فصلنامه علمی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۶۰، دوره ۱۵، شماره ۴، پاییز۱۴۰۱، صفحه۸۰ تا ۹۶
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵

تاثیر ترکیب سیاهدانه و عسل (دوسین) بر میزان استروئید های جنسی و فرآیند اسپرماتوژنز در موش های صحرایی نر بالغ با القای کم کاری تیروئید

پریسا پورزل[۱]، **مختار مختاری**[۲]، مهرداد شریعتی[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی ، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
۲- استاد، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران. نویسنده مسئول: M. Mokhtari246@yahoo.com
۳- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۷/۲۶ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۸**

چکیده

زمینه و هدف: تغییرات مربوط به هورمون های تیروئید باعث اختلال در عملکرد غدد جنسی و ناباروری می شود .در این تحقیق تاثیر سیاهدانه و عسل (دوسین) برمیزان هورمون های جنسی و فرآیند اسپرماتوژنز در موش های صحرایی نر بالغ با القای کم کاری تیروئید بررسی شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ به شش گروه ده تایی شامل گروه کنترل ، گروه شاهد ، گروه تجربی۱; تجویز متی مازول با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۰ روز، گروه تجربی ۲; تجویز دوسین به تنهایی با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز، گروه های تجربی ۳ و ۴; دریافت کننده متی مازول و دوسین با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز تقسیم شد. در پایان دوره آزمایش، خونگیری از قلب حیوانات انجام و غلظت سرمی هورمون های دی هیدروتستوسترون، آندروسترون، دی هیدرواپی آندروسترون و آندروستن دیون اندازه گیری شد. رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین برای بررسی فرآیند اسپرماتوژنزدر بافت بیضه انجام شد.

نتایج: میزان دی هیدروتستوسترون، دی هیدرواپی آندروسترون و آندروستن دیون در گروه های تجربی ۳ و ۴ نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش معنی داری نشان داد. میزان آندروسترون در گروه تجربی ۴ در مقایسه با گروه تجربی ۱ افزایش یافت. در گروه های تجربی ۳ و ۴، سلولهای اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و میزان ذخیره اپی دیدیمی اسپرم نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش معنی داری نشان داد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق سیاهدانه و عسل (دوسین) باعث بهبود غلظت سرمی هورمون های موثر بر فعالیت بیضه وتکثیر سلول های رده اسپرم ساز در موش های مبتلا به کم کاری تیروئید می گردد.

کلمات کلیدی: دوسین ، هیپوتیروئیدیسم، استروئید های جنسی ، اسپرماتوژنز ، رت

مقدمه

هورمون های تیروئیدی برای تکامل و عملکرد بیضه و فرآیند اسپرماتوژنز ضروری می باشد و می تواند عملکرد تولید مثل جنسی مذکر شامل فرایند اسپرماتوژنز، سنتز استروئیدهای مردانه و رفتارهای جنسی را تحت تاثیر قرار دهد(۱). کم کاری تیروئید می تواند سبب مشکلات باروری در مردان شود و باعث کاهش میزان هورمون های کنترل کننده فرایند اسپرماتوژنز از هیپوفیز قدامی می‌شود و میزان هورمون تستوسترون در خون و نهایتا نقص در فرآیند اسپرماتوژنز می گردد(۲). مطالعات نشان می دهد هیپوتیروئیدیسم ارگان های تولید مثلی و رفتارهای جنسی مردانه را به شدت تحت تاثیر قرار میدهد . این عوارض در بافت تولید مثل افراد مذکر به صورت کاهش تعداد اسپرم ها، کیفیت پایین مایع سمینال و کاهش سلول های رده اسپرم ساز بروز می نماید(۳). برخی ترکیبات طبیعی این قابلیت را دارند که با برخی از آسیب های ناشی از کم کاری تیروئید که در بافت های بدن به وجود می آید مقابله کند. دوسین یا همان ترکیب سیاه دانه و عسل تقریبا به عنوان یک نسخه ثابت در طب سنتی به عنوان درمان جایگزین با عوارض کمتر و خواص متعدد مورد استفاده قرار می گیرد(۴). سیاهدانه (*Negilla sativa L.*) جز رده دو لپه ای ها از راسته آلاله ها و از گیاهان پرمصرف و شناخته شده در طب سنتی است(۵). دانه های این گیاه بخش دارویی گیاه را تشکیل می دهد که حاوی۳۶٪ تا ۳۸٪روغن غیر فرار، ۲/۵ تا ۰/۴٪ روغن اسانسی، آلکالوئید و ساپونین است(۶, ۷). روغن اسانسی دانه های سیاهدانه شامل تیموکینون، P-cymene و کارواکرول است(۸). از روغن به دست آمده از سیاهدانه به طور مکرر برای فعالیت های ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی آن استفاده می شود(۹). مطالعات آزمایشگاهی نشان می دهد دانه سیاهدانه دارای اثرات محافظت کبدی، کلیوی، گوارشی، سیستم عصبی و قلب عروق می باشد(۱۰). همچنین از دانه و روغن این گیاه به طور سنتی در درمان ناتوانی جنسی استفاده می شود(۱۱). از عوارض شایع بیماری کم کاری تیروئید برهم خوردن تعادل سیستم آنتی اکسیدانی و افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشد(۱۲) و از طرفی اگر میزان رادیکال های آزاد تولیدی افزایش پیدا کند، سیستم فیزیولوژیکی به طور نرمال پاسخگو نخواهد بود(۱۳). مطالعات انجام شده نشان می دهد استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی، میتواند تا حدودی تغییرات مخرب ناشی از کم کاری تیروئید در بافت بیضه را کاهش دهد. همچنین عسل یک آنتی اکسیدان موثر و کلیدی است که به وفور در طبیعت وجود دارد. این ماده مغذی به عنوان آنتی اکسیدان بیولوژیکی شناخته شده است و دارای خواص مهم دیگری چون ضد میکروبی، ضدالتهابی، ضد دیابت میباشد(۱۴, ۱۵). فنولیک های موجود در عسل قدرت انتی اکسیدانی آن را افزایش می دهد(۱۵, ۱۶). مخلوط عسل طبیعی و سیاهدانه سالیان متمادی در نقاط مختلف جهان به عنوان یک درمانگر طبیعی مورد استفاده قرار گرفته است. در ایران از مخلوط سیاهدانه و عسل (دوسین) در طب سنتی برای درمان اختلالات مختلف استفاده می شود(۱۷). با توجه به اینکه تا کنون تحقیق و

گزارشی مبنی بر اثرات ترکیبی سیاهدانه و عسل (دوسین) بر روی عوارض ناشی از کم کاری تیروئید بر روی میزان هورمون های جنسی وسلول های رده اسپرم ساز و فرایند اسپرم زایی ارائه نشده است، در مطالعه حاضر تاثیر دوسین براسپرماتوژنز و نیز تغییرات بافت شناسی بیضه در موش های صحرایی نر بالغ بدنبال القای کم کاری تیروئید مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی ، ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۱۰-۱۹۰گرم و سن حدود ۱۱-۱۰ هفته ای بودند که از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه و به محل انجام آزمایش منتقل گردید. حیوانات با چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت. این تحقیق در کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی با اختصاص کدIR.IAU.IAUG.REC.1399.002 به تأیید رسیده است.

