DOI: 10.22122/jims.v38i602.13052 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هشتم/شماره‌ی ۶۰۲/هفته‌ی دوم بهمن ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۱۹ تاریخ چاپ: ۱۳۹۹/۱۱/۱۴

اثرات حفاظتی نانواکسید روی بر اسپرماتوژنز Ratهای نر بالغ تیمار شده با پاکلی تاکسل

مژگان باقریان[۱]، اکبر کریمی[۲]، حسین صلواتی[۳]، علی اصغر پیله‌وریان[۴]، مریم عزیزی[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: داروی پاکلی تاکسل در شیمی درمانی جهت درمان سرطان‌های سینه، تخمدان، ریه، مثانه، پروستات و بیضه استفاده می‌شود. به منظور کاهش اثرات سوء این دارو و با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی نانواکسید روی، اثرات حفاظتی آن بر اسپرماتوژنز Ratهای نر بالغ تیمار شده با پاکلی تاکسل مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: تعداد ۱۸ سر Rat نر بالغ نژاد Wistar با میانگین وزن ۲۵۰ گرم تحت رژیم غذایی استاندارد (پلت) به طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند. به ترتیب گروه شاهد با نرمال‌سالین، گروه مورد ۱ با پاکلی تاکسل با دز ۳ میلی‌گرم/کیلوگرم و گروه مورد ۲ با پاکلی تاکسل به اضافه‌ی نانو اکسید روی با دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم تیمار شدند. ۴۸ روز پس از تیمار، پس از مرگ بدون درد با CO_2 و تشریح، نمونه‌ی خون و بافت بیضه‌ی Ratها استخراج شد. اندازه‌گیری مقدار تستوسترون، Luteinizing hormone (LH) و Follicle-stimulating hormone (FSH) انجام شد. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین لام‌ها و شمارش سلول‌های زایای جنسی با انتخاب تصادفی نمونه‌ها در چند میدان دید صورت گرفت. سپس، داده‌ها با استفاده از آزمون One-way ANOVA و آزمون Duncan بررسی و $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تغییرات میانگین سطح سرمی تستوسترون، FSH، LH، سلول‌های اسپرماتوگونی A و B، اسپرماتوسیت و اسپرماتید، ضخامت لایه‌ی ژرمینال و قطر لوله‌ی سمینی‌فروس در گروه تیمار شده با پاکلی تاکسل کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد. این شاخص‌ها در گروه تیمار شده با پاکلی تاکسل به اضافه‌ی نانواکسید روی نسبت به گروه پاکلی تاکسل افزایش معنی‌داری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: مصرف پاکلی تاکسل با کاهش تعداد سلول‌های جنسی، سبب کاهش یا توقف اسپرماتوژنز می‌گردد. استفاده از نانواکسید روی به عنوان عامل حفاظتی و آنتی‌اکسیدان قوی، می‌تواند اثر منفی پاکلی تاکسل بر فرایند اسپرماتوژنز را مهار کند یا بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: پاکلی تاکسل؛ اکسید روی؛ بیضه؛ اسپرماتوژنز

ارجاع: باقریان مژگان، کریمی اکبر، صلواتی حسین، پیله‌وریان علی اصغر، عزیزی مریم. **اثرات حفاظتی نانواکسید روی بر اسپرماتوژنز Ratهای نر بالغ تیمار شده با پاکلی تاکسل.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۶۰۲): ۸۹۲-۸۸۶.

مقدمه

تاکسل از دسته داروهای موسوم به تاکسان به دلیل ساختار شیمیایی منحصر به فرد و فعالیت ضد توموری گسترده، از داروهای ضد سرطان می‌باشد. موارد استفاده‌ی آن در سرطان‌های غدد لنفاوی، سرطان متاستاتیک پستان، تخمدان، سرویکس، مثانه، مری، معده، سر و گردن، سارکوم کاپوزی وابسته به ایدز و سرطان‌هایی با منشأ ناشناخته است (۱). پاکلی تاکسل، به عنوان یک داروی ضد میکروتوبول، با اتصال به سطح داخلی لومن آن و جلوگیری از دپلیمریزاسیون آن‌ها، باعث تثبیت میکروتوبول‌ها می‌شود. این ثبات، مانع از سازمان یافتن فعال و طبیعی آن‌ها طی میتوز می‌شود (۲). تجمع میکروتوبول‌ها در داخل سلول‌ها و پیش‌گیری از شکسته شدن این ساختارها طی تقسیم، سبب کاهش تقسیمات میتوز می‌شود. در پی کاهش تقسیم سلول‌های اجدادی اسپرم‌ساز در اپی‌تلیوم زاینده‌ی غدد جنسی مردان، ناباروری نسبی یا کامل رخ می‌دهد. این مسأله، از عوارض جانبی درمان سرطان با داروهای رایج است (۳).

