

بررسی اثر حمایتی سولفید هیدروژن بر آسیب بیضه‌ای القا شده به وسیله ایسکمی - ریپرفیوژن در رَت نژاد ویستار

زهرا نوری^۱، سیامک یاری^{۱*}، پریسا حسنین^۲، علی حسین پور ملکوتی^۱

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، ^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
تاریخ وصول: ۱۴۰۳/۰۵/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: پیچش بیضه یک عارضه اورولوژیکی اورژانسی شامل پیچش طناب اسپرماتیک است که موجب محدود شدن جریان خون به بیضه‌ها می‌شود و در نهایت موجب آتروفی بیضه خواهد شد. ایسکمی - خون‌رسانی مجدد ناشی از پیچش بیضه می‌تواند به واسطه القاء آپوپتوز در سلول‌های زایا و اختلال در روند اسپرماتوژنز موجبات آسیب بیضه را فراهم آورد. هیدروژن سولفید به علت دارا بودن اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد آپوپتوتیک باعث ایجاد اثرات محافظتی می‌شود و احتمالاً گزینه مناسبی برای ارتقاء راهکارهای درمانی جهت کاهش اختلالات باروری ناشی از ایسکمی بیضه است. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثر حمایتی سولفید هیدروژن بر آسیب بیضه‌ای القا شده به وسیله ایسکمی - ریپرفیوژن در رَت نژاد ویستار بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۰ در دانشگاه بوعلی‌سینا انجام شد، ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار وارد مطالعه شدند و به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند؛ گروه ۱ کنترل، گروه ۲ ایسکمی - ریپرفیوژن، گروه ۳ ایسکمی - ریپرفیوژن همراه با دریافت هیدروژن سولفید (۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم، درون صفاقی). گروه ۴ ایسکمی - ریپرفیوژن همراه با دریافت هیدروژن سولفید (۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم، درون صفاقی). پس از گذشت ۷۲ ساعت حیوانات کشته شدند. بیضه‌ها و اپیدیدیم‌ها خارج شدند و بررسی‌های هیستولوژیکی بر روی بافت بیضه انجام شد، سپس تعداد و بقا و مورفولوژی اسپرم‌های اپیدیدی بررسی شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار پریم، آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که ایسکمی - ریپرفیوژن بیضه موجب کاهش معنی‌داری در شاخص‌های بیضه (۰/۴۸) و اپیدیدیم (۰/۲)، تعداد (۳۱۸X۱۰^۶) و بقای اسپرم‌های اپیدیدی (۲۶ درصد) ($p < 0/001$)، شد. همچنین مورفولوژی غیر طبیعی در اسپرم‌های اپیدیدی به شکل معنی‌داری متعاقب ایسکمی - ریپرفیوژن یک‌طرفه بیضه افزایش یافت (۹۱ درصد) ($p < 0/001$). تیمار با هیدروژن سولفید سبب افزایش تعداد (۴۵۰X۱۰^۶) ($p < 0/001$)، بقا (۶۱ درصد) ($p < 0/05$) و کاهش مورفولوژی غیر طبیعی اسپرم‌های اپیدیدی (۴۴ درصد) ($p < 0/05$) و همچنین کاهش آسیب‌های بافتی در مقایسه با گروه ایسکمی - ریپرفیوژن شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار با هیدروژن سولفید به شکل وابسته به دوز سبب بهبود پارامترهای اسپرمی و کاهش آسیب بافتی در مدل ایسکمی - ریپرفیوژن بیضه می‌گردد. از این رو تیمار با هیدروژن سولفید می‌تواند به عنوان یک روش درمانی در کاهش عوارض ناشی از ایسکمی - ریپرفیوژن بیضه مطرح باشد.

واژه‌های کلیدی: هیدروژن سولفید، ایسکمی - ریپرفیوژن، بقای اسپرم، رت

* نویسنده مسئول: سیامک یاری، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

Email: s.yari@basu.ac.ir

نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند.

مقدمه

پیچش بیضه یک عارضه اورولوژیکی اورژانسی شامل پیچش طناب اسپرماتیک است که موجب محدود شدن جریان خون به بیضه‌ها می‌شود و در نهایت موجب آتروفی بیضه خواهد شد (۱). بیضه‌ها به دلیل وجود بافت‌های اطراف که نقش حفاظتی برای بیضه ایفا می‌کنند، نمی‌توانند آزادانه درون کیسه بیضه (اسکروتوم) حرکت کنند. گاهی در نوزادان و شیرخواران، کودکان و یا افراد بزرگسال به دلیل نقص‌های ژنتیکی و یا آسیب به این بافت‌های حفاظتی افراد دچار پیچش بیضه می‌شوند. این عارضه به دلیل ضربه به کشاله ران، رشد سریع در سن بلوغ، در اثر فعالیت‌های ورزشی و یا در هنگام خواب ایجاد می‌شود، که با عوارضی چون درد و تورم کیسه بیضه، تهوع، خون در منی، سرگیجه، توده در اسکروتوم، تب، درد هنگام ادرار همراه می‌باشد. اگر واپیچش طناب اسپرماتیک در کمتر از ۶ ساعت انجام شود میزان احیای بافت بیضه ۹۰ درصد خواهد بود، بعد از ۱۲ ساعت به ۵۰ درصد و بعد از ۲۴ ساعت به کمتر از ۱۰ درصد خواهد کرد (۲). از عوارض ایجاد شده در اثر پیچش بیضه ناباروری است که ناشی از قطع مسیر خون رسانی به بیضه و ساختارهای اطراف آن و در نتیجه آسیب بیضه است و متعاقباً منجر به آزاد شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌شود (۳). از جمله آسیب‌های ایسکمی - ریپرفیوژن ارتشاح نوتروفیل‌ها، آپوپتوز، آنوکسی و از همه مهم‌ترکیبیت

اکسیژن واکنش‌پذیر و پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (۴).

