($r = 0.941$ و $P < 0.001$) همچنین، تعداد اسپرم همبستگی مثبت و معناداری را با میزان بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نشان داد. ($r = 0.872$ و $P < 0.001$) علاوه بر این، بین دو شاخص SOD و CAT نیز همبستگی مثبتی برقرار بود. ($r = 0.884$ و $P < 0.001$) این نتایج تأکید می کند که بهبود پارامترهای اسپرماتوزن در گروه های درمانی به ویژه گروه ترکیبی (EPHE + VitE) به طور مستقیم با تقویت ظرفیت آنتی اکسیدانی بیضه و کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از آسیب تورشن-دتورشن در ارتباط است. این همبستگی مثبت نشان می دهد که بهبود پارامترهای اسپرم به احتمال زیاد با ارتقای سطح آنزیم های آنتی اکسیدانی بیضه در پی درمان (به ویژه در گروه ترکیبی) مرتبط بوده و منجر به محافظت در برابر استرس اکسیداتیو شده است.

جدول ۵- ضرایب همبستگی پیرسون بین تعداد اسپرم و بیان ژن های آنتی اکسیدانی

متغیرهای مورد مقایسه	ضریب همبستگی (r)	سطح معناداری (P)
تعداد اسپرم در مقابل بیان ژن CAT	۰/۹۴۱	$P < 0.001$
تعداد اسپرم در مقابل بیان ژن SOD	۰/۸۷۲	$P < 0.001$
بیان ژن CAT در مقابل بیان ژن SOD	۰/۸۸۴	$P < 0.001$
r ^۲ نشان دهنده ضریب همبستگی پیرسون است، سطح معناداری در تمامی موارد $P < 0.001$ در نظر گرفته شد.		

نخستین خطوط دفاع آنتی‌اکسیدانی، با تبدیل رادیکال سوپراکسید به هیدروژن پراکسید، نقش مهمی در محدود کردن گسترش آسیب اکسیداتیو ایفا می‌کند. از این رو، افزایش خفیف یا حفظ سطح بیان آن در مراحل اولیه آسیب می‌تواند تلاشی از سوی سلول برای مقابله با استرس اکسیداتیو باشد. با این حال، چنین پاسخی لزوماً به معنای کفایت دفاع آنتی‌اکسیدانی نیست و ممکن است علی‌رغم فعال شدن نسبی SOD، در صورت اختلال در عملکرد سایر اجزای دفاعی، از جمله CAT، بافت همچنان در معرض آسیب اکسیداتیو باقی بماند. این الگو در مطالعات پیشین نیز گزارش شده است؛ به گونه‌ای که بسته به شدت آسیب و شرایط آزمایش، بیان یا فعالیت SOD ممکن است افزایش، کاهش یا بدون تغییر باقی بماند [۳۳]. بنابراین، کاهش CAT همراه با حفظ یا افزایش خفیف SOD در گروه T/D یافته‌ای قابل‌انتظار و از نظر زیستی منطقی است. این تفاوت احتمالاً بیانگر حساسیت متفاوت مسیرهای آنتی‌اکسیدانی و پاسخ مرحله‌ای سلول به استرس اکسیداتیو ناشی از تورشن-دتورشن است.

در مطالعه حاضر، هم‌درمانی عصاره هیدروالکلی خوشاریزه و ویتامین E توانست اثر محافظتی قابل‌توجهی در برابر آسیب ناشی از ایسکمی-ری‌پرفیوژن بیضه ایجاد کند؛ به گونه‌ای که بهبود شاخص‌های دایر سونوگرافی، کاهش استرس اکسیداتیو و تعدیل بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی به صورت هم‌زمان مشاهده شد. آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن با ایجاد اختلال حاد در خون‌رسانی بیضه و فعال‌سازی آشکار تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، موجب آسیب اندوتلیال، اختلال عملکرد میتوکندری و آسیب سلول‌های زایای بیضه می‌شود. در مرحله ری‌پرفیوژن، بازگشت ناگهانی اکسیژن به بافت ایسکمیک، تولید گونه‌های فعال اکسیژن را تشدید کرده و به پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب غشای سلولی و اختلال میکروسیرکولاسیون بافتی منجر می‌شود. مطالعات Akhigbe و همکاران [۲۴] و Minas و همکاران [۳۳] نیز نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های آسیب عملکردی بیضه پس از تورشن و ری‌پرفیوژن است.

