

## بررسی اثر حفاظتی نانو اکسید روی بر پارامترهای هیستولوژیک بیضه در رت های تیمار شده با داکسوروبیسین

پوران بادکوبه هزاوه Ph.D.<sup>۱</sup>، کاظم پریور Ph.D.<sup>۱</sup>، سید مهدی کلانتر Ph.D.<sup>۲\*</sup>،سید داوود حسینی Ph.D.<sup>۳</sup>، علیرضا صلابت Ph.D.<sup>۴</sup>

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران

۲- مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد

۳- موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، شعبه منطقه مرکزی، اراک

۴- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک

\* پست الکترونیک نویسنده مسئول: smkaltar@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۶/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۲۴

## چکیده

**هدف:** داروی ضد سرطان داکسوروبیسین علی‌رغم کاربرد گسترده، دارای اثرات سمی بر قسمت‌های مختلف بدن از جمله اندام‌های جنسی دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر حفاظتی نانو اکسید روی بر سمیت تولیدمثلی القا شده توسط داکسوروبیسین بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی رت‌های نر بالغ ویستار به طور تصادفی به چهار گروه شامل یک گروه کنترل و سه گروه تجربی تقسیم شدند. گروه کنترل سالیین دریافت کرد، در حالی که گروه‌های تجربی به ترتیب داکسوروبیسین (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، نانو اکسید روی (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، و داکسوروبیسین همراه با نانو اکسید روی دریافت نمودند. رت‌ها به مدت ۳ روز تحت تیمار قرار گرفتند. ۲۸ روز پس از پایان تیمار تغییرات بافتی سیستم تناسلی مورد بررسی قرار گرفت.

**نتایج:** داکسوروبیسین در گروه تجربی ۱ سبب درهم ریختگی اپی‌تلیوم ژرمینال، دفرمه شدن سلول‌ها و افزایش فضای بینابینی شد. همچنین تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه، اسپرماتیدها و سلول‌های لایدیگ در این گروه نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد. شاخص تمایز توبولی (TDI) و شاخص اسپرمیوزن (SPI) نیز نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار پیدا کرد، در حالی که درصد توبول‌های تخریب شده افزایش نشان داد. استفاده مشترک نانو اکسید و داکسوروبیسین توانست اختلالات فوق را بطور معنی‌داری بهبود بخشد.

**نتیجه گیری:** یافته‌های این مطالعه نقش نانو اکسید روی را در ممانعت از سمیت القا شده توسط داکسوروبیسین در سیستم تولیدمثل نر نشان می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** اسپرماتید، داکسوروبیسین، سیستم تولیدمثل نر

## مقدمه

می باشد که سبب دیسموتاسیون سوپراکساید می شود که به طور مداوم در طی متابولیسم هوازی ایجاد می گردد و آن را به اکسیژن و هیدروژن پراکساید تبدیل می کند. علاوه بر این با القای سیگنال های پاسخ به استرس در مقابل با استرس اکسیداتیو نقش دارد (۱۳). همچنین نقش آن در تولید اسپرم، افزایش قابلیت زیستی آن و ممانعت از تخریب اسپرماتوزوئید اثبات شده است (۱۴). اخیراً نانو اکسید روی (nano-ZnO) توجه زیادی را در مطالعات جانوری به خود معطوف نموده است (۱۵). آزمایشات نشان داده اند که عناصر کم مصرف در مقیاس نانو دسترسی بالایی به سلول ها داشته (۱۶ و ۱۷)، سمیت آن ها با توجه به شاخص هایی مانند میانگین دوز سمی، آسیب حاد کبد، میزان بقا و سمیت کوتاه مدت بسیار کمتر است. این نتایج عناصر کم مصرف را در مقیاس نانو به عنوان عوامل ضد سرطان و آنتی اکسیدانت های قوی با خطر سمیت پایین پیشنهاد می کند (۱۸). در مطالعه حاضر اثر نانو اکسید روی به عنوان یک آنتی اکسیدانت قوی در ممانعت یا کاهش عوارض جانبی ناشی از مصرف داکسوروبیسین از جمله القای استرس اکسیداتیو و اختلال در ساختار و عمل کرد بیضه مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش ها

**مواد:** در این پژوهش داکسوروبیسین شرکت Ebewepharma و نانو اکسید روی از شرکت Sigma-Aldrich مورد استفاده قرار گرفت. اتانل، زایلین، پارافین، همتاکسیلین، اتوزین، تولوئیدین بلو و کلروفرم از شرکت Merck تهیه شدند.

**حیوانات:** رت های نر بالغ نژاد ویستار به وزن تقریبی ۲۵۰-۲۲۰ گرم و سن تقریبی ۱۲ هفته از موسسه رازی (تهران) تهیه شدند. حیوانات در قفس های مخصوص با دسترسی راحت به آب و غذا در خانه حیوانات موسسه رازی (شعبه اراک) نگهداری شدند. روشنایی محیط به صورت ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی و دما در محدوده  $23 \pm 2$  تنظیم شد. رت ها به طور تصادفی به چهار گروه ۶ تایی (یک گروه کنترل و سه گروه تجربی) تقسیم شدند. گروه کنترل، تزریق درون صفاقی (i.p) سالین دریافت نمود. به گروه تجربی ۱، ۶ میلی گرم بر کیلوگرم DOX (i.p.) تزریق شد، گروه تجربی ۲، ۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانو اکسید روی حل شده در سالین دریافت نمود و گروه تجربی ۳ ابتدا نانو اکسید روی و یک ساعت بعد DOX دریافت کرد. هر چهار گروه به مدت ۳ روز تحت تیمار قرار گرفتند. پس از ۲۸

