Archive of SID.ir

Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 34, No. 1, Spring 2024 ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of the protective effect of vitamin E on sperm parameters in the mice exposed to zolpidem

Marziye Karimi[1], Mohammad Taghi Sheibani[2], Zahra Tootian[3], Simin Fazelipour[4], Mohammad Babaei[5]
[1] PhD Student of Comparative Histology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[2] Associate Professor, Department of Comparative Histology & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[3] Professor, Department of Anatomy & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[4] Professor, Department of Anatomy, Faculty of Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[5 5] Assistant professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Abstract

Background: Due to lifestyle changes and increased anxiety consumption of zolpidem has increased among young people. Zolpidem is the second sleeping medication used in the world. the harmful effects of this drug on the reproductive system have been proven. The present study was conducted to evaluate the protective effects of vitamin E against zolpidem injuries on male reproductive system.
Materials and methods: In this experimental study forty eight adult male mice NMRI strain at a mean weight of 25±5 grams were divided into one control and seven experimental groups. Zolpidem was prepared in distilled water .The control group received distilled water (as solvent of zolpidem) The groups 1, 2 and 3 received zolpidem at the doses 5, 10 and 20 (mg/kg of body weight). The group of 4 received (100 IU/kg of body weight) vitamin E and the groups of 5,6 and 7 received Zolpidem+ vitamin E for 35 days. One day after the last gavage, the treatment groups were sacrificed, the hearts were dissected and blood samples were obtained. Then the sperm parameters MDA, TAC and testosterone were evaluated.
Results: Significant reduction in the count, motility, number of live and mature sperms at high doses were observed. DNA damage was increased, which vitamin E could result in improvement. The total antioxidant capacity and testosterone levels decreased while the amount of malondialdehyde level in the serum increased. Administration of Vitamin E improved MDA, TAC and testosterone level.
Conclusion: Zolpidem can increase the free radicals and weakens the body's antioxidant defense system, zolpidem causes disorders related to sperm parameters in high doses and therefore is able to impair the physiological function of male reproductive system. On the other hand, vitamin E, which is a fat-soluble antioxidant, can improve the damage and eliminate reproductive disorders.
Keywords: *Vitamin E, Zolpidem, Sperm, MDA, Testosterone.*

Cited as: Karimi M, Sheibani MT, Tootian Z, Fazelipour S, Babaei M. Evaluation of the protective effect of vitamin E on sperm parameters in the mice exposed to zolpidem. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2024; 34(1): **12-24.**

Correspondence to: Mohammad Taghi Sheibani
Tel: *+98 9122972459*
E-mail: Sheybani@ut.ac.ir
ORCID ID: 0000-0002-8874-3516
Received: 20 May 2018; **Accepted:** 3 Sep 2018

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۴، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳، صفحات ۱۲ تا ۲۴

Original Article

ارزیابی اثر محافظتی ویتامین E بر پارامترهای اسپرم در موش سوری مواجهه یافته با زولپیدم

مرضیه کریمی[۱]، محمد تقی شیبانی[۲]، زهرا طوطیان[۳]، سیمین فاضلی پور[۴]، محمد بابائی[۵]

[۱] دانشجوی دکتری تخصصی بافت شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۲] دانشیار، بخش بافت شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۳] استاد، بخش آناتومی و جنین شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۴] استاد، گروه علوم تشریحی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران
[۵] استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *با توجه به تغییر سبک زندگی و افزایش اضطراب، مصرف داروهای خواب‌آور در بین جوانان افزایش یافته است. زولپیدم دومین داروی خواب‌آوری است که در جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه اثرات مضر این دارو بر دستگاه تولیدمثل به اثبات رسیده، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات محافظتی ویتامین E در برابر آسیب‌های ناشی از زولپیدم بر دستگاه تناسلی نر انجام شده است.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، ۴۸ سر موش نر بالغ نژاد NMRI به صورت تصادفی به یک گروه شاهد و هفت گروه تجربی تقسیم شدند. گروه های تجربی اول، دوم و سوم به ترتیب زولپیدم را به میزان ۵، ۱۰ و ۲۰ mg/kg.BW دریافت کردند. گروه تجربی چهارم، ویتامین E را به میزان ۱۰۰IU/kg.BW و سایر گروه های تجربی پنجم، ششم و هفتم چهار ساعت بعد از دریافت زولپیدم به میزان ۵، ۱۰ و ۲۰ mg/kg.BW، ویتامین E دریافت نمودند. روش تجویز در تمامی گروه ها به صورت خوراکی و به مدت ۳۵ روز بود. ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، نمونه های خونی و پارامترهای اسپرم ارزیابی شده و سطح سرمی MDA, TAC و تستوسترون نیز مورد بررسی قرار گرفتند.*

یافته‌ها: *کاهش معنی‌دار در تعداد، تحرک، تعداد اسپرم های زنده، و اسپرم‌های بالغ در دوزهای بالا مشاهده گردید. همچنین آسیب به DNA افزایش یافته که ویتامین E توانست آسیب به DNA را بهبود بخشد. ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و سطح تستوسترون کاهش یافته و میزان مالون دی آلدئید در سرم افزایش یافت. تجویز ویتامین E سبب بهبود وضعیت MDA, TAC و سطح تستوسترون خون گردید.*

نتیجه‌گیری: *زولپیدم، به واسطه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و نیز تضعیف دستگاه دفاع آنتی اکسیدانی بدن، موجبات اختلالات مربوط به پارامترهای اسپرم را در دوزهای بالا فراهم می‌کند به همین سبب قادر است تا عملکرد فیزیولوژیک سیستم تولیدمثل نر را دچار اختلال نماید. از طرفی ویتامین E که یک آنتی اکسیدان محلول در چربی است توانست آسیب‌های به وجود آمده را بهبود بخشد و اختلالات تولیدمثلی را از بین ببرد.*

واژگان کلیدی: *ویتامین E، زولپیدم، اسپرم، مالون دی آلدئید، تستوسترون.*

مقدمه

داروهای آرام بخش شامل دو گروه بنزودیازپینی و غیر بنزودیازپینی می باشند. داروهای بنزودیازپینی شامل دیازپام، میدازولام ،الپرازولام و ... بوده و داروهای غیر بنزودیازپینی شامل سرترالین، فلوکستین، الپیدم و ... می باشند. زولپیدم بعنوان یک داروی خواب آور غیر بنزودیازپینی برای القا و حفظ خواب در بزرگسالان استفاده شده (۳-۱) و از نظر

آدرس نویسنده مسئول: تهران، بخش بافت شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران،
محمد تقی شیبانی (email: Sheybani@ut.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0002-8874-3516
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۳/۲۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۶/۶

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]
Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