در این پژوهش، کاهش معنی‌دار شاخص مقاومت عروقی (RI) و بازگشت نسبی اکوتنیسیته پارانشیم بیضه به محدوده نزدیک به طبیعی در گروه درمان ترکیبی می‌تواند نشان‌دهنده بهبود پرفیوژن میکروواسکولار و تعدیل اختلالات همودینامیک ناشی از استرس اکسیداتیو باشد. افزایش RI در آسیب‌های ایسکمیک بیضه معمولاً در پی واژوکانستریکشن، ادم بینابینی و اختلال عملکرد اندوتلیال رخ می‌دهد که در نهایت می‌تواند به کاهش جریان خون داخل بیضه‌ای منجر شود [۴۳]. Herek و همکاران گزارش کردند که RI می‌تواند به عنوان شاخص حساس برای ارزیابی شدت آسیب عروقی و پیش‌آگهی عملکرد بیضه پس از تورشن مورد استفاده قرار گیرد [۴۳].

بنابراین، کاهش RI در گروه دریافت‌کننده عصاره خوشاریزه همراه با ویتامین E احتمالاً بیانگر بهبود نسبی عملکرد عروقی و کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از ری‌پرفیوژن است. در این مطالعه، آسیب تورشن-دتورشن بیضه با اختلال در تعادل اکسیدان-آنتی‌اکسیدان و تغییر در بیان ژن‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی CAT و SOD همراه بود. کاهش معنی‌دار بیان ژن CAT در گروه T/D می‌تواند بیانگر افزایش استرس اکسیداتیو و تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت بیضه پس از آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن باشد. در این شرایط، بازگشت ناگهانی اکسیژن به بافت ایسکمیک موجب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده و از طریق القای پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب میتوکندریایی، به تخریب ساختار سلولی منجر می‌شود [۴۴]. کاتالاز به عنوان یکی از آنزیم‌های کلیدی در تجزیه هیدروژن پراکسید، نقش مهمی در محدود کردن تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و محافظت از سلول‌های ژرمینال در برابر آسیب اکسیداتیو دارد؛ از این رو کاهش بیان آن می‌تواند حساسیت بافت بیضه را نسبت به نکروز و آپوپتوز افزایش دهد. استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی-ری‌پرفیوژن یکی از مکانیسم‌های اصلی آسیب بافتی و اختلال عملکرد تولیدمثلی در بیضه محسوب می‌شود و در مدل‌های تجربی تورشن-دتورشن نیز افزایش تولید ROS و تخریب ساختار بافتی به طور گسترده گزارش شده است [۴۵، ۴۶]. عصاره هیدروالکلی EPHE احتمالاً به دلیل غنی بودن از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول، مهار تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر SOD و CAT، در کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از ایسکمی-ری‌پرفیوژن نقش داشته است. ترکیبات پلی‌فنولی موجود در گیاهان دارویی نیز به طور گسترده به عنوان عوامل مؤثر در تعدیل استرس اکسیداتیو و مهار مسیرهای التهابی شناخته شده‌اند و می‌توانند از آسیب بافتی در دستگاه تولیدمثل نر جلوگیری کنند [۴۷، ۴۸]. با این حال، یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که اثر محافظتی عصاره EPHE در ترکیب با ویتامین E بارزتر بود؛ امری که احتمالاً ناشی از اثرات هم‌افزای این دو آنتی‌اکسیدان در تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب اکسیداتیو بافت بیضه است. ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدان محلول در چربی، با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدی، نقش مهمی در کاهش استرس اکسیداتیو و محافظت از ساختارهای سلولی دارد. این ترکیب با کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و جلوگیری از آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA، به حفظ یکپارچگی غشای سلولی و عملکرد طبیعی آن کمک می‌کند و همچنین با کاهش سایتوکاین‌های التهابی مانند IL-6 و TNF- α ، اثرات ضدالتهابی قابل‌توجهی نشان می‌دهد [۳۸]. در مطالعه حاضر، کاهش معنی‌دار سطح MDA همراه با افزایش TAC در گروه دریافت‌کننده درمان ترکیبی EPHE و