اغلب داروهای ضد سرطان علاوه بر سلول های سرطانی بر سایر سلول های دارای سرعت تقسیم بالا مانند سلول های جنسی نیز اثر می کنند. برآورد می شود بیش از ۹۰ درصد بیماران که دوزهای بالای عوامل شیمی درمانی از جمله داکسوروبیسین (Doxorubicin-Dox) دریافت می کنند دچار آزواسپرمی طولانی مدت خواهند شد. بنابراین ناباروری می تواند یک عارضه طولانی مدت مهم به دنبال شیمی درمانی باشد (۱، ۲ و ۳). DOX یکی از رایج ترین داروهای است که بطور گسترده برای درمان انواع مختلف سرطان از جمله سرطان های خونی (هماتوپیتیک)، سرطان بیضه و سایر تومورهای جامد به کار می رود (۴، ۵ و ۶). Manabe و همکاران (۲) نشان دادند که تزریق درون صفاقی داکسوروبیسین در رت های نر سبب کاهش وزن بیضه، آتروفی توبول ها و کاهش شدید تعداد سلول های جنسی می شود. در مطالعه دیگری که توسط Zanetti و همکاران (۴) انجام شد، DOX در بیضه رت های نر سبب کاهش قطر توبول ها و کاهش ضخامت لایه سلول های جنسی شده، توان تولید مثلی را کاهش داد. Yeh و همکاران (۷) نشان دادند که DOX علاوه بر اختلال در اسپرماتوزن و کاهش تعداد اسپرم سبب افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت آنتی اکسیدانتی می شود. سایر مطالعات نیز نشان داده اند که DOX یک القا کننده درون سلولی استرس اکسیداتیو است و اختلالات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ناشی از آن می تواند نتیجه استرس اکسیداتیو باشد (۶، ۸ و ۹). به نظر می رسد ایجاد گونه های فعال اکسیژن (ROS) و سایر رادیکال های آزاد به طور کنترل نشده یکی از فاکتورهای اساسی باشد که از طریق استرس اکسیداتیو منجر به کاهش تحرک، قابلیت زیستی و اختلال در واکنش آکروزومی شده و در نهایت منجر به ناباروری می گردد (۱۰). بنابراین ممکن است استفاده از یک آنتی اکسیدانت قوی همراه با DOX روش مناسبی برای کاهش عوارض جانبی آن باشد.

روی یک عنصر کم مصرف (Trace element) می باشد که مقدار کم آن ضروری است (۱۱)، در حالی که مقادیر بالاتر آن سمی بوده، قادر به القای آپوپتوزیس یا حتی نکروزیس می باشد (۱۲). بسیاری از مطالعات نقش آنتی آپاپتوتیک و خواص آنتی اکسیدانتی روی را به اثبات رسانده اند. روی یکی از کوفاکتورهای آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (Cu-Zn SOD)

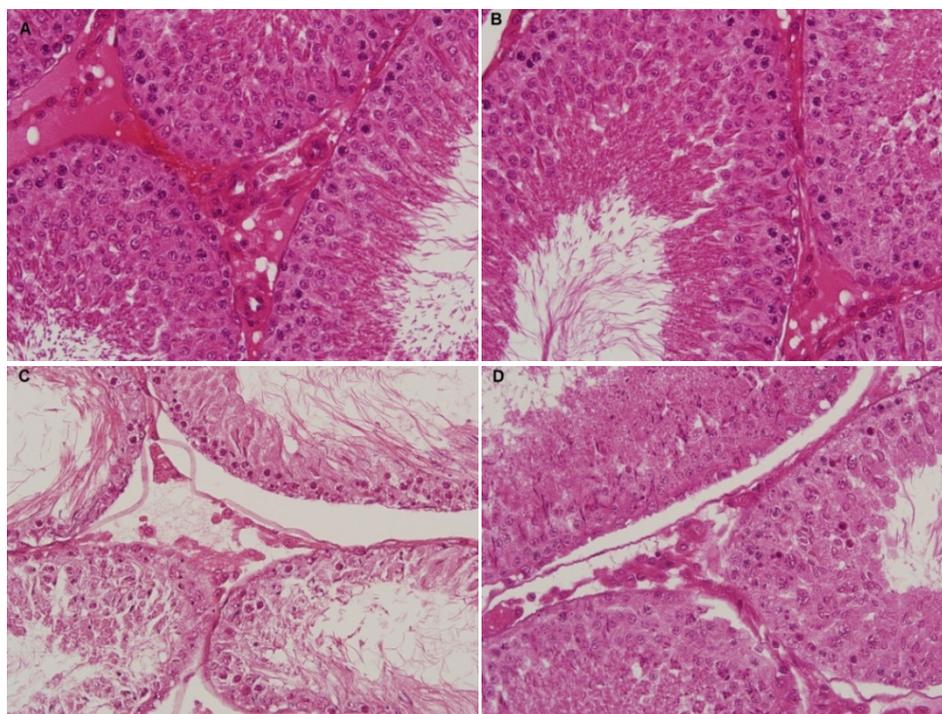
داده‌ها در نظر گرفته شد.

### نتایج

در گروه کنترل و گروه تجربی ۲ (نانو اکسید روی) لوله‌های سمی نیفر به‌طور فشرده و منظم در کنار هم قرار داشتند و سلول‌های آن‌ها از تعداد و تنوع بیشتری برخوردار بودند. هسته سلول‌های سرتولی نیز در قاعده لوله‌های سمی نیفر قرار داشت (شکل ۱، A و B)، اما در گروه تیمار شده با DOX (گروه تجربی ۱) فضای بین توبول‌ها افزایش یافته و در اکثر آن‌ها نوعی بهم ریختگی مشاهده شد. بین سلول‌های اپی‌تلیوم ژرمینال فضاهای خالی (واکوئل) زیادی مشاهده شد. سلول‌های سرتولی نیز دفرمه شده، هسته آن‌ها از حالت بیضوی تغییر شکل داده، حالت نامنظم به‌خود گرفته و به طرف لومن توبول‌ها کشیده شده بودند (شکل ۱، C). در گروه تجربی ۳ (نانو اکسید روی + DOX) اپی‌تلیوم توبول‌ها نسبت به گروه تجربی ۱ (DOX) ضخامت بیشتری داشت و سلول‌ها انسجام و پیوستگی بیشتری داشتند و بین آن‌ها فضاهای خالی مشاهده نشد. تنوع سلولی نیز در توبول‌ها بیشتر بود (شکل ۱، D).

روز رت‌ها با استفاده از کلروفرم بی‌هوش شده، بیضه چپ آن‌ها برداشته شد و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک جهت تثبیت در محلول بوئن قرار گرفت. سپس مراحل پاساژ بافتی، تهیه بلوک‌های پارافینی و تهیه برش‌های ۵ میکرونی انجام شد. رنگ آمیزی لام‌ها با هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) و تولوئیدن بلو (جهت مشاهده مست سل‌ها) صورت گرفت. در نهایت سلول‌های مختلف با بزرگ‌نمایی  $\times 100$  میکروسکوپ نوری بررسی شدند. شمارش سلول‌ها به‌طور تصادفی در ۳ لام از هر نمونه و ۶ توبول در هر لام انجام شد. همچنین در هر نمونه ۱۰۰ لوله سمی نیفر بررسی شد و شاخص تمایز توبولی Tubule Differentiation (Index = TDI) و شاخص اسپرمیوژنز (Spermiation index = SPI) محاسبه شد. TDI عبارت است از درصد لوله‌هایی که حداقل ۳ سلول جنسی تمایز یافته (به شکل اسپرماتوگونی B یا مراحل بعدی) داشته باشند و SPI درصد توبول‌هایی است که اسپرمیوژنز طبیعی نشان می‌دهند (۱۹ و ۲۰).