شـــیمیایی دارای فرمـــول N,N,6 trimethyl-2-(4-methylphenyl)-imidazo[I ,2-a]-pyridine-3-acetamide hemitartrate می باشد (۴). این دارو در اروپا از سال ۱۹۸۷ عرضه شده و در آوریل سال ۱۹۹۲ توسط سازمان غذا داروی آمریکا تایید گردید (۳-۱). نیمه عمر این دارو ۱/۵ تا ۳/۲ ساعت است و کلیرانس آن ۰/ ۲۴ تا ۰/ ۲۷ می باشد. مصرف این دارو در بیماران کبدی و کلیوی با احتیاط توصیه می شود (۱). نام‌های تجاری مختلف زولپیدم شامل دریمکس (Dreamex)، استیل‌ناکت (Stilnoct)، زولپیرست (Zolpirest) و زولیناکس (Zolinax) می باشند (۵). برخی از اثرات گزارش شده این دارو شامل جلوگیری از تاخیر در خواب، کاهش بیداری شبانه، خواب آرام و سریع، افزایش کل مدت خواب و در کل تاثیر بر هماهنگی صبحگاهی و سلامتی در طول روز می باشند (۱۰-۶). مدارک موجود بیان می کنند که زولپیدم ممکن است سبب هذیان گویی، کابوس و توهم شده و وابستگی ایجاد نماید (۱۱،۱۲). بر اساس تحقیقات انجام شده این دارو ممکن است سبب تصادف حین رانندگی، سکته، شکستگی مفصل هیپ، آب مروارید و التهاب پانکراس شود (۱۷-۱۳). در دو مطالعه بیان شده که زولپیدم ممکن است سبب بعضی از عفونت ها مانند التهاب حلق، التهاب برونش ها، آب ریزش بینی و ذات الریه شود (۱۸،۱۹). سه نوع گیرنده بنزودیازپینی شناخته شده است که به عنوان مثال در مخچه گیرنده های زیرگروه BZ_1(Benzodiazepine) در قشر مخ دو نوع گیرنده $BZ_1(\omega_1)$ و $BZ_2(\omega_2)$ و گیرنده های BZ_3 (ω_3) در بافت های اطراف طناب نخاعی وجود دارند(۱). زولپیدم تمایل زیادی برای اتصال به گیرنده های گابای موجود در مغز دارد. فعالیت فارماکولوژیکی زولپیدم در نتیجه اتصال انتخابی به گیرنده بنزودیازپینی BZ_1 است که در داخل کمپلکس یونوفرهای کلریدی به همراه گیرنده گابا GABA(Gamma Amino Butyric Acid) قرار دارد. این کمپلکس (GABA (GRSC) Receptor Supramolecular Complex) مسئول فعالیت دریچه کانال های کلریدی در پاسخ به فعال شدن توسط نوروترنسمیتر مهاری گابا می باشد. زولپیدم یک گابانرژیک قوی است که فرکانس باز شدن کانال های کلریدی را افزایش می دهد و در نتیجه سبب مهار هیجانات عصبی می شود (۲۰). در حالی که بنزودیازپین ها گیرنده های BZ_1، BZ_2 و BZ_3 را به صورت غیر انتخابی فعال می کنند و این علت برخی عملکردهای غیراختصاصی فارموکولوژیک این گروه دارویی است. در مقابل، به نظر می رسد زولپیدم به صورت اختصاصی به زیر واحد آلفا گیرنده BZ_1 متصل شده و تنها سبب آرام بخشی می شود و عاری از اثرات شل کننده عضلانی، ضد اضطراب و ضد تشنج قابل توجه می باشد (۲۱). بر اساس مطالعات انجام شده در بیضه جوندگان و انسان گیرنده GABA در سلول های لیدیگ بیان شده است همچنین در اسپرماتید رت و بعضی برش های بیضه نیز وجود این گیرنده به اثبات رسیده است (۲۲). استرس اکسیداتیو در نتیجه نقص سیستم دفاع آنتی اکسیدانی یا افزایش تولید رادیکال های آزاد ایجاد شده که می تواند با اثرات مخرب خود باعث مرگ سلولی گردد. در موارد افزایش استرس اکسیداتیو بافت های مختلف از جمله مغز، قلب، کلیه، کبد و دیگر بافت ها تحت تاثیر قرار می گیرند (۲۳). اسیدهای چرب غیر اشباع با پیوندهای دوگانه در غشای اسپرم، آن را نسبت به استرس اکسیداتیو حساس نموده، در صورتی که مورد حمله پراکسیدازها قرار گیرند، پیوندهای غیراشباع شکسته شده و فعالیت آنزیم‌های غشایی و کانال‌های یونی کاهش می یابد. در نتیجه این امر مکانیسم های سلولی لازم برای لقاح، تحت تاثیر قرار می گیرند (۲۴). ویتامین E یکی از ویتامین های محلول در چربی بوده و مربوط به گروهی از ترکیباتی است که حاوی α tocopherol می باشد. این ویتامین مانند ویتامین C خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و اثر شیمیایی مخربی که به بافت‌های بدن آسیب می رساند را از بین می‌برد. ویتامین E توانایی زیادی در خنثی کردن رادیکال‌های آزادی دارد که درون سلول‌های بدن ساخته می‌شوند. رادیکال های آزاد چون دارای الکترون جفت نشده هستند برای متعادل کردن خودشان اقدام به جذب الکترون‌های سلول‌های سالم بدن می‌کنند و از این طریق به آنها صدمه می‌زنند. ویتامین E بعنوان یک آنتی اکسیدان قوی از آسیب های ایجاد شده توسط رادیکال های آزاد جلوگیری کرده و می تواند با فعالیت های موثر خود، بر روی انواع بیماری‌های دژنراتیو مثل بیماری های قلبی- عروقی، سرطان، بیماری های التهابی، اختلالات عصبی و آب مروارید تاثیر داشته و در نگهداری از سیستم ایمنی بدن، نقش داشته باشد (۲۵). در دوره جنینی، در گنادهای جنسی پستانداران سلول‌های زایای بدوی (primordial germ cells) از دیواره کیسه زرده حرکت کرده و خود را به گناد اولیه جنسی رسانده و سلول‌های اسپرماتوگونی (spermatogonia) تکثیر می یابند. لوله‌های منی ساز (seminiferous tubules) پوشیده از سلول های جنسی هستند که در ۳ تا ۴ رده سلولی قرار گرفته‌اند. این سلول ها از زمان بلوغ پیوسته تکثیر میتوزی می‌شوند تا تعدادشان کم نشود و بخشی از آنها طی مراحل مشخص

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

تکاملی تمایز یافته و اسپرم را می‌سازند (۲۶،۲۷). ارزیابی کیفیت اسپرم شامل شمارش اسپرم، قابلیت زنده مانی اسپرم، مورفولوژی اسپرم، قابلیت تحرک اسپرم و بلوغ اسپرم، شاخص مناسبی برای ارزیابی توان باروری در جنس نر محسوب می شود. چنانکه ذکر شد اکسید شدن اسیدهای چرب غشا منجر به از دست رفتن سیالیت غشا، کاهش در فعالیت آنزیم ها وکانال های یونی اسپرم خواهد شد. سلول های زایای اسپرم به دلیل داشتن مقادیر بالای اسیدهای چرب غیر اشباع با چندین پیوند دوگانه در غشای پلاسمایی و میزان ناچیز آنتی اکسیدان های سیتوپلاسمی در برابر آسیب های اکسیداتیو بسیار حساس هستند. با توجه به اینکه داروهای آرام بخش از جمله زولپیدم سبب ایجاد تغییرات در اندام های تناسلی می شوند و از طرفی اثر آنتی اکسیدانی ویتامین E بر روی بیضه به اثبات رسیده است، هدف از این تحقیق بررسی اثر آنتی اکسیدانی ویتامین E بر روی بیضه و پارامترهای اسپرم متعاقب مصرف آرام بخش زولپیدم بوده است.

مواد و روشها

در این تحقیق که یک کارآزمایی تجربی تصادفی است، تعداد ۴۸ سر موش سوری نر بالغ با وزن ۳۵-۲۵ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی با دمای ۲۳±۲ سانتی گراد و رطوبت مطلوب و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شده و کلیه ضوابط و شرایط نگهداری و انجام آزمایشات بر حیوانات طبق دستورالعمل های مصوب کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران صورت پذیرفت (کد اخلاق: IR.UT.VETMED.REC.1401.010) و به صورت تصادفی به ۸ گروه ۶ تایی تقسیم شدند و وزن اولیه آن ها قبل از تیمار تعیین گردید.

گروه اول: گروه Con; دریافت ۰/۳ میلی لیتر آب مقطر به روش گاواژ روزانه به مدت ۳۵ روز.

گروه دوم: گروه تجربی Z 5; دریافت mg/kgBW ۵ زولپیدم به روش گاواژ روزانه به مدت ۳۵ روز.

گروه سوم: گروه تجربی Z 10; دریافت mg/kgBW ۱۰ زولپیدم به روش گاواژ روزانه به مدت ۳۵ روز.

گروه چهارم: گروه تجربی Z 20; دریافت mg/kgBW۲۰ زولپیدم به روش گاواژ روزانه به مدت ۳۵ روز.

گروه پنجم: گروه Vit E; دریافت IU/kgBW ۱۰۰ ویتامین E به روش گاواژ روزانه به مدت ۳۵ روز.

گروه ششم: گروه Z 5 + Vit E ; دریافت mg/kgBW ۵ زولپیدم به همراه IU/kgBW ۱۰۰ ویتامین E به روش گاواژ روزانه به مدت ۳۵ روز.

گروه هفتم: گروه Z 10 + Vit E ; دریافت mg/kgBW ۱۰ زولپیدم به همراه IU/kg.BW ۱۰۰ ویتامین E به روش گاواژ روزانه به مدت ۳۵ روز.

گروه هشتم: گروه Z 20 + Vit E ; دریافت mg/kg.BW ۲۰ زولپیدم به همراه IU/kg.BW ۱۰۰ ویتامین E به روش گاواژ روزانه به مدت ۳۵ روز.

با توجه به اینکه فرآیند تمایز کلی در موش از اسپرماتوگونی به اسپرماتوزوای بالغ به ۳۵ روز نیاز دارد، گاواژ موش ها ۳۵ روز طول کشید(۵۸).