سولفید هیدروژن گازی بی‌رنگ با بوی تخم‌مرغ فاسد است که در طبیعت به وسیله برخی باکتری‌ها و قارچ‌ها تولید می‌شود (۵). تا دهه‌های اخیر گمان می‌شد که این گاز فقط یک آلاینده محیطی است، ولی در اواخر دهه ۱۹۸۰ نوع درون‌زاد آن در مغز رت یافت شد و نیز مقادیری از آن در مغز انسان اندازه‌گیری شد (۶). در سال‌های اخیر اثرات محافظت سلولی سولفید هیدروژن درون‌زاد و برون‌زاد بررسی شده است، اثرات سولفید هیدروژن برون‌زاد با به کار بردن رها کننده آن به شکل سولفید سدیم و سولفید هیدروژن سدیم انجام گرفته است. سولفید هیدروژن به خاطر دارا بودن اثرات محافظ سلولی در پیش‌گیری و درمان اختلالات زیادی استفاده می‌شود. اعمال فیزیولوژیکی آن این گاز را در ردیف یک محافظت کننده مناسب برای بافت‌های مختلف در برابر آسیب‌های ناشی از ایسکمی - ریپرفیوژن قرار داده است (۷).

هیدروژن سولفید دارای اثر حفاظتی در برابر آسیب و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول ناشی از ایسکمی در قلب می‌باشد (۸). علاوه بر این اثر حفاظتی روی سلول‌های هیپوکامپ و نورون‌های مغزی دارد (۹).

هم‌چنین با اثرات محافظت سلولی خود از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی از پیشرفت مسمومیت کلیوی ناشی از مصرف سیس پلاتین

میکروگرم در کیلوگرم سولفید هیدروژن) تقسیم شدند.

حیوانات ابتدا با تزریق درون صفاقی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کتامین هیدروکلراید (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. برش در ناحیه میانی به اندازه ۲-۱ سانتی‌متر ایجاد شد پس از مشاهده طناب اسپرماستیک با گیره میکروواسکولار ناحیه مورد نظر مسدود شد. انسداد به مدت ۱ ساعت برای القای ایسکمی ادامه یافت پس از گذشت ۱ ساعت گیره برداشته شده و ریپرفیوژن القا شد (۱۱). پس از گذشت ۷۲ ساعت رت‌ها کشته شدند و بیضه‌ها و اپیدیدیم برای بررسی‌های بافتی و هم‌چنین پارامترهای اسپرمی خارج شدند.^۱

بخش دمی اپیدیدیم به قطعات کوچک (کمتر از ۱ میلی‌متر) خرد شد و در محیط کشت Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) همراه با سرم جنین گاو به میزان ۱۰ درصد رقیق شد. ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون اسپرم به اتاقک شمارش هموسیتومتر منتقل شد. هموسیتومتر در یک محفظه مرطوب به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد تا اسپرم‌ها ته نشین شوند. سلول‌ها با میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی ۱۰۰ شمارش شدند (۱۲). برای ارزیابی بقای اسپرم‌های اپیدیدیمی از رنگ‌آمیزی دو مرحله‌ای ائوزین - نیگروزین استفاده شد. ابتدا سوسپانسیون اسپرم در محلول ائوزین انکوبه شد. سپس محلول نیگروزین به

جلوگیری می‌کند (۱۰). بنابراین احتمال دارد در ایسکمی ریپرفیوژن بیضه نیز نقش محافظتی داشته باشد. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثر حمایتی سولفید هیدروژن بر آسیب بیضه‌ای القا شده به وسیله ایسکمی - ریپرفیوژن در رت نژاد ویستار بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۰ در دانشگاه بوعلی سینا انجام شد، در این مطالعه از رت نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی بین ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. قبل از انجام آزمایشات به منظور سازگاری با محیط به مدت ۱ هفته در محل نگهداری حیوانات نگهداری شدند. این حیوانات در شرایط استاندارد در قفس‌های مخصوص نگهداری و در طول دوره آزمایش به آب و غذای نامحدود دسترسی داشتند. حیوانات با رعایت مقررات بین‌المللی اخلاق علمی و انجمن حمایت از حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. حیوانات مورد استفاده در این مطالعه شامل ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار است که به ۴ گروه مساوی شامل؛ گروه ۱ (کنترل): در این گروه هیچ‌گونه تیماری انجام نگرفت، گروه ۲ (ایسکمی - ریپرفیوژن): در این گروه ایسکمی ریپرفیوژن انجام شد و پس از ۷۲ ساعت حیوانات تشریح شدند، گروه ۳ (ایسکمی ریپرفیوژن همراه با دریافت دوز ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم سولفید هیدروژن) و گروه ۴ (ایسکمی ریپرفیوژن همراه با دریافت دوز ۴۰۰

1-Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از پریسم و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی‌های آماری داده‌های مربوط به شاخص بیضه در گروه‌های مختلف آزمایشی در (شکل ۱ الف)) ارایه شده است. نتایج نشان داد که ایسکمی - ریپرفیوژن بیضه سبب کاهش در شاخص بیضه نسبت به گروه کنترل شده است البته کاهشی معنی‌دار نبود، هم‌چنین گروه ایسکمی ریپرفیوژن با دریافت هیدروژن سولفید دوز ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن نیز سبب افزایش در شاخص بیضه شده است که این افزایش معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (شکل ۱ الف)).

نتایج حاصل از بررسی تغییرات شاخص اپیدیدیم در گروه‌های مختلف تیماری در نمودار (شکل ۱ ب)) ارایه شده است. شاخص اپیدیدیم در گروه‌های مختلف نشان داد که ایسکمی - ریپرفیوژن بیضه سبب کاهش در شاخص اپیدیدیم نسبت به گروه کنترل شده است که این کاهش معنی‌دار بود. هم‌چنین در گروه ایسکمی ریپرفیوژن همراه با دریافت دوز ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم سولفید هیدروژن و ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم سولفید هیدروژن سبب افزایش در شاخص اپیدیدیم نسبت به گروه

محلول اولیه اضافه شد. اسمیر تهیه و در هوا خشک شد. اسمیر خشک شده در هوا با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰۰ ارزیابی شد. در این روش، سر اسپرم‌های مرده به رنگ صورتی و اسپرم‌های زنده سفید دیده می‌شوند (۱۴ و ۱۳). برای مطالعه مورفولوژی اسپرم‌ها به سوسپانسیون اسپرمی محلول ائوزین افزوده شد و اسمیر تهیه شد. اسمیرهای خشک شده در هوا با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ مطالعه شد و آنومالی‌های مورفولوژیکی نظیر؛ سر جدا، دم بدون سر، سر بدشکل و دم خمیده مورد ارزیابی قرار گرفتند (۱۵).