**آنالیز آماری:** اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-14 تحلیل شد. آزمون آماری ANOVA یک طرفه و تست تکمیلی scheffe مورد استفاده قرار گرفت.  $P < 0.05$  مرز معنی‌دار بودن



شکل ۱: فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه رت‌های گروه: کنترل A، نانو اکسید روی B، داکسوروبیسین C، داکسوروبیسین + نانو اکسید روی D (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی  $\times 100$ )

اپی‌تلیوم لوله‌ها و بافت بینابینی در گروه کنترل و نانو اکسید روی (A, B) ساختار طبیعی نشان می‌دهند. در گروه داکسوروبیسین (C) کاهش قطر لوله‌ها، کاهش ضخامت و درهم ریختگی اپی‌تلیوم ژرمینال همراه با افزایش فضای بینابینی محسوس است. تیمار با داکسوروبیسین + نانو اکسید روی (D) تقریباً توانسته است ساختار طبیعی بافت را حفظ کند.

۱). تعداد ماستوسیت‌ها در گروه تجربی ۱ نسبت به شاهد افزایش معنی دار ( $P < 0/001$ ) داشت. در گروه های تجربی ۲ و ۳ تعداد ماستوسیت‌ها نسبت به گروه تجربی ۱ بطور معنی داری ( $P < 0/001$ ) کاهش یافت (جدول ۱). تغییر تعداد سلول‌های سرتولی در هیچ یک از گروه ها معنی دار نبود ( $P < 0/05$ ) (جدول ۱).

شاخص های تمایز توبولی (TDI) و اسپرمیونز (SPI) در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار ( $P < 0/001$ ) نشان دادند. استفاده از نانو اکسید روی در گروه های تجربی ۲ و ۳ افزایش معنی دار ( $P < 0/001$ ) این شاخص‌ها را نسبت به گروه تجربی ۱ به دنبال داشت (جدول ۲). همچنین DOX درصد توبول‌های تخریب شده را بطور معنی داری ( $P < 0/001$ ) نسبت به گروه کنترل افزایش داد. در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ تعداد توبول‌های تخریب شده بطور معنی داری ( $P < 0/001$ ) کاهش یافت (جدول ۲).

نتایج حاصل از شمارش سلولی نشان داد که تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نوع A و B در هیچ یک از گروه‌ها تفاوت معنی داری ایجاد نکرد ( $P > 0/05$ ) (جدول ۱). تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه در گروه تجربی ۱ (DOX) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار  $P < 0/001$  نشان داد. تیمار با نانو اکسید روی در گروه های تجربی ۲ (نانو اکسید روی) و ۳ (نانو اکسید روی + DOX) سبب افزایش معنی دار  $P < 0/001$  تعداد این سلول‌ها نسبت به گروه تجربی (DOX) ۱ شد (جدول ۱). تعداد اسپرماتیدها (گرد و دراز) و اسپرماتوزوئیدها نیز در گروه تجربی ۱ (DOX) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار نشان داد ( $P < 0/001$ ). در گروه های تجربی ۲ و ۳ افزایش معنی دار ( $P < 0/001$ ) تعداد این سلول ها نسبت به گروه تجربی ۱ مشاهده شد (جدول ۱). در این بررسی DOX سبب کاهش معنی دار ( $P < 0/001$ ) سلول‌های لایدیگ نسبت به گروه کنترل شد. در گروه های تجربی ۲ و ۳ افزایش معنی دار ( $P < 0/001$ ) سلول‌های لایدیگ نسبت به گروه تجربی ۱ مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج حاصل از شمارش سلول های مختلف بیضه در گروه‌های مورد مطالعه.

گروه	کنترل	تجربی ۱ (DOX)	تجربی ۲ (nZnO)	تجربی ۳ (DOX + nZnO)
اسپرماتوگونی A	7/16 ± 0/88	5/75 ± 0/91	7/33 ± 1/03	6/17 ± 1/01
اسپرماتوگونی B	12/08 ± 0/91	10/62 ± 1/35	12/03 ± 1/12	11/30 ± 4/21
اسپرماتوسیت اولیه	41/72 ± 3/77	19/52 ± 1/99 <sup>a</sup>	45/74 ± 2/20 <sup>b</sup>	37/65 ± 3/22 <sup>b</sup>
اسپرماتید	99/98 ± 7/95	51/18 ± 2/40 <sup>a</sup>	110/88 ± 8/76 <sup>b</sup>	89/34 ± 3/05 <sup>b</sup>
اسپرماتوزوئید	143/86 ± 5/04	66/71 ± 7/94 <sup>a</sup>	154/63 ± 7/18 <sup>b</sup>	120/44 ± 5/38 <sup>ab</sup>
سرتولی	13/88 ± 0/92	12/83 ± 1/24	14/41 ± 0/96	13/35 ± 1/16
لیدیگ	11/63 ± 1/01	7/61 ± 0/82 <sup>a</sup>	12/84 ± 1/75 <sup>b</sup>	10/13 ± 0/85 <sup>b</sup>
ماستوسیت	3/09 ± 1/08	6/49 ± 0/97 <sup>a</sup>	3/39 ± 0/69 <sup>b</sup>	4/81 ± 0/65 <sup>ab</sup>

یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند (سطح معنی داری:  $P < 0/05$ ). <sup>a</sup> معنی دار نسبت به گروه کنترل، <sup>b</sup> معنی دار نسبت به گروه تجربی ۱ (داکسوروبیسن). DOX داکسوروبیسن، nZnO نانو اکسید روی.

جدول ۲: نتایج حاصل از مطالعات هیستوپاتولوژیک بیضه در گروه‌های مورد مطالعه.