روش آماده سازی زولپیدم: زولپیدم به صورت قرص جامد در دوز ۵-۱۰ میلی گرم از شرکت داروسازی اکسیر تهیه شده است. با توجه به اینکه وزن موش ها حدود ۲۵ گرم بوده، به هر موش ۰/۲۵میلی گرم زولپیدم که در آب مقطر حل شده بود به صورت گاواژ داده شد (۳۸). با توجه به اینک دوز مصرفی در این دارو ،که از لحاظ فراوانی مصرف، دومین داروی خواب آور مورد استفاده انسان است ۵ و ۱۰ میلی گرم است از این دوز استفاده گردید. ویتامین E نیز به صورت قطره از شرکت (بهسا) تهیه شده است.

یک روز پس از پایان دوره تیمار، موش ها دوباره توزین شده و پس از بیهوشی با پروتکل بیهوشی (ترکیب ۱ میلی لیتر کتامین ۱۰٪ و ۰/۱ میلی لیتر زایلازین ۲٪ و ۸،۹ میلی لیتر آب مقطر و تزریق داخل صفاقی ۰/۱ میلی لیتر به ازای هر ۱۰ گرم وزن بدن موش) محوطه شکمی باز شده و پارامترهای مورد نظر بررسی شدند. موش ها قبل و بعد از دریافت زولپیدم وزن شدند. همچنین وزن بیضه ها با ترازوی دیجیتال با حساسیت ۰/۰۱گرم اندازه‌گیری شد. پس از تشریح هر موش، اپی دیدیم زیر لوپ با بزرگنمایی ۲۰ (TL2, Olympus Co., Tokyo) از بافت های اطراف جدا شده، برش‌هایی روی آن ایجاد شد و درون محیط کشت HTF(Human Tubular Fluid) به مدت ۲۰ دقیقه، داخل انکیباتور ۳۷درجه (LEEC Co., England) قرار داده شد. در نهایت سوسپانسیون حاوی اسپرم با استفاده از محیط کشت به نسبت ۱ به ۲۰ رقیق شد. سپس جهت تعیین درصد تحرک اسپرم ها، یک قطره از محلول رقیق شده سوسپانسیون حاوی اسپرم بر روی لام میکروسکوپی گذاشته شد و ۱۰ میدان دید میکروسکوپی با درشت نمایی ۴۰۰× مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس میانگین کل اسپرم های متحرک در این ۱۰ میدان دید به عنوان درصد تحرک ثبت گردید (۲۹). جهت ارزیابی تعداد اسپرم

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

ها از لام نئوبار استفاده شد.۱۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده اسپرم بر روی لام نئوبار قرار گرفته و به مدت ۵ دقیقه بدون حرکت گذاشته شد تا تحرک اسپرم ها کاهش یابد. تعداد اسپرم ها در هر میلی لیتر با استفاده از فرمول n ×50000× d و توسط میکروسکوپ نوری با درشت نمایی ۴۰۰× محاسبه گردید که n تعداد اسپرم های شمارش شده در پنج مربع لام نئوبار و d عکس رقت سوسپانسیون حاوی اسپرم می باشد (۳۰). برای ارزیابی قابلیت زنده ماندن و مورفولوژی اسپرم ها رنگ آمیزی ائوزین-نگروزین EN (Eosin Nigrosin) مورد استفاده قرار گرفت ۲۰ میکرولیتر از نمونه اسپرم را روی لام قرار داده با ۲۰ میکرولیتر از محلول ائوزین آغشته کرده و پس از گذشت ۲۰ دقیقه ، ۲۰ میکرولیتر محلول نگروزین به آن اضافه گردید. پس از تهیه اسمیر از محلول مورد نظر و خشک شدن لام ها، با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر اسپرم های زنده و مرده را مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج حاصل در قالب درصد بیان شدند. مبنای تشخیص اسپرم های زنده از اسپرم های مرده در این روش رنگ آمیزی بر این اصل استوار است که در اثر آسیب به غشاء پلاسمایی، اسپرم ها در برابر رنگ مذکور نفوذ پذیر می گردند. بنابراین آن دسته از اسپرم هایی که هر یک از قطعات سر، گردن و یا دم آنها رنگ گرفته بود به عنوان اسپرم های مرده در نظر گرفته شدند، ارزیابی شمارش اسپرم، قابلیت زنده بودن و ریخت شناسی اسپرم با توجه به دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی انجام گرفت. در همین راستا اسپرم‌های با سر بزرگ، سر کوچک، دو دمی، دو سری، اسپرم‌هایی با دم پیچ-خورده، سر با شکل غیرطبیعی، سیتوپلاسم اضافی باقی‌مانده در قطعات مختلف و در نهایت، اسپرم‌هایی با قطعه میانی غیرطبیعی به عنوان اسپرم های غیرطبیعی در نظر گرفته شدند (۳۱،۳۲). برای بررسی DNA شکسته و یا تک رشته‌ای از رنگ آمیزی آکریدین اورانج AO(Acridine Orange) استفاده شد. . در این روش پس از سه بار شستشوی نمونه اسپرم با بافر و حذف مایع رویی، رسوب حاصل را به کمک بافر به غلظت نهایی رساندیم سپس از این محیط کشت، اسمیرهایی تهیه کرده، آنها را در محیط آزمایشگاه قرار داده تا خشک شود بعد از خشک شدن اسمیرها نمونه ها را به مدت ۳۰ دقیقه داخل ظرف اتانول استون به نسبت ۱ به ۱ قرار دادیم پس از خشک شدن لام ها در مجاورت هوا، لام ها را به مدت ۷ دقیقه داخل محلول آکریدین اورنج قرار داده، پس از خشک شدن نهایی توسط میکروسکوپ فلورسنت، با عدسی با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر و فیلتر ۴۶۰ نانومتر بررسی شد. و نتایج به صورت درصد بیان گردید. این رنگ فلورسنت، جهت تمایز اسپرم های با DNA دو رشته‌ای سالم از اسپرم های با DNA تک رشته‌ای ناسالم و دناتوره بکار می رود. با رنگ آمیزی AO اسپرم های با DNA دو رشته‌ای سالم زیر میکروسکوپ فلورسنت (Leitz, Germany; excitation of 450-490 nm) سبز رنگ و اسپرم های با DNA تک رشته‌ای دناتوره زرد تا قرمز رنگ می‌شود (۳۳،۳۴). برای بررسی وضعیت بلوغ هسته اسپرم، از رنگ آمیزی آنیلین بلو AB (Aniline Blue) استفاده شد. اساس رنگ آمیزی بر این اصل استوار است که در مرحله اسپرمیوژنز پروتامین جایگزین هیستون می شود که این امر در پایداری اسپرم بسیار موثر است. روش کار بدین ترتیب است که پس از تثبیت کردن نمونه اسپرم در محلول اتانول – استون و خشک کردن در مجاورت هوا ، لام ها به مدت هفت دقیقه در محلول حاوی رنگ آنیلین بلو قرار داده شدند. سپس لام ها را در مجاورت هوا قرار داده که بعد از اینکه خشک شدن، با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. در این رنگ آمیزی اسپرم های نابالغ به رنگ آبی پر رنگ و اسپرم های بالغ رنگ پذیری کمتری دارند. اسپرم ها با میکروسکوپ نوری Olympus, magnification ×1000 مطالعه گردیدند (۵۷-۳۵). جهت ارزیابی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو مالون دی آلدئید (MDA-malondialdehyde) سرم و میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم (TAC-Total Antioxidant Capacity) مورد بررسی قرار گرفتند. ROS (Reactive Oxygen Species) به اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه که در غشای سلول حضور دارند، حمله کرده و موجب پراکسیداسیون لیپیدی می گردد. برای تعیین میزان پراکسیداسیون چربی در گروه های کنترل و تجربی، سطح سرمی MDA تعیین گردید (۳۶). برای ارزیابی این فرایند در نمونه های سرمی اندازه گیری مالون دی آلدئید برپایه واکنش تیوباربوتیریک اسید، استخراج با بوتانول نرمال، اندازه گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد می باشد. ۰/۵ میلی لیتر از سرم با 3 میلی لیتر اسید فسفوریک (۱درصد با حجم برابر) ترکیب و سپس به وسیله ورتکس با هم مخلوط شدند. ۲۰ میلی لیتر از تیوباربیتوریک اسید با غلظت ۶/۷g/l به نمونه ها اضافه شد. نمونه ها در حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفته و سپس در یخ قرارداده شدند تا سرد شوند. سپس ۳ میلی لیتر ان بوتانول به آن اضافه گردید. مقدار جذب نوری به وسیله اسپکتروفوتومتری اندازه گیری و براساس منحنی کالیبراسیون استاندارد مالون دی آلدئید محاسبه شد (۵۷). برای بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم، روش FRAP(Ferric Reduction Antioxidant Power) استفاده گردید. این روش براساس توان احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

