Pejouhesh dar Pezeshki (i.e., Research in Medicine) **Original Article**

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2022; Vol. 46; No. 3

Combined Effect of Biolux-H and Zinc Supplementation on Spermatogenesis and the Expression of DAZL and AR Genes in Rat Testicular Tissue

Kiandokht Koohestanian[1], Jina Khayatzadeh[1*], Mohhamad Mahdi Forghanifard[2], Alireza Ghoreifi[3], Saeedeh Zafar Balanezhad[1]

1. Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.
2. Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
3. Institute of Urology, Norris Comprehensive Cancer Center, University of Southern California, Los Angeles, CA, USA.

Received: December 06, 2020; Accepted: April 17, 2022

Abstract

Background and Aim: Fertility in men includes the ability to produce a sufficient number of normal sperm. Several factors affect the schermatogenesis-quality of sperm parameters. These factors include the use of certain chemical drugs, such as zinc and bioluxax-H (a combination of losartan + hydrochlorothiazide), common drugs used to treat hypertension. The present study was carried out to investigate the effect of these drugs on spermatogenesis and the expression of Dogen on its effect in rat testis.

Methods: In the present experimental study, 32 Wistar rats were randomly divided into four groups (n= 8): Group I (control) received distilled water, Group II (Lnh) was treated with Lnh (losartan and hydrochlorothiazide) (20/5 mg/kg BW/day, Group III (Zn) was treated with the Zn (Zinc gluconate, 30mg/kg BW/day, and Group IV (LnhZn) was treated with Lnh and Zn at the same doses. Treatment was continued in all groups for 60 days. After the treatment, testicular tissue, sperm parameters, and AR and Dazl genes expression in the rats were investigated.

Results: In Lnh group, a significant decrease in spermatid cell count (34.1 ± 1.8) was observed as compared to the controls. In Zn group, all factors were similar to those in the control group and spermatocyte count (75.11 ± 1.3) and Sertoli cells (14.62 ± 3.4) increased in these groups compared to those of the controls; however, this increase was observed only in the number of spermatocytes ($p < 0.05$). Also, the LnhZn group had similar results in all factors compared to the control group. Moreover, the expression of AR (0.0048 ± 0.001) and DAZL (0.008 ± 0.006) genes in the Lnh region was significantly reduced compared to that in the control group (1 ± 0.04) (p= 0/05). AR gene showed increased expression in Zn (1.247 ± 0.073) and LnhZn (1.354 ± 0.224) groups compared to the controls. In addition, DAZL gene in Zn experimental groups (1.68 ± 0.4) and LnhZn (1.58 ± 0.54) showed a significant increase ($p < 0/05$).

Conclusion: The use of zinc supplementation improved the side effects of Bioluxax-H on sperm quality.

Keywords: Losartan-hydrochlorothiazide; Zinc; Spermatogenesis

Please cite this article as: Koohestanian K, Khayatzadeh J, Forghanifard MM, Ghoreifi A, Zafar Balanezhad S. Combined Effect of Biolux-H and Zinc Supplementation on Spermatogenesis and the Expression of DAZL and AR Genes in Rat Testicular Tissue. Pejouhesh dar Pezeshki. 2022;46(3):73-83.

[*]**Corresponding Author:** Jina Khayatzadeh; Email: J.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی-پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۶، شماره ۳، سال ۱۴۰۱ شمسی، صفحات ۷۳ تا ۸۳

اثر توأم داروی بایولوزاکس- اچ و مکمل زینک برروند اسپرماتوژنز و میزان بیان ژن‌های DAZL و AR در بافت بیضه موش صحرایی

کیاندخت کوهستانیان[۱]، جینا خیاط زاده[۱*]، محمدمهدی فرقانی فرد[۲]، علیرضا غریفی[۳]، سعیده ظفربالانژاد[۱]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.
۲- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.
۳- موسسه اورولوژی، مرکز جامع سرطان نوریس، دانشگاه کالیفرنیای جنوبی، لس آنجلس، کالیفرنیا، ایالات متحده آمریکا.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۸

خلاصه

سابقه و هدف: باروری در مردان شامل توانایی تولید اسپرم نرمال به تعداد کافی است، عوامل متعددی در روند اسچرماتوژنز و کیفیت پارامترهای اسپرم تاثیرگذار است. از این عوامل می‌توان به مصرف بعضی داروهای شیمیایی ازجمله زینک و بایولوزاکس– اچ (ترکیب لوزارتان + هیدروکلروتیازید) از داروهای رایج در درمان فشار خون اشاره کرد. پژوهش حاضر به بررسی اثر این داروها براسپرماتوژنز و بیان دوژن مؤثر بر آن در بیضه رت پرداخته است.

روش کار: در این مطالعه تجربی۳۲ سر موش نژاد ویستار ۱۰-۱۲ هفته‌ای تهیه و به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شد (n= ۸). گروه شاهد دریافت آب مقطر، گروه تیمار بایولوزاکس– اچ (Lnh) با ترکیب (۵۰/۱۲/۵ گرم/کیلوگرم وزن بدن از هیدروکلروتیازید ولوزارتان) و گروه تیمار روی (Zn) با (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) وگروه (LnhZn) (۲۰ میلی‌گرم بایولوزاکس- اچ + روی) به صورت توام و به روش (مری- معده ای) و به مدت ۶۰ روز، ادامه یافت.پس از اتمام دوره، بافت بیضه، پارامترهای اسپرمی و میزان بیان ژن‌های AR و DAZL در تمامی گروه‌ها بررسی شد. تحلیل واریانس یک طرفه آنوا و آزمون‌های توکی انجام شد.