بیضه‌ها در فرمالین بافر خنثی ۱۰ درصد تثبیت شدند و بعد از ۲۴ ساعت نمونه با درجات صعودی اتانول آب‌گیری شد. متعاقباً، نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شدند، برش‌های بافتی به ضخامت ۵ میکرومتر انجام گرفت و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین انجام گرفت، مقاطع بیضه زیر میکروسکوپ نوری بررسی و عکس‌برداری شد. برای اندازه‌گیری ضخامت لوله منی ساز از برنامه تحلیل تصاویر Image J استفاده شد. تعداد سلول‌های لایدیگ در بافت بینابینی و هم‌چنین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در اپیتلیوم لوله‌های سمینیفیر در بزرگ‌نمایی $400\times$ شمارش شد (۱۶). سطح تستوسترون خون با استفاده از کیت‌های پارس آزمون و دستگاه الیزا ریدر اندازه‌گیری شد.

ایسکمی - ریپرفیوژن شده است البته افزایشی معنی‌دار نبود.

نتایج حاصل از بررسی تغییرات تعداد اسپرم‌های اپیدیدیم در گروه‌های مختلف تیماری در (شکل ۲ الف)) ارایه شده است. تعداد اسپرم‌ها در گروه‌های مختلف نشان داد که ایسکمی - ریپرفیوژن بیضه سبب کاهش در تعداد اسپرم‌ها نسبت به گروه کنترل شده است که این کاهش معنی‌داری بود ($p < 0/001$). گروه ایسکمی ریپرفیوژن نیز سبب کاهش در تعداد اسپرم‌ها نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن با دریافت هیدروژن سولفید دوز ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم شده است که این کاهش معنی‌دار بود ($p < 0/05$). همچنین گروه ایسکمی ریپرفیوژن نیز سبب کاهش در تعداد اسپرم‌ها نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن با دریافت هیدروژن سولفید دوز ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم شده است و این کاهش معنی‌دار بود ($p < 0/01$).

نتایج حاصل از بررسی‌های آماری داده‌های مربوط به درصد بقای اسپرم در گروه‌های مختلف تیماری در شکل ۲ (ب) ارایه شده است. در بررسی میانگین درصد بقای اسپرم‌ها مشخص شد که میانگین درصد بقای اسپرم‌های گروه ایسکمی ریپرفیوژن نسبت به درصد بقای اسپرم‌های گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد ($p < 0/001$). همچنین، گروه ایسکمی - ریپرفیوژن، سبب کاهش در میانگین درصد بقای اسپرم‌ها نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن با دریافت هیدروژن سولفید دوز ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم

بر کیلوگرم شده است و این کاهش معنی‌دار بود ($p < 0/001$).

نتایج حاصل از بررسی تغییرات درصد اسپرم‌های غیرطبیعی در شکل ۲ (ج) بیانگر افزایش معنی‌دار درصد اسپرم‌های غیرطبیعی گروه ایسکمی ریپرفیوژن نسبت به گروه کنترل است ($p < 0/001$). همچنین، درصد اسپرم‌های غیر طبیعی در گروهی که متعاقب ایسکمی ریپرفیوژن، هیدروژن سولفید دوز ۱۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم را دریافت کرده بودند، نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$).

پژوهش‌های هیستولوژیکی برش‌های بافت بیضه در گروه‌های آزمایشی مورد بررسی نشان داد که در گروه ایسکمی ریپرفیوژن بهم ریختگی لومن و آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز وجود داشت، اما در گروه کنترل و گروه ایسکمی ریپرفیوژن همراه با دریافت دوز ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم سولفید هیدروژن و گروه ایسکمی ریپرفیوژن همراه با دریافت دوز ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم سولفید هیدروژن سلول‌های اپیتلیوم زایشی دارای به هم پیوستگی و نظم بود و همچنین دارای شکل و ضخامت طبیعی است، همچنین با توجه به شکل ۲ (د) ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه ایسکمی ریپرفیوژن نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافت ($p < 0/001$).

نتایج به دست آمده از بررسی تعداد نوتروفیل‌های نفوذی در هر زمینه میکروسکوپی نشان می‌دهد که گروه IR نسبت به گروه کنترل به‌طور

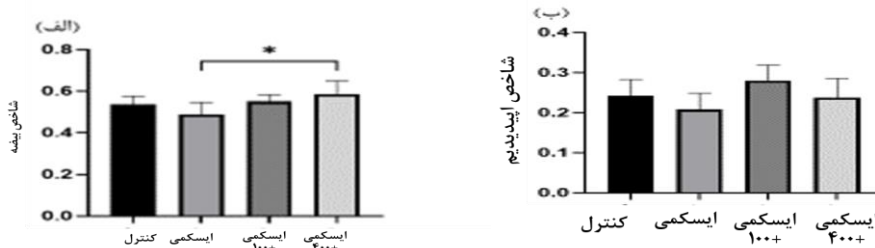
نیز به طور معنی‌داری بیشتر از تعداد این سلول‌ها در گروه‌های تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۱۰۰) و (IR+۴۰۰) بود ($p < 0/001$).

نتایج حاصل از شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نشان داد که تعداد این سلول‌ها در گروه کنترل نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0/001$). همچنین تعداد این سلول‌ها در گروه‌های تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۱۰۰) و (IR+۴۰۰)، نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0/001$) و این اختلاف در گروه تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۴۰۰) بیشتر از گروه تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۱۰۰) بود.