ویتامین E، نشان‌دهنده بهبود وضعیت اکسیداتیو و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در بافت بیضه است. کاهش MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، بیانگر مهار آسیب اکسیداتیو به غشاهای سلولی بوده و افزایش TAC نیز نشان‌دهنده ارتقای ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدانی بافت است [۳، ۶، ۴۹]. بنابراین، به نظر می‌رسد تجویز هم‌زمان EPHE و ویتامین E از طریق کاهش تجمع ROS و تقویت سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی، شدت آسیب ناشی از ایسکمی-ری‌پرفیوژن را کاهش می‌دهد.

همچنین، کاهش معنی‌دار تعداد اسپرم در گروه تورشن-دتورشن (T/D) نشان‌دهنده اختلال در اسپرماتوژنز ناشی از آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن و افزایش استرس اکسیداتیو در بافت بیضه است؛ زیرا تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند به سلول‌های زایای بیضه و کیفیت اسپرم آسیب وارد کند [۵۰، ۵۱]. در مقابل، افزایش تعداد اسپرم در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین E و EPHE، به‌ویژه در درمان ترکیبی، نسبت به گروه T/D مشاهده شد که بیانگر اثرات محافظتی این ترکیبات بر عملکرد اسپرماتوژنیک است. این اثرات احتمالاً ناشی از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در کاهش استرس اکسیداتیو و محدود کردن آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن در بافت بیضه است؛ زیرا استرس اکسیداتیو یکی از عوامل اصلی اختلال در عملکرد سلول‌های زایای بیضه و کاهش کیفیت و تعداد اسپرم محسوب می‌شود.

در مجموع، یافته‌های این مطالعه می‌تواند چشم‌انداز جدیدی برای توسعه راهکارهای کمکی در محافظت از بافت بیضه در شرایط آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن فراهم سازد. تجویز هم‌زمان عصاره هیدروالکلی EPHE و ویتامین E با بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو و پارامترهای عملکردی بیضه همراه بود که احتمالاً ناشی از اثرات هم‌افزایی این ترکیبات در مهار تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که ترکیب یک آنتی‌اکسیدان طبیعی غنی از ترکیبات فنولی با ویتامین E می‌تواند در مقایسه با مداخلات منفرد، اثرات محافظتی گسترده‌تری در برابر آسیب ناشی از تورشن بیضه ایجاد کند. از این‌رو، این رویکرد ترکیبی می‌تواند مبنایی برای طراحی مطالعات آینده، از جمله ارزیابی ایمنی، تعیین دوز مؤثر و بررسی اثربخشی آن در مدل‌های حیوانی و در نهایت کارآزمایی‌های بالینی باشد. علاوه بر این، استفاده از سونوگرافی داپلر موج پالسی (PW Doppler ultrasonography) در این پژوهش، اهمیت روش‌های تصویربرداری غیرتهاجمی را در پایش وضعیت همودینامیک و روند بازیابی بافت بیضه برجسته می‌سازد؛ زیرا این روش امکان ارزیابی دینامیک جریان خون و وضعیت بافت بیضه را بدون مداخله تهاجمی فراهم می‌کند.