یافته‌ها: در گروه Lnh کاهش معنادار در تعداد سلول‌های اسپرماتید(۸/۱ ± ۳۴/۱) در مقایسه با کنترل مشاهده شد. در گروه Zn، همه عوامل مشابه گروه کنترل بودند و تعداد اسپرماتوسیت ها (۱/۳ ± ۷۵/۱۱) و سلول‌های سرتولی (۳/۴ ± ۱۴/۶۲) در این گروه‌هادر مقایسه با کنترل افزایش یافت اما این افزایش تنها در تعداد اسپرماتوسیت‌ها به صورت معنادار مشاهده شد. (p<۰/۰۵) گروه LnhZn نتایج مشابهی را در تمام عوامل در مقایسه با گروه کنترل داشت، همچنین بیان ژن‌های AR (۰/۰۰۱ ± ۰/۰۰۴۸) و DAZL (۰/۰۰۶ ± ۰/۰۰۸) درگروه Lnh نسبت به کنترل (۰/۰۴ ± ۱)کاهش معنادار داشت (p=۰/۰۵). ژن AR در گروه Zn (۰/۰۷۳ ± ۱/۲۴۷) و LnhZn (۰/۲۲۴ ± ۱/۳۵۴) در مقایسه با کنترل افزایش بیان را نشان داد و ژن DAZL نیز در گروه‌های تجربی Zn با مقدار (۰/۴ ± ۱/۶۸) و گروه LnhZn (۰/۵۴ ± ۱/۵۸) افزایش را به صورت معنادار نشان داد (p<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد استفاده از مکمل روی سبب بهبود عوارض ناشی از مصرف بایولوزاکس- اچ بر کیفیت اسپرم شد.

واژگان کلیدی: لوزارتان– هیدروکلروتیازید؛ زینک؛ اسپرماتوژنزیز

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Koohestanian K, Khayatzadeh J, Forghanifard MM, Ghoreifi A, Zafar Balanezhad S. Combined Effect of Biolux-H and Zinc Supplementation on Spermatogenesis and the Expression of DAZL and AR Genes in Rat Testicular Tissue. Pejouhesh dar Pezeshki. 2022;46(3):73-83.

*نویسنده مسئول مکاتبات: جینا خیاطزاده؛ آدرس پست الکترونیکی: J.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

CC BY NC

مقدمه

سازمان جهانی بهداشت (WHO)، ناباروری را به عنوان یک مشکل پزشکی جهانی معرفی کرده است. بروز ناباروری می‌تواند اولیه و یا ثانویه باشد. حدود ۴۰-۳۰ درصد از موارد ناباروری مربوط به فاکتورهای اختصاصی مردانه، ۵۰-۴۰ درصد مربوط به فاکتورهای اختصاصی زنانه و ۳۰-۱۰ درصد از موارد باقی‌مانده مربوط به فاکتورهای اختصاصی هر دو جنس و یا با علت نامشخص است، ناباروری مردان یک سندرم چند فاکتوری است که در بیش از نیمی از موارد، علت آن نامشخص است. عوامل ژنتیکی ممکن است در جمعیت بزرگی از زوج‌های نابارور دخیل باشد (۱). بیضه به عنوان یک غده با دو کارکرد در نظر گرفته می‌شود: اول ترشحات ا ند وکرین و اگزوکرین توسط سلول‌های سوماتیک آن است که منجر به تشکیل اجزای مایع منی و تستوسترون می‌شود. کارکرد دوم شامل بلوغ سلول‌های جنسی و تولید اسپرم است که به عنوان اسپرماتوژنز نامیده می‌شود. این عملکرد نیازمند ارتباط صحیح سلول‌های ژرمینال با سلول‌های سوماتیک هم است. به نظر می‌رسد اختلال در میزان بیان و موتاسیون هریک از ژن‌های مؤثر در اسپرماتوژنز یا اسپرمیوژنز، بتواند سبب ناباروری مردان شود (۲). یکی از عوامل موثر در نقص عملکرد سیستم اسپرماتوژنز، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ROS (Reactive Oxygen Species) است. پژوهش‌های فراوانی نشان دادند که ROS احتمالاً با اکسیداسیون پروتئین‌ها و DNA اسپرم و به دنبال آن تغییر مورفولوژی اسپرم و به طور کلی کاهش کیفیت و عملکرد اسپرم نقش اساسی دارد. از آنجا که افزایش ROS در اختلالات اسپرم مشاهده شده است، مصرف خوراکی آنتی‌اکسیدان‌ها به طور بالقوه می‌تواند یکی از راه‌های مقابله با این آسیب‌ها باشد و طبق نتایج پژوهش‌های بسیار دیده شده که روی در کنار سایر آنتی اکسیدان‌ها و ویتامین‌های موثر در روند اسپرم‌زایی توانسته نقش بسیار مؤثری در بهبود پارامترهای اسپرم بداشته باشد. با توجه به نتایج پژوهش‌ها در زمینه اثر روی در بهبود روند اسپرماتوزنز در این پژوهش روی در دو گروه توام با دارو و به تنهایی در نظر گرفته شد تا بهتر بتوان میزان تاثیرآن را بررسی کرد (۳، ۴، ۵).

امروزه مطالعات بسیاری در زمینه ارتباط بین هایپرتانسیون و فعالیت جنسی سالم در مردان انجام شده و در ارتباط با تاثیر داروهای کاهش دهنده فشارخون بر فعالیت و کیفیت باروری مردان یافته‌های ضد و نقیضی منتشر شده است (۶).

مطالعات اخیر در این زمینه نشان داد که پارامترهای عملکردی تولید مثلی و اختلالات اسپرماتوژنز در افراد با بیماری‌های مزمنی از جمله فشارخون بالا در اثر استفاده از داروهای تاثیرگذار بر روی محور هیپوتالاموسی- هیپوفیزی- گنادی (HPG) و آنژیوتانسین II که از جمله داروهای دسته (ACE) و (ARB) هستند، دیده شده است. این نتایج همچنین نشان می‌دهد که Ang II از طریق گیرنده‌های خود رفتار غدد درون ریز را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد. آنژیوتانسین II یک پپتید است و نقش مهمی در تنظیم فشار خون بالا و همچنین عملکرد تولید مثلی دارد. از این رو تحقیق در زمینه گروه‌های دارویی (ARB) از جمله لوزارتان و مشتقات آن برای مثال بایولوزاکس- اچ (ترکیب لوزارتان و هیدروکلروتیازید) و سایر بلوک کننده‌های گیرنده Ang II به عنوان داروهای خط اول برای درمان فشارخون بالا و تاثیرات آن بر اسپرماتوژنز، در جهان امروز با توجه به روند افزایشی سن مردان برای فرزندآوری بهتر است قبل از اقدام به باروری در گروه مصرف کننده این داروها مورد بررسی‌های بیشتر قرار گیرد (۷، ۸).