عنصر روی، نقش مهمی در فیزیولوژی سلول‌ها و مقدار آن با فعالیت اندوکرینی ارتباط نزدیکی دارد. مطالعات نشان می‌دهد همبستگی مثبت بین روی و تستوسترون وجود دارد و این عنصر در تنظیم میزان تستوسترون مؤثر است (۵-۴). کمبود روی، می‌تواند باعث تأخیر در رشد و بلوغ

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۴- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: مژگان باقریان؛ گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

Email: mozhganbagherian96@gmail.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

جنسی و کاهش عملکرد گنادها شود (۶). کمبود روی، سبب آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود. تجویز روی از آسیب بیضه و توکسیسیتی ناشی از کرومیوم جلوگیری می‌کند (۷). همچنین، آثارتخریبی کادمیوم (۸) و فلوراید (۹) بر بافت بیضه را کاهش می‌دهد. روی قادر است رادیکال های آزاد القا شده با عوامل مختلف مانند اشعه‌ی یونیزاسیون را پاک سازی نماید. بنابراین، به عنوان آنتی‌اکسیدان با توان بالا شناخته شده است (۱۰). رایج ترین شکل روی به شکل اکسید آن است. تحقیقات نشان می‌دهد که فعالیت بیولوژیکی نانو مواد با کاهش اندازه‌ی ذرات، افزایش می‌یابد. نانو اکسید روی، از مهم‌ترین نانو اکسیدهای فلزی می‌باشد که می‌تواند جایگزین اکسید روی ماکرومولکول شود. این شکل از مواد، باخواص بیولوژیکی برجسته و سمیت کم، پتانسیل بالایی در عبور از سدهای فیزیولوژیک بدن و دسترسی به بافت‌های هدف خاص دارد (۱۱).

نانو اکسید روی، به عنوان ماده ای با سمیت پایین، در اندازه و شکل‌های متنوع، طیف گسترده‌ای از خواص را فراهم می‌کند. برخی مطالعات نشان می‌دهد نانو اکسید روی در مقابل سلول‌های سرطانی با القای اثر کشندگی و اثر ضد رگ‌زایی، می‌تواند در مهار سرطان مؤثر باشد (۱۳-۱۲). نانو اکسید روی، قادراست تمامیت غشای سلولی را علیه آسیب استرس اکسیداتیو از طریق آنزیم اکسیدان و کاهش سطح مالون دی‌آلدئید حمایت کند (۱۴). اثر حفاظتی نانو اکسید روی در کاهش عوارض داروی شیمی درمانی دوکسوروبیسن بررسی و تأیید شده است (۱۵). با توجه به نتایج پژوهش های انجام شده که حاکی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال های آزاد توسط نانو اکسید روی است، به نظر می‌رسد انجام مطالعه‌ای با هدف تعیین اثرات حفاظتی نانو اکسید روی بر فرایند اسپرماتوژنزدر Ratهای تیمار شده با پاکلی تاکسل ضروری است تا به امتحان این فرضیه پرداخته شود که «آیا نانو اکسید روی می‌تواند اثر منفی پاکلی تاکسل بر میزان هورمون‌های جنسی و تعداد سلول‌های زایا را بهبود بخشد؟».

روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه، تعداد ۱۸ سر Rat نر بالغ نژاد Wistar با میانگین وزن ۲۵۰ گرم از دانشگاه علوم پزشکی اصفهان خریداری و به لانه‌ی حیوانات مرکز تحصیلات تکمیلی پیام نور انتقال داده شد. Ratها در شرایط استاندارد در دمای ۲۵-۱۸ درجه‌ی سانتی‌گراد، دوره‌ی نوری طبیعی و با دسترسی آزاد به آب و غذا (غذای استاندارد پلت) نگهداری شدند. سپس، به طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم‌بندی شدند و مدت ۱۵ روز سازگاری با محیط را طی کردند.

دوره‌ی تیمار: Ratها در گروه شاهد با تزریق نرمال سالین به صورت درون صفاقی، گروه مورد ۱ با داروی پاکلی تاکسل شرکت Sigma با دز ۳ میلی‌گرم/کیلوگرم و گروه مورد ۲ ابتدا با پاکلی تاکسل و سپس، با فاصله‌ی ۲ ساعت با نانواکسید روی ساخت شرکت Tecnan با دز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم تیمار شدند. این دوره به مدت ۱۰ روز به طول انجامید.