می باشد. احیاء ترکیب (Tri-2-4-6pyridyal-1,3,5-triazin) Fe3+-TPTZ به Fe2+ باعث ایجاد رنگ آبی می‌شود. این رنگ در طول موج ۵۹۳ نانومتر و توسط دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. جهت اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام مراحل زیر انجام شد: به منظور اندازه گیری میزان TAC سه محلول TPTZ, Fecl3و استات بافر به نسبت ۱:۱:۱۰ حل گردیدند. یعنی یک قسمت از TPTZ ،یک قسمت از Fecl3 و ده قسمت از استات بافر را با هم حل نموده و به مدت ۱۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از آن ۳۰ µl از هموژن بافت با ۲۰۰µl از Frap را در در میکروتیوب ریخته و حل کردیم، سپس ۷۷۰µl آب مقطر به آن اضافه کرده و حجم آن را به یک ۱cc رساندیم. پس از قرار گرفتن در انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتیگراد) به مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ با ۱۰۰۰۰ دور نیز به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. اندازه گیری جذب نیز توسط دستگاه الایزا و در طول موج ۵۹۳ نانومتر صورت گرفته است (۵۸). برای ارزیابی بیوشیمیایی و اندازه گیری سطح سرمی تستوسترون، از بطن راست قلب موش ها خون گیری شده، نمونه ها سانتریفوژ و سطح سرمی تستوسترون با استفاده از کیت تعیین گردید. کیت اندازه گیری تستوسترون به روش الایزا و ایمونواسی (DRG, Germany) طراحی شده است (۳۷).

تحلیل آماری

در این آزمون جهت ارزیابی آماری از بسته نرم افزاری SPSS 23 استفاده شده و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردیدند. همچنین جهت مقایسه بین گروه ها از آنالیز واریانس یکطرفه آماری و بدنبال آن تست تکمیلی توکی مورد استفاده قرار گرفت. و در مواردی که ($P<۰/۰۵$) بود به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد (۳۴).

یافته‌ها

بررسی تعداد اسپرم ها

نتایج حاصل از شمارش اسپرم ها نشان داد که تعداد اسپرم‌ها در گروه های Z 10 و Z 20 در مقایسه با گروه های مختلف تجربی و Con کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱).

تحرک اسپرم

نتایج بررسی تحرک اسپرم نشان داد که گروه Z 20 در مقایسه با گروه Con دارای کاهش معنی‌دار بوده ($P<۰/۰۵$) و همچنین گروه های Z 10 و Z 20 در مقایسه با گروه Vit E کاهش معنی‌داری داشتند ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱).

قابلیت زنده مانی اسپرم

نتایج حاصل از بررسی درصد اسپرم‌های زنده بیانگر این است که میانگین درصد اسپرم‌های زنده در گروه‌های Z 20 و Z 20 + Vit E در مقایسه با گروه Con کاهش معنی‌داری داشته ($P<۰/۰۵$) و همچنین گروه‌های Z 10 ، Z 20 و Z 20 + Vit E نسبت به گروه Vit E نیز دارای کاهش معنی-داری بودند ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱).

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند.Con: کنترل ،Z 5: زولپیدم ۵ میلی گرم،Z 10: زولپیدم ۱۰ میلی گرم،Z 20: زولپیدم ۲۰،میلی گرم،. Vit E : ویتامین E، Z 5 + Vit E : زولپیدم ۵ میلی گرم به اضافه ویتامین E. Z 10 + Vit E : زولپیدم ۱۰ میلی گرم به اضافه ویتامین E. Z 20 + Vit E: زولپیدم ۲۰ میلی گرم به اضافه ویتامین E..* وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه کنترل ($P<۰/۰۵$). # وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه Vit E ($P<۰/۰۵$). + وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه متناظر خود ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱. مقایسه میانگین تعداد اسپرم، درصد تحرک اسپرم و درصد اسپرم های زنده در گروه های کنترل و تجربی

گروه ها	تعداد اسپرم (میلی لیتر/ ^{۶} ۱۰)	تحرک اسپرم(%)	میانگین اسپرم های زنده(%)
Con	۱۴/۲ ± ۱/۵۲	۸۵/ ۶ ± ۵/۴	۸۹/۴ ± ۳/۰۴
Z 5	۱۲/۹ ± ۱/۹۸	۸۳/۴ ± ۶/۸	۸۷/۲ ± ۵/۴
Z 10	۹/۵ ± ۲/۰۹ *#	۷۱ ± ۱۳/۹۳ #	۷۸/۶ ± ۷/۷ #
Z 20	۸ ± ۱/۸۴ *#	۶۳/۶ ± ۷/۹۹ *#	۶۶ ±۱۰/۱۲*#
Vit E	۱۵/۹ ± ۲/۱	۸۹/۲ ± ۶/۷۶	۹۴ ± ۴/۰۶
Z 5 + Vit E	۱۳/۷ ± ۱/۴۴	۸۶ ± ۳/۵۴	۸۶/۸ ± ۵/۴۵
Z 10 + Vit E	۱۳ ± ۳/۹۴	۸۴/۴ ± ۵/۰۳	۸۵/ ۴ ± ۶/۶۵
Z 20 + Vit E	۱۱/۸ ± ۲/۳۳	۷۳/۸ ± ۶/۶۱	۷۴ ± ۴/۳۶ *#

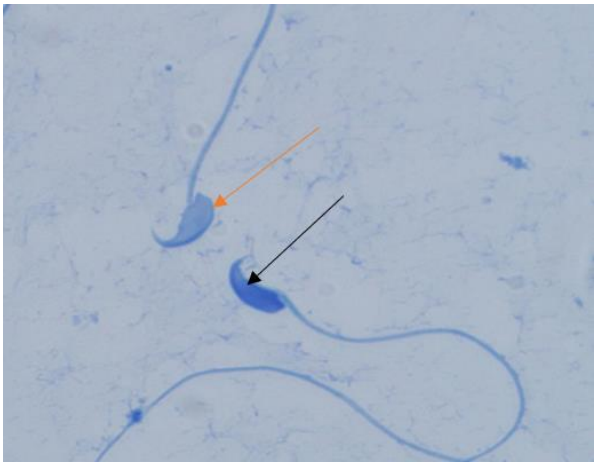
[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

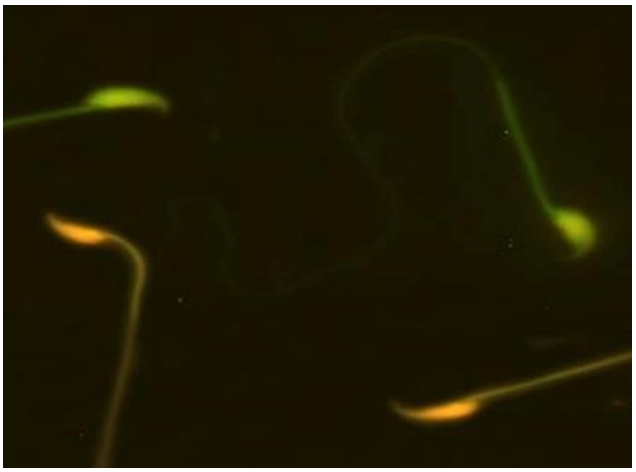
Archive of SID.ir

جدول ۲. مقایسه میانگین درصد اسپرم بالغ، درصد اسپرم های با DNA آسیب دیده و درصد اسپرم های غیرطبیعی در گروه های کنترل و تجربی

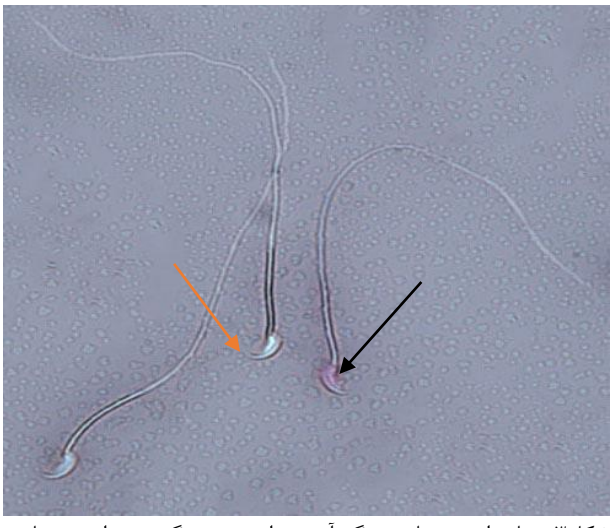
گروه ها	اسپرم های با هسته بالغ (٪)	اسپرم های با DNA آسیب دیده (٪)	اسپرم های غیرطبیعی (٪)
Con	۹۶/۴ ± ۲/۷	۷/۲ ±۱/۹۲	۸/۸ ± ۲/۵۹
Z 5	۹۳/۶ ± ۲/۴	۸/۸ ± ۱/۳	۹/۸ ± ۱/۶۴
Z 10	۹۰/۸ ± ۳/۱۱ #	۸/۸± ۱/۹۲	۱۱/۸ ± ۲/۱۷
Z 20	۸۸/۶ ± ۲/۳ *#	۱۸/۲ ± ۳/۲۷ *#	۱۹/۶ ± ۳/۳۶ *#
Vit E	۹۸/۸ ±۱/۳	۶/۸ ± ۲/۸۶	۷ ± ۱/۵۸
Z 5 + Vit E	۹۳/۸ ±۳/۱۲	۱۱ ± ۱/۵۸	۸ ± ۳/۱۷
Z 10 + Vit E	۹۳/۶ ± ۳/۳۶	۱۱/۶ ± ۲/۴	۸/۶ ± ۴/۱۶
Z 20 + Vit E	۹۱ ±۳/۱۶ #	۱۳ ± ۳/۵۳ *#+	۱۲/۶ ± ۲/۸۸ +