لوزارتان یک مهارکننده گیرنده آنژیوتانسین (ARB) است. مهار آنژیوتانسین II سبب اثرات مختلف از جمله اتساع عروق، کاهش وازوپرسین و کاهش تولید در ترشح آلدوسترون می‌شود که نتیجه آن کاهش فشار خون است ، ترکیب لوزارتان با هیدروکلروتیازید (ادرار آور) سبب کاهش سریع تر میزان فشار خون ااز طریق افزایش ادرار در افراد هایپرتانسیون خواهد شد (۹).

در حال حاضر مکانیسم‌های مختلف ژنتیکی و اپی ژنتیک و اهمیت آنها در کنترل بیان ژن‌ها به خصوص در زمان تغییر

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

شرایط سلول همچون مراحل تشکیل سلول‌های زایا ، تشکیل تخم ، تکوین جنین و تمایز بیش از پیش شناخته شده است. شناخت بیشتر ارتباط موجود بین این مکانیسم‌ها و نقش آنها در بروز تغییرات ساختاری و عملکردی در سطح ژنوم می‌تواند اطلاعات قابل توجهی در خصوص الگوی مولکولی در روند اسپرماتوژنز در اختیار ما قرار دهد (۱۰).

ژن DAZL از مجموعه ژن‌هایی است که به طور اختصاصی در سلول‌های جنسی بیضه مردان بالغ رونویسی و بیان می‌شود و نهایتاً محصول آن یک پروتئین متصل شونده به RNA است. ژن‌های DAZL چون در تمام مراحل تکامل مربوط به سلول‌های جنسی بیان می‌شوند، بنابراین نقش بسیار مهمی در فرایند اسپرماتوژنز ایفا می‌کنند.

تغییرات در ژن AR (رسپتور آندروژن)، به دو دلیل مورد توجه است؛ اول اینکه ژن AR بر روی کروموزوم X قرار دارد، بنابراین به صورت همی زیگوت توسط مردان حمل شده و از زنان ناقل سالم به ارث می رسد. دلیل دوم اینکه آندروژن‌ها اثر مستقیمی بر روند رشد و نمو اسپرم دارند. تا کنون تعدادی موتاسیون در ژن AR مرتبط با ناباروری مردان کشف شده است. (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴).

با توجه به چند عاملی بودن ناباروری مردان و نقش موثر عوامل ژنتیکی و محیطی مختلف در ایجاد آن لازم است در مطالعات مربوط به این بیماری سایر ژن‌ها و تاثیر متقابل آنها بر یکدیگر نیز بررسی شود.

تمایز نهایی اسپرماتیدها و جدا شدن آنها از اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم ساز، وابسته به گیرنده آندروژن است. در ضمن پیشرفت اسپرماتیدهای کروی به مرحله طویل شدن، به کاهش عملکرد AR سلول‌های سرتولی حساس است (۱۲). از این رو در این پژوهش به اثر لوزارتان هیدروکلروتیازید و روی بر میزان بیان ژن‌های DAZL و AR در بافت بیضه موش صحرایی پرداختیم.

روش کار

در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ با نژاد ویستار (۴ گروه ۸ تایی موش برای تکرار در آزمایش و کاهش درصد خطا) با وزن تقریبی ۳۰۰ ± ۲۵۰ انتخاب شد. تمامی حیوانات در شرایط نوری استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند و به آب و غذا به مقدار کافی دسترسی داشتند. حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی (جهت تکرار) در قالب گروه کنترل و تجربی مطابق پژوهش‌های مشابه در این زمینه تقسیم شدند(۳۲، ۲۵)، معیارهای خروج از مطالعه شامل: اندازه غیر ظبیعی بیضه‌ها، سن و وزن بود و برای ورود به پژوهش سالم و نرمال بودن فیزیولوژی موش‌ها در نظر گرفته شد. در گروه کنترل موش‌ها هیچ دارویی دریافت نکردند و تنها به مدت ۶۰ روز با آب مقطر گاواژ شدند اما گروه‌های تجربی شامل ۳: گروه تجربی ۱ (تیمار شده با ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی)، گروه تجربی ۲ (تیمار شده با ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از داروی بایولوزاکس- اچ) و گروه تجربی ۳ (تیمار شده با ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بایولوزاکس- اچ + ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی به صورت توأم) تمام تیمارها به صورت گاواژ و یک مرتبه در روز به مدت ۶۰ روز تکرار شد.

با گذشت مدت زمان تیمار، تمام گروه‌ها توسط کتامین بیهوش شده و سپس کشته و کالبد شکافی شدند. بیضه چپ آنها از بدن جدا شد و وزن بیضه با ترازوی دیجیتال (Sartorius، آلمان) اندازه‌گیری شد، در تمام مدت تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات رعایت شد و کد اخلاق برای انجام این پژوهش دریافت شد (IAU.MSHD.REC.1398.199). در انتها لاشه موش‌ها در کیسه دربسته و فاقد نشت قرار گرفت و روی کیسه تاریخ انجام یوتانزی و نام فرد مسئول نوشته شد. بر روی لاشه عنوان سمی و خطرناک ذکرشد. انتقال لاشه‌ها و معدوم کردن آنها طبق مقررات ارائه شده در منابع علمی معتبر و به روز انجام شد. مقدار100 میلی‌گرم از بافت تازه بیضه برداشته شد و سپس استخراج RNA استفاده از کیت شرکت دنازیست آسیا طبق پروتکل این شرکت