برای القای مدل کم کاری تیروئید، از داروی متی مازول (سیگما آلدریچ، آلمان) بصورت خوراکی با روش گاواژ و به میزان ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در ۱ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۱۰ روزاستفاده گردید(۱۸). برای اطمینان از القای هیپوتیروئید شدن حیوانات، ۱۰ روز بعد از تجویز دارو از دم موشها خونگیری به عمل آمد و غلظت هورمونهای تیروئیدی تیروکسین (T4)، هورمون های تری یدوتیرونین (T3) و هورمون محرکه تیروئیدی (TSH) با استفاده از کیت ELIZA (فینیکس، فرانسه) اندازه گیری و سپس میزان این هورمون ها نسبت به گروه های کنترل و شاهد مقایسه گردید و هیپوتیروئیدیسم شدن تایید گردید. درمرحله بعد و در ادامه تحقیق گروه بندی حیوانات بصورت زیر انجام شد. تعداد حیوانات در هر گروه ده سر موش صحرایی نر بود.

گروه کنترل: از حیوانات سالم استفاده گردید و هیچ گونه اقدام داروئی و درمانی بر روی آنها انجام نشد.

گروه شاهد: حیوانات این گروه فقط یک میلی لیتر آب مقطربه عنوان حلال از طریق گاواژ دریافت کردند.

گروه تجربی ۱ (هیپوتیروئیدیسم): حیوانات این گروه داروی متی مازول با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ دریافت کردند.

گروه تجربی ۲: حیوانات این گروه عصاره دوسین با میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ به مدت ۲۱ روز دریافت کردند.

گروه تجربی۳: حیوانات این گروه بدنبال القای هیپوتیروئیدیسم عصاره دوسین با میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ به مدت ۲۱ روز دریافت کردند.

گروه تجربی۴ : حیوانات این گروه بدنبال القای هیپوتیروئیدیسم عصاره دوسین با میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ به مدت ۲۱ روز دریافت کردند.

روش تهیه عصاره هیدروالکلی سیاهدانه

برای آماده سازی عصاره سیاهدانه ۲کیلوگرم سیاهدانه از بازارخریداری(کازرون، ایران) شد. سپس آن

را آسیاب نموده تا به پودر تبدیل شود. برای تهیه عصار هیدروالکلی سیاهدانه به ازای ۲۰۰ گرم پودر گیاه ، ۸۰۰ میلی لیتر الکل اتانول ۷۰ ٪ استفاد شد. پودر خشک گیاه مورد نظر به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد تا خیسانده شود، سپس ۲ بار از صافی (پارچه منفذار) عبور داده شد و محلول به دست آمده به روش ماسراسیون با استفاده از دستگاه روتاری عصار گیری شد. در مرحله آخر در آون (انکوباتور)، با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گذاشته شد تا آب و الکل آن تبخیر گردد ویک شیره زرد رنگ غلیظ باقی بماند. در این مرحله عصاره بدست آمده با مقدار ۱/۵کیلوگرم عسل مخلوط ودر یخچال نگه داری و روزانه در ساعت ۹ صبح مقادیر لازم به گروه های تجربی به صورت خوراکی برای ۲۱ روز خورانده شد. مخلوط سیاهدانه و عسل در گروه داروسازی دانشگاه شیراز تهیه شد. دوزهای مخلوطی سیاهدانه و عسل در این مطالعه بر اساس طب سنتی ایران انتخاب شد(۱۹).

اندازه گیری های هورمون ها

برای اندازه گیری شاخص های هورمونی موثر بر فعالیت و عملکرد بیضه ها نظیر هورمونهای دی هیدروتستوسترون، آندروسترون، دی هیدرواپی آندروسترون و آندروستن دیون، در پایان روز ۲۱ حیوانات بیهوش شدند و سپس از قلب حیوانات به میزان ۵ میلی لیتر خونگیری انجام و بعد از ۱۵ دقیقه در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت نیم ساعت نگهداری گردید. لوله ها ی حاوی خون منعقد شده دردستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانترفیوژ گردید و نمونه های سرم جدا شده تا زمان استفاده برای تست های بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. در این مرحله از سرم برای اندازه گیری دی هیدروتستوسترون، آندروسترون، دی هیدرواپی آندروسترون (DHEA) و آندروستن دیون با استفاده از کیت هورمونی مخصوص RAT ساخت شرکت DRG کشور آلمان طبق دستورالعمل کیت و روش های معمول آزمایشگاهی استفاده گردید.

مطالعات بافت شناسی

در پایان دوره آزمایش، هر دو بیضه خارج و با دقت از اسکروتوم جدا و وزن شدند. سپس در محلول فرمالین ۱۰ درصد (مرک، آلمان) قرار داده شده و سپس از آنها مقاطع بافتی تهیه شد. پس از رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین-ائوزین مطالعات بافتی با میکروسکوپ نوری صورت گرفت. سلول های اسپرماتوسیت اولیه،ثانویه، اسپرماتوگونی و اسپرماتید، شناسایی و تعدادآنها در ده برش و در هر برش دو لوله اسپرم ساز شمارش گردید. در پایان میانگین تعداد آنها در هر گروه به دست می آید. برای تعیین میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیم، ابتدا اپیدیدیم حیوان ها خارج شد. سپس درون ۱ میلی لیتر محلول سرم فیزیولوژی با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد و در انتها هنگامی که دم اپیدیدیم جدا شد، اسپرم ها شمارش گردید. برای شمارش اسپرم ها نیز دم اپیدیدیم حیوان رادر ۵ میلی لیتر نرمال سالین خرد کرده، پس از به هم زدن به مد ت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه کردیم یک قطره از محلول فوق را بر

روی لام نئوبارقرار داده و سپس اسپرم ها را شمارش کردیم. در انتها عدد به دست آمده دریک میلیون ضرب تا تعداد اسپرمها به میلیون در واحد میلی لیتر مشخص شوند. برای به دست آوردن درصد تحر ک اسپرم ها نیز ۱۰ میکرولیتر از محلول فوق را روی لام قرار داده و اسپرم ها از لحاظ میزان تحرک بررسی گردید. برای به دست آوردن درصد تحرک، میانگین کل اسپرمهای متحر ک در ۱۰ میدان دید میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی بزرگنمایی ۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفت(۲۰). به منظور محاسبه حجم بافت بینابینی با استفاده از میکروسکوپ مدل OLYMPUS DP12 مجهز به دوربین و روش نمونه گیری تصادفی منظم به طور میانگین ۵ میدان دید از هر برش ۵ میکرونی به صورت تصادفی مورد بررسی قرار گرفت(۲۰). برای محاسبه ارتفاع اپی تلیوم زایشی به طور متوسط ۵ میدان دید از هر برش ۵ میکرونی بافت بیضه مربوط به هر رت با استفاده از آبژکتیو با بزرگنمایی ۱۰ و روش نمونه گیری تصادفی منظم مورد مطالعه قرار گرفت(۲۰).

