مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الثالث والعشرون - المجلد الأول - علوم الحياة - آذار 2024 م
doi.org/10.52866/esj.2023.01.23.06

الدور الوقائي لمستخلص Portulaca oleracea المائي تقليل التغيرات النسجية في الخصية الناتجة عن تاثيرعقار الديباكين

وليد خالد محمد ، راشد خميس شعبان
جامعة تكريت / كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة
Email: albilogywww19995@gmail.com1
Email: rashid.khamees@tu.edu.iq 2

مستخلص

الديباكين (depakine) (فالبروات الصوديوم VPA) هو الدواء الأكثر استخداماً في علاج الاكتئاب العاطفي والعصبي، والاختلالات النفسية، والصرع، والاضطراب ثنائي القطب. تعد سمية الخصى أحد الآثار الجانبية المؤكدة لعقار الديباكين . صممت هذه الدراسة للبحث في التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات الرجلة *Portulaca oleracea* ضد الضرر التأكسدي المستحدث باستخدام عقار الديباكين Depakine . تضمنت الدراسة 30 حيواناً من ذكور الجرذان المختبرية قسمت الى ست مجاميع. أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج الخصية عدم حدوث تغيرات مرضية في مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي الوقائي لنبات الرجلة. في حين اظهرت المجموعتين المعاملة بالديباكين تغيرات مرضية تمثلت بحدوث تلف، وارتشاح الخلايا، ونخرها، وتكتل الخلايا النطفية داخل النبيبات المنوية. بينما لوحظ حدوث تحسن واصلاح لانسجة الخصية في المجموعتين المعاملة بلمستخلص المائي الوقائي لنبات الرجلة مع الديباكين وذلك لان الرجلة غنية بمضادات الاكسدة مثل الجالوتانين، وأحماض أوميجا 3 الدهنية والمعادن والفيتامينات. مضادات الأكسدة تحمي الخلايا من أضرار الجذور الحرة والمواد المؤكسدة.

الكلمات المفتاحية : الديباكين ، الرجلة ، الخصية، مضادات الاكسدة .

The preventive role of *Portulaca oleracea* extract in reducing histological changes in testicular tissue in laboratory male rats resulting from the effect of the Depakine drug.

Waleed khaled Mohamed1 ، Rashid Khamees Shaban2
Department of Biology - college of education for pure science - Tikrit University -Iraq
Email: albilogywww19995@gmail.com1

Abstract :

Depakine (sodium valproate (VPA)) is the drug most commonly used in the treatment, psychiatric disorders, epilepsy, and bipolar disorder. Testicular toxicity is a confirmed side effect of Depakine. This study was designed to investigate the protective effect of the aqueous extract *of Portulaca oleracea* against Oxidative damage induced by using Depakine. The study included 30 male rats divided into six groups.

The results of microscopic examination of testicular tissue showed that there were no pathological changes in the control group and the group treated with the preventive aqueous extract of the Portulaca oleracea plant. While the two groups treated with Depakine showed pathological changes represented by damage, cell infiltration, necrosis, and clumping of sperm cells inside the seminiferous tubules. While notice an improvement and repair of testicular tissue in the two groups treated with the protective aqueous extract of the Portulaca oleracea plant with Depakine, this is because Portulaca oleracea is rich in antioxidants such as gallotannin, omega-3 fatty acids, minerals and vitamins. Antioxidants protect cells from damage by free radicals and oxidants.

Keywords: Depakine, Portulaca oleracea, testicle, antioxidants.

المقدمة

يعتبر عقار Depakine من أهم الأدوية المضادة للتشنج والاختلاجات العصبية التي يتم استخدامها على نطاق واسع في العالم لما له من خصائص علاجية للعديد من أنواع الصرع، ويسمى Depakine أيضًا فالبروات الصوديوم (VPA) وهو أحد الأسماء التجارية لحمض الفالبرويك وهو أحد الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة المتفرعة مشتقة من حمض الفاليريك الطبيعي (Tolou-Ghamri and Palizaban, 2015).

يوقف Depakine نوبات الصرع ويساعد في مكافحة و تقليل وتيرة النوبات عن طريق التحكم في الكهرباء المفرطة في الدماغ ، كما يستخدم ف Depakine ي علاج الاكتئاب ثنائي القطب المميز مع نوبات الهوس والاكتئاب بالتناوب ، ويمنع نوبات الصداع النصفي ويمكن استخدامه أيضًا لعلاج الهجمات العدوانية والتوحد عند الأطفال الذين أظهروا اضطرابات متزايدة النشاط (فرط الحركة) وانخفاض الانتباه والتركيز، على الرغم من أن عمل عقار Depakine لم يكن مفهوم بشكل كامل الا أن تأثيره المضاد للتشنج في الصرع قد يكون بسبب انسداد قنوات الصوديوم التي لها جهد كهربائي مما يؤدي إلى انخفاض في تفريغ الشحنات الكهربائية في الدماغ (.,2016 **Ayano**).