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

انجام شد .پس از انجام بررسی‌های کمی و کیفی RNA، ۲ میکرولیتر از آن برای ساخت cDNA استفاده شد. برای ساخت cDNA از کیت فرمنتاز استفاده شد و تمامی مراحل مطابق پروتکل این کیت انجام شد. از PCR time Real برای سنجش بیان ژن‌های DAZL و AR به عنوان ژن‌های هدف استفاده و بتا اکتین به عنوان ژن ساختمانی برای کنترل داخلی استفاده شد. بیان نسبی ژن‌ها سنجش شد. در بیضه چپ پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین– ائوزین شاخص دهایی از جمله تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، سرتولی، لیدیگ، اسپرماتید و اسپرماتوسیت با میکروسکوپ نوری (Zise Germany) تعیین شد. سپس این یافته‌ها برای هر تکرار و هر تیمار به نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶منتقل شد، آزمون شاپیرو ویلک (Shapiro-Wilk به دلیل حجم نمونه کم) برای مشخص شدن نرمال بودن توزیع متغیرها انجام شد و بعد از اطمینان از نرمال بودن توزیع متغیرها، به منظور تعیین وجود اختلاف معنادار بین گروه‌های شم و تجربی با گروه کنترل و با همدیگر از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

میانگین و انحراف معیار به صورت X ± SD بیان شد. p< ۰/۰۵ مرز استنتاج آماری برای بررسی اختلاف معناداری میانگین بین گروه‌های تجربی و کنترل بود. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار GraphPad prism 8.0 استفاده شد.

یافته‌ها

در بررسی‌های هیستولوژیک بافت بیضه گروه کنترل اسپرماتوژنز فعال در لوله‌های سمینیفروس در مراحل مختلف همراه با اسپرم های بالغ یا در حال بلوغ مشاهده شد. در داخل لوله‌ها رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک در مراحل مختلف تقسیم به همراه سلول‌های سرتولی دیده شدند. همچنین در بافت بینابینی تجمعاتی از سلول‌های لیدیگ به همراه عروق و سایر سلول‌های همبندی مشهود بود. تعداد سلول‌های اسپرماتوگونیا در گروه (LnhZn) با غلظت ۳۰ *mg/kg* از Zn به همراه ۲۰ *mg/kg* از Lnh با مقادیر میانگین و انحراف معیار (۲/۵ ± ۷۴/۸۱) نسبت به گروه کنترل (۵/۷ ± ۶۵/۳۰) افزایش معنادار نشان داد. (p≤ ۰/۰۵) در گروه تجربی با تیمار ۳۰ *mg/kg* روی (۱/۳ ± ۷۵/۱۱) و گروه تجربی با تیمار ۲۰ *mg/kg* از Lnh با مقادیر میانگین و انحراف معیار (۰/۸ ± ۷۳/۶۳) نسبت به گروه کنترل (۴/۰۱ ±۷۰/۲۰) تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت افزایش معنادار نشان داد (p≤ ۰/۰۵).

در مورد سلول‌های االسپرماتید شاهد کاهش معنادار تنها در گروه Lnh (۱/۸ ± ۳۴/۱) نسبت به گروه کنترل (۴/۱ ±۵۰/۷۱) بودیم.

(p ≤ ۰/۰۵) اما درسایر گروه‌ها این تفاوت معنادار نبود. (p >۰/۰۵) سلول‌های لیدیگ درگروه‌های تحت درمان در مقایسه با گروه کنترل تغییری نداشتند ضمن اینکه هیچ‌گونه تفاوت معناداری در تعداد سلول‌های سرتولی هم نسبت به گروه کنترل دیده نشد. (p>۰/۰۵) مطابق با (جدول ۱ میزان دقیق عدد p ذکر شد)

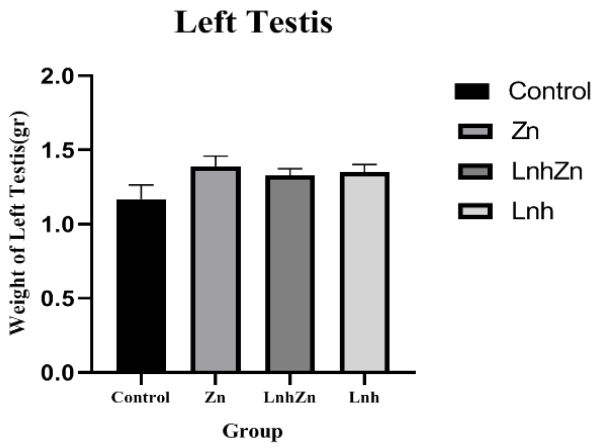
جدول ۱- مقایسه میزان تعداد سلول‌های ژرمینال، سرتولی و لیدیگ در گروه‌های تحت درمان با گروه کنترل

Parameters	Control	Lnh	Zn	LnhZn	P-value
Spermatocyte Cells	70.20 ± 4.01 [a]	73.63 ± 0.8 [b]	75.11 ± 1.3 [b]	72.39 ± 2.2 [ab]	0.003
Leydig Cells	19.45 ± 1.7 [ab]	21.97 ± 2.4 [ab]	21.4 ± 1.5 [ab]	18.79 ± 1.9 [a]	0.007
Sertoli Cells	12.87 ± 2.5 [a]	11 ± 4.03 [a]	14.62 ± 3.4 [a]	10.87 ± 2.6 [a]	0.087
Spermatid Cells	50.71 ± 4.1 [a]	34.1 ± 1.8 [b]	50.75 ± 2.5 [a]	53.12 ± 3.9 [a]	0.001
Spermatogonia Cells	65.30 ± 5.7 [a]	49.11 ± 5.4 [b]	62.72 ± 2.5 [a]	74.81 ± 2.5 [c]	0.001

آزمون همگنی واریانس بین گروه‌ها برقرار استظ و به این منظور در تحلیل واریانس ANOVA از آزمون F و برای مقایسات جفتی Tukey استفاده شد.