آنالیز داده ها

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده و با استفاده از نرم افزار آماری گراف پد پریزم ۸(GraphPad Software, La Jolla, CA)تجزیه و تحلیل قرار گرفت. معنی‌داری بین گروه‌ها با استفاده از تست آماری Anova یکطرفه و پست تست توکی مورد مورد ارزیابی قرار گرفت. p<۰/۰۵ ملاک معنی داری در نظر گرفته شده است.

نتایج

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، در موش های گروه تجربی۱، میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه در مقایسه با گروه کنترل($P<0.0001$) و شاهد (به ترتیب $P<0.0001$ و $P<0.01$) به طور معنی داری کاهش یافت. در گروه تجربی ۴، میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه در مقایسه با گروه تجربی۱ به طور معنی داری افزایش یافت (به ترتیب$P<0.0001$ و $P<0.05$). با توجه به نتایج آنالیز آماری در جدول۱، میانگین سلولهای اسپرماتوسیت اولیه در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه تجربی ۱ تغییر معنی داری نشان داد($P<0.05$). از طرف دیگر فقط میانگین سلولهای اسپرماتوسیت اولیه در گروه تجربی۲ در مقایسه با گروه های کنترل و شاهد تغییر معنی داری نشان داد(به ترتیب $P<0.0001$ و $P<0.0001$).همچنان با توجه به جدول ۱، میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوگونی در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل و شاهد کاهش معنی داری یافت(به ترتیب $P<0.01$ و $P<0.05$). از طرف دیگر میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوگونی در گروه تجربی ۴ نسبت به گروه تجربی ۱ افزایش معنی داری نشان داد ($P<0.01$). همچنین درگروه تجربی ۲، میانگین این سلول ها افزایش معنی دای در مقایسه با گروه کنترل و شاهد نشان داد (به ترتیب $P<0.05$ و $P<0.01$). همانطور که در جدول ۱ بیان شده است، میانگین تعداد سلولهای اسپرماتید در گروه تجربی۱ در مقایسه با گروه های کنترل ($P<0.001$) و

شاهد ($P<0.0001$)کاهش معنی داری را نشان داد. در موش های گروه های تجربی ۳ و ۴ تعداد سلولهای اسپرماتید در مقایسه با موش های تجربی۱ به طور معنی-داری افزایش یافت (به ترتیب $P<0.01$ و $P<0.0001$).

جدول۱- تغییرات تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه، ثانویه، اسپرماتوگونی و تعداد سلول اسپرماتید در گروه های آزمایش

گروه های آزمایش	میانگین تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه ×۱۰۶	میانگین تعداد سلول های اسپرماتوسیت ثانویه ×۱۰۶	میانگین تعداد سلول های اسپرماتوگونی ×۱۰۶	میانگین تعداد سلول اسپرماتید ×۱۰۶
کنترل	152.3±3.053	164.0±3.625	9.550±0.466	339.0±3.011
شاهد	150.8±5.490	156.6±3.385	9.000±0.500	344.8±6.457
تجربی ۱	$114.8\pm2.437^{****\&\&\&\&}$	$129.8\pm2.223^{****\&\&}$	$7.767\pm0.399^{**\&}$	$279.0\pm3.521^{***\&\&\&\&}$
تجربی ۲	$162.2\pm2.798^{****\&\&\&\&}$	162.2±4.757	$11.21\pm0.420^{*\&\&}$	293.3±5.194
تجربی۳	$131.5\pm3.324^{\#}$	149.5±5.384	8.706±0.253	$332.0\pm4.796^{\#\#}$
تجربی٤	$149.0\pm2.000^{\#\#\#\#}$	$170.8\pm2.780^{\#}$	$10.13\pm0.449^{\#\#}$	$352.2\pm6.973^{\#\#\#\#}$

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده می شوند.

* اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی ۱ وتجربی ۲ با گروه کنترل.

& اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی ۱و ۲ با گروه شاهد.

اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی ۳ و تجربی ۴ با گروه تجربی۱.

میزان ذخیره اپی دیدیمی اسپرم در گروه هیپوتیروئیدیسم به طور قابل توجهی نسبت به گروه های کنترل و شاهد کاهش یافته است (به ترتیب $P<0.001$ و $P<0.01$). همچنین در گروه های تجربی ۳ و ۴، میزان ذخیره اپی دیدیمی اسپرم به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه تجربی۱ افزایش یافت (به ترتیب $P<0.05$و $P<0.01$).

جدول۲- تغییرات تحرک اسپرم در گروه های آزمایش

گروههای آزمایش	تحرک (٪)
کنترل	70.20±3.24
شاهد	68.60±2.78
تجربی ۱	$50.20\pm2.63^{**\&\&}$
تجربی ۲	$79.80\pm1.24^{*\&\&}$
تجربی ۳	$58.40\pm2.83^{\#}$
تجربی ٤	$69.80\pm1.71^{\#\#}$

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده می شوند.

* اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی ۱ و تجربی ۲ با گروه کنترل.

& اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی ۱و ۲ با گروه شاهد.

اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی ۳ و تجربی ۴ با گروه تجربی۱

میانگین حجم بافت بینابینی (جدول ۳) نشان می دهد در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه‌های کنترل ($P<0.0001$)و شاهد ($P<0.001$) افزایش معنی داری نشان داد، در حالی که در گروه های تجربی۳ و ۴ نسبت به گروه تجربی ۱کاهش معنی داری مشاهده شد (به ترتیب $P<0.01$ و $P<0.0001$). همچنین درگروه تجربی ۲، میانگین حجم بافت بینابینی نسبت به گروه های کنترل و شاهد کاهش معنی داری نشان داد($P<0.01$ و $P<0.001$).