گروه	کنترل	تجربی ۱ (DOX)	تجربی ۲ (nZnO)	تجربی ۳ (DOX + nZnO)
شاخص تمایز توبولی (/)	89/67 ± 3/01	81/83 ± 2/40 <sup>a</sup>	97/50 ± 1/05 <sup>ab</sup>	90/17 ± 2/22 <sup>b</sup>
شاخص اسپرمیونز (/)	93/50 ± 3/51	59/67 ± 4/88 <sup>a</sup>	94/83 ± 4/62 <sup>b</sup>	82/50 ± 4/37 <sup>ab</sup>
توبول های تخریب شده (/)	2/50 ± 1/50	17/67 ± 3/26 <sup>a</sup>	1/67 ± 0/82 <sup>b</sup>	5/00 ± 0/89 <sup>b</sup>

یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند (سطح معنی داری:  $P < 0/05$ ). <sup>a</sup> معنی دار نسبت به گروه کنترل، <sup>b</sup> معنی دار نسبت به گروه تجربی ۱ (داکسوروبیسن). DOX داکسوروبیسن، nZnO نانو اکسید روی.

## بحث

DOX که یک داروی ضد سرطان شناخته شده می‌باشد، یک آنتی بیوتیک آنتراسایکلین است که توسط قارچ *Streptomyces peucetius* تولید می‌شود (۴ و ۲۱). بسیاری از گزارش‌ها نشان داده‌اند که DOX سبب ناباروری در نرها می‌شود (۱، ۴ و ۲۱). بنابراین عوارض جانبی این دارو فاکتور محدود کننده‌ای برای استفاده از آن می‌باشد (۵). در مطالعه حاضر اثر DOX بر ساختار بافتی بیضه و نقش نانو اکسید روی در ممانعت از سمیت این دارو بررسی شد. در این مطالعه استفاده از داکسوروبیسیسین سبب کاهش معنی‌دار تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه، اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها شد. اثر گنادوتوکسیک DOX در رت‌های نر اسپراگ دالی توسط Manabe و همکاران (۲) نیز مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه تزریق DOX به صورت داخل صفاقی علاوه بر کاهش وزن بدن و وزن بیضه سبب کاهش شدید تعداد سلول‌های جنسی شد. Zanetti و همکاران (۴) نیز اثر DOX را در کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوزونیک گزارش نمودند. بررسی این گروه نشان داد که در پاسخ به عوامل شیمی درمانی مختلف از جمله آنتراسایکلین‌ها تعداد سلول‌های جنسی که دچار آپوپتوزیس می‌شوند، چندین برابر افزایش می‌یابد. در این بین سلول‌های اسپرماتوزونیک اولیه، اسپرماتوگونی نوع A، و اسپرماتوسیت‌های اولیه در حال تقسیم میوز حساس‌ترین سلول‌ها هستند. سایر مطالعات نیز نشان داده‌اند که DOX موجب اختلال در اسپرماتوزن و کاهش تعداد اسپرم همراه با افزایش شاخص‌های آپوپتوزیس می‌شود (۷). اثر دژنراتیو ترکیبات مورد استفاده به‌عنوان داروهای ضد سرطان بیشتر روی سلول‌هایی می‌باشد که سنتز سریع RNA (اسپرماتوسیت‌های پاک‌ی تن) و تقسیم میوز دارند (۲۲). بنابراین استفاده از DOX می‌تواند منجر به از بین رفتن سلول‌های جنسی غیر بالغ در حال تکثیر و بالاخره اسپرماتوزوئید بالغ شود (۱).

برخلاف مطالعه Zanetti و همکاران (۴) که کاهش تعداد اسپرماتوگونی را با مصرف داکسوروبیسیسین نشان می‌دهد، در مطالعه ما کاهش معنی‌داری در تعداد اسپرماتوگونی‌ها مشاهده نشد. سایر بررسی‌ها نشان می‌دهد که استفاده از دوزهای بالای دارو نیز نمی‌تواند همه اسپرماتوگونی‌ها را از بین ببرد (۲۳). در لوله‌های سمی نیفر دو نوع اسپرماتوگونی اصلی وجود دارد. نوع اول سلول‌های تمایز نیافته بنیادی هستند که به‌عنوان منبع و پشتوانه برای ادامه اسپرماتوزن عمل می‌کنند. این سلول‌ها

به‌ندرت تقسیم شده و نسبت به بسیاری از ترکیبات سمی که روی سایر سلول‌های اسپرماتوزونیک موثرند، مقاوم می‌باشند (۲۴). برخی عوامل که باعث کاهش بسیاری از سلول‌های ژرمینال می‌شود تکثیر این سلول‌ها را تحریک می‌کند (۲۵). بنابراین به‌نظر می‌رسد این سلول‌ها پس از مدتی می‌توانند با تقسیم خود سلول‌هایی زیاده در توبول‌ها ایجاد کنند (۲۳) و در موش‌ها سلول‌های اسپرماتوگونی باقی مانده می‌توانند مجموعه‌ای از سلول‌ها را تشکیل دهند اما نمی‌توانند به سلول‌های دیگر تمایز یابند (۲۳ و ۲۷).

سلول‌های سرتولی ۳ درصد سلول‌های توبول‌های سمی نیفر بیضه بالغ را تشکیل می‌دهند و تنها سلول‌های سوماتیک موجود در لوله‌ها هستند. این سلول‌ها در ارتباط نزدیک با سلول‌های ژرمینال محیط مناسبی برای اسپرماتوزن فراهم می‌سازند و همچنین نقش مهمی در حفظ خاصیت پرتوانی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی دارند (۲۸). در این مطالعه سلول‌های سرتولی تحت تاثیر DOX تغییرات مورفولوژیک نشان داده و دچار تحلیل شدند، اما تعداد آن‌ها کاهش معنی‌داری نداشت. این موضوع می‌تواند معرف مقاوم بودن این سلول‌ها باشد که با نتایج مطالعات Aich و Vecino مطابقت دارد (۲۹ و ۳۰). Zanetti و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷ مشاهده کردند که ۹ هفته بعد از تیمار رت‌های نر با داکسوروبیسیسین تنها سلول‌های باقی مانده در توبول‌های باریک و نازک، سلول‌های سرتولی می‌باشند (۴). البته برخی مطالعات دیگر که بصورت *in vivo* و *in vitro* صورت گرفته‌اند نشان دهنده کاهش معنی‌دار سلول‌های سرتولی تحت تاثیر DOX می‌باشند (۳۱ و ۳۲). تفاوت این نتایج می‌تواند به علت تفاوت فاکتورهای نظیر دوز داروی مصرفی و مدت زمان طی شده پس از مصرف دارو باشد.