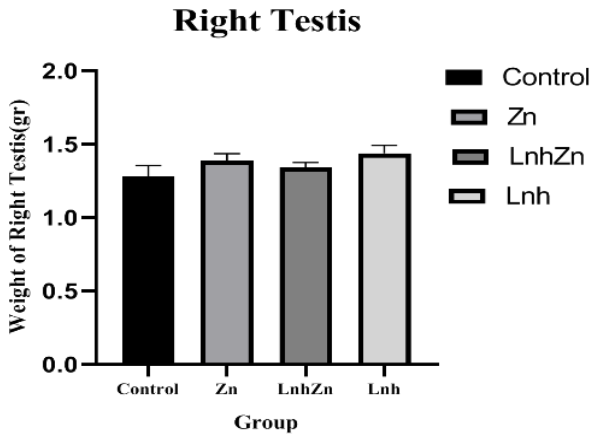
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

مقایسه میانگین وزن بیضه چپ موش‌های صحرایی براساس (نمودار ۱) گروه کنترل (۰/۲۶ ± ۱/۱۷) نسبت به گروه‌های تحت تیمار با zn (۰/۱۹ ± ۱/۳۹)، LnhZn (۰/۱۲ ±۱/۳۳) و گروه Lnh (۰/۱۵ ± ۱/۳۵) با میزان معناداری (p=۰/۳) تفاوت معناداری را نشان نداد (p>۰/۰۵).



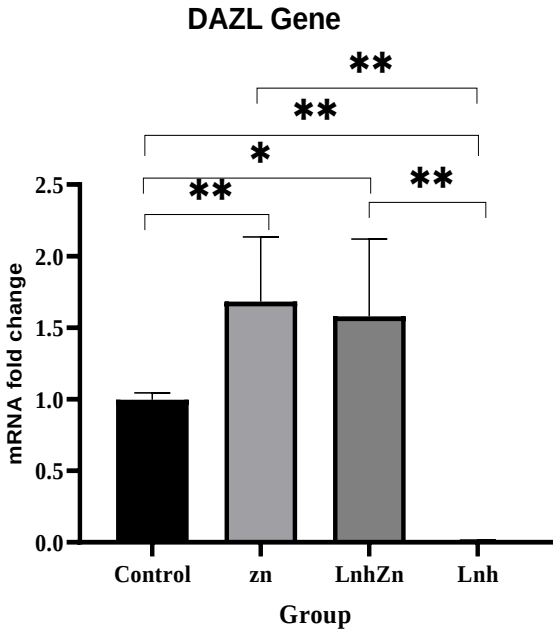
نمودار ۱- مقایسه میانگین وزن بیضه چپ موش‌های صحرایی(گرم) در گروه‌های مورد مطالعه (p≤۰/۰۵)

در مورد وزن بیضه راست نیز همانند بیضه چپ گروه کنترل (۰/۲۱ ± ۱/۲۸) نسبت به گروه‌های تحت تیمار با zn (۰/۱۳ ± ۱/۳۹) LnhZn (۰/۱۰ ± ۱/۳۴) و گروه Lnh (۰/۱۵ ± ۱/۴۴) با میزان معناداری (p=۰/۲۳) تفاوت معناداری را همانند وزن بیضه چپ نشان نداد (p>۰/۰۵) (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه میانگین وزن بیضه راست موش‌های صحرایی(گرم) در گروه‌های مورد مطالعه (p≤۰/۰۵)

در بررسی‌های ژنی نیز مطابق با نمودار (شماره ۳)، مقایسه میزان بیان ژن Dazl در بیضه موش‌های صحرایی دریافت‌کننده Zn (۰/۴ ± ۱/۶۸) دارای افزایش بیان نسبت به گروه کنترل و گروه LnhZn (۰/۵۴ ± ۱/۵۸) نیز افزایش بیان نسبت به گروه کنترل (۰/۰۵ ± ۱/۰) را نشان داد (p=۰/۰۱۴) در حالی که در گروه مصرف‌کننده Lnh (۰/۰۰۶ ± ۰/۰۰۸) این تفاوت به صورت کاهش معنا دار دیده شد (p=۰/۰۰). همچنین تفاوت بین میزان بیان ژن گروه Zn و LnhZn باگروه Lnh نیز معنادار بود (p=۰/۰۰) (نمودار ۳).



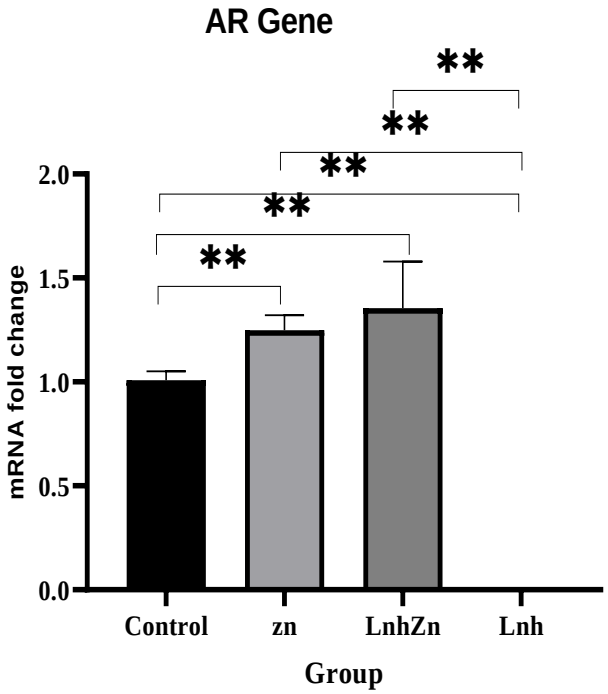
نمودار ۳- مقایسه میانگین بیان ژن Dazl در بیضه موش‌های صحرایی

میله‌های ستاره‌دار، نشانه تفاوت معنادار است (p≤۰/۰۱).

در مورد ژن AR نیز در گروه مصرف‌کننده Zn (۰/۰۷۳ ± ۱/۲۴۷) و LnhZn (۰/۲۲۴ ± ۱/۳۵۴) دارای افزایش بیان نسبت به گروه کنترل (۰/۰۴ ± ۱) است با سطح معناداری به ترتیب (p=۰/۰۰۲) و (p=۰/۰۰) و در گروه مصرف‌کننده Lnh (۰/۰۰۱ ± ۰/۰۰۴۸)، کاهش معنادار دیده شد (p=۰/۰۰) (نمودار ۴) همچنین تفاوت بین میزان بیان ژن گروه Zn (۰/۰۷۳ ±

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

۱/۲۴۷) و گروه LnhZn (۰/۲۲۴ ± ۱/۳۵۴) با Lnh (۰/۰۰۱ ± ۰/۰۰۴۸) نیز معنادار بود (p=۰/۰۰).