بر اساس نتایج آنالیز آماری، ارتفاع اپی تلیوم زایشی لوله های منی ساز در گروه تجربی۱ نسبت به گروه های کنترل($P<0.01$) و شاهد ($P<0.0001$) به طور معنی داری کاهش یافت. همچنین میانگین ارتفاع اپی تلیوم زایشی در گروه ۴ نیز افزایش معنی داری در مقایسه با گروه تجربی۱ نشان داد($P<0.0001$). ضخامت غشای پایه در گروه تجربی۲ نسبت به گروه های کنترل و شاهد اختلاف معنی داری نشان داد($P<0.01$)(جدول ۳).

جدول۳- تغییرات میزان ذخیره اپی دیدیمی اسپرم، تعدادسلولهای اسپرم، حجم بافت بینابینی و ارتفاع اپی تلیوم زایشی لوله های منی ساز در گروه های آزمایش

گروه های آزمایش	میزان ذخیره اپی دیدیمی اسپرم	تعدادسلولهای اسپرم (10^6)	حجم بافت بینابینی(mm^3)	ارتفاع اپی تلیوم زایشی لوله های منی ساز (میکرومتر)
کنترل	1608595±51327	37.46±0.77	238.4±5.18	81.67±3.57
شاهد	1549180±68356	36.12±0.57	253.2±5.87	90.00±3.02
تجربی ۱	917498±59451$^{***\&\&}$	30.53±0.78$^{***\&\&}$	304.3±4.91$^{****\&\&\&}$	64.67±1.74$^{**\&\&\&\&}$
تجربی ۲	1682644±64065	38.24±0.68	218.6±3.28$^{**\&\&\&}$	95.50±1.52$^{**\&\&}$
تجربی۳	1164181±36363$^{\#}$	34.82±1.18	275.0±6.96$^{\#\#}$	75.40±3.23
تجربی٤	1418260±45039$^{\#\#}$	36.13±1.07$^{\#\#\#}$	233.3±3.57$^{\#\#\#\#}$	89.00±2.62$^{\#\#\#\#}$

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده می شوند.

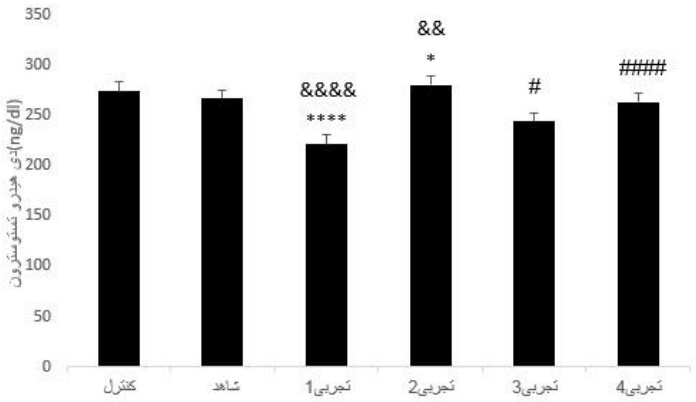
* اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی ۱ و تجربی ۲ با گروه کنترل.

& اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی ۱و ۲ با گروه شاهد.

اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی ۳ و تجربی ۴ با گروه تجربی۱.

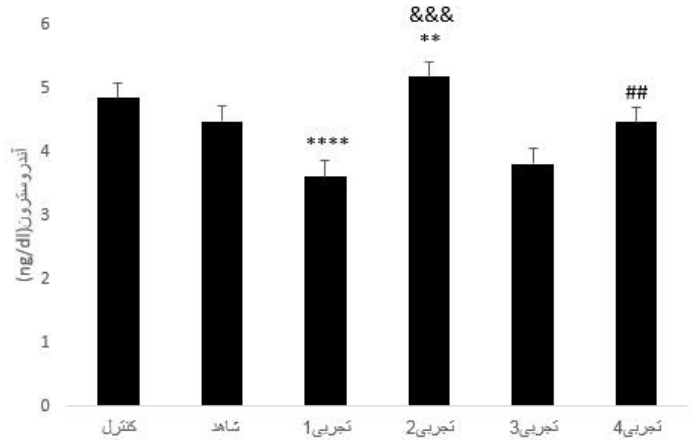
مقادیر سرمی هورمون دی هیدروتستوسترون در گروه تجربی ۱ کاهش معنی داری نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد نشان داد($P<0.0001$). همچنین افزایش معنی داری در میانگین مقادیر سرمی هورمون دی هیدروتستوسترون در گروه های تجربی ۳ و ۴ نسبت به گروه تجربی ۱مشاهده شد (به ترتیب $P<0.05$ و

P<0.0001). سطوح هورمون دی هیدروتستوسترون در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه های کنترل وشاهد تفاوت معنی داری را با توجه به نمودار ۱ نشان داد (به ترتیب P<0.05و P<0.01) (نمودار۱).



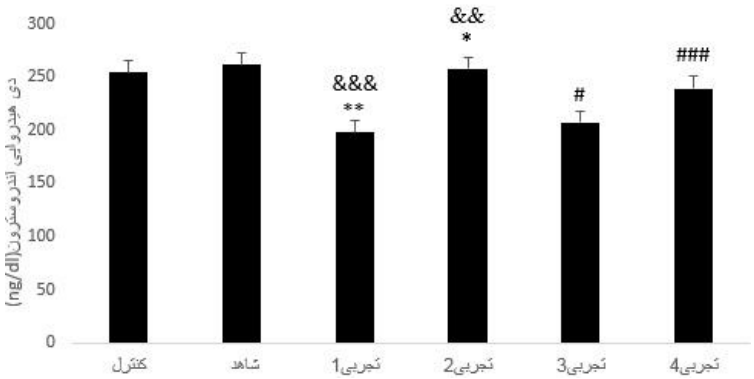
نمودار ۱. اثر عصاره دوسین بر مقادیر سرمی هورمون دی هیدروتستوسترون بین گروه های کنترل، شاهد و تجربی بدنبال القای کم کاری تیروئید. P<0.0001**و P<0.05* بین گروه های تجربی۱ و ۲ با گروه کنترل، P<0.01 && و P<0.01 &&&& بین گروه های تجربی۱و ۲ با گروه شاهد، P<0.05 # و P<0.0001#### بین گروه های تجربی ۳ و ۴ با گروه تجربی۱.**

با توجه به نمودار ۲، میزان سرمی هورمون آندروسترون در گروه تجربی ۱ به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است (P<0.0001). در گروه تجربی ۴، دوسین توانست افزایش معنی داری در میزان سطوح هورمون آندروسترون نسبت به گروه تجربی ۱ ایجاد کند (P<0.01). همچنین درگروه تجربی ۲، مقادیر سرمی هورمون آندروسترون نسبت به گروه های کنترل و شاهد افزایش یافت (به ترتیب P<0.01 و P<0.001)