شکل ۱. رنگ آمیزی آنیلین بلو: اسپرم های با سر آبی کم رنگ اسپرم های بالغ (پیکان نارنجی) و اسپرم های با سر آبی پر رنگ اسپرم های نابالغ (پیکان سیاه)که نشان دهنده فراوانی هیستون در کروماتین آن می باشد (بزرگنمایی X۱۰۰).



شکل ۲. نمای ریز بینی اسپرم در رنگ آمیزی آکریدین اورنج : اسپرم های با آسیب DNA با سر قرمز. اسپرم های با DNA سالم با سر سبز (بزرگنمایی X۱۰۰)



شکل۳. نمای اسپرم ها در رنگ آمیزی ائوزین – نگروزین: اسپرم های زنده با سر رنگ نگرفته (پیکان نارنجی) اسپرم های مرده با سر رنگ گرفته (پیکان سیاه) (بزرگنمایی X۱۰۰).

ارزیابی اسپرم های بالغ

ارزیابی میانگین تعداد اسپرم‌های با هسته بالغ نشان داد که فقط گروه Z 20 کاهش معنی‌داری نسبت به گروه Con نشان داد ($P<۰/۰۵$). به علاوه اینکه تعداد اسپرم‌های با هسته بالغ در گروه‌های Z 10 ، Z 20 و Z 20 + Vit E به صورت معنی‌داری نسبت به گروه Vit E کاهش داشت ($P<۰/۰۵$) (جدول شماره ۲).

ارزیابی آسیب به DNA اسپرم

نتایج رنگ آمیزی آکریدین اورنج نشان داد که در گروه های Z 20 و Z 20 + Vit E درصد DNA های آسیب دیده نسبت به گروه های Con و Vit E کاهش معنی‌داری داشته ($P<۰/۰۵$) و همچنین گروه Z 20 + Vit E در مقایسه با گروه متناظر خود کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$) (جدول شماره ۲).

بررسی میزان اسپرم های غیر طبیعی

در بررسی انجام شده مشخص شد میانگین اسپرم‌های غیر-طبیعی در گروه Z 20 نسبت به گروه Con و گروه Vit E افزایش معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$). بعلاوه اینکه میانگین اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه Z 20 + Vit E در مقایسه با

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

جدول ۳. نتایج میانگین آزمایشات بیوشیمیایی تستوسترون، TAC و MDA سرم در گروه های کنترل و تجربی

گروه ها	تستوسترون (ng/ml)	TAC (µmol/ml)	MDA (µmol/ml)
Con	۴/۵۸۲	۱۷۷/۳۵۴	۲/۶۲۲
Z 5	۴/۳۶	۱۷۳/۹۵۸	۲/۵۸۸
Z 10	۳/۸۲۴	۱۶۶/۸۹۲	۳/۶۴۲ *#
Z 20	۲/۲۱۶ *#	۱۰۵/۶۰۴ *#	۵/۰۷۴ *#
Vit E	۴/۳۷	۱۷۸/۹۹۸	۲/۵۲۶
Z 5 + Vit E	۴/۲۳۸	۱۷۴/۰۵۲	۲/۵۶۸
Z 10 + Vit E	۴/۱۴	۱۷۰/۳۷۲	۲/۶۴۶ +
Z 20 + Vit E	۳/۵۵۲ *#+	۱۳۳/۷۷۲ *#+	۳/۳۹۸ *# +

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند. Con: کنترل ،Z 5: زولپیدم ۵ میلی گرم،Z 10: زولپیدم ۱۰ میلی گرم،Z 20: زولپیدم ۲۰ میلی گرم، Vit E : ویتامین E، Z 5 + Vit E : زولپیدم ۵ میلی گرم به اضافه ویتامین E. Z 10 + Vit E: زولپیدم ۱۰ میلی گرم به اضافه ویتامین E. Z 20 + Vit E: زولپیدم ۲۰ میلی گرم به اضافه ویتامین E.* وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه کنترل ($P<۰/۰۵$)، # وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه ویتامین E ($P<۰/۰۵$)، + وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه متناظر خود ($P<۰/۰۵$).

جدول ۴. نتایج میانگین وزن اولیه بدن، وزن ثانویه بدن، تغییرات وزن بدن و وزن بیضه در گروه های کنترل و تجربی

گروه ها	وزن اولیه بدن (گرم)	وزن ثانویه بدن (گرم)	تغییرات وزن بدن	وزن بیضه چپ (گرم)
Con	۲۴/۶۶ ± ۱/۶۹	۳۴/۴۴ ± ۳/۰۷	۹/۷۸ ± ۱/۶۲	۰/۱۲ ± ۰/۰۱
Z 5	۲۵/۶۶ ± ۱/۵۶	۳۳/۷۳ ± ۳/۶۸	۸/۰۷ ± ۲/۴۷	۰/۱۲ ± ۰/۰۳
Z 10	۲۵/۸ ± ۱/۶۶	۳۴/۷۸ ± ۳/۷۲	۸/۹۸ ± ۲/۲۲	۰/۱۳ ± ۰/۰۲
Z 20	۲۵/۸۸ ± ۲/۲۱	۳۳/۹۵ ± ۳/۴۷	۸/۰۷ ± ۱/۹	۰/۰۷ ± ۰/۰۳ *#
Vit E	۲۵/۷ ± ۲/۳۳	۳۴/۰۷ ± ۲/۸۱	۸/۳۷ ± ۱/۱۴	۰/۱۲ ± ۰/۰۱
Z 5 + Vit E	۲۵/۷۴ ± ۲/۳۶	۳۳/۰۱ ± ۴/۴۵	۷/۲۷ ± ۲/۶۶	۰/۱ ± ۰/۰۲
Z 10 + Vit E	۲۵/۴۹ ± ۲/۶۲	۳۲/۷۵ ± ۶۳,۳	۷/۲۵ ± ۱/۳۸	۰/۱۱ ± ۰/۰۱
Z 20 + Vit E	۲۵/۶۹ ± ۲/۲۹	۳۳/۴۳ ± ۳/۱	۷/۷۳ ± ۱/۱۳	۰/۱۱ ± ۰/۰۱

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند. Con: کنترل ،Z 5: زولپیدم ۵ میلی گرم،Z 10: زولپیدم ۱۰ میلی گرم،Z 20: زولپیدم ۲۰ میلی گرم، Vit E : ویتامین E، Z 5 + Vit E : زولپیدم ۵ میلی گرم به اضافه ویتامین E. Z 10 + Vit E: زولپیدم ۱۰ میلی گرم به اضافه ویتامین E. Z 20 + Vit E: زولپیدم ۲۰ میلی گرم به اضافه ویتامین E.* وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه کنترل ($P<۰/۰۵$)، # وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه ویتامین E ($P<۰/۰۵$)، + وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه متناظر خود ($P<۰/۰۵$).

گروه متناظر خود کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$) (جدول شماره ۲).

سنجش میزان مالون دی‌آلدئید سرمی

دریافت داروی زولپیدم در دوزهای ۱۰ و ۲۰ موجب افزایش میزان لیپید پروکسیداسیون و محصول نهایی آن یعنی MDA در نمونه‌های سرمی گردیده بود. بررسی میزان پراکسیداسیون چربی‌ها در حیوانات نشان داد که تجویز زولپیدم در گروه‌های Z 10 و Z 20 باعث افزایش معنی‌داری در میزان MDA در مقایسه با گروه‌های Con و Vit E شده بود ($P<۰/۰۵$). همچنین سطح سرمی MDA در گروه Z 20+E نیز در مقایسه با گروه‌های Con و Vit E افزایش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). گروه‌های Z 10+ Vit E و Z 20+ Vit E دارای کاهش معنی‌داری در سطح سرمی MDA خود در مقایسه با گروه متناظر خود بودند ($P<۰/۰۵$).