نمودار ۴- مقایسه میانگین بیان ژن AR در بیضه موش‌های صحرایی

میله‌های ستاره‌دار، نشانه تفاوت‌های معنادار است (p≤۰/۰۱).

بحث

در طی دهه گذشته شناخت عملکرد تولید مثل مردان و اهمیت عوامل مردانه در ناباروری پیشرفت قابل توجهی پیدا کرده است. بسیاری از مردان نابارور دچار اختلالات قابل اصلاح توسط درمان‌های دارویی هستند که در صورت تشخیص مشکل و درمان دارویی صحیح برطرف می‌شوند و به این وسیله امکان لقاح طبیعی فراهم می‌شود. طبق یافته‌های مطالعه حاضر، ترکیب (لوزارتان + هیدروکلروتیازید) و روی تاثیر مثبتی در بهبود معیارهای آنالیز اسپرم دارد و می‌تواند اثرات سوء داروی مشتق شده از لوزارتان را بر روند اسپرماتوژنز کاهش دهد.

در بررسی‌های مورفولوژی از بافت بیضه رت در این پژوهش مشخص شد که پارامترهایی مثل تعداد سلول‌های لایدیگ، اسپرماتوگونی، اسپرماتید و سلول‌های سرتولی تحت تاثیر تیمار با Biolozax-H به طور معنادار تغییر می‌کند. اسپرماتوژنز فرایند بسیار پیچیده‌ای است که عوامل متعددی می‌تواند بر آن اثر کرده و منجر به ناباروری و یا کاهش باروری در فرد شود. فرایند اسپرماتوژنز شامل مراحل متوالی از جمله : فعال‌سازی سلول‌های اپیتلیوم زایا، بلوغ اسپرم‌ها و مهاجرت آنهاست (۱۵، ۳۰، ۳۱). اگر هر یک از این مراحل تخریب شود سبب زوال باروری می‌شود. روی به عنوان عناصر معدنی مهم و یکی از آنتی‌اکسیدان‌های رایج برای عملکرد طبیعی سیستم تولید مثلی در مردان شناخته شده است که سبب تنظیم بسیاری از آنزیم‌ها و فرایندهای بیوشیمیایی و سیگنال‌های مهم سلولی می‌شود. برای مثال در بسیاری از پژوهش‌ها ثابت شد که روی به عنوان یک عامل ضروری در فعالیت پروتئین‌های ضروری در همانندسازی سلول‌های جنسی در اندام‌های تولید مثلی مردان عمل می‌کند. (۱۶، ۱۵) بر مبنای یافته‌های حاصل می‌توان Zinc را به عنوان یک مکمل دارویی کم خطر برای مردان با مشکلات باروری پیشنهاد کرد، از این رو در این پژوهش به بررسی اثر Zinc در کنار داروی Biolozax-H و نقش آن در پارامترهای اسپرماتوژنز پرداخته شد و مشاهده شد که مصرف همزمان این دو می‌تواند سبب بهبود بسیاری از پارامترهای اسپرمی شود. در حال حاضر مکانیسم‌های مختلف اپی ژنیک و اهمیت آنها در کنترل بیان ژن‌ها به خصوص در زمان تغییر شرایط سلول، شناخت بیشتر ارتباط موجود بین این مکانیسم‌ها و نقش آنها در بروز تغییرات ساختاری و عملکردی در سطح ژنوم می‌تواند راه کارهای مفیدی برای بهبود در روند اسپرماتوژنز در اختیار ما قرار دهد، آندروژن‌ها هورمون های استروئیدی حیاتی هستند که بر خصوصیات ثانویه جنسی و همچنین شروع و نگه‌داری اسپرماتوژنز اثر دارند که اقدامات آنها از طریق گیرنده‌های آندروژن انجام می‌شود که از جمله گیرنده‌های هسته ای هستند. تحقیقات اخیر نشان داد که عملکرد صحیح AR برای ایجاد اسپرماتوژنز نرمال لازم است و ناک اوت ژن AR در ظاهر خصوصیات زنانه از جمله واژن با انتهای کور و فالوس شبیه

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

کلیتوریس ، بیضه به صورت شکمی و اختلال شدید در سلول‌های زایا همراه است (۱۷، ۱۸، ۱۹).

AR جهش یافته و یا ناقص از لحاظ عملکرد با بیماری‌هایی نظیر سرطان پروستات، سرطان بیضه و سندرم تخمدان پلی کیستیک مرتبط است. گرچه صدها موتاسیون در ژن AR و در بیماری‌های مختلف گزارش شده‌اند ، اما اطلاعات اندکی از اثر داروهای مختلف بر این ژن ومیزان بیان آن در مردان گزارش شده است (۱۷، ۲۰).

در سال ۲۰۰۴، Cabral و همکاران، ۱۹۲ فرد مبتلا به سرطان پروستات را از نظر جهش ناحیه پروموتور و 5UTR ژن AR مورد بررسی قرار دادند (۲۱). در پژوهش دیگر Crocitto و همکاران نیز در همین زمینه در سال ۱۹۹۷ بر روی جهش‌های ژن AR مطالعه کردند و موفق به شناسایی دو جهش نقطه‌ای در این ژن در افراد مبتلا به سرطان پروستات شدند (۲۲).

Russell و همکاران نشان دادند که از دست دادن AR در سلول‌های مختلف بیضه سبب اختلال در روند اسپرماتوژنز می‌شود. با اختلال در عملکرد سلول‌های سرتولی، ایست اسپرماتوژنز در مرحله دیپلوتن که مرحله اولیه اسپرماتوسیت و قبل از تقسیم میوز ۲ است (۲۳، ۲۴).

در سال ۲۰۱۳، Hazra و همکارانش نشان دادند که بیان بیش از اندازه از گیرنده‌های آندروژنی در سلول‌های سرتولی (tgSCAR) می‌تواند منجر به بلوغ زودرس سلول‌های سرتولی و در نهایت کاهش نهایی تعداد سلول‌های زایا خواهد شد (۲۵، ۲۶).