در مطالعه حاضر استفاده از DOX تعداد سلول‌های لایدیگ را به‌طور معنی‌دار کاهش داد. این موضوع با یافته‌های سایر محققین مبنی بر این‌که داروهای ضد سرطان می‌توانند روی سلول‌های لایدیگ اثر گذاشته و سبب کاهش تعداد و بلوغ غیرطبیعی آن‌ها شوند مطابقت دارد (۳۳ و ۳۴). این امر خود می‌تواند توضیح دیگری باشد برای شکست اسپرماتوزن تحت تاثیر DOX، چرا که با کاهش تعداد سلول‌های لایدیگ میزان تستوسترون نیز کاهش می‌یابد و این عدم تعادل هورمونی سبب اختلال در اتصال وابسته به تستوسترون اسپرماتیدهای گرد به سلول‌های سرتولی می‌گردد و بدین ترتیب بلوغ اسپرماتوزوئیدها

همچنین در مطالعه حاضر کاهش معنی‌دار شاخص‌های تمایز توبولی (TDI) و اسپرمیوژن (SPI)، و افزایش درصد توبول‌های تخریب شده تحت تاثیر DOX مشاهده شد. Vendramini و همکاران (۴۷) نشان دادند که DOX پس از ۳۰ و ۶۰ روز سبب کاهش درصد تمایز توبولی در رت‌ها می‌شود. Brilhante و همکاران (۳۳) نیز نشان دادند که تیمار با DOX پس از ۴۰ روز موجب نقصان اسپرمیوژن در توبول‌ها می‌شود. پارامترهای بافتی نظیر شاخص تمایز توبولی و شاخص اسپرمیوژن می‌توانند در مورد میزان آسیب بیضه به دلیل مرگ سلول‌های زایا اطلاعات مفیدی در اختیار قرار دهند. به‌طور کلی تکامل ساختاری و بلوغ این سلول‌ها و اسپرمیوژن اعمال اصلی سلول‌های سرتولی می‌باشد (۴۸). بنابراین هرگونه تغییر در سلول‌های سرتولی می‌تواند منجر به القای ناهنجاری در اسپرماتوژن و اسپرمیوژن شود (۴۹). هورمون استروئیدی تستوسترون نیز که نقش مهمی در تکامل و تمایز سلول‌های اسپرم ایفا می‌کند، توسط سلول‌های لایدیگ ترشح می‌شود. بنابراین با کاهش و آتروفی شدن این سلول‌ها میزان تستوسترون نیز کاهش یافته، اسپرمیوژن نیز مختل می‌شود (۴۹ و ۵۰). آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از داروهای ضدسرطان موجب اختلال در استروئیدوژن توسط سلول‌های لایدیگ می‌شود (۵۱). با کاهش تستوسترون اسپرماتوژن (۲۵ و ۳۲) و تمایز سلول‌های زایا هم دچار نقصان شده و در نهایت منجر به کاهش رده‌های سلولی (TDI) و اسپرماتوزوئیدها (SPI) می‌گردد (۵۲). به این ترتیب توبول‌های سمی نیفر بخش اعظم جمعیت سلولی خود را از دست داده و درصد توبول‌های تخریب شده افزایش می‌یابد.

روی یک آنتی اکسیدانت شناخته شده است و به‌عنوان هسته مرکزی آنزیم‌های پاک‌سازی کننده رادیکال‌های آزاد نظیر سوپراکساید دیسموتاز (SOD) عمل می‌کند. برخی آزمایشات نشان داده‌اند که در موش‌ها و رت‌های دچار کمبود روی، آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA مشاهده می‌شود و نمک‌های روی می‌توانند از آسیب اکسیداتیو و نقصان گلوکاتینون در موش جلوگیری نمایند (۱۱). روی به‌عنوان کوفاکتور بیش از ۳۰۰ متالوآنزیم شرکت کننده در متابولیسم پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، رونویسی DNA و سنتز پروتئین عمل می‌کند (۱۱ و ۱۳). به دلیل اینکه اهمیت رونویسی DNA در تکوین سلول‌های جنسی، روی عنصری حیاتی برای تولیدمثل محسوب می‌شود (۵۳). مقادیر روی در دستگاه تناسلی نر به ویژه در غده پروستات و مایع منی پستانداران در مقایسه با سایر

دچار اختلال می‌شود (۳۵ و ۳۶). همچنین گزارش‌های موجود است مبنی بر این‌که سلول‌های لایدیگ به‌عنوان سلول هدف فاکتورهای مختلفی از جمله وازوپرسین، اینترلوکین - 1 (IGF) و فاکتور محرک سلول‌های سرتولی می‌باشد. بنابراین تخریب سلول‌های لایدیگ هم باعث اختلال در ترشح تستوسترون (مهم‌ترین هورمون جنسی) و هم باعث اختلال در بسیاری از عملکردهای دیگر بیضه می‌شود (۳۶). سلول‌های لایدیگ در برابر عوامل سمی نسبت به سلول‌های ژرمینال بیضه مقاوم‌تر می‌باشند. معمولاً آسیب این سلول‌ها بعد از تخریب اپی‌تلیوم ژرمینال رخ می‌دهد. مکانیسم آسیب سلول‌های لایدیگ پس از شیمی‌درمانی به درستی مشخص نیست. این تخریب ممکن است به‌طور مستقیم رخ دهد اما شواهدی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد آسیب اپی‌تلیوم ژرمینال، کاهش جریان خون بیضه و تغییر کنترل پاراکرین این سلول‌ها به‌طور غیر مستقیم منجر به آسیب آن‌ها می‌شود (۳۷).