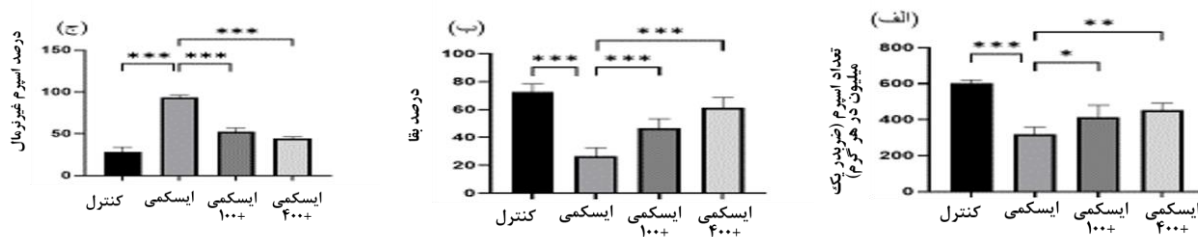
نتایج حاصل از بررسی سطح تستوسترون نشان داد که سطح تستوسترون در گروه کنترل نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0/001$). همچنین سطح تستوسترون در گروه‌های تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۱۰۰) و (IR+۴۰۰)، نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0/001$) و این اختلاف در گروه تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۴۰۰) بیشتر از گروه تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۱۰۰) بود.

معنی‌داری افزایش تعداد نوتروفیل‌ها را نشان داد ($p < 0/001$)، همچنین در گروه‌های تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۱۰۰) و (IR+۴۰۰)، تعداد نوتروفیل‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه IR کاهش یافته است. کاهش در گروه IR+۴۰۰ نسبت به گروه IR بیشتر بوده و از نظر آماری معنی‌دار است ($p < 0/001$) و کاهش در گروه IR+۱۰۰ نسبت به گروه IR کمتر بوده و از نظر آماری معنی‌دار است ($p < 0/01$). به علاوه، بین دو گروه IR+۱۰۰ و IR+۴۰۰ نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0/001$)، این نتایج حاکی از اثرات محافظتی هیدروژن سولفید در کاهش ارتشاح نوتروفیلی ناشی از آسیب ایسکمی - ریپرفیوژن است.

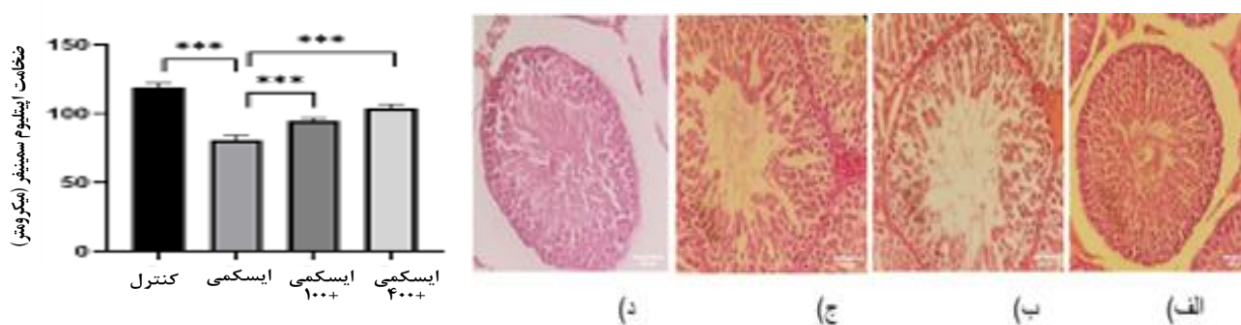
نتایج حاصل از شمارش تعداد سلول‌های لیدیک نشان داد که تعداد این سلول‌ها در گروه کنترل نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0/001$). همچنین تعداد این سلول‌ها در گروه‌های تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۱۰۰) و (IR+۴۰۰)، نسبت به گروه ایسکمی ریپرفیوژن به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0/001$) و این اختلاف در گروه تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۴۰۰) بیشتر از گروه تحت درمان با هیدروژن سولفید (IR+۱۰۰) بود که اختلاف این دو گروه هم با هم معنی‌دار بود ($p < 0/001$). تعداد سلول‌های لیدیک در گروه کنترل



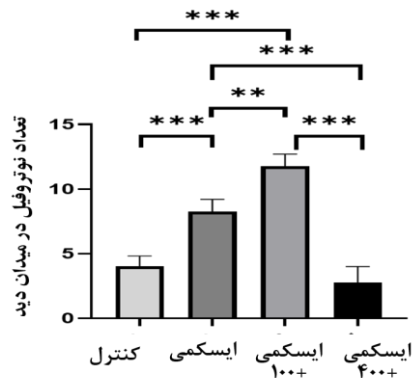
شکل ۱: شاخص بیضه و اپیدیدیم در گروه‌های مختلف. علامت * معنی‌داری بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$), * $p < 0.01$ و (***) $p < 0.001$)



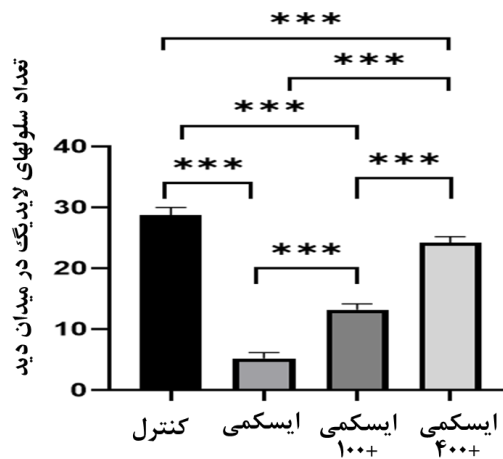
شکل ۲: پارامترهای اسپرم در گروه‌های مختلف: (الف): تغییرات تعداد اسپرم های اپیدیدیمی، (ب): تغییرات درصد بقای اسپرم‌های اپیدیدیمی، (ج): تغییرات درصد اسپرم‌های غیر طبیعی اپیدیدیمی. علامت * معنی‌داری بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$), * $p < 0.01$ و (***) $p < 0.001$)