این مطالعه با وجود نتایج امیدوارکننده، دارای محدودیت‌هایی است که باید در تفسیر یافته‌ها و طراحی مطالعات آینده مدنظر قرار گیرند. نخست، این پژوهش بر اساس شاخص‌های سونوگرافی داپلر و پارامترهای بیوشیمیایی انجام شد و بررسی هیستوپاتولوژیک بافت بیضه برای تأیید مستقیم اثرات محافظتی در سطح سلولی و بافتی صورت نگرفت. همچنین، برای درک کامل‌تر مکانیسم‌های ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی، اندازه‌گیری مستقیم سایتوکاین‌های التهابی کلیدی مانند TNF- α و IL-6 و سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانست اطلاعات جامع‌تری ارائه دهد. از سوی دیگر، این مطالعه دوز بهینه و اثرات بلندمدت عصاره هیدروالکلی *Echinophora platyloba* و ویتامین E را به صورت منفرد یا ترکیبی بررسی نکرد؛ بنابراین، تعیین دوز مؤثر و ارزیابی پایداری اثرات محافظتی در دوره‌های زمانی طولانی‌تر نیازمند مطالعات آینده است. همچنین، ارزیابی سمیت احتمالی کبدی یا کلیوی ناشی از مصرف ترکیبی این دو ماده در این تحقیق انجام نشد. در نهایت، انجام مطالعات بالینی در بیماران مبتلا به تورشن بیضه برای تأیید یافته‌های کنونی و بررسی کاربرد بالینی این رویکرد درمانی ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که تجویز هم‌زمان عصاره هیدروالکلی (*Echinophora platyloba*) (EPHE) و ویتامین E موجب کاهش آسیب ناشی از ایسکمی-ری‌پرفیوژن (I/R) بیضه در مدل رت شد. این اثر محافظتی با بهبود وضعیت دفاع آنتی‌اکسیدانی همراه بود؛ به‌طوری‌که سطح TAC در گروه درمان ترکیبی ۶۷/۲ برابر گروه T/D بود و سطح MDA در گروه T/D حدود ۸/۱ برابر گروه دریافت‌کننده درمان ترکیبی بود. همچنین، تعداد اسپرم در گروه درمان ترکیبی حدود ۴/۷ برابر گروه T/D افزایش یافت. افزایش بیان ژن‌های SOD و CAT در گروه درمان ترکیبی نیز، به ترتیب ۱/۷ و ۴/۷ برابر نسبت به گروه T/D، از بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و حمایت از عملکرد تولیدمثلی در پی این مداخله حکایت داشت.

بر اساس این یافته‌ها، ترکیب EPHE و ویتامین E می‌تواند به عنوان یک رویکرد کمکی بالقوه برای کاهش آسیب‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو در بافت بیضه مطرح باشد. با این حال، برای تعیین دوز مؤثر، بررسی ایمنی و ارزیابی اثربخشی و کاربرد درمانی این ترکیب، انجام مطالعات بیشتر و در نهایت کارآزمایی‌های بالینی ضروری است.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی

خود را از تمامی افرادی که به هر نحو در پیشبرد و اجرای این پژوهش همکاری و همراهی داشته‌اند، ابراز می‌دارند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Leys CM, Gatti JM. The Acute Scrotum. In: Holcomb GW, Murphy JP, Ostlie DJ, editors. *Ashcraft's Pediatric Surgery*. 5th ed. Philadelphia: Saunders; 2010. p. 687-91. doi:10.1016/B978-1-4160-6127-4.00053-7
2. Ashraf-Talesh SS, Amniattalab A. Histopathologic Evaluation of Intraperitoneal Administration of Cerium Oxide Nanoparticles on Ischemia Reperfusion Injury in Rat Testicular Torsion and Detorsion Model. *Iran J Vet Surg*. 2021;16(2):84-90.
3. Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Adv Exp Med Biol*. 2008; 636:154-71. doi:10.1007/978-0-387-09597-4_9 PMID:19856167
4. Aktaş BK, Bulut S, Bulut S, Baykam MM, Özden C, Senes M, et al. The effects of N-acetylcysteine on testicular damage in experimental testicular ischemia/reperfusion injury. *Pediatr Surg Int*. 2010;26(3):293-8. doi:10.1007/s00383-009-2538-0 PMID:19911182
5. Kazak F, Akcakavak G, Alakus I, Alakus H, Kirgiz O, Karatas O, et al. Proanthocyanidin alleviates testicular torsion/detorsion-induced ischemia/reperfusion injury in rats. *Tissue Cell*. 2024;89:102459. doi:10.1016/j.tice.2024.102459 PMID:39002290
6. Aitken RJ, Smith TB, Jobling MS, Baker MA, De Juiis GN. Oxidative stress and male reproductive health. *Asian J Androl*. 2014;16(1):31-8. doi:10.4103/1008-682X.122203 PMID:24369131 PMCID:PMC3901879
7. Gong Y, Han XD. Nonylphenol-induced oxidative stress and cytotoxicity in testicular Sertoli cells. *Reprod Toxicol*. 2006;22(4):623-30. doi:10.1016/j.reprotox.2006.04.019 PMID:16777376
8. Tan BL, Norhaizan ME, Liew WP, Sulaiman Rahman H. Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. *Front Pharmacol*. 2018;9:1162. doi:10.3389/fphar.2018.01162 PMID:30405405 PMCID:PMC6204759
9. Yousefi K, Farid M, Moghtadaei Khorasgani E, Yadegari M. Therapeutic Potential of Cymbopogon citratus Hydroalcoholic Extract and Vitamin E Coadministration in Alleviating Complications From Testicular Ischemia-Reperfusion-Induced Injury in Rats. *Andrologia*. 2025;2025(1):4028767. doi:10.1155/and/4028767
10. Aziz N, Saleh RA, Sharma RK, Lewis-Jones I, Esfandiari N, Thomas AJ Jr, et al. Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. *Fertil Steril*. 2004;81(2):349-54. doi:10.1016/j.fertnstert.2003.06.026 PMID:14967372