در این مطالعه همچنین تعداد ماستوسیت‌های بیضه با مصرف DOX افزایش معنی‌دار نشان داد. برخی از مطالعات اخیر افزایش تعداد ماستوسیت‌ها را در بیضه مردان نابارور نشان داده‌اند و تیمار بیماران با داروهای مهار کننده ماستوسیت‌ها نظیر کتوتیفن موجب بهبود معنی‌دار تعداد اسپرم‌ها و تحرک آن‌ها شده است (۳۸ و ۱۹). بنابراین نقش مست‌سل‌ها در اندام‌های تناسلی مهم به‌نظر می‌رسد. مست‌سل‌ها هیستامین و فاکتورهای التهابی مختلفی تولید می‌کنند (۳۹ و ۴۰) که بعضی شواهد افزایش آن‌ها را با اختلال عمل‌کرد سد خونی-بیضه‌ای مرتبط می‌دانند (۴۱). همچنین افزایش تعداد مست‌سل‌ها با اختلال در اسپرماتوژن، فعال شدن فیبروبلاست‌ها و افزایش سنتز کلاژن همراه بوده، می‌تواند منجر به فیبروز شدن بیضه شود. در حقیقت افزایش تعداد مست‌سل‌ها با افزایش تعداد توبول‌های فیبروزه و اسکروزه (۳۸) و همچنین کاهش تعداد اسپرم همراه است (۴۱ و ۴۲). در سال ۲۰۰۳ Weidinger (۴۳) Cincik (۴۴) در دو مطالعه جداگانه نشان دادند که علاوه بر اثرات مستقیم بر بافت بیضه تریپتاز ناشی از مست‌سل‌ها به‌طور غیرمستقیم بر تحرک اسپرم‌ها نیز تاثیر دارد (۴۳ و ۴۴). Oliva و همکاران (۴۵) نیز نشان دادند که افزایش هیستامین مترشح‌ه از مست‌سل‌ها می‌تواند باعث کاهش تحرک اسپرم‌ها شود. مکانیسم اثر DOX در افزایش تعداد مست‌سل‌ها مشخص نشده است اما بررسی‌های متعددی تاثیر رادیکال‌های آزاد را بر آزاد سازی هیستامین از مست‌سل‌ها نشان داده‌اند (۴۶).

بافتی بیضه را بهبود بخشد. این نتایج می‌تواند زمینه‌ای برای بررسی‌ها و مطالعات جامع‌تر با دوزها و زمان‌های متفاوت باشد که هدف همه آن‌ها در نهایت حل مشکلات ناباروری ناشی از شیمی درمانی در مردان است.

### منابع

- Hou M, Chrysis D, Nurmio M, Parvinen M, et al. Doxorubicin Induces Apoptosis in Germ Line Stem Cells in the Immature Rat Testis and Amifostine Cannot Protect against This Cytotoxicity. *Cancer Res.* 2005; 65(21): 9999-10005.
- Manabe F, Takeshima H, Akaza H. Protecting Spermatogenesis from Damage Induced by Doxorubicin Using the Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Agonist Leuprorelin: An Image Analysis Study of a Rat Experimental Model. *Cancer.* 1997; 79: 1014-21.
- Brougham FH, Kelnar JH, Sharpe M, Wallace B. Male fertility following childhood cancer: current concepts and future therapies. *Asian J Androl.* 2003; 5: 325-337.
- Zanetti SR, Maldonado EN, Avelano MI. Doxorubicin Affects Testicular Lipids with Long-Chain (C18-C22) and Very Long-Chain (C24-C32) Polyunsaturated Fatty Acids. *Cancer Res.* 2007; 67(14): 6973-80.
- Ichihara S, Yamada Y, Kawai Y, Osawa T, et al. Roles of oxidative stress and Akt signaling in doxorubicin cardiotoxicity. *Biochem&Biophys Res Com.* 2007; 359: 27-33.
- Asmis R, Qiao M, Rossi RR, Cholewa J, et al. Adriamycin promotes macrophage dysfunction in mice. *Free Radical Biology & Medicine.* 2006; 41(1): 165-174.
- Yeh Y, Lai H, Ting C, Lee W, et al. Protection by doxycycline against doxorubicin-induced oxidative stress and apoptosis in mouse testes. *BiochemPharmacol.* 2007; 7: 969-980.
- Gewirtz DA. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *BiochemPharmacol.* 1999; 57: 727-741.
- Horenstein MS, Vander Heide RS, L'Ecuyer TJ. Molecular basis of anthracycline-induced cardiotoxicity and its prevention. *Mol Genet Metab.* 2000; 71(1-2): 436-444.
- Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *UrolClin North Am.* 2002; 29: 817- 27.

بافت‌ها و مایعات بدن بسیار بالا می‌باشد (۱۱). این مقدار بالا ممکن است بخاطر اثر حفاظتی این عنصر و آنزیم‌های مربوط به آن در طی اسپرماتوژنز باشد. علاوه بر آن نیاز بیضه به روی در طی بلوغ جنسی و شروع اسپرماتوژنز بیشتر می‌شود. میزان بالای میتوز و مراحل مختلف میوز در لوله‌های منی ساز ممکن است کروموزوم‌ها را نسبت به اثر رادیکال‌های آزاد آسیب پذیرتر کند، بنابراین نیاز به یک سیستم قوی آنتی اکسیدانتی می‌باشد (۵۴). میانگین روی سمن ارتباط بسیار مستقیم با تحرک، زیستایی و مورفولوژی طبیعی اسپرم‌ها، و همچنین میزان کاتالاز دارد (۵۵). کمبود روی سبب آتروفی لوله‌های اسپرم ساز شده و باعث اختلال اسپرماتوژنز در رت‌ها می‌شود (۱۴). سایر آزمایشات نیز تایید نموده‌اند که سطح پایین روی در مایع منی با کاهش باروری ارتباط دارد (۱۱ و ۱۴). Dawei و همکاران (۱۵) اثر نانو اکسید روی را برای محافظت سلول‌ها در برابر آسیب ناشی از اکسیداسیون توسط رادیکال‌های آزاد به صورت *In vitro* بررسی نمودند. در این مطالعه از کشت سلول‌های اپی‌تلیوم روده موش استفاده شد. نتایج نشان داد که استفاده از اکسید روی در مقیاس نانو سبب کاهش معنی‌دار مالون دی‌آلدئید و افزایش معنی‌دار سوپراکساید دیسموتاز و کاتالاز شد. بنابراین در این مطالعه نانو اکسید روی بعنوان یک آنتی اکسیدان قوی توانست سلول‌ها را از آسیب اکسیداتیو محافظت نماید. مطالعه حاضر نیز نشان داد که نانو اکسید روی کارایی کافی برای حفاظت ساختار بیضه در برابر آسیب اکسیداتیو DOX داشته، قادر است پارامترهای هیستولوژیک و مورفولوژیک بیضه را بهبود بخشد.