نمودار ۲. اثر عصاره دوسین بر مقادیر سرمی هورمون آندروسترون بین گروه های کنترل، شاهد و تجربی بدنبال القای کم کاری تیروئید. P<0.0001** و P<0.01** بین گروه های تجربی۱ و ۲ با گروه کنترل، P<0.001 &&& بین گروه تجربی ۲ با گروه شاهد، P<0.01## بین گروه تجربی ۴ با گروه تجربی۱**

درمقادیر سرمی هورمون دی هیدرو اپی آندروسترون گروه تجربی۱، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و شاهد، مشاهده شد (به ترتیب $P<0.01$ و $P<0.001$). همچنین افزایش معنی داری در گروه های تجربی ۳ و ۴ نسبت به گروه تجربی۱ وجود دارد (به ترتیب $P<0.05$ و $P<0.001$) و در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه های کنترل و شاهد تفاوت معنی داری مشاهده شد (به ترتیب $P<0.05$ و $P<0.01$) (نمودار ۳). مقادیر سرمی هورمون آندروستن دیون در گروه تجربی ۱کاهش معنی داری نسبت به گروه های کنترل و شاهد نشان داد (به ترتیب $P<0.001$ و $P<0.01$). همچنین تجویز دوسین در گروه های تجربی ۳ و ۴، افزایش معناداری نسبت به گروه تجربی ۱ نشان داد (به ترتیب $P<0.01$ و $P<0.0001$) (نمودار۴).

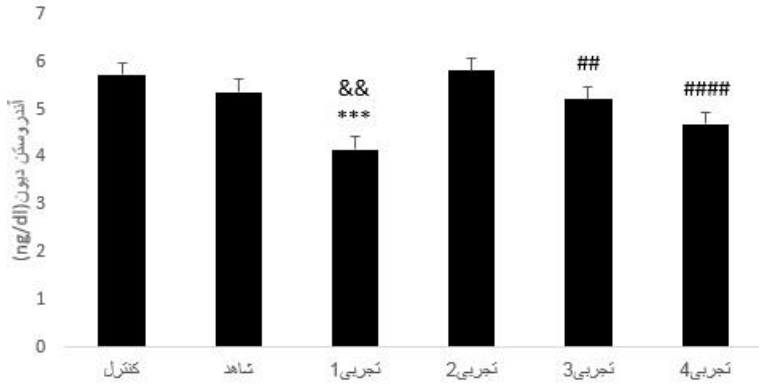


نمودار۳. اثر عصاره دوسین بر مقادیر سرمی هورمون دی هیدرو اپی آندروسترون بین گروه های کنترل، شاهد و تجربی بدنبال القای کم کاری تیروئید. $P<0.01$ و $P<0.05$* بین گروه های تجربی۱ و ۲ با گروه کنترل، $P<0.001$ &&& و $P<0.01$ &&بین گروه های ۱ و تجربی ۲ با گروه شاهد، $P<0.05$ # و $P<0.0001$### بین گروه های تجربی ۳ و ٤ با گروه تجربی۱.**

بحث

مخلوط عسل طبیعی و سیاهدانه سالیان متمادی در طب سنتی به عنوان یک درمانگر طبیعی مورد استفاده قرار گرفته است. از آنجایی که این ترکیب تحریک کننده آندروژن ها است، می تواند باعث بهبود و تحریک اسپرماتوژنز گردد(۲۱, ۲۲). در مطالعه حاضر مشخص گردید که هیپوتیروئیدیسم تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه، اسپرماتوگونی، اسپرماتید و میزان ذخیره اپی دیدیمی اسپرم را کاهش داده است. بررسی ها نشان می دهد کم کاری تیروئید با افزایش پراکسیداسیون موجب القای مرگ سلولها در بافت بیضه می شود. مطالعات با استفاده از مدل‌های ژنتیکی یک رابطه فیزیولوژیکی محکم بین هورمون تیروئید و عملکرد ساختار بافت بیضه، به‌ویژه، وضعیت تمایز سلول‌های سرتولی، فعالیت میتوزی و عملکرد اتصالات منفذدار را نشان داده‌اند. در واقع استرس اکسیداتیو ناشی از هیپوتیروئیدیسم با آسیب زدن به اتصالات منفذ دار بین سلول های سرتولی می تواند باعث عدم ثبات غشای سلول های سرتولی گردد که در نهایت

منجر به آسیب اتصالات شکافدار در بیضه و اپیدیدیم و همچنین در غشای سلولهای جنسی می شود که این امر خود باعث از بین رفتن اسپرماتوسیت ها و اسپرماتیدها خواهد شد(۲۳)



نمودار ۴. اثر عصاره دوسین بر مقادیر سرمی هورمون آندروستن دیون بین گروه های کنترل، شاهد و تجربی بدنبال القای کم کاری تیروئید. ***P<0.001 بین گروه تجربی۱ با گروه کنترل، P<0.01 &&بین گروه تجربی ۱ با گروه شاهد، P<0.01## و P<0.0001#### بین گروه های تجربی ۳ و ۴ با گروه تجربی۱.

نتایج حاصل از این تحقیق همچنین نشان داد تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه، اسپرماتوگونی، اسپرماتید و میزان ذخیره اپی دیدیمی اسپرم در گروه هایی که عصاره دوسین به خصوص در دوز بالادریافت کرده اند، افزایش می یابد. مطالعات نشان می دهد فرآیند اسپرم زایی ، تعداد سلول اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه به شدت توسط آندروژن‌ها تنظیم می‌شود. بعضی از مطالعات پیشنهاد می دهد سیاهدانه ممکن است با اثر بر روی غده هیپوفیز باعث افزایش هورمون های اصلی اسپرماتوژنز و فرایند اسپرم زایی شود(۲۲) وعسل از چندین مکانیسم مختلف باعث افزایش رده های مختلف سلولهای اسپرماتوژنیک و ذخیره اپی دیدیمی اسپرم می گردد. در گزارش های فراوانی تایید شده است عسل می تواند رده های مختلف سلولهای اسپرماتوژنیک را در موش افزایش دهد. احتمالاً عسل با تحت تأثیر قرار دادن آنزیم های کلیدی در اسپرم زایی و بلوغ اسپرم از جمله افزایش فعالیت دهیدروژناز سوربیتال و کاهش فعالیت لاکتات دهیدروژناز منجر به افزایش تعداد سلول های جنسی میشود(۲۴). در مطالعه حاضر افزایش تعداد اسپرماتوسیت ها (اولیه و ثانویه) و اسپرماتیدها تأییدی بیشتری برای افزایش سطح آندروژن ها بود زیرا این مراحل از فرایند اسپرم زایی کاملاً وابسته به آندروژن ها است.