ارزیابی حاصل از سنجش هورمون تستوسترون

بررسی میزان هورمون تستوسترون در گروه‌های مختلف مشخص نمود که میزان این هورمون در گروه Z 20 با گروه‌های Con و Vit E دارای کاهش معنی‌دار بوده ($P<۰/۰۵$) و همچنین سطح سرمی تستوسترون در گروه Z 20+ Vit E نیز در مقایسه با گروه‌های Con ، Vit E کاهش معنی‌دار و در مقایسه با گروه متناظر خود افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۳).

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم

دریافت زولپیدم در دوز بالا موجب کاهش TAC در نمونه های سرمی گردیده بود، به طوری‌که سطح TAC سرم در گروه Z 20 در مقایسه با گروه‌های Con و Vit E دارای کاهش معنی‌دار داشته ($P<۰/۰۵$) و بعلاوه اینکه میزان سطح سرمی TAC در مقایسه با گروه‌های Con ، Vit E

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

کاهش معنی‌دار و در مقایسه با گروه متناظر خود افزایش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$) (جدول ۳).

بررسی وزن بیضه و وزن بدن

ارزیابی وزن بیضه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن بیضه در گروه های مختلف نشان داد که وزن بیضه در گروه دریافت کننده زولپیدم با دوز ۲۰ (Z 20) کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های کنترل و ویتامین E داشت ($P<۰/۰۵$) (جدول ۴).

تغییرات وزن بدن

بررسی وزن اولیه و ثانویه و تغییرات وزن بدن در گروه‌های مختلف نشان داد که زولپیدم اثری بر تغییرات وزن بدن ندارد و تغییرات وزن بدن در گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۴).

بحث

امروزه مصرف داروهای غیر بنزودیازپینی مانند زولپیدم به علت افزایش بی خوابی به خصوص در بین جوانان افزایش یافته است. در مطالعات مختلف تاثیرات زولپیدم بر اعضای مختلف بدن مانند سردرد، خواب آلودگی، سر گیجه، درد عضلانی، درد مفاصل، تاری دید، کهیر، اسهال و رفتارهای عجیب گزارش شده است (۴۱). مشخص گردیده است که زولپیدم بر محور هیپوتالاموس هیپوفیز گناد تاثیر می گذارد و باعث کاهش سطح هورمون های FSH و LH می شود (۳۹). در مطالعه ای که بر روی دستگاه تناسلی موش ماده صورت گرفته نشان داده شده که زولپیدم با دوزهای۱۰ و۲۰ باعث کاهش ضخامت اندومتر رحم و کاهش معنی دار غدد رحمی می شود (۳۸). با توجه به اینکه این دارو از طریق سیستم گابا عمل می کند باعث هایپر پولاریزاسیون شده، سبب باز شدن کانال های کلریدی می شود و با ایجاد حالت مهاری سبب خواب آلودگی می گردد. در موش های مورد مطالعه، حالت خواب آلودگی دیده شد ولی در موش ها اضافه وزن مشاهده نگردید در حالی که در برخی مطالعات قبلی بیان شده بود که این دارو سبب کاهش وزن می شود (۵۵). در مطالعه ی حاضر که بر روی ۴۸ موش انجام گرفت، در گروه های Z 10 و Z 20 کاهش تعداد اسپرم نسبت به گروه های Con و Vit E مشاهده گردید و همچنین در گروه Z 20 تحرک اسپرم نسبت به گروه Con کاهش نشان داد. در نتایج به دست آمده از تاثیر دیازپام با دوز ۳ میلی گرم بر کیلوگرم بر پارامترهای مرتبط بر اسپرماتوژنز اثر کاهشی به اثبات رسیده است (۴۲). در مطالعه ای که جهت بررسی تاثیر سرترالین با دوزهای ۰/۳۵۶-۰/۵۳۴ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ به موش ها داده شد، مشخص گردید که سرترالین باعث کاهش تعداد، قابلیت زنده مانی و تحرک اسپرم ها می شود. در این مطالعه سطح FSH خون افزایش و سطح تستوسترون کاهش یافته که این امر سبب تغییر سطح استروئید ها و اختلالات جنسی گردیده است. مطالعات بیان می کنند کاهش سطح تستوسترون باعث کنده شدن اسپرماتید های گرد از سلول های سرتولی و رها شدن آنها در لوله های سمینیفر می شود و همین امر باعث کاهش تعداد اسپرم می شود (۵۶). در مطالعه حاضر، بررسی میزان هورمون تستوسترون در گروه‌های مختلف نشان داد که میزان این هورمون در گروه Z 20 در مقایسه با گروه‌های Con و Vit E دارای کاهش معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). سطح هورمون تستوسترون در گروه Z 20+E نیز نسبت به گروه‌های Con ، Vit E کاهش معنی‌دار و در مقایسه با گروه متناظر خود افزایش معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$). به نظر می رسد کاهش تستوسترون باعث کاهش تعداد اسپرم ها شده باشد. در تحقیقی که رابطه میان استفاده از داروهای ضد افسردگی و ناباروری مردان را بررسی نموده به تعدادی بیمار افسرده که قبل از شروع درمان اسپرم های طبیعی داشتند دیس متیل ایمی پرامین داده شده که نتیجه آن کاهش معنی دار در تعداد اسپرم های زنده بیماران بوده است (۴۳). با توجه به اینکه اثر داروهای ضد افسردگی بر حرکت اسپرم مشخص نیست ممکن است با اثر بر گاما آمینو بوتیریک اسید (تنظیم کننده فیزیولوژیک حرکت اسپرم)، اثر بر PH یا چسبندگی اسپرم، یا اثر بر نیتریک اکساید (مهار کننده حرکت اسپرم)، موجب تغییر در حرکت اسپرم و اسپرماتوژنز شده باشند (۴۲،۴۳). در مطالعه ای دیگر ۲۰ میلی گرم پاروکسیتین به بیماران داده شد و مشاهدات نشان داد، درصد شکست DNA اسپرم به طور معنی داری تغییر کرده بود (۴۵). در ۱۵ مرد درمان شده با کلومی پیرامین اسپرم ها مورد بررسی قرار گرفته، کاهش در حجم و تحرک اسپرم ها مشاهده گردید (۴۶). همچنین در مطالعه دیگری که در محیط آزمایشگاه انجام شده، نشان داده است که ایمیپرامین، دیس متیل ایمیپرامین و نورتریپتیلین سبب مهار تحرک اسپرم می گردند (۴۴). همچنین نفازودون می تواند موجب کاهش تعداد و تحرک اسپرم شود (۴۷). در رنگ آمیزی AO مشخص شد که در گروه های دریافت کننده Z 20 و Z 20+ Vit E اسپرم های با DNA آسیب دیده نسبت به گروه Con افزایش معنی دار داشتند ($P<۰/۰۵$). در گزارشات قبلی بیان شده است