أن Depakine يسبب تشوهات في الحيوانات المنوية لدى الرجال المصابين بالصرع. أن فالبروات الصوديوم المكونة Depakine تسبب تغيرًا عكسيًا في حركة الحيوانات المنوية ، وعدد الحيوانات المنوية ، والتشكل والبنية الخلوية وتزيد من الساركوما الليفية تحت الجلد للخصيتين في ذكور الجرذان المعالجين بـ Depakine **(Sakr et al., 2014)**. توصل Bairy et al. (2010) إلى أن VPA يسبب تغيرًا عكسيًا في حركة الحيوانات المنوية sperm motility وعدد الحيوانات المنوية sperms count والتشكل morphology والبنية الخلوية cyto-architecture للاختبارات ووجد أن الانسجة الليفية fibrosarcomas تحت الجلد قد زادت بشكل ملحوظ.

أثناء الإجهاد التأكسدي تكون مضادات الأكسدة للخصية الداخلية غير كافية لحماية الخلايا الجرثومية النامية من مركبات الاوكسجين التفاعلية Reac-tive oxygen species or ROS. تعتبر المستويات الفسيولوجية الطبيعية لأنواع الأكسجين التفاعلية ROS Reactive oxygen species or ضرورية لوظائف الإنجاب لدى الذكور وتكوين الحيوانات المنوية. ومع ذلك فإن التركيز فوق الفيزيولوجي لأنواع الأكسجين التفاعلية يمكن أن يكون مسؤولا عن الضرر التأكسدي للمكونات داخل الخلايا، والبروتينات، والدهون، والأحماض النووية RNA)،(DNA ، مما يؤدي إلى إصابة الخصية، وضعف الحيوانات المنوية، وفي النهاية، العقم عند الذكور (Mannucci et al.,2022).

الرجلة Portulaca *oleracea* هو نبات في عائلة Portulacaceae (Okafor et al .,2014) قد تكون الخصائص المضادة للاكسدة والمضادة للالتهابات في هذا المستخلص النباتي نتيجة للكميات الكبيرة من المركبات المضادة للأكسدة بما في ذلك الجالوتانين، وأحماض أوميجا 3 الدهنية، وحمض الأسكوربيك (Zhu et al .,2010). أن الرجلة لها تأثيرات تعزز الصحة وتوفرالحماية ضد الجذور الحرة (Mohamed et al.,2011).

طرق العمل

تصميم التجربة

اجريت التجربة على ذكور الجرذان البيض المختبرية وذلك باختيار 30 حيوان سليمة تراوحت أوزانها ما بين 190–210 جرام وأعمارها ما بين 10–12 أسبوع. تم وضع الحيوانات في أقفاص بلاستيكية في بيت الحيوانات

في كلية الطب البيطري / جامعة تكريت واستمرت التجربة لمدة 30 يوماً في ظروف مختبرية قياسية.حيث قسمت إلى ست مجموعات عولجت كالآتي:المجموعة الأولى مجموعة سيطرة تم تجريعها بالماء المقطر فقط المجموعة الثانية تم تجريعها بعقار depakine بجرعة علاجية (22.5 mg/kg)، المجموعة الثالثة تم تجريعها بعقار ابجرعة depakine مضاعفة (45 mg/kg)، المجموعة الرابعة تم تجريعها بالمستخلص المائي الوقائي لنبات الرجلة فقط (200 mg/kg) ، المجموعة الخامسة تم تجريعها بمستخلص الرجلة (200 mg/kg) مع عقار بجرعة depakine علاجية (22.5 mg/kg) ، المجموعة السادسة تم تجريعها بمستخلص الرجلة (200 mg/kg) مع عقار بجرعة depakine مضاعفة (45 mg/kg).

تهيئة نبات الرجلة Portulaca oleracea

تم جمع العينات بتاريخ 5/ 8/ 2022 والتي كانت في المرحلة الثمرية (وجود بذور)، بعد عملية الجمع تم غسل النبات بالماء للتخلص من الغبار وعوالق التراب ثم قطعت الى أجزاء صغيرة ووضع النبات على قطعة قماش في مكان جاف وبارد بعيدا عن أشعة الشمس لمدة أسبوعين على الأكثر. بعدها تم طحن المادة النباتية بعد التأكد من جفافها كليا، بآلة كهربائية ثم حفظت المادة المطحونة في قارورة زجاجية محكمة الغلق ،بعيدا عن الضوء والحرارة والرطوبة إلى حين إستعمالها في ثلاجة.