اخیراً در پژوهشی که توسط berg و همکارانش در سال ۲۰۱۴ انجام شد، نیافته‌های حاصل از آن نشان داد که یکی از عوامل انتقال روی بر روی گیرنده AR تحت عنوان (Zip9) وجو دارد، تا امروز فقط تعداد بسیار کمی گزارش وجود دارد که به نقش Zip9 موجود در گیرنده‌های آندروژن در سلول‌های سرتولی و نقش آن در اسپرماتوژنز اشاره کرده است (۲۷، ۲۸).

مطالعات نشان داده که وقتی AR به طور اختصاصی در سلول‌های سرتولی وجود نداشته باشد، سلول‌های سرتولی نابالغ باقی خواهند ماند، پروسه اسپرماتوژنز بسیار کند پیش خواهد رفت و میوز رخ نمی‌دهد و در نهایت منجر به ناباروری می شود. که این یافته‌ها مشابه با یافته‌های پژوهش حاضر به تاثیر مثبت آنتی اکسیدان زینک بر روند پروسه اسپرماتوژنز در پارامترهای اسپرمی و از جمله افزایش میزان بیان ژن AR در گروه زینک نسبت به کنترل و همچنین کاهش اثر سوء مصرف داروی Lnh را در هم‌افزایی با zn اشاره دارد.

در سال ۲۰۰۱ یک مطالعه مداخله‌ای توسط Mifsud و همکارانش نشان داد که پیشرفت سرطان پروستات در افرادی که داروهای مسدود کننده گیرنده آنژیوتانسین II مصرف می‌کنند به دلیل کاهش سطح آنتی ژن‌های اختصاصی پروستات prpstat –specific antigen (PSA) سرم در مقایسه با گروه کنترل و گروه دارونما کمتر بوده است (۲۹). ژن DAZL یک همولوگ اتوزومال DAZ است. در نتیجه DAZL همیشه به عنوان کاندیدای مهم ناباروری مردان دیده می‌شود. DAZL این ژن در سلول‌های جنسی قبل و بعد از تولد بیان می‌شود و نقش مهمی در کنترل سیستم میوز و حفظ تعادل سلول‌های جنسی دارد. نشان داده شده است که حذف این ژن حتی می‌تواند منجر به آزواسپرمی یا الیگوسپرمی شود. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین E و کارنیتین می‌تواند بیان ژن‌های مربوط به DAZL را تحریک کند و سبب افزایش تحرک اسپرم و کیفیت کروماتین شود (۲۵، ۲۶). بنابراین در مطالعه حاضر، افزایش بیان این ژن در گروه‌های تجربی LnhZn و گروه Zn را می‌توان به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی روی موجود در این ترکیب دانست .با توجه به نتایج و شواهد موجود و در نظر گرفتن مصرف بی عارضه قرص روی در بیماران با مشکل فشار خون و مصرف کننده داروهای بلاک کننده گیرنده آنژیوتانسین II، شاید بتوان از این ترکیب دارویی برای درمان ناباروری غیر قابل توجیه و گاهی حتی بدون علت مردان یا قبل از به کار گرفتن روش‌های کمک باروری مثل ICSIو IUI استفاده کرد و عوارض احتمالی این گروه از داروها را به حداقل رساند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

نتیجه‌گیری و پیشنهادات

ترکیب (لوزارتان + هیدروکلروتیازید) و روی تاثیر مثبت به خصوص در میزان بیان ژن AR و همچنین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونیا نسبت به گروه کنترل و سایر گروه‌های تجربی دارد اما از آنجا که این تحقیق بر روی موش‌های سالم انجام شده است، لازم است مطالعاتی با گروه‌هایی که شامل موش‌ها با مشکلات مختلف باروری هستند نیز انجام گیرد، همچنین مطالعاتی در زمینه بررسی ننقش (لوزارتان + هیدروکلروتیازید) بر میزان بیان ژن ها AR و DAZL بر بافت اپیدیدیم بیضه برای بررسی‌های دقیق تر اثر این دارو توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دانشکده علوم دانشگاه آزاد واحد مشهد و همچنین گروه محترم زیست‌شناسی این دانشکده به دلیل حمایت در پروسه انجام این پژوهش قدردانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات رعایت شد و کد اخلاق برای انجام این پژوهش دریافت شد (IAU.MSHD.REC.1398.199).

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

References

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, De Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Van der Poel S. The international committee for monitoring assisted reproductive technology (ICMART) and the world health organization (WHO) revised glossary on ART terminology, 2009. Human reproduction. 2009 Nov 1;24(11):2683-7.

2. Hecht NB. The making of a spermatozoon: a molecular perspective. Developmental genetics. 1995;16(2):95-103.

3. Sinclair S. Male infertility: nutritional and environmental considerations. Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic. 2000 Feb 1;5(1):28-38.

4. Nadjarzadeh A, Sadeghi MR, Amirjannati N, Vafa MR, Motevalian SA, Gohari MR, Akhondi MA, Yavari P, Shidfar F. Coenzyme Q10 improves seminal oxidative defense but does not affect on semen parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: a randomized double-blind, placebo controlled trial. Journal of endocrinological investigation. 2011 Sep;34(8):e224-8.

5. Lombardo F, Sansone A, Romanelli F, Paoli D, Gandini L, Lenzi A. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility: an overview. Asian Journal of andrology. 2011 Sep;13(5):690.

6. Doumas M, Douma S. The effect of antihypertensive drugs on erectile function: a proposed management algorithm. The journal of clinical hypertension. 2006 May;8(5):359-63.

7. Ueda T, Kai H, Imaizumi T. Losartan/hydrochlorothiazide combination vs. high-dose losartan in patients with morning hypertension—a prospective, randomized, open-labeled, parallel-group, multicenter trial. Hypertension Research. 2012 Jul;35(7):708-14.

8. Uchiwa H, Kai H, Iwamoto Y, Anegawa T, Kajimoto H, Fukuda K, Imaizumi T, Fukumoto Y, MAPPY Study Investigators. Losartan/hydrochlorothiazide combination is safe and effective for morning hypertension in Very-Elderly patients. Clinical and experimental hypertension. 2018 Apr 3;40(3):267-73.