در پژوهش حاضر، تعداد و تحرک اسپرم در گروه تجربی ۱ کاهش قابل توجهی نشان داد .به طوری که کیفیت اسپرم در این موش ها کاهش پیدا کرد. مطالعات نشان می دهد کاهش تعداد و تحرک اسپرم، درصد آسیب در DNA و اشکال غیر طبیعی اسپرم ها در افراد هیپوتیروئیدیسم به طور قابل ملاحظه ای افزایش می

یابد(۲۵). غشای پلاسمایی اسپرم از انجایی که دارای سطح بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع است، میتواند مستعد پراکسیداسیون لیپیدی شود که در نهایت سبب مختل شدن حرکت اسپرم می گردد(۲۶). در مطالعه ی حاضر به نظر می رسد هیپوتیروئیدیسم به واسطه تحریک پراکسیداسیون لیپیدی، تغییر در فعالیت های آنزیم های آنتی اکسیدانی و تولید رادیکال های آزاد برتحرک و کمیت اسپرم اثر گذاشته باشد.

در گروه های تجربی ۲، ۳ و ۴ مشاهده شد دوسین باعث افزایش در تعداد و تحرک اسپرم میشود. توانایی زنده ماندن و تحرک اسپرم وابسته به بیان ظرفیت آنتی اکسیدانی موثر آنها در پلاسمای منی می باشد(۲۷). سیاهدانه و عسل به علت داشتن مقدار بالای پلی فنول ها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی می باشند(۱۴, ۲۸). فلانوئیدها با مکانیسم واکنش با آنزیم گلوتاتیون پرواکسیداز عملکرد آنتی اکسیدانی خود را انجام میدهند(۲۹). همچنین عسل علاوه بر پلی فنول ها به علت داشتن ویتامین های C و E به عنوان آنتی اکسیدان های قوی، میتواند سبب بهبود بیشتر در تحرک اسپرم گردد(۳۰). به نظر میرسد که عصاره دوسین به علت داشتن پلی فنل ها و ویتامین ها، باعث مهار اکسیژن واکنش پذیر و افزایش تحرک و کمیت اسپرم شده باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد به دنبال کم کاری تیروئید، ارتفاع اپی تلیوم زایشی کاهش و حجم بافت بینابینی افزایش می یابد. این یافته با نتایج مطالعه میثمی و همکاران(۳۱) مطابقت داشت. از آنجایی که متی مازول موجب افزایش سطح ROS و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می شود(۳۲)، میتوان احتمال داد که افزایش حجم بافت بینابینی وکاهش در ارتفاع اپی تلیوم زایشی در مطالعه حاضر تا حدودی ناشی از استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط متی مازول میباشد. تجویز عصاره دوسین توانست کاهش ارتفاع اپی تلیوم زایشی و همچنین افزایش حجم بافت بینابینی را در موش های صحرایی کم کاری تیروئید، جبران کند. سیاهدانه دارای مواد شیمیایی مختلفی از جمله تیموکینون (TQ)، فلاونوئیدها وآنتوسیانین ها است(۳۳). الزهرانی و همکاران نشان دادند تیموکینون موجود در سیاهدانه میتواند تغییرات هیستوپاتولوژیک لوله های اسپرم ساز را بهبود ببخشد و مسئول این اثرات محافظتی باشد(۳۴). در مطالعه ی حاضر تاثیر عصاره هیدروالکی سیاهدانه در پایه عسل برارتفاع اپی تلیوم زایشی و حجم بافت بینابینی میتواند به مقدار زیادی به علت داشتن تیموکینون یا سایر ترکیبات موجود در سیاهدانه باشد که برای اثبات این موضوع به طیف بیشتری از آزمایشات مولکولی در تحقیقات نیازاست .

همچنین در این تحقیق مشخص شد هیپوتیروئیدیسم سبب کاهش هورمون های دی هیدروتستوسترون و آندروسترون، می شود. دی هیدروتستوسترون وظیفه حمایت از روند اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز را در موش های صحرایی به عهده دارد. بر اساس مطالعات انجام شده کاهش هورمون ها تیروئیدی باعث کاهش آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز در موش های صحرایی میگردد. کاهش این آنزیم باعث کاهش هورمون دی هیدروتستوسترون (شکل

فعال تستوسترون در بافت ها) میشود(۳۵, ۳۶). همچنین مطالعات Killian و همکاران نشان داد که دی هیدروتستوسترون در شروع فرایند اسپرماتوژنز دخالت دارد و احتمالا در غیاب این ماده به مدت طولانی، این فرایند دچار اختلال میگردد(۳۷). آندروسترون یک آندروژن ضعیف است که قدرتی تقریباً ۱/۷تستوسترون دارد. آندروسترون در درجه اول بر رشد و توسعه دستگاه تناسلی مرد تأثیر می گذارد(۳۸, ۳۹). یافته دیگر مطالعه حاضر نشان داد که تجویز دوسین به موش های هیپوتیروئیدی باعث افزایش سطوح هورمونهای دی هیدروتستوسترون و آندروسترون میشود. مطالعات متعددی تا کنون گزارش کردند که تیمار موش ها با سیاهدانه یا عسل به علت داشتن خواص انتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی موجود ، سبب افزایش دی هیدروتستوسترون(۴۰) و آندروسترون(۴۱) می شود.

همچنین مطالعه ی حاضر نشان داد کم کاری تیروئید باعث کاهش هورمون دی هیدرواپی آندروسترون (DHEA) و آندروستن دیون خواهد شد. کم کاری تیروئید سبب کاهش DHEA و آندروستن دیون و همچنین جلوگیری از تبدیل این دو هورمون به تستوسترون از طریق α۳-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز و β۱۷-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز میشود(۴۲, ۴۳). DHEA یک پیش ساز غیرفعال استروئیدی می باشد که در بافت های هدف محیطی به آندروژن ها و استروژن های فعال تبدیل می شود(۴۴). در واقع DHEA واسطه ی آندروژنی در مسیر استروئیدژنز سنتز تستوسترون و استروژن های معمول موجود در بافت آدرنال و گنادها می باشد(۴۵). تصور میشود که کمبود این هورمون در ایجاد اختلال عملکرد جنسی نقش دارد(۴۶). آندروستن‌دیون یک استروئید آندروژن می‌باشد که در بیضه و تخمدان تولید و به تستوسترون متابولیزه می‌شود (۴۷, ۴۸). مطالعات نشان داده اند که ترکیبات حاوی فنولی و آنتی اکسیدانی باعث افزایش پیش سازهای استروئیدی و تبدیل DHEA و آندروستن دیون به آندروژن ها میشود و این امر منجر به افزایش میزان تبدیل پرگننولون به تستوسترون و سایر استروئیدهای بیضه ای گردد(۴۹, ۵۰). احتمال میرود در این مطالعه ترکیبات فلانوئیدی و خواص آنتی اکسیدانی موجود در دانه سیاهدانه و عسل به وسیله افزایش ۱۷- بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز و ۳- بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز سبب افزایش دی هیدرواپی آندروسترون و آندروستن دیون و تبدیل این پیش سازهای استروئیدها به تستوسترون و DHT میگردد که در نهایت با افزایش تستوسترون، بهبود و تحریک فرایند اسپرماتوژنز میسر می شود. بررسی های بیشتر می تواند به روشن شدن این موضوع کمک کند.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و مطالعات سایر محققان می توان نتیجه گیری کرد هیپوتیروئیدیسم باعث اختلال و کاهش عملکرد بیضه و ساخت سلول های رده اسپرم ساز و هومون های جنسی در