تحضير المستخلص المائي لنبات الرجله

portulaca oleracea

تم وزن 50 غم من مسحوق النبات الجاف المطحون ووضعه في دورق زجاجي. ثم تم إضافة 500 مل من الماء المقطر، وتم خلط المحتوى باستخدام جهاز ومحرك المغناطيسي لتسهيل عملية الخلط، واستمرت العملية لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة 40 درجة مئوية. تم ترك المزيج على جهاز الهزاز (Shaker) لمدة 24 ساعة، وبعد ذلك تم رشح الخليط باستخدام عدة طبقات من شاش معقم وفصل المواد غير الذائبة باستخدام جهاز الطرد المركزي. وضع المستخلص الناتج في أطباق زجاجية سعتها 250 مل، وأضيف إليها 100 مل من المستخلص ثم وضعت في الفرن الكهربائي عند درجة حرارة 40 درجة مئوية للحصول على المستخلص المائي الخام. تم تكرار العملية عدة مرات للحصول على كمية كافية من المستخلص (El-Demerdash et al., 2005).

الدراسة النسجية

تم الحصول على انسجة الخصية لتقييم ما إذا كان الديباكين ومستخلص الرجلة يسببان تغيرات في انسجة الخصية. يتم تثبيت الانسجة على الفور في 10٪ من الفورمالين لمدة 24 ساعة ثم يتم غسلها عن طريق الماء وتجفيفها بواسطة سلسلة متدرجة من تركيز الكحول، مدمجة في البارافين وشرائح بسماكة 5 ميكرون بواسطة مشراح، وأجزاء مصبغة بالهيماتوكسيلين والأيوسين (HE) تمت ملاحظة الشرائح باستخدام المجهر الضوئي (Bancroft and Cook.,1998).

النتائج و المناقشة

اظهرت نتائج الفحص المجهري لمجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي الوقائي لنبات الرجلة عدم وجود اي تغيرات مرضية حيث نلاحظ الشكل الطبيعي للنبيبات المنوية وانتظام اشكالها وتمايز المراحل الاساسية لتوليد النطف Spermatogenesis مع وجود النسيج الرابط بين النبيبات وخلايا لايدك وخلايا سيرتولي المسؤولة عن تكوين النطف كما لوحظ وجود خلايا النطف التي تمر بمراحل النضج الأولية والثانوية فضلاً عن وجود النطف الناضجة في تجويف النبيبات وكما موضح في الشكل(2-1) . بينما المجموعتين المعاملة بعقار ح depakine صل فيها تغيرات مرضية تمثلت بفقدان الشكل الطبيعي للنبيبات المنوية حيث كانت متفجية وممتلئة بخلايا

النطف الأولية والثانوية المتضررة وحصول تنخر في خلايا لايدك فضلاً عن تكتل النطف داخل النبيبات المنوية وعدم اكمال النطف لمراحل النضج وكما موضح في الشكل (4-3). في المقابل نلاحظ حدوث تحسن واصلاح لانسجة الخصية في المجموعتين المعام depa-kine لة مع مستخلص الرجلة الشكل (6-5).

وتتفق درستنا مع الدراسة التي اجراها (Isojärvi et al., 2004; Hamed et al., 2015) أن الاستعمال المزمن لعقار depakine يؤدي إلى اضطراب في الغدد الصماء، اذ يسبب تشوة في شكل الحيوانات المنويه وكذلك ويسبب انخفاض في حجم الخصية وحركة الحيوانات المنوية وأنخفاض الخصوبة. هناك آلية أخرى يؤثر من خلالها الإجهاد التأكسدي على الوظيفة الإنجابية للذكور وهي من خلال أكسدة البروتين و يمكن لل ROS تعديل البروتينات في الحيوانات المنوية بشكل مؤكسد، مما يؤدي إلى تغييرات هيكلية وإعاقات وظيفية. يمكن أن يؤثر هذا الضرر التأكسدي للبروتينات على جوانب مختلفة من فسيولوجيا الحيوانات المنوية، بما في ذلك الحركة وتعبئة الحمض النووي والقدرة على الإخصاب (*Nowicka-Bauer and* Nixon ,. 2020).