تشریح Ratها و آماده‌سازی بافت: ۴۸ روز پس از تیمار Ratها با استفاده از روش مرگ بدون درد با گاز CO2 قربانی و سپس تشریح شدند. نمونه‌ی بافت بیضه و خون از آن‌ها تهیه شد. جهت جداسازی سرم از نمونه‌های خون از سانتریفیوژ ساخت ایران Tl6 استفاده شد. با کیت‌های Monobind و روش کمی لومینسانس توسط دستگاه Humax مدل CLIA Strip Reader امریکا، عوامل Luteinizing hormone (LH) و Follicle-stimulating hormone (FSH) و تستوسترون اندازه‌گیری شد. در آماده‌سازی بافت از Tissue processor ZTT87 و در تهیه‌ی برش‌های بافتی با ضخامت ۶-۴ میکرون، از میکروتوم دیجیتال استفاده شد. رنگ‌آمیزی لام‌ها با استفاده از هماتوکسیلین- ائوزین انجام شد.

بررسی: با استفاده از میکروسکوپ نوری ساخت فیلیپین مدل CX41RF، شمارش سلول های اسپرماتوگونی A و B، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید صورت گرفت. شمارش با انتخاب سه میدان دید و از هر میدان دید ۱۰ نمونه به طور تصادفی انجام شد. مقایسه‌ی میانگین میزان هورمون ها و میانگین تعداد سلول های زایای جنسی در بافت بیضه به روش One-way ANOVA و آزمون Duncan با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری تفاوت ها در نظر گرفت شد. در بررسی تصاویر تهیه شده، ضخامت لایه‌ی ژرمینال و قطر لوله‌ی سمینی‌فروس با استفاده از نرم‌افزار J Image اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها

تغییرات حاصل از اثر پاکلی تاکسل و پاکلی تاکسل به اضافه‌ی نانو اکسید روی بر سطح سرمی هورمون های تستوسترون، LH و FSH در جدول ۱ آمده است. داده ها نشان می‌دهد در گروه تیمار شده با

جدول ۱. مقایسه‌ی میزان تغییرات هورمون‌ها بین گروه شاهد و گروه‌های مورد

متغیر	گروه شاهد	گروه پاکلی تاکسل	پاکلی تاکسل + نانو اکسید روی	مقدار P
تستوسترون	۹/۳۶۵ ± ۰/۶۷۴	۵/۵۸ ± ۱/۱۵	۸/۱۷۱ ± ۰/۸۱۰	< ۰/۰۵
LH	۰/۳۰۱ ± ۰/۰۶۲	۰/۲۱۵ ± ۰/۰۱۸	۰/۲۴۰ ± ۰/۰۳۷	< ۰/۰۵
FSH	۰/۳۸۱ ± ۰/۰۹۲	۰/۲۹۰ ± ۰/۰۳۴	۰/۳۲۵ ± ۰/۰۵۳	< ۰/۰۵

$P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

FSH: Follicle-stimulating hormone
LH: Luteinizing hormone

جدول ۲. مقایسه‌ی میزان تغییرات بافت بین گروه‌ها و تغییر میانگین تعداد سلول‌های زایای جنسی

متغیر	گروه شاهد	گروه پاکلی تاکسل	پاکلی تاکسل + نانواکسیدروی	مقدار P
اسپرماتوگونی A	۵۵/۸۳ ± ۴/۵۰	۳۸/۱۶ ± ۶/۷۳	۴۴/۶۶ ± ۳/۶۱	< ۰/۰۵
اسپرماتوگونی B	۶۲/۱۶ ± ۳/۱۹	۴۷/۳۳ ± ۷/۴۵۶	۴۸/۱۶ ± ۵/۷۹	< ۰/۰۵
اسپرماتوسیت	۸۶/۱۶ ± ۶/۸۵	۶۴/۵۰ ± ۷/۱۲	۷۲/۵۰ ± ۶/۲۸	< ۰/۰۵
اسپرماتید	۱۳۳/۶۶ ± ۲۶/۶۱	۶۵/۰۰ ± ۷/۸۷	۸۲/۱۶ ± ۹/۵۸	< ۰/۰۵
ضخامت لایه‌ی ژرمینال	۵۰۵/۸۳ ± ۷۳/۲۹	۲۷۶/۵۰ ± ۷۰/۰۳	۳۹۸/۶۶ ± ۸۸/۷۰	< ۰/۰۵
قطر لوله‌ی سمینیفر	۱۲۲۴/۸۳ ± ۱۱۰/۵۶	۹۲۹/۶۶ ± ۱۱۱/۸۳	۱۰۷۳/۰۰ ± ۱۵۶/۹۶	< ۰/۰۵

پاکلی تاکسل میزان تستوسترون از ۹/۳۶۵ در گروه شاهد به ۵/۵۸ کاهش یافته است و در گروه دریافت کننده‌ی پاکلی تاکسل به همراه نانو اکسید روی، این میزان به ۸/۱۷۱ افزایش یافته است. این نتایج در مورد هورمون‌های LH و FSH نیز با افزایش معنی‌داری در گروه نانو اکسید روی نسبت به گروه دریافت کننده‌ی پاکلی تاکسل، به چشم می‌خورد ($P < ۰/۰۵$).