### نتیجه گیری

عوامل شیمی درمانی اختلالات زیادی در روند اسپرماتوژنز ایجاد می‌کنند. امروزه رژیم‌های شیمی درمانی موفق به میزان زیادی بقای بیماران را که از سرطان‌های مختلف مانند سرطان بیضه یا لوسمی رنج می‌برند، افزایش داده است و عمده این افراد بخصوص افراد جوان پس از بهبودی خواهان داشتن فرزند هستند (۵۶). بنابراین اختلالات باروری پس از شیمی درمانی از نظر بالینی اهمیت زیادی دارد. در این مطالعه داروی ضدسرطان DOX موجب کاهش سلول‌های ژرمینال بیضه رت‌های نر شد. همچنین پارامترهای هیستوپاتولوژیک بیضه نظیر شاخص تمایز توبولی و شاخص اسپرمیوژنز کاهش معنی‌دار نشان دادند. استفاده از نانو اکسید روی به عنوان آنتی اکسیدانتی با توان حفاظتی بالا توانست کاهش سلول‌ها را جبران نموده، پارامترهای

11. Ebisch I, Thomas C, Peters W, Braat D, et al. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum Reprod.* 2007; 13(2): 163-174.
12. Truong-Tran AQ, Ho LH, Chai F, Zalewski PD. Cellular zinc fluxes and the regulation of apoptosis/gene-directed cell death. *J Nutr.* 2000; 130: 1459-1466.
13. Klotz LO, Kröncke K, Buchczyk DP, Sies H. Role of Copper, Zinc, Selenium and Tellurium in the Cellular Defense against Oxidative and Nitrosative Stress. *J Nutr.* 2003; 133:1448-1451.
14. Hammadeh M, Filippou A, Hamad M. Reactive Oxygen Species and Antioxidant in Seminal Plasma and Their Impact on Male Fertility. *IJFS.* 2009; 3(3): 87-110.
15. Dawei A, Zhisheng W, Anguo Z. Protective Effects of Nano-ZnO on the Primary Culture Mice Intestinal Epithelial Cells in in vitro Against Oxidative Injury. *Int J Nanotech Appli.* 2009; 3:1-6.
16. Griffiths NM, Stewart RD, Robinson MF. The metabolism of [75Se] selenomethionine in four women. *Br J Nutr.* 1976; 35:373-382.
17. Schrauzer GN. Selenomethionine and selenium yeast: appropriate forms of selenium for use in infant formulas and nutritional supplements. *J Med Foods.* 1998; 1:201-206.
18. Zhang J, Wang X, Xu T. Elemental selenium at nano size (Nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with se-methylselenocysteine in mice. *Toxicol Sci.* 2008; 101(1):22-31.
19. Rezvanfar MA, Sadrkhanlou RA, Ahmadi A, Shojaei-Sadee H, et al. Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. *Human & Experimental Toxicology.* 2008; 27: 901-910.
20. Porter KL, Shetty G, Shuttlesworth GA, Weng CCY. Estrogen enhances recovery from radiation-induced spermatogonial arrest in testes. *J Androl.* 2009; 30(4): 440-451.
21. Baumgartner A, Schmid TE, emeli EC, Anderson D. Parallel evaluation of doxorubicin-induced genetic damage in human lymphocytes and sperm using the comet assay and spectral karyotyping. *Mutagenesis.* 2004; 19: 313-318.
22. Parvinen LM, Ehdetie J, Parvinen M. Disease, metabolism, and reproduction in the toxic response to drugs and other chemicals. *Arch Toxicol.* 1987; 7: 128-139.
23. Van Keulen CJ, de Rooij DG. Spermatogenic clones developing from repopulating stem cells surviving a high dose of an alkylating agent. *Cell Tissue Kinet.* 1975; 8(6): 543-51.
24. Lee K, Frame SR, Sykes GP, Valentin R. Testicular degeneration and spermatid retention in young male rats. *Toxicologic Pathology.* 1993; 3: 290-302.
25. Clermont Y, Hermo L. Spermatogonial stem cells in the albino rat. *Am J Anat.* 1975; 142(2):159-75.
26. Akhondi MM, AkbarzadehNajar R, Jedit-Tehrani M, Sadeghi MR, et al. The Effect of Human Chorionic Gonadotropin Treatment on Recipient Mouse Germ Cell Proliferation Following Spermatogonial Stem Cell Transplantation of Neonatal Donor Mice. *Avicenna J of Med Biotech.* 2010; 2 (1).
27. Marvin L, Shetty M, Shetty G. Inhibition of Spermatogonial Differentiation by Testosterone. *J Androl.* 2003; 24(2).
28. Shinohara T, Orwig KE, Avarbock MR, Brinster RL. Restoration of spermatogenesis in infertile mice by sertoli cell transplantation. *Biol Reprod.* 2003; 68(3): 1064-71.
29. Vecino P, Uranga JA, Arechaga J. Suppression of spermatogenesis for cell transplantation in adult mice. *Protoplasma.* 2001; 217(4): 191-8.
30. Aich S, Manna CK. Histophysiological changes of the testicular tissue due to busulphan administration in the wild Indian house rat. *Acta Biol Hung.* 2001; 52 (1): 105-16.
31. Takahashi H, Tainakav H, Umezawa M, Takeda K et al. Evaluation of testicular toxicology of doxorubicin based on microarray analysis of testicular specific gene expression. *J Toxicol sciences.* 2011; 36(5): 559-567.
32. Nambu A, Kumamoto Y, Mikuma N. Effects of anti-cancer agents on cultured rat Sertoli cells. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi.* 1995; 86(6): 1132-6.
33. Brilhante O, Stumpp T, Miraglia SM. Long-term testicular toxicity caused by doxorubicin treatment during pre-pubertal phase. *Int J Medicine and Medical Sciences.* 2011; 3(2): 52-60.
34. Howell SJ, shalet SM. Testicular function after chemotherapy. *Hum reprod update.* 2001; 7(4): 363-369.
35. Al-hazmi E, Shaker S, Al-sagaff S, Koraium S. Histological changes of testis in mice after administration of Doxorubicin HCL (Adriblastina) cytotoxic drug. *Proc 2<sup>nd</sup> Saudi sci conf.* 2005; 1425: 99-117.