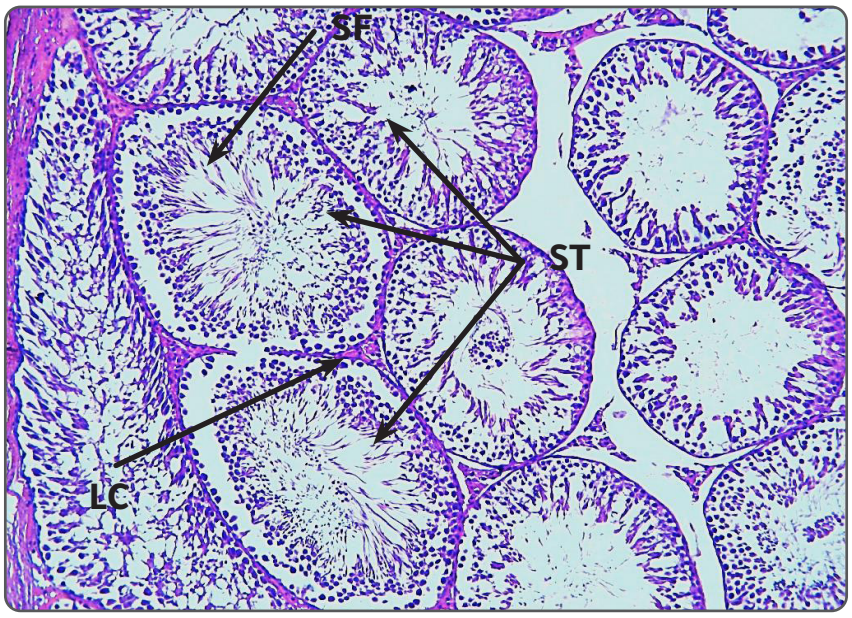
ان الاستهلاك المزمن depakine VPA يؤدي الى انخفاض حجم الخصية وانخفاض الخصوبة ويعطي كمية اكبر من الحيوانات المنوية غير الطبيعية (Hamed et al .,2015). كما ثبت أيضاً أن VPA له تأثيرات مؤيدة للاستماتة في خلايا الخصية (Cansu et al., 2011). قد يكون موت الخلايا هذا بسبب اختلال التوازن بين مضادات الأكسدة الداخلية على مستوى الخصية مثل الجلوتاثيون بيروكسيداز والجلوتاثيون المختزل وتوليد الجذور الحرة، مما يفسر بدوره عدم التوازن الهرموني الذي يؤثر في النهاية على تطور الغدد التناسلية وتكوين الحيوانات المنوية (et al.,2009 Aitken).

يرجع التفسير المحتمل للتغيرات الناجمة عن استخدام VPA إلى تأثير موت الخلايا المبرمج على أنسجة الخصية (Ohta et al .,2004). بينت الدراسة التي اجراها Roste et al (2001) حيث قاموا بتقييم التغيرات المورفولوجية التي يمكن أن يحدثها VPA على مستوى الخصية في فئران ويستار، وحددوا انخفاضاً في وزن الخصية وضمور الخصية المعمم في الحيوانات المعالجة، وكان لها تأثيرات أكبر متناسبة مع الزيادة في جرعة .VPA علاوة على ذلك، يلعب الإجهاد التأكسدي أدواراً مهمة في الفيزيولوجيا المرضية للعقم عند الذكور عن طريق تحفيز الالتهام الذاتي في الخصيتين، مما يسبب تنكس الخصية واختلال وظائفها (Tian et al.,2020). ومع ذلك، تكشف الدراسات التراكمية أن الالتهام الذاتي هو سيف ذو حدين (Yin et al .,2017). قد يؤدي اضطراب الالتهام الذاتي إلى تعزيز الاعتلال الخلوي، وانخفاض هرمون التستوستيرون في الدم، والتسبب في عيوب تمايز الحيوانات المنوية (Li et al ., 2021). وبالتالي يعتبر الالتهام الذاتي الناجم عن الإجهاد التأكسدي إحدى الآليات المقترحة لعقم الذكور (Ayad et al.,2022).