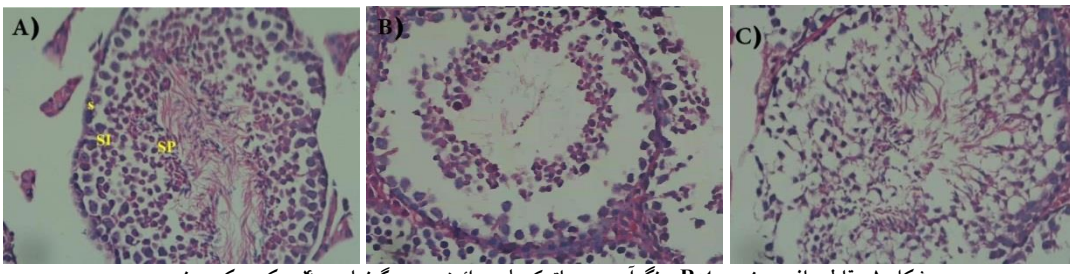
نتایج حاصل از تغییرات انواع سلول‌های جنسی، ضخامت لایه‌ی ژرمینال و قطر لوله‌ی سمینی‌فروس در سه گروه شاهد، پاکلی تاکسل و گروه پاکلی تاکسل به اضافه‌ی نانو اکسید روی در جدول ۲ آمده است. بر اساس این داده‌ها، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی A و B، اسپرماتوسیت و اسپرماتید در گروه تیمار شده با پاکلی تاکسل نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($P < ۰/۰۵$). بر اساس این جدول، استفاده از نانو اکسید روی توانسته است میانگین تعداد این سلول‌ها را در گروه پاکلی تاکسل با نانو اکسید روی نسبت به گروه پاکلی تاکسل افزایش دهد. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

همچنین، تغییرات ضخامت لایه‌ی ژرمینال و قطر لوله‌ی سمینی‌فروس نشان می‌دهد کاهش این شاخص‌ها که در گروه پاکلی تاکسل نسبت به گروه شاهد رخ داده است، در گروه تیمار شده با نانو اکسید روی تا حدودی جبران شده و افزایش معنی‌داری داشته است ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۲).

نتایج حاصل از بررسی تغییرات ایجاد شده در بافت بیضه نشان می‌دهد که در گروه دریافت کننده‌ی پاکلی تاکسل، لایه‌ی ژرمینال بلوکه شده و بین سلول های دودمان اسپرماتوسیت اختلال ایجاد شده است که این اختلال، سبب تأخیر یا وقفه در روند اسپرماتوژنز می‌شود. این روند کاهش تراکم سلول‌ها در گروه دریافت کننده‌ی نانو اکسید روی با پاکلی تاکسل بهبود یافته است (شکل ۱).

بحث

در پژوهش حاضر، اثرات حفاظتی نانو اکسید روی بر فرایند اسپرماتوژنز در Ratهای بالغ تیمار شده با پاکلی تاکسل مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه‌ی میانگین تعداد سلول‌های زایای جنسی بین گروه‌ها نشان داد که داروی شیمی درمانی پاکلی تاکسل سبب کاهش تعداد سلول‌های لایه‌ی ژرمینال در مقایسه با گروه شاهد شده است، اما این کاهش تعداد در گروه دریافت کننده‌ی نانو اکسید روی به همراه پاکلی تاکسل تا حدی جبران شده است. همچنین، میانگین سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH نیز اندازه‌گیری و مقایسه شد. بر اساس نتایج به دست آمده، سطح سرمی این هورمون‌ها در گروه پاکلی تاکسل کاهش داشته و در گروه نانو اکسید روی نسبت به گروه پاکلی تاکسل افزایش معنی‌داری نشان داده است. در فرایند اسپرماتوژنز، هورمون‌های جنسی نقش مهمی دارند. ترشح تستوسترون از سلول‌های درون‌ریز بینابینی بیضه تحت تأثیر گنادوتروپین‌های LH و FSH در زمان بلوغ آغاز می‌شود. میزان این هورمون‌ها، فیزیولوژی تولید مثلی جنس نر را هدایت می‌کند. تأثیر عواملی نظیر داروها بر میزان ترشح این هورمون‌ها حایز اهمیت است. داروهای رایج درمان سرطان، در بافت های در حال تقسیم مثل رده‌ی زایای دستگاه تناسلی اثر سمی دارند. این داروها، سبب کاهش جمعیت سلول های زاینده‌ی اسپرماتوگونی یا اختلال در انتقال اسپرم می‌شوند. از این رو، تنها تعداد معدودی از بیماران پس از درمان بارور خواهند بود (۳).