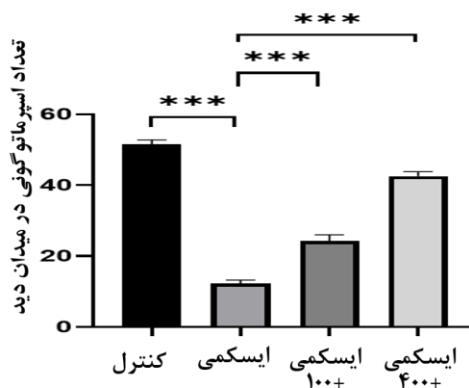
شکل ۳: رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین برش بافت بیضه در گروه‌های مختلف. گروه کنترل (الف)، ایسکمی-ریپرفیوژن (ب)، ایسکمی-ریپرفیوژن + ۱۰۰ میکروگرم هیدروژن سولفید (ج)، ایسکمی-ریپرفیوژن + دوز ۴۰۰ میکروگرم هیدروژن سولفید (د)، ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های سمینیفرا (ه). علامت * معنی‌داری بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$), * $p < 0.01$ و (***) $p < 0.001$)



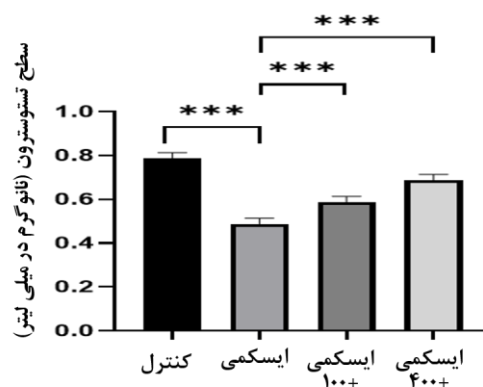
شکل ۴: تعداد نوتروفیل‌های ارتشاحی در بافت بیضه در گروه‌های مختلف. علامت * معنی‌داری بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$), ** $p < 0.01$ و *** $p < 0.001$.



شکل ۵: تعداد سلول‌های لیدیک در گروه‌های مختلف. علامت * معنی‌داری بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$), * $p < 0.01$ و ** $p < 0.001$.



شکل ۶: تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه‌های مختلف. علامت * معنی‌داری بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$), * $p < 0.01$ و ** $p < 0.001$.



شکل ۷: سطح تستوسترون خون در گروه‌های مختلف. علامت * معنی داری بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$), * $p < 0.01$ و $p < 0.001$ (***)

بحث

در این مطالعه ایسکمی ریپرفیوژن، موجب کاهش وزن بیضه شد. کاهش وزن بیضه معمولاً به دلیل تخریب بافتی، کاهش تعداد سلول‌های لایدیگ (که مسئول تولید تستوسترون هستند) و سلول‌های اسپرماتوگونی (که پیش‌ساز اسپرم هستند) اتفاق می‌افتد. در پژوهش‌های مختلف، کاهش وزن بیضه و اپیدیدیم پس از ایسکمی ریپرفیوژن گزارش شده است (۱۷). در شرایط ایسکمی، کاهش جریان خون و اکسیژن به بافت‌ها منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. با بازگشت جریان خون در ریپرفیوژن، این رادیکال‌های آزاد به شدت آسیب به سلول‌ها می‌زنند و باعث تخریب غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA می‌شوند (۱۸). در این مطالعه، مشاهده شد که درمان با سولفید هیدروژن می‌تواند وزن بیضه و اپیدیدیم را در مدل‌های حیوانی ایسکمی ریپرفیوژن افزایش دهد.

در این مطالعه ایسکمی ریپرفیوژن موجب کاهش تعداد، بقا و افزایش مورفولوژی غیرطبیعی

پیش بیضه یک حالت اورژانسی است که در شرایط مختلف و در اکثر موارد در سنین پایین روی می‌دهد و نخستین مرحله از درمان این حالت پاتولوژیکی، جراحی و انجام واپیچش می‌باشد. در حالت پیچش عدم خون‌رسانی (ایسکمی) منجر به تخریب وسیع در بافت بیضه می‌شود و بررسی‌ها نشان داده است که خون‌رسانی مجدد (ریپرفیوژن) که در طی جراحی صورت می‌گیرد، آسیب‌های بافتی را تشدید می‌کند. راهکارهای مختلفی برای کاهش اثرات آسیب‌زای مذکور پیشنهاد شده است که از آن جمله می‌توان به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها اشاره کرد. با توجه به اینکه سولفید هیدروژن در بسیاری از شرایط پاتولوژیکی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی نشان داده است. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی اثر حمایتی سولفید هیدروژن بر آسیب بیضه‌ای القا شده به وسیله ایسکمی - ریپرفیوژن در رت نژاد ویستار بود.

اسپریم‌ساز و کاهش ضخامت آن شد که این خود به عنوان نشانه‌ای از آسیب به فرآیند اسپرم‌زایی تلقی می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که ایسکمی ریپرفیوژن می‌تواند باعث تخریب شدید لوله‌های اسپرم‌ساز گردد (۲۲). در این مطالعه که بر روی مدل‌های حیوانی ایسکمی ریپرفیوژن انجام شد، مشاهده گردید که سولفید هیدروژن توانسته است ضخامت سمینفروس را حفظ کند و از نازک شدن آن جلوگیری کند.