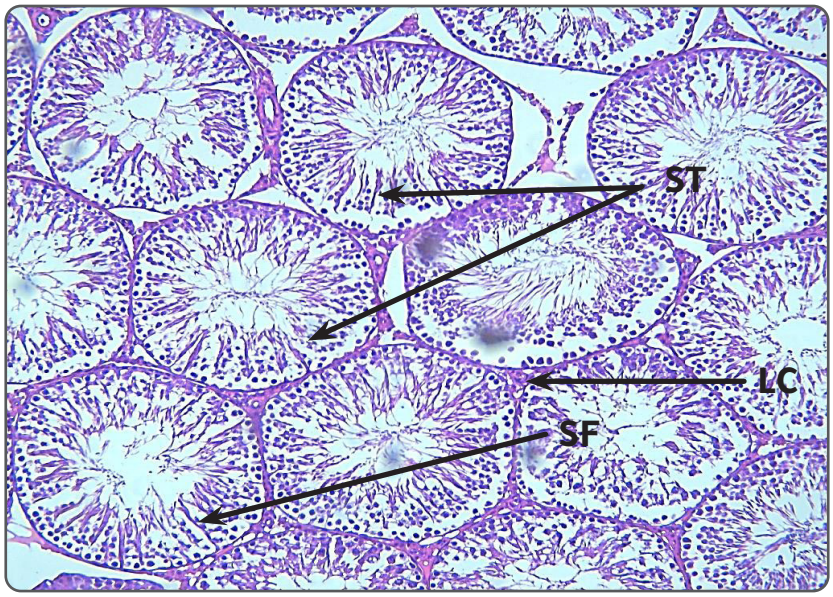
في حين اظهرت نتائج الفحص المجهري ان المعاملة بلمستخلص المائي الوقائي لنبات الرجلة أدت الى حدوث تحسن واصلاح كبير في انسجة الخصية المعاملة بالديباكين اذ لوحظ زيادة في أعداد النطف والخلايا البينية داخل الخصية، كما قلل من حالات التدهور وتحطم النبيبات المنوية ولكن هذا التحسن لم يرقى الى مستوى النسيج الطبيعي الملاحظ في مجموعة السيطرة. ان المعالجة المسبقة باستخدام المستخلص لمائي للرجلة لها دور مهم في قمع الإنتاج الزائد لأنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) داخل الخلايا الناجم عن TNFα (Swamy et al.,2010). يعمل مستخلص الرجلة على تحييد تأثير الجذور الحرة حيث تمنع التأثير الضار لانواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) على تكوين الحيوانات

المنوية، وحماية الحيوانات المنوية وتحسين الوظيفة الانجابية للذكور(*Ahmadi et al* 2021.,)

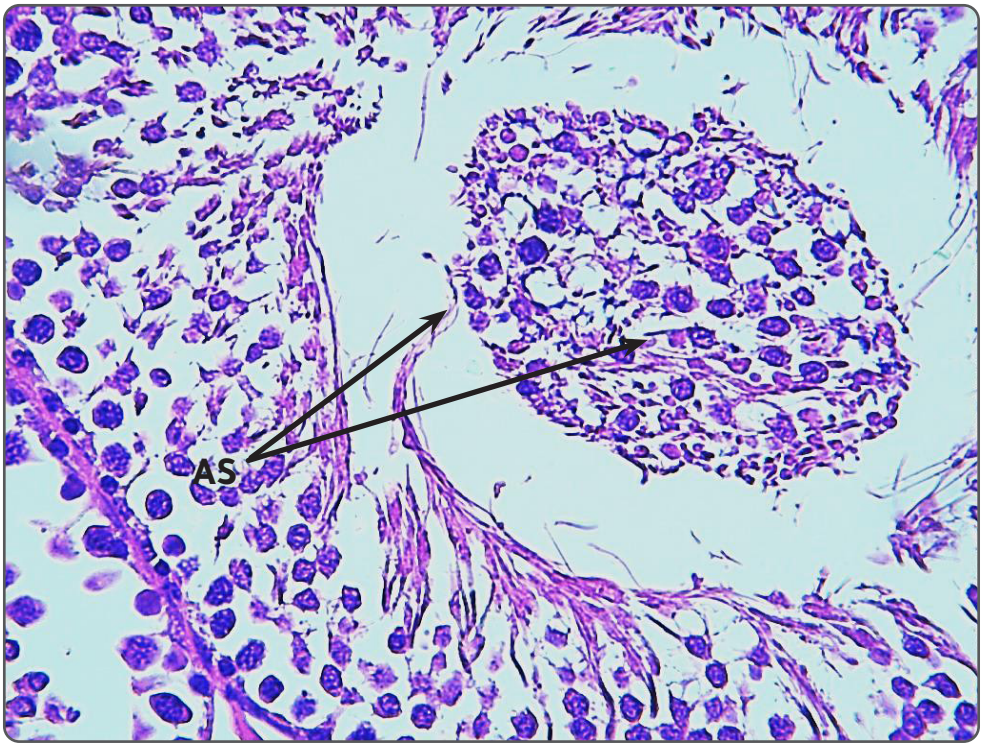
مستخلص نبات الرجلة له دور في تحفيز ونمو الحيوانات المنوية قد تكون بسبب المركبات الكيميائية المضادة للأكسدة التي يتكون منها الرجلة مثل الفلافونويد، والقلويدات، والسكريات و ومركبات أخرى مثل الفيتامينات والمعادن التي تكون ذات قدرة عالية على كسح مركبات الاوكسجين الفعالة ROS المسببة للاجهاد التأكسدي (*Dorostghoal* ,.2019).