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

کروماتین در هسته اسپرم نسبت به استرس اکسیداتیو آسیب پذیر است و همین امر منجر به ایجاد تغییرات و تکه تکه شدن DNA می شود (۴۹). درگروه Z 20 داروی زولپیدم موجب کاهش اسپرم هایی با هسته بالغ شده بود .در این گروه میزان اسپرم های غیر طبیعی افزایش یافته بود. در گروه های دریافت کننده سولپراید نیز میزان اسپرم هایی با هسته نابالغ افزایش یافته همچنین تعداد و کیفیت اسپرم کاهش یافته بود (۵۰). یافته ها نشان می دهند که گونه های فعال اکسیژن باعث القا پراکسیداسیون لیپیدی در غشا اسپرم گردیده و پراکسیداسیون اسیدهای چرب ناشی از آن با اثرات سمی بر اسپرم باعث کاهش عملکرد آن می شوند (۵۱). در طی پراکسیداسیون لیپیدی چندین محصول تولید می گردد که مهم ترین آن MDA می باشد. این بیومارکر با نفوذ به غشای سلول موجب عدم تقارن در اجزای لیپیدی غشا می شود. ثابت شده است که میزان این بیومارکر در پلاسمای سمینال با تحرک اسپرم دارای رابطه معکوس می باشد. همچنین پیوندهای محکمی با DNA سلول داشته و موجب بروز شکستگی در کروموزوم می شود (۵۴-۵۲). در مطالعه حاضر مشخص گردیدکه تجویز زولپیدم در گروه Z 20 باعث افزایش معنی‌دار MDA (P<۰/۰۵) در سرم در مقایسه با گروه‌های Con و Vit E شده که به علت افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می باشد. از سوی دیگر این دارو موجب کاهش میزان TAC در نمونه‌های سرمی در گروه Z 20 نسبت به گروه‌های Con و Vit E گردیده (P<۰/۰۵) که می تواند یکی از دلایل آسیب های گزارش شده باشد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که زولپیدم سبب کاهش تعداد و تحرک اسپرم، کاهش اسپرم های زنده، کاهش بلوغ اسپرم و همچنین افزایش معنی دار آسیب به DNA هسته اسپرم می شود که این یافته ها با نتایج حاصل از اثر فلوکستین بر بافت بیضه و تاثیر آن بر پارامترهای گفته شده هم راستا می باشد (۴۰). بعلاوه در مطالعه حاضر میزان سرمی MDA در گروه های Z 10 و Z 20 افزایش معنی داری (P<۰/۰۵) را در مقایسه با گروه های Con و Vit E نشان داد. به نظر می رسد سرکوب تحرک اسپرم توسط استرس اکسیداتیو به طور مستقیم با القا پراکسیداسیون لیپیدی مرتبط است. افزایش پراکسیداسیون لیپیدی سبب کاهش تحرک اسپرم می شود و ممکن است سبب کاهش سیالیت غشا اسپرم شود. قابل ذکر است که سیالیت غشا جهت اتصال اسپرم به غشا تخمک ضروری است بنابراین اثر پراکسیداسیون لیپیدی علاوه بر آسیب به ساختمان غشا چربی، بر توانایی اسپرم ها برای شرکت در فرایند اتصال به غشا تخمک نیز تاثیر می گذارد (۴۸). بررسی ها در این مطالعه نشان داد که میزان TAC در نمونه های سرمی گروه Z 20 نسبت به گروه های Con و Vit E کاهش معنی دار دارد (P<۰/۰۵) که نتیجه آن با کاهش تعداد، تحرک، زنده مانی و بلوغ هسته اسپرم، افزایش درصد اسپرم های غیر طبیعی و آسیب DNA اسپرم مشهود می باشد. بررسی ها نشان داد ویتامین E می تواند این کاهش را بهبود ببخشد زیرا این ویتامین دارای فعالیت آنتی اکسیدانی زیادی در برابر انواع گونه های فعال اکسیژن از قبیل آنیون سوپراکسید و هیدروکسیل است (۵۴). ویتامین E یکی از آنتی اکسیدان های قوی است که سبب کاهش رادیکال های آزاد می شود و نقش حفاظتی آن در بهبود کیفیت، کمیت اسپرم، لقاح و بهبود باروری در انسان به اثبات رسیده است (۲۲). مطالعه ای که تاثیر سرترالین بر پارامترهای اسپرم را بررسی نموده، نتیجه گیری کرده است که ویتامین E می تواند تاثیر منفی سرترالین بر پارامترهای اسپرم را جبران نموده و سبب افزایش معنی دار در تعداد، تحرک، زنده مانی و بلوغ اسپرم و همچنین کاهش معنی دار در درصد آسیب DNA اسپرم و اسپرم های غیر طبیعی گردد (۲۴). در گروه های مورد آزمایش این تحقیق نیز ویتامین E توانست اسپرم های غیر طبیعی و آسیب به DNA اسپرم را بهبود بخشیده و باعث کاهش سرمی MDA شود. بررسی بهتر تعادل بین اکسیدان و آنتی اکسیدان در محیط داخلی بدن بسیار ضروری می باشد. یکی از شاخص های آن اندازه گیری میزان TAC می باشد که بیان کننده سطح رادیکال های آزاد است. نتایج حاصله، کاهش میزان TAC در گروه Z 20 را نشان داده که البته دریافت مکمل ویتامین E توانست این اثر را بهبود بخشد. درگروه Z 20 داروی زولپیدم موجب کاهش اسپرم های با هسته بالغ شده و میزان اسپرم های غیر طبیعی افزایش یافته بود. در مطالعات قبلی کاهش MDA به دنبال مصرف ویتامین E به اثبات رسیده است. در گروه های دریافت کننده سولپراید نیز میزان اسپرم های با هسته نابالغ افزایش یافته و همچنین تعداد و کیفیت اسپرم کاهش یافته بود (۵۰).

با جمع بندی یافته های حاضر چنین بر می آید که زولپیدم در دوزهای بالا با افزایش میزان رادیکال‌های آزاد و تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی بدن، موجب اختلال در پارامترهای اسپرم می‌شود، که البته ویتامین E به علت خاصیت آنتی اکسیدانی که دارد می تواند این تغییرات را بهبود بخشیده و سبب بهتر شدن بعضی از پارامترهای اسپرم شود. البته جهت

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

انجام کارهای درمانی بر روی انسان نیاز به کارآزمایی بالینی گسترده در این زمینه می باشد.

REFERENCES

1. Salvà P, Costa J. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of zolpidem. *Clin Pharmacokinetics*. 1995;29:142-153 .

2-Nicholson AN, Pascoe PA .Hypnotic activity of an imidazo-pyridine (zolpidem). *Br J Clin Pharmacol***.** 1986;21:205-211.

3-Merlote L, Roehrs T, Koshorek G, Zorick F, Lamphere J, Roth T. The dose effects of zolpidem on the sleep of healthy normal. *J Clin Psychopharmacol*. 1989;9:9-14.

4-Liu E, Wang W, Guimond C, Synnes A, Sadovink KD, Dahlgren L. Safety of disease modifying drugs for multiple sclerosis in pregnancy current challenges and future consideration for effective pharmacovigilance. *Expert Rev Neurother*. 2013;13:251-60.

5-Veyrac G, Pascale J, Eric D, Veyrac G. Evidence of zolpidem abuse and dependence: results of the French center for evaluation and information on pharmacodependence (CEIP) .*Clin Pharmacol*. 2007;64:198-206.

6-Holm KJ, Goa L. Zolpidem anupdate of its pharmacology therapeutic efficacy and tolerability in the treatment of insomnia .*Drugs*. 2000;59: 865-889.

7-Hajak G, Muller WE, Wittchen HU, Pitrrow D, Kirch W. Abuse and dependence potential for the non-benzodiazepine hypnotics zolpidem and zopiclone. a review Addiction 2003;98:1371-1378.

8-Harrison S, Keating GM. Zolpidem are view of its use in the management. *CNS Drugs J*. 2005;19:65-89.

9-Dang A, Garg A, Rataboli PV. Role of zolpidem in the management of insomnia. *CNS Neuroscience & Therapeutics J*. 2011; 17:387-397.

10-Greenblatt DJ, Roth T. Zolpidem for insomnia. *Expert Opin Pharmacother*. 2012;13 :879-893.

11-Toner LC, Tsambiras BM, Catalano G, Catalano MC, Cooper DS. Central nervous system side effects associated with zolpidem treatment. *Clin Neuropharmacol***.** 2000;23:54-58.

12-Victorri Vigneau C, Gerardin M, Roussel M, Rousselet M, Guerlais M, Pascale MJ. An update on zolpidem abuse and dependence. *Addict Dis J*. 2014; 33:15-23.

13-Yang YH, Lai JN, Lee CH, Chang H, Wang JD, Chung Chen P, et al. Increased risk of hospitalization related to motor vehicle accidents among people taking zolpidem: a case crossover study. *J Epidemiol*. 2011;21:37-43.

14-Huang WS, Tsai CH, Lin CC, Chi HM, Chang Sung F, Chang YJ, et al. Relationship between zolpidem use and stroke risk: a Taiwanese population based case control study. *Clin Psychiatry J*. 2013;74:433-438.

15-Lin FY, Chen PC, Liao CH, Wen Y, Chang Sung F. Retrospective population cohort study on hip fracture risk associated with zolpidem medication. *Sleep J*. 2014;37:673-679.

16-Lai SW, Lin CL, Liao KF. Increased relative risk of acute pancreatitis in zolpidem users. *Psychopharmacol*. 2015;232:2043-2048.

17-Ho YH, Chang YC, Huang WC. Association between zolpidem use and glaucoma risk: a Taiwanese population based case control study. *Epidemiol J*. 2015;25:15-19.

18-Joya FL, Kripke DF, Loving RT, Dawson Lawrence AE, Kline DO. Meta-analyses of hypnotics and infections: eszopiclone, ramelteon, zaleplon and zolpidem. *Clin Sleep Med J*. 2009;5:377-383.

19-Huang CY, Chou FH, Huang YS, Jen Yang CH, Yu Chieh S, Yang Juang SH, et al. The association between zolpidem and infection in patients with sleep disturbance. *Psychiatr Res J*. 2014;54:116-120.