شکل ۱. مقاطع بافتی بیضه‌ی Rat، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگ‌نمایی ۴۰، میکروسکوپ نوری

A: گروه شاهد، **B**: گروه پاکلی تاکسل، **C**: گروه پاکلی تاکسل و نانو اکسید روی، **S** اسپرماتوگونی، **SI** اسپرماتوسیت اولیه، **SP** اسپرماتید، کاهش تعداد اسپرم‌ها و کاهش تراکم سلول‌ها در گروه تیمار شده با پاکلی تاکسل مشهود است.

مطالعه‌ی حشمتی درباره‌ی داروی شیمی درمانی دوکسوروبیسن نشان می‌دهد که این دارو با اتصال به DNA و تشکیل یک کمپلکس پایدار، تقسیمات سلولی را مهار می‌کند و تعداد اسپرم‌ها کاهش می‌یابد (۱۶). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد تعداد اسپرماتوگونی A در گروه تیمار شده با پاکلی تاکسل نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. چنانچه مطالعه‌ی Borovskaya و همکاران بر روی داروی پاکلی تاکسل نیز نشان می‌دهد که تعداد اسپرماتوگونی A طی چند ماه پس از تزریق پاکلی تاکسل کاهش یافته است (۱۸-۱۷).

در پژوهش حاضر، تعداد اسپرماتوگونی A در گروه دریافت کننده‌ی نانو اکسید روی همراه پاکلی تاکسل، به طور معنی‌داری افزایش داشته است. این بخش از نتایج به دست آمده با نتایج مطالعه‌ی بادکوبه مطابقت دارد. در مطالعه‌ی بادکوبه و همکاران نشان داده شد که نانو اکسید روی، نقش محافظتی بر کاهش تعداد اسپرماتوگونی A در Ratهای تیمار شده با داروی شیمی درمانی دوکسوروبیسین داشته است و اثر دوکسوروبیسین بر کاهش اسپرماتوگونی A را مهار کرده است (۱۵). در مطالعه‌ی Turedi و همکاران استفاده از رسوراترول به همراه دوکسوروبیسن، نقش حفاظتی RES در کاهش اثرات سوء دوکسوروبیسن بر سلول‌های جنسی و اسپرماتوگونی A را نشان می‌دهد؛ به طوری که کاهش تعداد اسپرماتوگونی A در گروه دریافت کننده‌ی رسوراترول جبران شده است (۱۹).

مطالعات نشان داده است که تعداد اسپرماتوگونی B تحت تأثیر پاکلی تاکسل کاهش می‌یابد؛ به طوری که نتایج تحقیق Kadota و همکاران نشان می‌دهد کاهش تعداد اسپرماتوگونی B متناسب با افزایش دز پاکلی تاکسل رخ می‌دهد (۲۰). مطالعه‌ی بادکوبه نشان داده است که استفاده از نانو اکسید روی به همراه داروی شیمی درمانی، می‌تواند کاهش تعداد اسپرماتوگونی B را جبران کند (۱۵). نتایج تحقیق حاضر نیز در مقایسه‌ی تعداد اسپرماتوگونی B در گروه دریافت کننده‌ی پاکلی تاکسل و گروه پاکلی تاکسل به اضافه‌ی نانو اکسید روی با نتایج این دو مطالعه هم‌خوانی دارد.

در گروه تیمار شده با پاکلی تاکسل، میانگین تعداد اسپرماتوسیت اولیه، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت. این بخش از نتایج مطالعه‌ی حاضر با نتیجه‌ی به دست آمده از پژوهش Borovskaya و همکاران (۱۸-۱۷) بر روی Ratهای تیمار شده با پاکلی تاکسل مطابقت دارد. درمطالعه‌ی آن ها، پاکلی تاکسل منجر به آپوپتوز سلول‌های زایای جنسی و کاهش تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه شده است. مطالعه‌ی Soderstrom و Roytta نشان داده است که پاکلی تاکسل، سبب اختلال در فرایند اسپرماتوژنز در مرحله‌ی متافاز میتوز و میوز می‌شود (۲۱). مطالعه‌ی Patil و Balaraman نشان می‌دهد دوکسوروبیسن، سبب کاهش وزن بیضه و کاهش تعداد اسپرماتوسیت های اولیه می‌شود (۲۲). در مطالعه‌ی Leena از ملاتونین به عنوان عامل حفاظتی به همراه دوکسوروبیسن استفاده شده است که در گروه دریافت کننده‌ی ملاتونین، ترمیم وزن بیضه و افزایش تعداد اسپرماتوسیت‌ها دیده شده است (۲۲).