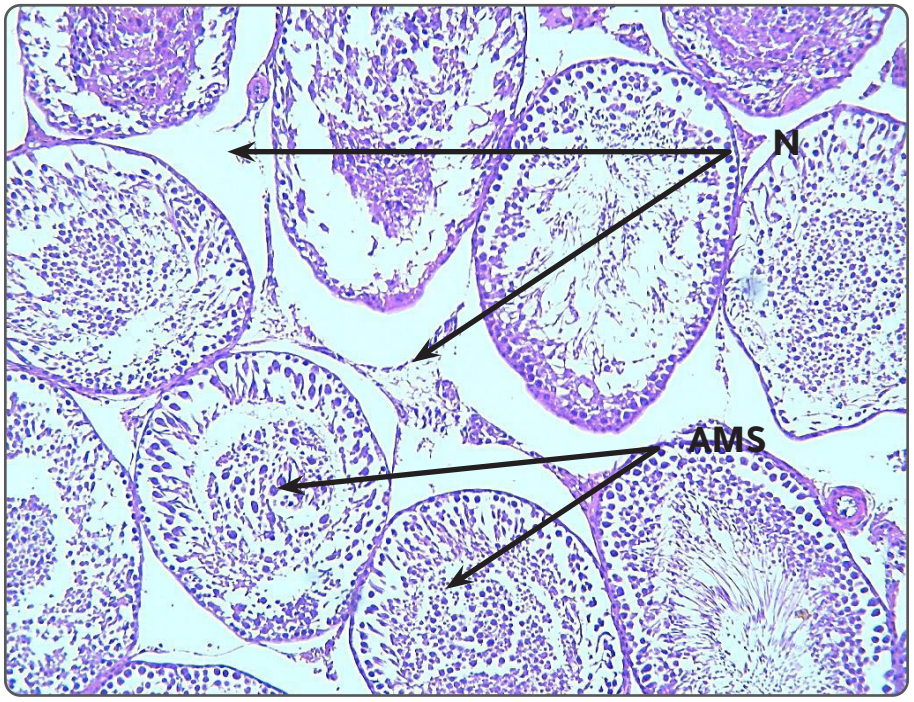
الشكل:1 مقطع خصى مجموعة السيطرة يبين النبيبات المنوية (ST) Semniferous tubules
مراحل تكوين النطف (SF) Sperm formation بشكلها الطبيعي كما يمكن ملاحظة خلايا لايدك (LC).100X H & E ,



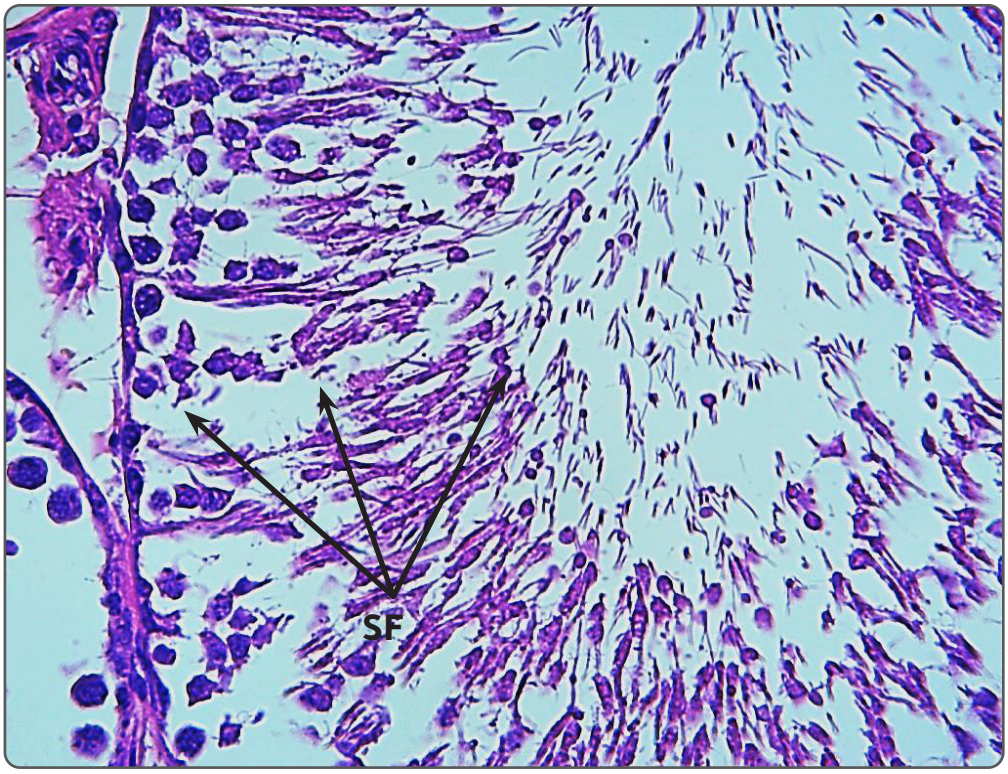
الشكل2 :مقطع خصى المجموعة المعاملة بمستخلص نبات الرجلة يبين النبيبات المنوية (ST)
مراحل تكوين النطف (SF) بشكلها الطبيعي كما يمكن ملاحظة خلايا لايدك (LC).100X H & E ,