36. Benahmad ME, Tabone J, Zaes JM. Role of sertoli cells in leydig cell function. *InsermColloqu*. 2004; 123: 363-385.
37. Howell SJ, Radford JA, Ryder WDJ, Shalet SM. Testicular Function after Cytotoxic Chemotherapy: Evidence of Leydig Cell Insufficiency. *J Clinical Oncology*. 1999; 17(5):1493-1498.
38. Yamanaka K, Fujisawa M, Tanaka H, Okada H et al. Significance of human testicular mast cells and their subtypes in male infertility. *Hum reprod*. 2000; 15(7): 1543-1547.
39. Gaytan F, Carrera G, Pinilla F, Aguilar R, et al. Mast cells in the testis, epididymis and accessory glands of the rat: effects of neonatal steroid treatment. *J Androl*. 1989; 10(5): 350-358.
40. Han JY, Horie Y, Miura S, Akiba Y. Compound Danshen injection improves endotoxin-induced microcirculatory disturbance in rat mesentery. *World J Gastroenterol*. 2007; 13(26): 3581-3591.
41. Hashimoto J, Nagai T, Takaba H, Yamamoto M, et al. Increased mast cells in the limiting membrane of seminiferous tubules in testes of patients with idiopathic infertility. *Urol Int*. 1988; 43:129-132.
42. Roaiah MMF, Khatab H, Mostafa T. Mast cells in testicular biopsies of azoospermic men. *Androl*. 2007; 39(5): 185-189.
43. Weidinger S, Mayerhofer A, Frungieri MB, Meineke V, et al. Mast cell-sperm interaction: evidence for tryptase and proteinase-activated receptors in the regulation of sperm motility. *Hum Reprod*. 2003; 18(12): 2519-2524.
44. Cincik M, Sezen SC. The mast cells in semen: their effects on sperm motility. *Androl*. 2003; 49(4): 307-11.
45. Oliva A, Multigner L. Ketotifen improves sperm motility and sperm morphology in male patients with leukocytospermia and unexplained infertility. *FertilSteril*. 2006; 85: 240-243.
46. Mannaioni PF, Di Bello MG, Raspanti S, Mugnai L, et al. Activation of xenobiotics into free radicals by prostaglandin-H-synthase and by rat liver microsomes. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res*. 1995; 23: 215-7.
47. Vendramini V, Sasso-Cerri E, Miraglia SM. Amifostine reduces the seminiferous epithelium damage in doxorubicin-treated prepubertal rats without improving the fertility status. *ReprodBiol&Endocrin*. 2010; 8:3.
48. ShalizarJalali A, Hassanzadeh Sh, Malekinejad H. Chemoprotective effect of *Crataegusmonogyna* aqueous extract against cyclophosphamide-induced reproductive toxicity. *Veter Res Forum*. 2011; 2(4) 266 - 273.
49. Hosseini A, Ahmadi A, GhaderiPakdel F, Zare S. Effects of chronic low- dose treatment with cyclophosphamide on the rat testis. *PhysiolPharmacol*. 2011; 15(3): 351-360.
50. Cao L, Leers-Sucheta S, Azhar S. Aging alters the functional expression of enzymatic and non-enzymatic anti-oxidant defense systems in testicular rat Leydig cells. *J Steroid BiochemMol Biol*. 2004; 88(1): 61-7.
51. Lindi L, Haolin C, Michael A, Trush MD, et al. Aging and the Brown Norway Rat Leydig Cell Antioxidant Defense System. *J Androl*. 2005; 22: 32-37.
52. Debnath D, Mandal TK. Study of quinalphos (an environmental oestrogenic insecticide) formulation (Ekalux 25 E.C)-induced damage of the testicular tissues and antioxidant defense system in Sprague-Dawleyalbino rats. *J ApplToxicol*. 2000; 20: 197-204.
53. Favier AE. The role of zinc in reproduction: Hormonal mechanisms. *Biol Trace Elem Res*. 1992; 32: 363-382.
54. Oldereid NB, Thomassen Y, Purvis K. Selenium in human male reproductive organs. *Hum Reprod*. 1998; 13: 2172-2176.
55. Alavi-Shoushtari SM, AsriRezai S, Ansari MH, Khaki A. Effects of the Seminal Plasma Zinc Content and Catalase Activity on the Semen Quality of Water Buffalo (*Bubalusbubalis*) Bulls. *Pak J Biol Sci*. 2009; 12: 134-139.
56. Mohamadghasemi F, Faghani M, Fallahkarkan M. The Protective Effect of Melatonin on Sperm Parameters, Epididymis and Seminal Vesicle Morphology in Adult Mouse Treated with Busulfan. *J Iranian Anatomical Sciences*. 2010; 8: 25-36.

## Protective Effect of Nano-Zinc Oxide on Histological Parameters of Testis Following Doxorubicin Treatment

Badkoobeh P. Ph.D.<sup>1</sup>, Parivar K. Ph.D.<sup>1</sup>, Kalantar S.M. Ph.D.<sup>2\*</sup>, Hosseini S.D. Ph.D.<sup>3</sup>,  
Salabat A. Ph.D.<sup>4</sup>

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Research and Clinical Center for infertility, Shahid Sadoughi Medical Science University, Yazd, Iran
3. Razi Vaccine & Serum Research Institute, Central Area Branch, Arak, Iran
4. Chemistry Department, Arak University, Arak, Iran

\* Email corresponding author: smkalantar@yahoo.com

Received: 13 Jun. 2012

Accepted: 3 Sep. 2012

---

### Abstract

**Aim:** Doxorubicin (DOX) is one of the most widely used antineoplastic drugs although it is toxic for different parts of the body like reproductive organs. The aim of this study was to investigate the protective effect of nano-Zinc oxide on doxorubicin-induced reproductive toxicity.

**Material and Methods:** Adult male Wistar rats were divided in four groups including one control and three experimental groups. The control group received Saline (i.p). The experimental groups received Doxorubicin (6 mg/kg), nano-Zinc oxide (5 mg/kg) and Doxorubicin following nano-Zinc oxide respectively. Treatment was performed for 3 days. 28 days after treatment, histological changes in testis were assessed.

**Results:** The DOX group showed disintegrated germinal epithelium, hypoplasia and deformation of cells, and increased interstitial space. Spermatocyte, spermatid and spermatozoid numbers as well as Leydig cell numbers were reduced. Also Dox increased the number of sloughing tubules while it decreased tubule differentiation index (TDI) and spermiation index (SPI). Nano-Zinc oxide treatment resulted in significant improvement of DOX-induced disorders.

**Conclusion:** The protective effect of nano-Zinc Oxide is illuminated in DOX-induced male reproductive system toxicity.

**Keywords:** Doxorubicin, Male reproductive system, Spermatid