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر در گروه تیمار شده با پاکلی تاکسل، کاهش تعداد اسپرماتید و کاهش ضخامت لایه‌ی ژرمینال مشهود است. نتایج مطالعات انجام شده توسط Saalu و همکاران نیز نشان داده است که داروهای شیمی درمانی سبب کاهش ضخامت لایه‌ی ژرمینال می‌شود (۲۳، ۲۰). این نتایج در مطالعه‌ی حاضر نیز مشهود است. همچنین، در مقایسه‌ی نتایج به دست آمده از بررسی قطر لوله‌ی سمینی‌فروس در مطالعه‌ی حاضر با مطالعه‌ی Kadota و همکاران، کاهش قطر لوله‌ی سمینی‌فروس در هر دو مطالعه، تحت تأثیر پاکلی تاکسل رخ داده است. این کاهش قطر، به دلیل توقف فعالیت سلول‌های دودمان اسپرماتوژن می‌باشد (۲۰).

در پژوهش حاضر، در گروه دریافت کننده‌ی نانو اکسید روی تعداد اسپرماتیدها، ضخامت لایه‌ی ژرمینال و قطر لوله‌ی سمینی‌فروس، افزایش قابل توجهی نسبت به گروه پاکلی تاکسل نشان داد. این نتیجه، به احتمال زیاد، می‌تواند به دلیل اثر آنتی‌اکسیدانی روی، به عنوان عامل پاک‌سازی کننده‌ی رادیکال‌های آزاد باشد (۱۰). روی به عنوان کوفاکتور متالوآنزیم‌های شرکت کننده در رونویسی DNA عمل می‌کند (۲۴). روی، نقش حیاتی در روند تمایز سلول‌های جنسی دارد (۷).

در این تحقیق، بر اساس یافته‌های به دست آمده، میزان هورمون‌های LH و FSH در گروه پاکلی تاکسل کاهش معنی‌داری داشته است. اثرات سمی این دارو، سبب آسیب بافت بینابینی بیضه و کاهش سلول‌های لیدیگ و منجر به کاهش هورمون تستوسترون شده است. مطالعه‌ی Saalu و همکاران نشان دهنده‌ی اثر دوکسوروبیسن در کاهش هورمون تستوسترون و مطالعه‌ی Hozayen نشان دهنده‌ی اثر سایر داروهای شیمی درمانی در کاهش سطح LH و FSH است (۲۵). در مطالعه‌ی Helel نیز پاکلی تاکسل سبب کاهش هورمون‌ها به ویژه FSH شده است (۲۶). بنابراین، کاهش سطح این هورمون‌ها در این مطالعه، با مطالعات پیش‌گفته مطابقت دارد.

بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر، در گروه دریافت کننده‌ی نانو اکسید روی، این کاهش هورمون ها تا حد چشم گیری جبران شده و افزایش معنی‌داری داشته است. این نتیجه، نشان می‌دهد که نانو ذره‌ی اکسید روی، توانسته است تأثیر پاکلی تاکسل بر محور هیپوفیز گناد را که سبب کاهش سطح گنادوتروپین‌ها و کاهش هورمون‌های استروئیدی شده است، جبران کند. چنانچه در مطالعه‌ی فتاحیان دهکردی و همکاران نیز تیمار موش‌های نر با نانو اکسید روی سبب

افزایش سطح سرمی LH و FSH شده است (۲۷). همچنین، نتایج مطالعه‌ی سلیمان‌زاده و احمدی نشان می‌دهد نانو اکسید روی توانسته است از بافت بیضه و هورمون‌های جنسی در برابر واکنش‌های مخرب ناشی از مصرف فنیل هیدرازین محافظت کند (۲۸). نتایج به دست آمده از بررسی میزان تغییرات هورمون‌ها در پژوهش حاضر، با دو مطالعه‌ی پیش‌گفته هم‌خوانی دارد.