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهمیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

11. Jiang Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radic Biol Med*. 2014;72:76-90. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035 PMID:24704972 PMCID:PMC4120831
12. Sajjadi SE, Ghannadi A. Composition of the essential oil of *Echinophora cinerea* (Boiss.) Hedge et Lamond. *J Essent Oil Res*. 2002;14(2):114-5. doi:10.1080/10412905.2002.9699788
13. Delazar A, Nazemiyeh H, Babaei H, Talebpour AH, Nahar L, Sarker SD. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Echinophora platyloba* DC. from Iran. *Food Control*. 2006;17(7):577-80.
14. Pas M, Rashidipour M, Talei G, Doosty B. Chemical compositions, antibacterial and antioxidant properties of *Echinophora cinerea* essential oil. *J Med Herb*. 2012;3(2):67-74.
15. Zarie A, Changizi-Ashtiyani S, Sokhandani M, Farrokhi Z, Rassekh F, Amini S, et al. The effects of extracts of aerial sections of *Echinophora platyloba* on function tests of Liver, kidney, and fat profiles of diabetic male rats induced by Streptozocin. *Feyz Med Sci J*. 2021;25(2):823. doi:10.48307/FMSJ.2021.25.2.823
16. Mirghazanfari SM, Hosseinzadeh L, Shokoohinia Y, Aslany M, Kamali-Nejad M. Acute and subchronic toxicological evaluation of *Echinophora platyloba* DC (Apiaceae) total extract in Wistar rats. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012;67(5):497-502. doi:10.6061/clinics/2012(05)15
17. Maleki-Saghooni N, Karimi FZ, Behboodi Moghadam Z, Mirzaii Najmabadi K. The effectiveness and safety of Iranian herbal medicines for treatment of premenstrual syndrome: A systematic review. *Avicenna J Phytomed*. 2018; 8(2):96-113.
18. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*. 2000;63(7):1035-42. doi:10.1021/np9904509 PMID:10924197
19. Cory H, Passarelli S, Szeto J, Tamez M, Mattei J. The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. *Front Nutr*. 2018; 5:87. doi:10.3389/fnut.2018.00087 PMID:30298133 PMCID:PMC6160559
20. Yousefi K, Farid M, Moghtadaei Khorasgani E, Yadegari M. Evaluation of the Concurrent Protective Effects of Hydroalcoholic Extract of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and Vitamin E on Ultrasonographic Indices, Oxidative Stress Parameters, and Antioxidant Gene Expression (SOD and CAT) in a Testicular Ischemia-Reperfusion Model in Rats. *KAUMS J*. 2026;30(1):28.
21. Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radic Biol Med*. 2011;51(5):1000-13.

- doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.05.017
PMid:21664268 PMCID:PMC3156342
22. Kwon JW, Kim WS, Cheon JE, Kim CJ, Kim IO, Yeon KM. Evaluation of testicular viability by power Doppler ultrasonography in experimentally induced acute testicular torsion. *Invest Radiol*. 2005; 40(10):682-7. doi:10.1097/01.rli.0000178837.68891.f2 PMid:16189438
23. Romeo C, Antonuccio P, Esposito M, Marini H, Impellizzeri P, Turiaco N, et al. Raxofelast, a hydrophilic vitamin E-like antioxidant, reduces testicular ischemia-reperfusion injury. *Urol Res*. 2004;32(5):367-71. doi:10.1007/s00240-004-0436-4 PMid:15316698
24. Akhigbe RE, Odetayo AF, Akhigbe TM, Hamed MA, Ashonibare PJ. Pathophysiology and management of testicular ischemia/reperfusion injury: Lessons from animal models. *Heliyon*. 2024;10(9):e27760. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e27760 PMid:38694115 PMCID:PMC11058307
25. Alnajem A, Al-Maghrebi M. The Regulatory Effects of JAK2/STAT3 on Spermatogenesis and the Redox Keap1/Nrf2 Axis in an Animal Model of Testicular Ischemia Reperfusion Injury. *Cells*. 2023; 12(18). doi:10.3390/cells12182292 PMid:37759514 PMCID:PMC10528395
26. Saba M, Morales CR, De Lamirande E, Gagnon C. Morphological and biochemical changes following acute unilateral testicular torsion in prepubertal rats. *J Urol*. 1997;157(3):149-54. doi:10.1016/S0022-5347(01)65158-9 PMid:9072560
27. Wei S-M, Huang Y-M. Effect of sulforaphane on testicular ischemia-reperfusion injury induced by testicular torsion-detorsion in rats. *Sci Rep*. 2024;14(1):23420. doi:10.1038/s41598-024-74756-z PMid:39379457 PMCID:PMC11461801
28. Raisi A, Kheradmand A, Farjanikish G, Davoodi F, Taheri S. Nitroglycerin ameliorates sperm parameters, oxidative stress and testicular injury following testicular torsion/detorsion in male rats. *Exp Mol Pathol*. 2020;117:104563. doi:10.1016/j.yexmp.2020.104563 PMid:33147433
29. Khorsand K, Najafpour A, Valilou M, Soleimanzadeh A. Naringin attenuates testicular ischemia/reperfusion injury in a mouse torsion/detorsion model via intraperitoneal administration. *Pediatr Surg Int*. 2026;42(1):59. doi:10.1007/s00383-025-06286-2 PMid:41492007
30. Azarabadi M, Heidari F, Khaki AA, Kaka G, Ghadian A. Minocycline attenuates testicular damage in a rat model of ischaemia/reperfusion (I/R) injury. *Andrologia*. 2020;52(9):e13704. doi:10.1111/and.13704 PMid:32542686
31. Ranade AV, Tripathi Y, Rajalakshmi R, Vinodini NA, Soubhagya RN, Nayanatara AK, et al. Effect of vitamin E administration on histopathological changes in rat testes following torsion and detorsion. *Singapore Med J*. 2011;52(10):742-6.
32. Eisa EFM, Ezzeldein SAM, Mohammed HA, Abdallah AA, Ghonimi WAM, Abd El Raouf M. Comparison of the therapeutic effect of platelet-rich plasma and injectable platelet-rich fibrin on testicular torsion/detorsion injury in rats. *Sci Rep*. 2024;14(1):18045. doi:10.1038/s41598-024-67704-4 PMid:39103420 PMCID:PMC11300838
33. Minas A, Mahmoudabadi S, Gamchi NS, Antoniassi MP, Alizadeh A, Bertolla RP. Testicular torsion in vivo models: Mechanisms and treatments. *Andrology*. 2023;11(7):1267-85. doi:10.1111/andr.13418 PMid:36825607
34. Evans WC. Trease and Evans' Pharmacognosy. 16th ed. Saunders/Elsevier; 2009.
35. Harborne JB. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. 3rd ed. London: Chapman & Hall; 1998.
36. World Health Organization. Quality control methods for herbal materials. Updated ed. Geneva: WHO Press; 2011.
37. Taheri S, Davoodi F, Raisi A, Zakian A, Rajabzadeh A, Hablolvarid MH, et al. Co-administration of Salvia miltiorrhiza and verapamil inhibits detrimental effects of torsion/detorsion on testicular tissue in rats. *Andrologia*. 2021; 53(6): e14049. doi:10.1111/and.14049 PMid:33733509
38. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979;95(2):351-8. doi:10.1016/0003-2697(79)90738-3 PMid:36810 PMCID:PMC8374294
39. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996; 239(1):70-6. doi:10.1006/abio.1996.0292 PMid:8660627
40. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med*. 1990;9(6):515-40. doi:10.1016/0891-5849(90)90131-2 PMid:2079232
41. Uz E, Söğüt S, Şahin Ş, Özyurt H, Güleç M, Var A, et al. The protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *World J Urol*. 2002; 20(5): 264-70. doi:10.1007/s00345-002-0259-2 PMid:12215859
42. Atik E, Görür S, Kiper AN. The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on histopathological changes in testicular ischemia-reperfusion injury. *Pharmacol Res*. 2006;54(4):293-7. doi:10.1016/j.phrs.2006.06.005 PMid:16887363
43. Herek D, Çakmak V, Çomut E, Herek Ö. The value of multimodal ultrasonography in the evaluation of late-presenting testicular torsion in a rat experimental model. *Br J Radiol*. 2024;97(1154):377-85. doi:10.1093/bjrt/tqad059 PMid:38302083
44. Li ZM. Role of antioxidants in preventing testicular ischemia-reperfusion injury: a narrative review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2022;26(24):9126-43.
45. Dejbani P, Rahimi N, Takzare N, Jahansou M, Haddadi NS, Dehpour AR. Beneficial effects of dapsone on ischemia/reperfusion injury following torsion/detorsion in ipsilateral and contralateral