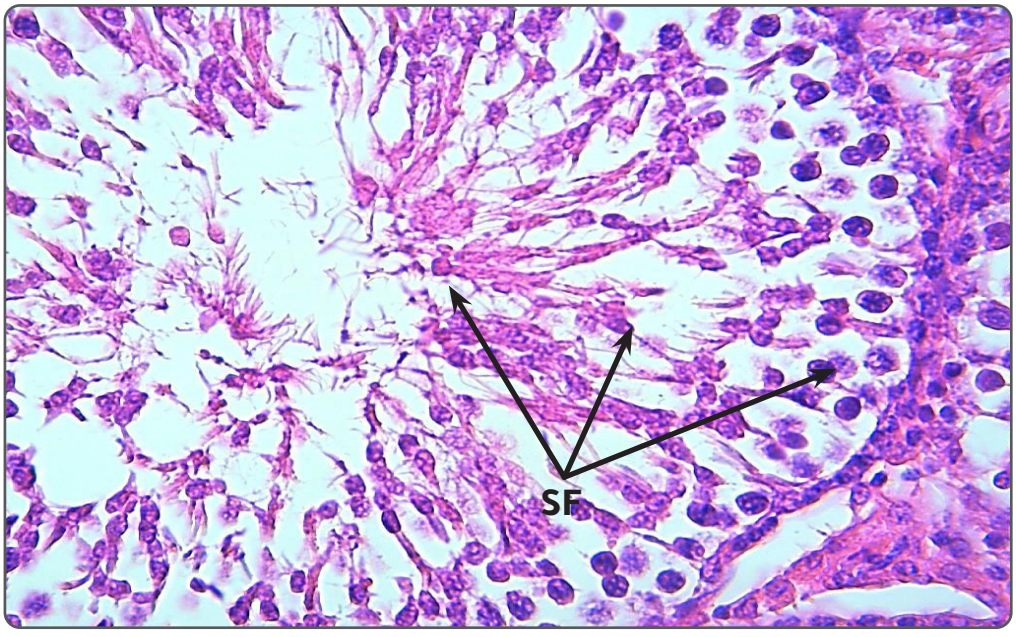
الشكل:3 مقطع خصى المجموعة المعاملة بعقار الديباكين جرعة علاجية يوضح تكتل الخلايا النطفية غير الناضجة داخل النبيب (AS).400X H & E ,



الشكل:4 مقطع خصى المجموعة المعاملة بعقار الديباكين جرعة مضاعفة يبين عدم نضج الخلايا النطفية داخل النبيب (AMS) كما يلاحظ تنخر في خلايا لايدك (N).400X H &E



الشكل: 5 مقطع خصى المجموعة المعاملة بعقار الديباكين جرعة علاجية مع مستخلص نبات الرجلة يبين مراحل تكوين النطف (SF) بشكلها شبه الطبيعي. H & E 400X ,



الشكل: 6 مقطع خصى المجموعة المعاملة بعقار الديباكين جرعة مضاعفة مع مستخلص نبات الرجلة يبين مراحل تكوين النطف (SF) بشكلها شبه الطبيعي. H & E 400X ,

الاستنتاجات

ان عقار الديباكين يسبب تغييرات سلبية واضحة لأنسجة الخصى، مثل تلف، وارتشاح الخلايا، ونخرها، وتكتل الخلايا النطفية داخل النبيبات المنوية، والتاثير السلبي على الحيوانات المنوية . عمل المستخلص المائي لنبات الرجله دوراً إيجابياً في الوقاية من سمية عقار الديباكين .