اثر استرس اکسیداتیو ایجاد شده ناشی از متی مازول شد در حالی که مصرف دوسین (سیاهدانه و عسل) توانست اثرات مخرب ناشی از هیپوتیروئیدیسم بر فرآیند اسپرماتوژنز و هورمون های جنسی را جبران کند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در فضای آزمایشگاهی و تحقیقاتی دانشکده علوم پایه ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انجام شده است .نویسندگان از همکاری مسئولین محترم تشکر می نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند تعارض منافعی در ارائه این مقاله ندارند .

فهرست منابع

1. Rajender S, Monica MG, Walter L, Agarwal A. Thyroid, spermatogenesis, and male infertility. Front Biosci (Elite Ed). 2011;3(8):43-55.

2. Singh R, J Hamada A, Agarwal A. Thyroid hormones in male reproduction and fertility. The Open Reproductive Science Journal. 2011;3z:98-104.

3. Sengupta P, Arafa M, Elbardisi H. Hormonal regulation of spermatogenesis. Molecular signaling in spermatogenesis and male infertility. Peer-reviewed journal. 2019; 7(2): 41-9.

4 . Aumeeruddy MZ, Neetoo H, Mahomoodally MF. Knowledge and uses of common traditional natural products (Nigella sativa seed and honey): A comparative study in Mauritius. Journal of Complementary Medicine Research. 2018;8(1):15-27.

5. Ijaz H, Tulain UR, Qureshi J, Danish Z, Musayab S, Akhtar MF, et al. Nigella sativa (Prophetic Medicine): A Review. Pakistan journal of pharmaceutical sciences. 2017;30(1):229-234.

6. Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, et al. A review on therapeutic potential of Nigella sativa: A miracle herb. Asian Pacific journal of tropical biomedicine. 2013;3(5):337-52.

7. Nergiz C, Ötleş S. Chemical composition of Nigella sativa L. seeds. Food chemistry. 1993;48(3):259-61.

8 . Samarghandian S, Farkhondeh T, Samini F. A review on possible therapeutic effect of Nigella sativa and thymoquinone in neurodegenerative diseases. CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders). 2018;17(6):412-20.

9. Bordoni L, Fedeli D, Nasuti C, Maggi F, Papa F, Wabitsch M, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of Nigella sativa oil in human pre-adipocytes. Antioxidants. 2019;8(2):51.

10. Gilani A-uH, Jabeen Q, Khan MAU. A review of medicinal uses and pharmacological activities of Nigella sativa. Pak J Biol Sci. 2004;7(4):441-51.

11. TawfeeK K. Effect of Nigella sativa oil treatment on the sex organs and sperm charactors in rats exposed to hydrogen peroxide. Mesopotamia Journal of Agriculture. 2006;34(1):2-8.

12. Kochman J, Jakubczyk K, Bargiel P, Janda-Milczarek K. The influence of oxidative stress on thyroid diseases. Antioxidants. 2021;10(9):1442.

13. Venditti P, Meo SD. Thyroid hormone-induced oxidative stress. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. 2006;63(4):414-34.

14 . Khalil M, Sulaiman SA, Boukraa L. Antioxidant properties of honey and its role in preventing health disorder. The Open Nutraceuticals Journal. 2010;3(1):6-16.

15. Cianciosi D, Forbes-Hernández TY, Afrin S, Gasparrini M, Reboredo-Rodriguez P, Manna PP, et al. Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. Molecules. 2018;23(9):2322.

16. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Ab Wahab MS. Honey: a novel antioxidant. Molecules. 2012;17(4):4400-23.

17. El-Koshairy N, Hassan RM, Halawa AM. Th e eff ect of lead toxicity on albino rats filiform and fungiform papillae and the possible protective role of honey and black seed. Journal of Environmental and Occupational Health. 2014;3(2):87-96.

18. ENRIQUE SILVA J, RUDAS P. Effects of congenital hypothyroidism on microtubule-associated protein-2 expression in the cerebellum of the rat. Endocrinology. 1990;126(2):1276-82.

19. Ibn-e-Sina A. Al-qanun fit-tib [The canon of medicine]. Beirut, Lebanon: Alaalami Beirut lib Press; 2005; 20(1):1-45.

20. Mehranjani MS, Noorafshan A, Momeni H, Abnosi M, Mahmoodi M, Anvari M, et al. Stereological study of the effects of

vitamin E on testis structure in rats treated with para-nonylphenol. Asian journal of andrology. 2009;11(4):50-516.

21. Gholami M, Abbaszadeh A, Khanipour Khayat Z, Anbari K, Baharvand P, Gharravi A. Honey improves spermatogenesis and hormone secretion in testicular ischaemia–reperfusion-induced injury in rats. Andrologia. 2018;50(1):e12804.

22. Mohammad MA, Mohamad M, Dradka H. Effects of black seeds (Nigella sativa) on spermatogenesis and fertility of male albino rats. Research Journal of Medicine and Medical Sciences. 2009;4(2):386-90.

23. Gao Y, Lee WM, Cheng CY. Thyroid hormone function in the rat testis. Frontiers in endocrinology. 2014;5:188.

24. Mohamed M, Sulaiman S, Jaafar H, Sirajudeen K. Effect of different doses of Malaysian honey on reproductive parameters in adult male rats. Andrologia. 2012;44(1):182-6.

25. Jalilvand N, Hosseini M, Beheshti F, Ebrahimzadeh-Bideskan A. Protective effect of PPARγ agonist pioglitazone, on testicular tissue and sperm parameters in hypothyroid rats. Toxin Reviews. 2019;28(10): 1556-9543.

26. Alvarez JG, Aitken RJ. Lipid peroxidation in human spermatozoa. Studies on Men's Health and Fertility: Springer; 2012. p. 119-30.

27. Koca Y, Özdal Ö, Celik M, Ünal S, Balaban N. Antioxidant activity of seminal plasma in fertile and infertile men. Archives of andrology. 2003;49(5):355-9.

28 . Wijewardhana U, Gunathilaka U, Navaratne S. Determination of total phenolic content, radical scavenging activity and total antioxidant capacity of cinnamon bark, black cumin seeds and garlic. International Research Journal of Advanced Engineering and Science. 2019;4(2):55-7.

29. Nagata H, Takekoshi S, Takagi T, Honma T, Watanabe K. Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase. The Tokai journal of experimental and clinical medicine. 1999;24(1):1-11.

30. Saeed MA, Jayashankar M. Therapeutic properties of honey. Journal of Global Biosciences. 2019;8(12):6600-15.

31 . Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Nelson DR, Thomas Jr AJ. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. Fertility and sterility. 2002;78(3):491-9.

32 . Ortiz-ButrÓn R, Blas-Valdivia V, Franco-Colin M, Pineda-Reynoso M, Cano-Europa E. An increase of oxidative stress markers and the alteration of the antioxidant enzymatic system are associated with spleen damage caused by methimazole-induced hypothyroidism. Drug and Chemical Toxicology. 2011;34(2):180-8.

33. Mahdavi R, Heshmati J, Namazi N. Effects of black seeds (Nigella sativa) on male infertility: A systematic review. Journal of Herbal Medicine. 2015;5(3):133-9.

34. Saeed A-Z, Mohamed M, Saleh K, Gamal B. Thymoquinone and vitamin E supplementation improve the reproductive characteristics of heat stressed male mice. Journal of Medicinal Plants Research. 2012;6(3):493-9.

35. O'Donnell L, Stanton PG, Wreford NG, Robertson DM, Mclachlan RI. Inhibition of 5 alpha-reductase activity impairs the testosterone-dependent restoration of spermiogenesis in adult rats. Endocrinology. 1996;137(7):2703-10.

36. Mohebali S, Roodbari NH, Hajihosseini R, Parivar K. The effects of Finasteride on the expression of Dazl, Tsga10, Sycp3, Prm2 genes during spermatogenesis in testes of NMRI mice. European Review for Medical and

Pharmacological Sciences. 2020;24(15):8160-3.

37. Killian J, Pratis K, Clifton RJ, Stanton PG, Robertson DM, O'Donnell L. 5α-Reductase isoenzymes 1 and 2 in the rat testis during postnatal development. Biology of reproduction. 2003;68(5):1711-8.

38. Ford J, DeLuca M. A new assay for picomole levels of androsterone and testosterone using co-immobilized luciferase, oxidoreductase, and steroid dehydrogenase. Analytical Biochemistry. 1981;110(1):43-8.

39. Stanczyk FZ, Matteri RK, Kaufman FR, Gentzschein E, Lobo RA. Androstenedione is an important precursor of dihydrotestosterone in the genital skin of women and is metabolized via 5α-androstanedione. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. 1990;37(1):129-32.

40. Krimer-Malešević V. Pumpkin seeds: Phenolic acids in pumpkin seed (Cucurbita pepo L.). Nuts and seeds in health and disease prevention: Elsevier; 2020. p. 533-42.

41. Hosseinabadi T. The Medicinal Importance of Annona squamosa fruits. Journal of Exploratory Research in Pharmacology. 2020;000(000):000–000.

42. Teerds KJ, Huhtaniemi IT. Morphological and functional maturation of Leydig cells: from rodent models to primates. Human reproduction update. 2015;21(3):310-28.

43. He X-Y, Dobkin C, Yang S-Y. 17β-Hydroxysteroid dehydrogenases and neurosteroid metabolism in the central nervous system. Molecular and cellular endocrinology. 2019;48(9):92-7.

44. Labrie F, Luu-The V, Labrie C, Simard J. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: intracrinology. Frontiers in neuroendocrinology. 2001;22(3):185-212.

45. White RB, Thomas P. Adrenal-kidney and gonadal steroidogenesis during sexual differentiation of a reptile with temperature-dependent sex determination. General and comparative endocrinology. 1992;88(1):10-9.

46. Peixoto C, Carrilho C ,Barros J, Ribeiro T, Silva L, Nardi A, et al. The effects of dehydroepiandrosterone on sexual function: a systematic review. Climacteric. 2017;20(2):129-37.

47. Yesalis CE, Bahrke MS. Anabolic-androgenic steroids and related substances. Current sports medicine reports. 2002;1(4):246-52.

48. Wasson KM, Gower BA, Hines GA, Watts SA. Levels of progesterone, testosterone, and estradiol, and androstenedione metabolism in the gonads of Lytechinus variegatus (Echinodermata: Echinoidea). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology. 2000;126(2):153-65.

49. Kostic TS, Andric SA, Maric D, Kovacevic RZ. Inhibitory effects of stress-activated nitric oxide on antioxidant enzymes and testicular steroidogenesis. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. 2000;75(4-5):299-306.

50. Martin LJ, Touaibia M. Improvement of testicular steroidogenesis using flavonoids and isoflavonoids for prevention of late-onset male hypogonadism. Antioxidants. 2020;9(3):237.

Journal of Animal Physiology and Development
Volume 15, Issue 4, Number 60, Pages 80-96
Qjaphd.sinaweb.net **ISSN: 9880-1735**

The effect of the combination of black seed and honey (docin) on level of sex steroids and spermatogenesis following induction of hypothyroidism in adult male rats

Parisa Poorzal [1], **Mokhtar Mokhtari[2]**, Mehrdad Shariati[3]

1- Phd candidate, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
2- Professor, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
3- Associated Professor, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Received:2022.10. 18 **Accepted: 2022.11.19**

Abstract

Introduction & Objective: Changes related to thyroid hormones cause gonadal dysfunction and infertility Present study aimed at determining the effect of Dosin (Sativa Nigella and honey mixture) on sex stroids and spermatogenesis following Methimazole induction of hypothyroidism in rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 60 adult male Wistar rats aged about 10-11 weeks were randomly divided into six groups of ten, including the control group, The Sham group,experimental group 1; the adminstration of methimazol at dose of 25 mg/kg for 10 day , experimental group 2; the adminstration of Dosin alone at dose of 200 mg/kg for 21 days, groups Experiments 3 and 4 ; the adminstration of Dosin at the dose of 100 and 200 mg/kg for 21 days, were divided. At the end of the experiment, blood was taken from the heart of the animals and the serum concentrations of dihydrotestosterone, androsterone, dihydroepiandrosterone and androstenedione were measured. Hematoxylin-eosin staining was also performed to examine testicular tissue changes.

Result: The amount of dihydrotestosterone, dihydroepiandrosterone and androstenedione in experimental groups 3 and 4 showed a significant increase compared to experimental group 1. The amount of androsterone in experimental group 4 increased compared to experimental group 1.
In experimental groups 3 and 4, primary spermatocyte cells, spermatids and the amount of epididymal sperm storage showed a significant increase compared to experimental group 1.

Conclusion: Based on the results, black seed and honey (docin) improve and multiply the cells of spermatogenic germ line in rats with hypothyroidism.

Key words: Dosin, hypothyroidism,sex steroids, spermatogenesis, rat