- testes in rats. *Theriogenology*. 2019;140:136-42. doi:10.1016/j.theriogenology.2019.08.021 PMID:31473496
46. Shokoohi M, Shoorei H, Soltani M, Abtahi-Eivari SH, Salimnejad R, Moghimian M. Protective effects of the hydroalcoholic extract of *Fumaria parviflora* on testicular injury induced by torsion/detorsion in adult rats. *Andrologia*. 2018; 50(7): e13047. doi:10.1111/and.13047 PMID:29770471
47. Abdel-Kader MS, Abdel-Rahman RF, Althurwi HN, Soliman GA, Ogaly HA, Albaqami FF. Samarcandin protects against testicular ischemia/reperfusion injury in rats via activation of Nrf2/HO-1-mediated antioxidant responses. *Saudi Pharm J*. 2023;31(7):1186-96. doi:10.1016/j.jsps.2023.05.007 PMID:37273262 PMCid:PMC10236372
48. Mohamed MZ, Morsy MA, Mohamed HH, Hafez HM. Paeonol protects against testicular ischaemia-reperfusion injury in rats through inhibition of oxidative stress and inflammation. *Andrologia*. 2020;52(6):e13599. doi:10.1111/and.13599
49. Ogunleye OD, Afolabi OA, Saka WA, Olusola BO, Ajike RA, Oladokun OO, et al. Possible role of vitamins C and E co-administration in the prevention

- of testicular ischemia-reperfusion injury following surgical repair of torsion of the testis. *Front Nutr*. 2025;12:1660240. doi:10.3389/fnut.2025.1660240 PMID:41256933 PMCid:PMC12621144
50. Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS. Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health*. 2014;32(1):1-17. doi:10.5534/wjmh.2014.32.1.1 PMID:24872947 PMCid:PMC4026229
51. Agarwal A, Parekh N, Panner Selvam MK, Henkel R, Shah R, Homa ST, et al. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World J Mens Health*. 2019;37(3):296-312. doi:10.5534/wjmh.190055 PMID:31081299 PMCid:PMC6704307

How to Cite this Article:

Sadeghi A, Farid M, Moghtadaei-Khorasgani E, Yadegari M, Javdani M. Synergistic Protective Effects of Hydroalcoholic Extract of *Echinophora platyloba* and Vitamin E against Testicular Ischemia-Reperfusion Injury: Evaluation of Oxidative Stress, Antioxidant Gene Expression, and Doppler Ultrasound Findings. *Feyz Med Sci J* 2026; 30(3):281-297. doi: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.281