المصادر

1. Ahmadi, M., Dastyar, N., & Eftekhar Vaghefi, S. H. (2021). Effect of aqueous extract of chicory (Cichorium intybus L.) root on sperm parameters, testicular tissue and testosterone in adult mice exposed to Diazinon. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 52(3), 267-274.
2. Aitken, R. J., & De Iuliis, G. N. (2009). On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. *MHR: Basic science of reproductive medicine, 16*(1), 3-13.
3. Ayad, B., Omolaoye, T. S., Louw, N., Ramsunder, Y., Skosana, B. T., Oyeipo, P. I., & Du Plessis, S. S. (2022). Oxidative stress and male infertility: evidence from a research perspective. *Frontiers in Reproductive Health*, 4, 822257.
4. Ayano,G.(2016). Bipolar Disorders and Valproate Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, Therapeutic Effects and Indications of Valproate. Bipolar. Disord.,2(2):109.
5. Bairy, L., Paul, V., & Rao, Y. (2010). Reproductive toxicity of sodium valproate in male rats. *Indian journal of pharmacology*, 42(2), 90.
6. Bancroft J, Cook H. Manual of histological techniques. London: Churchill Livingstone; 1998
7. Cansu, A., Ekinci, Ö., Serdaroglu, A., Gürgen, S. G., Ekinci, Ö., Erdogan, D., ... & Tunc, L. (2011). Effects of chronic treatment with valproate and oxcarbazepine on testicular development in rats. Seizure, 20(3), 203-207.
8. Dorostghoal, M., Seyyednejad, S. M., & Nejad, M. N. T. (2019). Beneficial effects of Cichorium intybus L. extract on oxidative status and reproductive parameters in male Wistar rats: An experimental study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 17(6), 425.
9. El-demerdash, F. M., Yousef,M.I., and El-naga,N.I.A. (2005). Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. Food and Chemical Toxicology, 43(1), 57- 63.
10. Hamed, S. A., Moussa, E. M., Tohamy, A. M., Mohamed, K. O., Mohamad, M. E., Sherif, T. M., & Abdellah, M. M. (2015). Seminal fluid analysis and testicular volume in adults with epilepsy receiving valproate. *Journal of Clinical Neuroscience*, 22(3), 508-512.
11. Isojärvi, J. I. T., Löfgren, E., Juntunen, K. S. T., Pakarinen, A. J., Päivänsalo, M., Rautakorpi, I., & Tuomivaara, L. (2004). Effect of epilepsy and antiepileptic drugs on male reproductive health. *Neurology*, 62(2), 247-253.
12. Li, Y., Chen, H., Liao, J., Chen, K., Ja-

sativus L.) on sodium valporate induced cytogenetic and testicular alterations in albino rats. Anatomy & cell biology, 47(3), 171-179.

20. Swamy, M., Salleh, M. J. M., Sirajudeen, K. N. S., Yusof, W. R. W., & Chandran, G. (2010). Nitric oxide (no), citrulline-no cycle enzymes, glutamine synthetase and oxidative stress in anoxia (hypobaric hypoxia) and reperfusion in rat brain. *International Journal of Medical Sciences*, 7(3), 147.
21. Tian, Y., Song, W., Xu, D., Chen, X., Li, X., & Zhao, Y. (2020). Autophagy induced by ROS aggravates testis oxidative damage in diabetes via breaking the feedforward loop linking p62 and Nrf2. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020.
22. Tolou-Ghamari, Z. and Palizban,A.A.(2015). Review of Sodium Valproate Clinical and Biochemical Properties. Zahedan. J. Res. Med Sci. ,2015.,17(8):2207.
23. Yin, J., Ni, B., Tian, Z. Q., Yang, F., Liao, W. G., & Gao, Y. Q. (2017). Regulatory effects of autophagy on spermatogenesis. *Biology of reproduction*, 96(3), 525-530.
24. Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y., Xia, Y., & Tang, T. (2010). Analysis of flavonoids in Portulaca oleracea L. by UV–vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. *Food Analytical Methods*, 3, 90-97.

ved, M. T., Qiao, N., ... & Li, Y. (2021). Long-term copper exposure promotes apoptosis and autophagy by

13. Mannucci, A., Argento, F. R., Fini, E., Coccia, M. E., Taddei, N., Becatti, M., & Fiorillo, C. (2022). The impact of oxidative stress in male infertility. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 799294.
14. Mohamed, A. D., Ahmed, E. A. M., Saleh, A. Q., & Reda, A. S. (2011). Antioxidant effect of purslane (Portulaca oleracea) and its mechanism of action. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(9), 1589-1593.
15. Nowicka-Bauer, K., & Nixon, B. (2020). Molecular changes induced by oxidative stress that impair human sperm motility. *Antioxidants*, 9(2), 134.
16. Ohta, H., Wakayama, T., & Nishimune, Y. (2004). Commitment of fetal male germ cells to spermatogonial stem cells during mouse embryonic development. *Biology of reproduction*, 70(5), 1286-1291.
17. Okafor, I. A., Ayalokunrin, M. B., & Orachu, L. A. (2014). A review on Portulaca oleracea (Purslane) plant its nature and biomedical benefits. *International journal of Biomedical research*, 5(2), 75-80.
18. RØste, L. S., TaubØll, E., Berner, A., Berg, K. A., Aleksandersen, M., & Gjerstad, L. (2001). Morphological changes in the testis after long-term valproate treatment in male Wistar rats. *Seizure*, 10(8), 559-565.
19. Sakr, S. A., Zowail, M. E., & Marzouk, A. M. (2014). Effect of saffron (Crocus