9. Bolat D, Oltulu F, Uysal A, Kose T, Gunlusoy B, Yigitturk G, Turk NS, Turan T. Effects of losartan on experimental varicocele-induced testicular germ cell apoptosis. Andrologia. 2016 Sep;48(7):840-6.

10. Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. Fertility and sterility. 2013 Nov 1;100(5):1180-6.

11. Hardy DO, Scher HI, Bogenreider T, Sabbatini P, Zhang ZF, Nanus DM, Catterall JF. Androgen receptor CAG repeat lengths in prostate cancer: correlation with age of onset. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 1996 Dec 1;81(12):4400-5.

12. Västermark Å, Giwercman YL, Hagströmer O, De-Meyts ER, Eberhard J, Ståhl O, Cedermark GC, Rastkhani H, Daugaard G, Arver S, Giwercman A. Polymorphic variation in the androgen receptor gene: association with risk of testicular germ cell cancer and metastatic disease. European Journal of Cancer. 2011 Feb 1;47(3):413-9.

13. Lin LH, Baracat MC, Maciel GA, Soares Jr JM, Baracat EC. Androgen receptor gene polymorphism and polycystic ovary syndrome. International Journal of Gynecology & Obstetrics. 2013 Feb 1;120(2):115-8.

14. Mosaad YM, Shahin D, Elkholy AA, Mosbah A, Badawy W. CAG repeat length in androgen receptor gene and male infertility in Egyptian patients. Andrologia. 2012 Feb;44(1):26-33.

15. ZhaoJ D. Zinc levels seminal plasma and their correlation with male infertility. SciRep. 2016;6:22386.

16. Baltaci AK, Mogulkoc R, Ayyildiz M, Kafali E, Koyuncuoglu T. Lipid peroxidation in kidney and testis tissues in experimental hypothyroidism: the role of zinc. Bratislavske lekarske listy. 2014 Jan 1;115(8):498-501.

17. Wang RS, Yeh S, Tzeng CR, Chang C. Androgen receptor roles in spermatogenesis and fertility: lessons from testicular cell-specific androgen receptor knockout mice. Endocrine reviews. 2009 Apr 1;30(2):119-32.

18. Ruwanpura SM, McLachlan RI, Meachem SJ. Hormonal regulation of male germ cell development. Journal of Endocrinology. 2010 May 1;205(2):117-31.

19. Verhoeven G, Willems A, Denolet E, Swinnen JV, De Gendt K. Androgens and spermatogenesis: lessons from transgenic mouse models. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 2010 May 27;365(1546):1537-56.

20. O'Donnell L, Nicholls PK, O'Bryan MK, McLachlan RI, Stanton PG. Spermiation: The process

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]

of sperm release. Spermatogenesis 2011; 1: 14-35; PMID: 21866274.

21. Cabral DF, Santos A, Ribeiro ML, Mesquita JC, Carvalho-Salles AB, Hackel C. Rarity of DNA sequence alterations in the promoter region of the human androgen receptor gene. Brazilian journal of medical and biological research. 2004;37:1789-94.

22. Crocitto LE, Henderson BE, Coetzee GA. Identification of two germline point mutations in the 5′ UTR of the androgen receptor gene in men with prostate cancer. The Journal of urology. 1997 Oct 1;158(4):1599-601.

23. Russell LD, Bartke A, Goh JC. Postnatal development of the Sertoli cell barrier, tubular lumen, and cytoskeleton of Sertoli and myoid cells in the rat, and their relationship to tubular fluid secretion and flow. American Journal of Anatomy. 1989 Mar;184(3):179-89.

24. Dunleavy JE, O'Bryan MK, Stanton PG, O'Donnell L. The cytoskeleton in spermatogenesis. Reproduction. 2019 Feb 1;157(2):R53-72.

25. Salehinezhad F, Eshraghi H, Kadivar A, Shirian S, Asghari A, Aali E, Davoodian N. Amelioration effects of vitamin E, melatonin, L-carnitine, and atorvastatin, on destructive effects of busulfan in the testes of male rats: A gene expression evaluation. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi. 2019 May 6.

26. Tahmasbpour-Marzooni E. Most Common Genetic Abnormality and Molecular Mutations on Human Sperm Y Chromosome and their Effects on Male Infertility. Journal of Babol University of Medical Sciences. 2014 Nov 10;16(11):51-63.

27. Berg AH, Rice CD, Rahman MS, Dong J, Thomas P. Identification and characterization of membrane androgen receptors in the ZIP9 zinc transporter subfamily: I. Discovery in female atlantic croaker and evidence ZIP9 mediates testosterone-induced apoptosis of ovarian follicle cells. Endocrinology. 2014 Nov 1;155(11):4237-49.

28. Bulldan A, Dietze R, Shihan M, Scheiner-Bobis G. Non-classical testosterone signaling mediated through ZIP9 stimulates claudin expression and tight junction formation in Sertoli cells. Cellular signalling. 2016 Aug 1;28(8):1075-85.

29. Mifsud A, Sim CK, Boettger-Tong H, Moreira S, Lamb DJ, Lipshultz LI, Yong EL. Trinucleotide (CAG) repeat polymorphisms in the androgen receptor gene: molecular markers of risk for male infertility. Fertility and sterility. 2001 Feb 1;75(2):275-81.

30. Suárez-Quian CA, Martínez-García F, Nistal M, Regadera J. Androgen receptor distribution in adult human testis. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 1999 Jan 1;84(1):350-8.

31. Hazra R, Corcoran L, Robson M, McTavish KJ, Upton D, Handelsman DJ, Allan CM. Temporal role of Sertoli cell androgen receptor expression in spermatogenic development. Molecular Endocrinology. 2013 Jan 1;27(1):12-24.

32. Sudawadee Y, Vipavadee C, Kanokporn S, Paiwan S. Effects of Boesenbergia rotunda juice on sperm qualities in male rats. Journal of medicinal plants research. 2011 Aug 18;5(16):3861-7.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-14]