ادم یکی از علایم واضح آسیب ایسکمی است که به دلیل تغییر در نفوذپذیری رگ‌ها و تجمع مایعات در بافت‌ها ایجاد می‌شود. در بیضه‌ها این تغییرات می‌تواند منجر به تورم و آسیب بیشتر بافتی شود که در این مطالعه مشاهده شد. هیدروژن سولفید با اثرات ضدالتهابی و کاهش فشار اکسیداتیو می‌تواند از شدت ادم در بافت بیضه بکاهد. درمان با هیدروژن سولفید باعث کاهش چشمگیر ادم و تورم در بافت‌های بیضه شد. ارتشاح نوتروفیل‌ها به محل آسیب در پاسخ به التهاب ناشی از ایسکمی ریپرفیوژن یکی از نشانگرهای مهم است که در این مطالعه این موضوع مشاهده شد، التهاب نیز در پی ایسکمی ریپرفیوژن به دلیل آزادسازی سایتوکاین‌ها و عوامل التهابی تشدید می‌شود. ارتشاح نوتروفیل‌ها و سایر سلول‌های التهابی به بافت بیضه نیز از ویژگی‌های شناخته شده آسیب‌های ایسکمی است (۲۴ و ۲۳). ایسکمی و ریپرفیوژن باعث فعال شدن مسیرهای التهابی مانند NF-kB می‌شود که منجر به ترشح سایتوکاین‌ها و فاکتورهای التهابی می‌گردد. این التهاب می‌تواند سبب جذب نوتروفیل‌ها و دیگر سلول‌های ایمنی به محل

اسپریم‌های اپیدیدیمی شد. این آسیب‌ها به دلیل استرس اکسیداتیو شدید ناشی از ایسکمی و ریپرفیوژن به ویژه در میتوکندری‌ها و غشای اسپرم ایجاد می‌شود. میتوکندری‌ها در فرآیندهای تولید انرژی و حفظ عملکرد سلولی نقش دارند. در شرایط ایسکمی، میتوکندری‌ها دچار اختلال در تولید انرژی و افزایش آزادسازی کلسیم می‌شوند که موجب مرگ سلولی و ناتوانی در بازسازی بافت می‌گردد. بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که در شرایط ایسکمی، تعداد اسپرم‌ها کاهش می‌یابد و کیفیت آن‌ها به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۲۰ و ۱۹). در پژوهش‌های اخیر، استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری به عنوان عوامل کلیدی در کاهش کیفیت و عملکرد اسپرم در شرایط ایسکمی - ریپرفیوژن معرفی شده‌اند. تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن و تغییر در تعادل کلسیم می‌تواند باعث باز شدن منفذ انتقالی میتوکندری (mPTP) شود. این باز شدن منجر به کاهش پتانسیل غشای میتوکندری، افت سطح ATP و افزایش ROS می‌شود که در نهایت به اختلال در تحرک اسپرم، آسیب DNA، و مرگ سلولی منجر می‌شود. چنین تغییراتی می‌توانند کیفیت اسپرم را به شدت کاهش دهند و در نازایی مردان نقش داشته باشند (۲۱). در این مطالعه مشاهده شد که سولفید هیدروژن موجب افزایش تعداد و بقا و کاهش مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم‌های اپیدیدیمی شد.

لوله‌های اسپرم‌ساز بخش اصلی تولید اسپرم در بیضه‌ها هستند و آسیب به این ساختار باعث اختلال در اسپرم‌زایی می‌شود. در این مطالعه ایسکمی ریپرفیوژن، موجب نازک شدن دیواره‌های لوله

آسیب و در نتیجه تشدید آسیب بافتی شود (۲۶ و ۲۵). هیدروژن سولفید با اثرات ضدالتهابی خود می‌تواند از تجمع نوتروفیل‌ها در بافت بیضه جلوگیری کند. در این مطالعه مشاهده شد که سولفید هیدروژن به کاهش ارتشاح نوتروفیلی و کاهش التهاب در بافت بیضه کمک می‌کند.

در این مطالعه ایسکمی بیضه منجر به کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی شد، عمدتاً به دلیل آپوپتوز و اختلال در عملکرد سلولی است. مکانیسم اصلی شامل استرس اکسیداتیو و نفوذ نوتروفیل‌هاست که منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و التهاب می‌شود. استرس اکسیداتیو و التهاب مسیرهای آپوپتوز را فعال می‌کند. افزایش رادیکال‌های آزاد باعث آسیب به غشای سلولی می‌شود. این آسیب به ساختارهای سلولی منجر به از بین رفتن سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی و کاهش ظرفیت اسپرم‌سازی می‌گردد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که کاهش وزن بیضه و آپوپتوز سلول‌های زایا پس از ایسکمی - ریپرفیوژن از علایم بارز این آسیب است (۲۷). همچنین پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از ایسکمی - ریپرفیوژن می‌توانند بیان پروتئین‌های مرتبط با آپوپتوز را افزایش دهند و تعادل بین فاکتورهای پروآپوپتوز و ضدآپوپتوز را به سمت آسیب بیشتر بافتی تغییر دهند (۲۸).

سولفید هیدروژن استرس اکسیداتیو و آپوپتوز را کاهش می‌دهد، در این مطالعه مشاهده شد که سولفید هیدروژن می‌تواند تعداد سلول‌های

اسپرماتوگونی را پس از آسیب ایسکمی - ریپرفیوژن حفظ کند.

در مطالعه حاضر ایسکمی - ریپرفیوژن موجب کاهش تعداد سلول‌های لایدیگ شد که به دنبال این موضوع سطح تستوسترون نیز کاهش یافت. این اثر از طریق مکانیسم‌های متعددی مانند استرس اکسیداتیو و التهاب ایجاد می‌شود. افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از ایسکمی باعث آسیب میتوکندری، آپوپتوز و مرگ سلولی می‌شود. همچنین، التهاب ناشی از فعال شدن مسیرهایی مانند NF-KB به نفوذ بیشتر نوتروفیل‌ها و آسیب سلولی کمک می‌کند. این تغییرات به طور مستقیم تعداد سلول‌های لایدیگ را کاهش داده و عملکرد آنها را مختل می‌کند که به دنبال کاهش سلول‌های لایدیگ سطح تستوسترون نیز کاهش یافت (۲۹-۳۳). سولفید هیدروژن استرس اکسیداتیو و آپوپتوز را کاهش می‌دهد، در این مطالعه مشاهده شد که سولفید هیدروژن می‌تواند تعداد سلول‌های لایدیگ را پس از آسیب ایسکمی - ریپرفیوژن حفظ کند.