نتیجه‌گیری

به طورکلی، افزایش معنی‌دار شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گروه پاکلی تاکسل به اضافه‌ی نانو اکسید روی، مؤید این است که نانو اکسید روی، می‌تواند به عنوان یک عامل آنتی اکسیدانی قوی، بافت بیضه را در مقابل آسیب های اکسیداتیو ناشی از اثر پاکلی تاکسل محافظت نماید و از مرگ و میر سلول های لیدیگ و کاهش تستوسترون جلوگیری کند. یافته های این پژوهش، می‌تواند دیدگاه جدیدی در زمینه‌ی کاربرد نانوذرات در شیمی درمانی فراهم آورد و این نانو ذرات، برای دست‌یابی به بازده درمانی بالاتر و پیشرفته انتخاب شوند.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر اساس پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۰۳۰۳/۱۰/۸۱۴ دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان تهیه شده است. بدین وسیله، از کلیه‌ی همکارانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Rowinsky EK, Donehower RC. Paclitaxel (taxol). N Engl J Med 1995; 332(15): 1004-14.
2. Dorr RT. Pharmacology and toxicology of Cremophor EL diluent. Ann Pharmacother 1994; 28(5 Suppl): S11-S14.
3. Ghasemi S, Alavian F. A review of fertility preservation strategies for cancer patients in common treatments. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2018; 21(Suppl): 19-28. [In Persian].
4. Kaya O, Gokdemir K, Kilic M, Baltaci AK. Zinc supplementation in rats subjected to acute swimming exercise: Its effect on testosterone levels and relation with lactate. Neuro Endocrinol Lett 2006; 27(1-2): 267-70.
5. Baltaci AK, Mogulkoc R, Ozturk A. Testosterone and zinc supplementation in castrated rats: Effects on plasma leptin levels and relation with LH, FSH and testosterone. Life Sci 2006; 78(7): 746-52.
6. Krishnamurthy H, Jagetia GC, Jyothi P. Radioprotective effect of zinc aspartate on mouse spermatogenesis: A flow cytometric evaluation. Mutat Res 1998; 401(1-2): 111-20.
7. Afonne J, Orisakwe O, Ekanem IOA, Akumka DD. Zinc protects chromium-induced testicular injury in mice. Indian J Pharmacol 2002; 34(1): 26-31.
8. Amara S, Abdelmelek H, Garrel C, Guiraud P, Douki T, Ravanat JL, et al. Preventive effect of zinc against cadmium-induced oxidative stress in the rat testis. J Reprod Dev 2008; 54(2): 129-34.
9. Krasowska A, Wlostowski T, Bonda E. Zinc protection from fluoride-induced testicular injury in the bank vole (Clethrionomys glareolus). Toxicol Lett 2004; 147(3): 229-35.
10. Dani V, Dhawan DK. Radioprotective role of zinc following single dose radioiodine (131I) exposure to red blood cells of rats. Indian J Med Res 2005; 122(4): 338-42.
11. Suri SS, Fenniri H, Singh B. Nanotechnology-based drug delivery systems. J Occup Med Toxicol 2007; 2(1): 16.
12. Raeisalsadati AS, Pouresmaeil V, Neamati A. Evaluation of the cytotoxic effect of green-synthesized Zinc Oxide nanoparticles with Ceratonia siliqua extract on the breast cancer cell line (MDA-MB231) and its antiangiogenic effects. J Neyshabur Univ Med Sci 2019; 7(2): 58-72. [In Persian].
13. Hoveizi E, Mohammadi T. Anti-cancer effect of Nano Zinc oxide on malignant HN5 cell line in in vitro culture. Qom Univ Med Sci J 2017; 11(10): 21-9. [In Persian].
14. Dawei AI, Zhisheng WANG, Anguo ZHOU. Protective effects of Nano-ZnO on the primary culture mice intestinal epithelial cells in in vitro against oxidative injury. J Anim Vet Adv 2010; 8(10): 1964-7.
15. Badkoobeh Hezaveh P, Parivar K, Kalantar SM, Salabat A, Hosseini SD. Protective effect of nano-zinc oxide on reproductive system and fertility of adult male wistar rats following doxorubicin treatment. J Arak Univ Med Sci 2013; 16(1): 1-9. [In Persian].
16. Heshmati P, Asadinoghabi A. Generic drugs of Iran. Tehran, Iran: Andisheh Rafi Publications; 2008. [In Persian].
17. Borovskaya TG, Dygai AM, Shchemerova YA, Vychuzhanina AV, Poluektova ME, Goldberg VE, et al. Pharmacological stimulation of the regenerative capacity of rat testes damaged by paclitaxel. Bull Exp Biol Med 2014; 156(6): 773-5.
18. Borovskaya TG, Shchemerova YA, Poluektova ME, Vychuzhanina AV, Goldberg VE, Kinsht DN, et al. Mechanisms of reparative regeneration of rat testis after injection of paclitaxel. Bull Exp Biol Med 2014; 156(4): 483-5.
19. Turedi S, Yulug E, Alver A, Kutlu O, Kahraman C. Effects of resveratrol on doxorubicin induced testicular damage in rats. Exp Toxicol Pathol 2015; 67(3): 229-35.
20. Kadota T, Chikazawa H, Kondoh H, Ishikawa K, Kawano S, Kuroyanagi K, et al. Toxicity studies of paclitaxel. (I)--Single dose intravenous toxicity in rats. J Toxicol Sci 1994; 19 Suppl 1: 1-9.
21. Soderstrom KO, Roytta M. Short-time effects of taxol on the seminiferous epithelium of the rat. Cell Tissue