20-Biggio G, Concas A, Maria G, Corda Mariangela S .Enhancement of GABAergic transmission by zolpidem an imidazopyridine with preferential affinity for type I benzodiazepine receptors .*Eur J Pharmaco.l* 1989;28:173-180.

21- Mereu G, Carcangiu G, Concas A, Passino N, Biggio G. Reduction of reticulata neuronal activity by zolpidem and alpidem, two imidazopyridines with high affinity for type I benzodiazepine receptors. *Eur J Pharmacol*. 1990 25;179:339-45. doi: 10.1016/0014-2999(90)90174-5.

22- Geigerseder C, Doepner R, Thalhammer A, Frungieri MB, Gamel-Didelon K, Calandra RS, et al. Evidence for a GABAergic system in rodent and human testis: local GABA production and GABA receptors. *Neuroendocrinology*. 2003;77:314-23. doi: 10.1159/000070897.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]

[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

23- Wang X, Sharma RK, Sikka SC, Thomas AJ Jr, Falcone T, Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril*. 2003;80:531-5. doi: 10.1016/s0015-0282(03)00756-8.

24-Morovvati H, Morshedi F, Anbara H. The Protective effects of vitamin E against sertraline-Induced damage on testicular tissue in adult NMRI mice. *ISMJ*. 2021;24:582-596.

25-Bramley PM, Kafatos EI. Review vitamin E. *J Sci Food Agric*. 2000;80:913-938.

26-Russell L, Ettlin R, Sinha Hikim A, Clegg E. Histological and histopathological evaluation of the testis. *Int J Androl.* 2008;16: 83-83.

27- Kubota H, Brinster RL. Spermatogonial stem cells. *Biol Reprod*. 2018; 99:52-74. doi: 10.1093/biolre/ioy077.

28- Anbara H, Sheibani MT, Razi M. Long-Term Effect of Aspartame on Male Reproductive System: Evidence for Testicular Histomorphometrics, Hsp70-2 Protein Expression and Biochemical Status. *Int J Fertil Steril*. 2020;14:91-101. doi: 10.22074/ijfs.2020.6065.

29-Selvakumar E, Prahalathan C, Sudharsan PT, Varalakshmi P. Chemoprotective effect of lipoic acid against cyclophosphamide induced changes in the rat sperm. *Toxicol J*. 2006;217:71-78.

30-Zambrano GL, Rodriguez G, Guzman C, Garcia RB, Beock L, Diaz L, et al. A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. *Physiol J.* 2005;15:275-284.

31- Narayana K, D'Souza UJ, Seetharama Rao KP. Ribavirin-induced sperm shape abnormalities in Wistar rat. *Mutat Res*. 2002 ;513:193-6. doi: 10.1016/s1383-5718(01)00308-4.

32- Wyrobek AJ, Gordon LA, Burkhart JG, Francis MW, Kapp RW Jr, Letz G, et al. An evaluation of the mouse sperm morphology test and other sperm tests in nonhuman mammals. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat Res*. 1983;115:1-72. doi: 10.1016/0165-1110(83)90014-3.

33- Babaei M, Najafi G, Shalizar Jalali A, Behfar M. Effects of Unilateral Iatrogenic Vas Deferens Trauma on Fertility: An Experimental In Vitro Fertilization Mice Model Study. *Bull Emerg Trauma*. 2015;3:122-7.

34-Babaei M, Tootian Z, Morovvati H, Shojaei B, Fazelipoor S. Protective effects of vitamin E on sperm characteristics and some serum parameters in mice toxicity induced by dianabol. *Med Sci J Islamic Azad Uni*. 2018;28:81-91. [in Persian]

35- Sadeghi MR, Hodjat M, Lakpour N, Arefi S, Amirjannati N, Modarresi T, Jadda HH, Akhondi MM. Effects of sperm chromatin integrity on fertilization rate and embryo quality following intracytoplasmic sperm injection. Avicenna *J Med Biotechnol*. 2009;1:173-80.

36-Agarwal A, Hamada A, Esteves SC. Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility. *Nature Revs Urol*. 2012;9:678-690.

37-Anbara H, Shahrooz R. Mozafari AA, Malekinejad H, Morovvati H, Sheybani, MT, Saadati, S. Protective effects of ethyl pyruvate and vitamin E against phenylhydrazine Induced nephrotoxicity in mice. *Yafte J*. 2018;20:52-67. [in Persian]

38-Mohammadian Kondori S, Hayati Roodbari N, Mohamady Gorji, Parivar K. The effect of zolpidem on uterus tissue histological change and steradiol serum on NMRI mouse. *J Anim Physiol develop.* 2017;10:65-74. [in Persian]

39-Mohammadian Kondori S, Hayati Roodbari N. The effect of zolpidem on oogenesis and LH FSH of adult NMRI mouse strain. *Cell Tissue J.* 2019;10:72-83. [in Persian]

40- Bataineh HN, Daradka T. Effects of long-term use of fluoxetine on fertility parameters in adult male rats. *Neuro Endocrinol Lett*. 2007;28:321-5.

41- Monti JM, Spence DW, Buttoo K, Pandi-Perumal SR. Zolpidem's use for insomnia. *Asian J Psychiatr*. 2017;25:79-90. doi: 10.1016/j.ajp.2016.10.006.

42-Ilkhani AB, Tehrani Pour M. Effect of diazepam on testicular tissue parameter. *J Gorgan Uni Med*. 2020;22:57-64.

43-Zhang X, Zhang Z, Cheng W, Dong X. The effect of chronic antipsychotic treatment on sexual behavior hormones and organ size in the male rat. *Psychopharmacol J*. 2007;21:428-34.

44-Montejo AL, Montejo A, Navarro-Cremades F. Sexual side effects of antidepressant and antipsychotic drugs. *Curr Opin Psychiatry*. 2015;28:418-23.

45-Tanrikut C, Feldman AS, Altemus M, Panduch P, Schlegel N. Adverse effect of paroxetine on sperm. *Fertil Steril.* 2010;94:1021-6.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

46-Maier U, Koining G. Andrological findings in young patients under long term antidepressive therapy with clomipramine. *Psychopharmacol*. 1994;116:357-9.

47-Zajecka J, Dunner DL, Gelenberg AJ, Robert M, Susan GK, Philip TN, et al. Sexual function and satisfaction in the treatment of chronic major depression with nefazodone psychotherapy and their combination. *J Clin Psychiat.* 2002;63:709-16.

48-Sadeghi N, Tavalaee M, Nasr MH. A cellular perspective on the importance of oxidative stress effect on sperm. *JAUMS*. 2018;18:7-20.

49-Bahreinian M, Tavalaee M, Abbasi H, Kiani Esfahani A, Shiravi AH, Nasr Esfahani MH. DNA hypomethylation predisposes sperm to DNA damage in individuals with varicocele. *Syst Biol Reprod Med.* 2015;61:179-86.

50-Ahmadi A, Sader khanlou RA, Ahmadi E. Evaluation of sperm quality maturation and DNA integrity in adult mice treated with sulpiride. *Tehran Univ Med J*. 2012;704: 205-211.

51-Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility rationale significance and treatment. *Europe PMC*. 2002;29:817-827.

52-Gomez E, Irvine DS, Aitken RJ. Evaluation of a spectrophotometric assay for the measurement of malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals in human spermatozoa relationships with semen quality and sperm function. *Int Journal Androl*. 1998;21:81-94.

53-Keskes Ammar L, Feki Chakroun N, Rebai T, Sahnoun Z, Ghozzi H, Hammami S, et al. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. *Arch Androl*. 2003;49:83-94.

54-Wanger H, Cheng JW, Ko E. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Arab J Urol.* 2018;16:35-43.

55-Najar M. Zolpidem and amnestic sleep related eating disorder. *JCSM.* 2007;3:637-638.

56-Hadipour Jahromy M, Amini Moghadam A**.** Effects of sertraline on sperm motility number and viability and its relation to blood levels of testosterone FSH and LH in adult male mice. *ASM*. 2014;4:17-24.

57-Anbara H, Shahrooz R, Razi M, Malekinejad H, Najafi G, Touni SR. The Sperm and invitro fertilization of mice with phenylhydrazine induced hemolytic anemia ameliorating the effect of royal jelly and vitamin C. *J Isfahan Med Sch*. 2016;33:2193-203.

58- Ernst C, Eling N, Martinez-Jimenez CP, Marioni JC, Odom DT. Staged developmental mapping and X chromosome transcriptional dynamics during mouse spermatogenesis. *Nat Commun*. 2019;10:1251. doi: 10.1038/s41467-019-09182-1.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-08-10]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.34.1.2.7]

[DOI: 10.61186/iau.34.1.2]

Archive of SID.ir