از آن جایی که این پروژه مربوط به پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد بود، به سبب محدودیت زمانی، بررسی‌های مولکولی و انجام پژوهش‌های بیشتر جهت بررسی مکانیسم‌های دخیل در اثرات سولفید هیدروژن بر پارامترهای اسپرمی و تغییرات پاتولوژیکی سیستم تولید مثلی امکان‌پذیر نبود، از این رو پیشنهاد می‌شود جهت درک بهتر این مکانیسم‌ها مسیرهای سیگنال دهی آپوپتوز و همچنین بیان سیتوکین‌ها التهابی و ضدالتهابی تحت تاثیر سولفید هیدروژن مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که سولفید هیدروژن اثرات حفاظتی قابل توجهی در برابر آسیب‌های ناشی از ایسکمی - ریپرفیوژن بیضه در رت‌های نژاد ویستار دارد. ایسکمی - ریپرفیوژن موجب کاهش وزن بیضه و اپیدیدیم، کاهش تعداد و بقای اسپرم، افزایش مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم‌ها، نازک شدن لوله‌های اسپرم‌ساز، کاهش تعداد سلول‌های لایدیگ و اسپرماتوگونی و افزایش ادم و ارتشاح نوتروفیلی شد. درمان با سولفید هیدروژن این آسیب‌ها را به‌طور معنی‌داری کاهش داد و بهبود شاخص‌های بافتی و عملکردی بیضه را نشان داد. این اثرات احتمالاً به واسطه خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدآپوپتوزی H_2S بوده و می‌تواند به‌عنوان یک گزینه درمانی مؤثر در کاهش اختلالات تولیدمثلی ناشی از ایسکمی - ریپرفیوژن مورد توجه قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مطالعه از معاونت پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا که امکانات لازم برای این پروژه را فراهم نمودند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آورند.

تعارض منافع

نویسندگان اضرار می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی در این مطالعه وجود ندارد.

حمایت مالی

این مطالعه از طرف معاونت پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا از محل گرنت شماره‌ی ۲۰۶-۹۸-تامین مالی شده است.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه بوعلی سینا با کد اخلاق IR.BASU.REC.1399.019 می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

نفر اول: انجام پژوهش‌های آزمایشگاهی و جمع‌آوری نتایج و نگارش مقاله، نفر دوم: طراحی مطالعه، تفسیر نتایج و نگارش مقاله، نفر سوم: بررسی و تفسیر نتایج و مشارکت در نگارش مقاله، نفر چهارم: بررسی و تفسیر نتایج و مشارکت در نگارش مقاله

REFERENCES

1. Ahmed FA, Whelan J, Jequier AM, Cummins JM. Torsion-induced injury in rat testes does not affect mitochondrial respiration or the accumulation of mitochondrial mutations. *International Journal of Andrology* 2000; 23(6): 347–56.
2. Ringdahl E, Teague L, Testicular torsion. *Am Fam Physician* 2006; 74(10):1739-43.
3. Karaguzel E, Kadihasanoglu M, Kutlu O. Mechanisms of testicular torsion and potential protective agents. In *Nature Reviews Urology* 2014; 11(7): 391–99.
4. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53(1): 135-59.
5. Wang R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *The FASEB Journal* 2002; 16(13): 1792–8.
6. Warena MW, Goodwin LR, Benishin CG, Reiffenstein RJ, Francom DM, Taylor JD, et al. Acute hydrogen sulfide poisoning. Demonstration of selective uptake of sulfide by the brainstem by measurement of brain sulfide levels. *Biochemical Pharmacology* 1998; 38(6): 973–81.
7. Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *The FASEB Journal* 2004; 18(10): 1165–7.
8. Little JR. Implanted device for middle cerebral artery occlusion in conscious cats. *Stroke* 1977; 8(2): 258–60.
9. Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke* 1986; 17(3): 472–6.
10. Fard A, Ahangarpour A, Gharibnaseri M, Jalali T, Rashidi I, Ahmadzadeh M. Effects of hydrogen sulfide on oxidative stress, tnf- and #945; level and kidney histological changes in cisplatin nephrotoxicity in rat. *Journal of Physiology and Pharmacology Advances* 2023; 3(3): 57.
11. Kurcer Z, Hekimoglu A, Aral F, Baba F, Sahna E. Effect of melatonin on epididymal sperm quality after testicular ischemia/reperfusion in rats. *Fertility and Sterility* 2010; 93(5): 1545–9.
12. Gholami Jourabi F, Yari S, Amiri P, Heidarianpour A, Hashemi H. The ameliorative effects of methylene blue on testicular damage induced by cisplatin in rats. *Andrologia* 2021; 53(1): e13850.
13. Lin PH, Huang KH, Tian YF, Lin CH, Chao CM, Tang LY, Hsieh KL, Chang CP. Exertional heat stroke on fertility, erectile function, and testicular morphology in male rats. *Scientific Reports* 2021; 11: 3539.
14. Ameli M, Moghimian M, Saeb F, Bashtani E, Shokoohi M, Salimnejad R, Abtahi H. The effect of clomiphene citrate and human chorionic gonadotropin on the expression of CatSper1, CatSper2, LHCGR, and SF1 genes, as well as the structural changes in testicular tissue of adult rats. *Molecular Reproduction and Development* 2019; 86(6): 738–48.
15. Sharifian P, Yari S, Hasanein P, Manteghi Nezhad Y. Conditioned medium of bone marrow mesenchymal stem cells improves sperm parameters and reduces histological alteration in rat testicular ischaemia/reperfusion model. *Andrologia* 2022; 54(11): e14624.
16. Leblond CP, Clermont Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1952; 55(4): 548–73.
17. Li J, Yan Z, Wang Q, Wei S, Liu Q, Liu T, Hu Z. Pretreatment with remote ischemic conditioning attenuates testicular damage after testicular ischemia and reperfusion injury in rats. *PLoS one* 2023; 18(10): e0287987.
18. Hou L, Li X, Su C, Chen K, Qu M. Current Status and Prospects of Research on Ischemia-Reperfusion Injury and Ferroptosis. *Frontiers in Oncology* 2022; 12: 920707.
19. Bravo A, Sánchez R, Zambrano F, Uribe P. Exogenous oxidative stress in human spermatozoa induces opening of the mitochondrial permeability transition pore: effect on mitochondrial function, sperm motility and induction of cell death. *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 2024; 13(6): 739.
20. Fadel F, Al-Kandari N, Khashab F, Al-Saleh F, Al-Maghrebi M. JNK inhibition alleviates oxidative DNA damage, germ cell apoptosis, and mitochondrial dysfunction in testicular ischemia reperfusion injury. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 2020; 52(8): 891–900.
21. Sun X, Wu S, Mao C, Qu Y, Xu Z, Xie Y, et al. Therapeutic Potential of Hydrogen Sulfide in Ischemia and Reperfusion Injury. *Biomolecules* 2024; 14(7): 740.
22. Wu D, Wang J, Li H, Xue M, Ji A, Li Y. Role of Hydrogen Sulfide in Ischemia-Reperfusion Injury. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 2015.