Res 1986; 245(3): 591-8.
22. Patil L, Balaraman R. Effect of melatonin on doxorubicin induced testicular damage in rats. Int J Pharmtech Res 2009; 1(3): 974-4304.
23. Saalu PL, Linus Anderson E, Osinubi A. An assessment of the histomorphometric evidences of doxorubicin-induced testicular cytotoxicity in Wistar rats. International Journal of Medicine and Medical Scienc 2009; 1(9): 370-4.
24. Klotz LO, Kroncke KD, Buchczyk DP, Sies H. Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. J Nutr 2003; 133(5 Suppl 1): 1448S-51S.
25. Hozayen W. Effect of hesperidin and rutin on doxorubicin induced testicular toxicity in male rats. International Journal of Food Sciences and Nutrition 2012; 1: 31-42.
26. Helel AM. Chemotherapeutic agent-induced ovarian gonadotoxicity. J Exp Biol Agric Sci 2014: 583-91.
27. Fatahian Dehkordi Ra, Heidarnejad S, Ameri A. ZnO Nanoparticles effects on male rat gonad histology and its effect on blood serum sex factors. Cell and Tissue 2015; 6(2): 187-94. [In Persian].
28. Soleimanzadeh A, Ahmadi A. Protective effect of Nano zinc oxide on testis and sex hormone levels of mice after treatment with phenylhydrazine. Stud Med Sci 2017; 28(9): 560-71. [In Persian].

DOI: *10.22122/jims.v38i602.13052* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 38, No. 602, 2nd Week, February 2021**

Received: 11.05.2020 Accepted: 10.10.2020 Published: 12.02.2021

Protective Effects of Nano-Zinc Oxide on Spermatogenesis in Adult Male Rats Treated with Paclitaxel

Mozhgan Bagherian[1], Akbar Karimi[2], Hossein Salavati[3], Ali Asghar Pilehvarian[4], Maryam Azizi[1]

Original Article

Abstract

Background: Paclitaxel is used in chemotherapy to treat cancers of the breast, ovary, lung, bladder, prostate, and testes. Considering the role of nano-zinc oxide antioxidant in anti-inflammatory processes, in this study, we used nano-zinc oxide for protective effect on spermatogenesis in adult male rats.

Methods: 18 Wistar adult male rats with a mean weight of 250 g were divided 3groups under a standard diet. Then, control group was intraperitoneally treated with normal saline, second group with paclitaxel (3 mg/kg), and the third with paclitaxel and nano-zinc oxide (5 mg/kg). 48 days after the treatment, the rats were sacrificed without pain by C_2O, and blood and testicular tissue samples were prepared. The levels of testosterone, luteinizing hormone (LH), and follicle-stimulating hormone (FSH) were determined. Using hematoxylin and eosin staining, germinal cells were counted using samples randomly. One way ANOVA and Duncan tests were used for data analysis at the statistical significant level of $P < 0.05$.

Findings: The mean serum levels of testosterone, LH, and FSH hormones, and the number of germinal cells in testicular tissue decreased in the group treated with paclitaxel compared to the control group. The above indices improved in the group treated with paclitaxel and nano-zinc oxide compared to the paclitaxel-treated group

Conclusion: It seems that consumption of paclitaxel with impression on male germ cells result in decrease in spermatogenesis process. Using of the nano-zinc oxide as protective factor can compensate negative effects caused by paclitaxel on germ cells and the process of spermatogenesis.

Keywords: Paclitaxel; Zinc oxide; Testis; Spermatogenesis

Citation: Bagherian M, Karimi A, Salavati H, Pilehvarian AA, Azizi M. **Protective Effects of Nano-Zinc Oxide on Spermatogenesis in Adult Male Rats Treated with Paclitaxel.** J Isfahan Med Sch 2021; 38(602): 886-92.

1- Department of Biology, School of Basic Sciences, Payame Noor, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Basic Sciences, Payame Noor, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Department of Chemistry, School of Basic Sciences, Payame Noor, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Department of Biology, School of Basic Sciences, Payame Noor, Tehran, Iran
Corresponding Author: Mozhgan Bagherian, Department of Biology, School of Basic Sciences, Payame Noor, Tehran, Iran; Email: mozhganbagherian96@gmail.com