23. Lysiak JJ, Turner SD, Nguyen QA, Singbartl K, Ley K, Turner TT. Essential role of neutrophils in germ cell-specific apoptosis following ischemia/reperfusion injury of the mouse testis. *Biology of Reproduction* 2001; 65: 718–25.
24. Wang Y, Shou X, Wu Y, Li D. Immuno-inflammatory pathogenesis in ischemic heart disease: perception and knowledge for neutrophil recruitment. *Frontiers in Immunology* 2024; 15: 1411301.
25. Lysiak JJ, Turner SD, Turner TT. Molecular pathway of germ cell apoptosis following ischemia/reperfusion of the rat testis. *Biology of reproduction* 2000; 63: 631465–631472.
26. Chi a, Yang b, Cao x, Wang z, Liu h, Dai h, et al. Ica ii alleviates testicular torsion injury by dampening the oxidative and inflammatory stress. *Frontiers in endocrinology* 2022; 13: 871548.
27. Almarzouq D, Al-Maghrebi M. NADPH oxidase-mediated testicular oxidative imbalance regulates the txnip/nlrp3 inflammasome axis activation after ischemia reperfusion injury. *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 2023; 12(1): 145.
28. Zhong L, Yang M, Zou X, Du T, Xu H, Sun J. Human umbilical cord multipotent mesenchymal stromal cells alleviate acute ischemia-reperfusion injury of spermatogenic cells via reducing inflammatory response and oxidative stress. *Stem Cell Research & Therapy* 2020; 11(1): 294.
29. Li ZM. Role of antioxidants in preventing testicular ischemia-reperfusion injury: a narrative review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2022; 26(24): 9126–43.
30. Turner TT, Bang HJ, Lysiak JJ. Experimental testicular torsion: Reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology* 2005; 65(2): 390–4.
31. Kurt O, Yazici CM, Gevher F, Balci H, Yitik A, Ozkara H. The effect of testicular torsion duration on testicular steroidogenesis in the rat model. *Urologia Internationalis* 2016; 97(3): 358–64.
32. Hsiao CH, Ji AT, Chang CC, Cheng CJ, Lee LM, Ho JH. Local injection of mesenchymal stem cells protects testicular torsion-induced germ cell injury. *Stem Cell Research & Therapy* 2015; 6(1): 113.

Protective Effects of Hydrogen Sulfide on Testicular Injury Induced by Ischemia-Reperfusion in Wistar Rats

Nouri Z¹, Yari S^{1*}, Hasanein P², Hossein pour Malakouti A¹

¹ Department of Biology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, ²Department of Biology, University of Zabol, Zabol, Iran

Received: 08 Apr 2024 Accepted: 04 Jan 2025

Abstract

Background & aim: Testicular torsion is an emergency urological condition characterized by the twisting of the spermatic cord, leading to restricted blood flow to the testes and ultimately resulting in testicular atrophy. Ischemia-reperfusion (I/R) injury caused by testicular torsion induces apoptosis in germ cells and disrupts spermatogenesis, leading to testicular damage. Hydrogen sulfide (H₂S), due to its anti-inflammatory, antioxidant, and anti-apoptotic properties, provides protective effects and may serve as a potential therapeutic option to mitigate infertility disorders associated with testicular ischemia. As a result, the aim of the present study was to determine and investigate the protective effect of hydrogen sulfide on testicular injury induced by ischemia-reperfusion in Wistar rats.

Methods: In the present experimental study conducted in 2021 at Bu Ali Sina University, Hamadan, 32 male Wistar rats were divided into four groups: Group 1 (control), Group 2 (ischemia-reperfusion), Group 3 (ischemia-reperfusion with hydrogen sulfide administration, 100 µg/kg intraperitoneally), and Group 4 (ischemia-reperfusion with hydrogen sulfide administration, 400 µg/kg intraperitoneally). After 72 hours, the animals were euthanized, and their testes and epididymides were removed for histological examination. The number, viability, and morphology of epididymal sperm were analyzed. Data were statistically analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test in Prism software.

Results: The results indicated that testicular I/R injury significantly reduced testicular (0.48) and epididymal indices (0.21)($p < 0.001$), as well as the number (318×10^6) and viability (26%)($p < 0.001$) of epididymal sperm. Additionally, abnormal sperm morphology increased significantly following unilateral testicular I/R (91%)($p < 0.001$). Administration of hydrogen sulfide significantly improved the number (450×10^6)($p < 0.001$), viability (61%)($p < 0.05$), and morphology of epididymal sperm (44%)($p < 0.05$) and reduced tissue damage compared to the I/R group.

Conclusion: The results of this study revealed that treatment with hydrogen sulfide in a dose-dependent manner improves sperm parameters and reduces tissue damage in testis ischemia-reperfusion model. Therefore, treatment with hydrogen sulfide can be considered as a treatment method to reduce complications caused by testicular ischemia-reperfusion.

Keywords: Hydrogen sulfide, Ischemia-reperfusion, Sperm viability, rat.

***Corresponding author:** Siamak Yari, Department of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

Email: s.yari@basu.ac.ir

Please cite this article as follows: Nouri Z, Yari S, Hasanein P, Hossein pour Malakouti A. Protective Effects of Hydrogen Sulfide on Testicular Injury Induced by Ischemia-Reperfusion in Wistar Rats. *Armaghane-danesh* 2025; 29(6): 834-848.

The scientific research journal *Armaghan Danesh*, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal