مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۳ شماره ۶ بهمن و اسفند ۱۳۹۰ صفحات ۶۷- ۶۲

عوارض مصرف طولانی مدت آملودیپین و اثر استفاده از پنتوکسی فیلین در شرایط In vitro بر پارامترهای اسپرم در موش

بهناز صادق زاده اسکوئی: گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
احمد علی قنبری: گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
لیلا روشنگر: گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
امیر افشین خاکی: گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
جعفر سلیمانی راد: گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، نویسنده رابط:
E-mail: soleimanirj@yahoo.com

دریافت: ۸۹/۵/۳۰ پذیرش: ۹۰/۸/۲۵

چکیده

زمینه و اهداف: یکی از اختلالاتی که می تواند باعث اختلال در فرایند باروری گردد، استفاده از داروهای صناعی برای درمان بیماری های مختلف است که امروزه به طور وسیعی کاربرد دارد. از آنجا که کانالهای کلسیمی در غشای پلاسمایی بسیاری از سلولها از جمله اسپرم وجود دارد، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات مصرف آملودیپین (که یکی از داروهای دسته مهار کننده های کانالهای کلسیمی است) و نیز بررسی اثرات پنتوکسی فیلین (که یکی از داروهای دسته متیل گزانتینی است) بر پارامترهای اسپرم می باشد.

مواد و روش‌ها: جهت انجام این تحقیق، موشهای نر نژاد سوری مورد استفاده قرار گرفتند. موشها به دو گروه کنترل و آزمایش تقسیم شدند. در گروه آزمایش، موشها به مدت سه ماه تحت تاثیر ۵/۲ mg/kg/day آملودیپین قرار گرفتند. پس از اتمام دوره آزمایش، از ناحیه دم اپیدیدیم نمونه برداری شد و پس از قرار دادن در انکوباتور اسپرم ها جمع‌آوری گردید و تعداد کل اسپرمها، درصد اسپرمهای مرده، اسپرمهای با تحرک پیشرونده و آهسته و درجا و نیز اسپرمهایی که واکنش آکروزومی را انجام داده بودند، با استفاده از میکروسکوپ نوری مشخص گردید. سپس در یکی از گروههای کنترل و آزمایش به محیط انکوباسیون اسپرمها، پنتوکسی فیلین با غلظت ۰/۵ میلی مول اضافه شد. چهار ساعت بعد، پارامترهای فوق مجددا مشخص و با یکدیگر مقایسه شد.

یافته‌ها: هیچ تفاوتی در تعداد کل اسپرم ها بین گروه کنترل و گروههای آزمایش مشاهده نشد (P=۰/۴۴). تعداد اسپرم های مرده پس از رنگ آمیزی با ائوزین Y در گروه آملودیپین در مقایسه با گروه کنترل به صورت قابل ملاحظه ای افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). تعداد اسپرم های با تحرک پیشرونده در گروه آملودیپین به صورت چشمگیری کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). تعداد اسپرم های با تحرک آهسته و درجا و نیز اسپرم هایی که واکنش آکروزومی انجام داده بودند در گروه آملودیپین افزایش معنی داری را نشان دادند (P<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده طولانی مدت از آملودیپین باعث کاهش تحرک پیشرونده اسپرم و نیز کاهش میزان واکنش آکروزومی می شود. در صورتی که استفاده از پنتوکسی فیلین باعث بهبود عوارض ناشی از آملودیپین می شود.

کلید واژه‌ها: آملودیپین، پنتوکسی فیلین، پارامترهای اسپرم، موش

مقدمه

باروری زنجیره ای از وقایعی است که اختلال در هر مرحله از این زنجیره به طور قطع باعث شکست در این فرآیند می شود (۱). با توجه به اینکه امروزه استفاده از داروهای شیمیایی به طور وسیعی جهت درمان بیماری های گوناگون مورد استفاده عامه مردم می باشد، بررسی عوارض جانبی آنها از اهمیت بالایی برخوردار است (۳-۲). یکی از داروهایی که به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد، مهار کننده های کانال های کلسیمی است. کانالهای کلسیمی، در غشای پلاسمایی بسیاری از سلولهای تحریک پذیر و تحریک ناپذیر یافت شده است. اثرات سوء مصرف داروهای بلوک کننده کانالهای کلسیمی در فرآیند اسپرماتوژنز به اثبات رسیده است. هر چند آملودیپین نیز جز داروهای مهارکننده کانالهای کلسیمی است، اما هنوز اثرات آن بر روند اسپرماتوژنز مورد بررسی

Archive of SID
www.SID.ir

قرار نگرفته است (۶-۴). هدف از مطالعه حاضر تعیین اثرات آملودیپین بر اسپرماتوژنز و پارامترهای اسپرم است. همچنین با عنایت به شواهد فوق فرض بر این است که اگر آملودیپین اثرات سوئی بر اسپرماتوژنز داشته باشد، اثرات پنتوکسی فیلین که یکی از مشتقات گزانتینی بوده و در بیماری های مزمن انسداد عروقی استفاده می شود، در رفع این عوارض تا چه حدی می تواند مثمر ثمر باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از تعداد ۴۰ سر موش بالغ نر نژاد سوری با محدوده سنی ۳ ماه و محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم که از حیوانخانه مرکزی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شده بود، استفاده شد. حیوانات تحت شرایط مناسب و استاندارد از نظر تغذیه و جایگاه و روشنایی استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. به منظور انجام آزمایش موش ها به ۴ گروه تقسیم شدند که در هر گروه تعداد ۱۰ سر موش قرار داشت:

۱- گروه کنترل که دست نخورده می باشد (n=۱۰)

۲- گروه تحت درمان با آملودیپین (n=۱۰)

۳- گروهی که دست نخورده می باشد و ضمن آماده سازی اسپرم آنها ، پنتوکسی فیلین به محیط انکوباسیون آنها اضافه شده است (n=۱۰)

۴- گروه دریافت کننده آملودیپین که ضمن آماده سازی اسپرم، پنتوکسی فیلین به صورت invitro به محیط انکوباسیون آنها اضافه شده است (n=۱۰).

جهت تهیه غذا، هر کدام از داروهای مورد مطالعه (آملودیپین و پنتوکسی فیلین) به صورت پودر خالص از کارخانه داروسازی امین اصفهان خریداری گردید. سپس با غذای روزانه موش ها مخلوط و برای هر موش به صورت جداگانه (در هر قفس یک موش) داده شد. مقدار مورد استفاده آملودیپین بر اساس تحقیقات قبلی(۷) ۲/۵ mg/kg/day بود که پس از محاسبه برای هر موش، روزانه مقدار ۰/۰۷ mg با غذای فشرده مخلوط و در اختیار آنها قرار می گرفت. در گروههائی که قرار بود اثرات پنتوکسی فیلین بررسی شود مقدار ۱۰ میکرولیتر محلول نیم میلی مولار پنتوکسی فیلین به محیط نگهدارنده اسپرمها اضافه می شد. سه ماه بعد از تیمار، تمامی حیوانات به روش دیس لوکاسیون سرویکال (جابجایی گردنی) کشته شده و از بافت اپی دیدیم آنها نمونه برداری انجام شد و بلافاصله به داخل پلیتی که حاوی محیط کشت Hams-f-10 بود، منتقل گردید سپس نمونه ها به قطعات کوچکتر تقسیم و به دستگاه اون منتقل گردیدند. سی دقیقه بعد، اسپرمها جمع‌آوری شدند و پارامترهای میزان بقاء، تحرک و واکنش آکروزومی در آنها با استفاده از میکروسکوپ نوری تعیین شد. پس از اینکه به نمونه های گروههای ۳ و ۴ پنتوکسی فیلین اضافه شد همه نمونه ها به دستگاه انکوباتور منتقل شده و پس از ۴ ساعت مجددا نمونه برداری و پارامترهای فوق مورد بررسی قرار گرفتند.

در این مطالعه، تعداد اسپرم های مرده با استفاده از رنگ آمیزی ائوزینY تعیین شد و واکنش آکروزومی بر اساس حضور یا عدم حضور کلاهک آکروزومی ارزیابی شد. جهت تعیین سرعت حرکت اسپرم ها، متغیرهای حرکت پیشرونده یا progressive، حرکت آرام یا slow – حرکت درجا یا in situ در نظر گرفته شدند. برای ارزیابی هر کدام از پارامترهای فوق ده میدان از هر لام مورد مطالعه قرار گرفت. جهت ورود اطلاعات و تحلیل آماری داده ها و رسم نمودار ها از نرم افزار آماری SPSS (version 13) استفاده شد. برای نشان دادن معنی دار بودن اختلاف در متغیر ها از روش Repeated Measure ANOVA استفاده شد. برای مقایسه میانگین متغیر های کمی هریک از گروهها نسبت به گروه دیگر از روش آماری One Way ANOVA استفاده شد و تفاوتهای کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعداد کل اسپرم ها و تعداد اسپرم های مرده و نیز تعداد اسپرم های با تحرک پیشرونده و آهسته و درجا و تعداد اسپرم هایی که واکنش آکروزومی را انجام داده بودند، بر حسب میلیون در میلی لیتر و در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه پس از تشریح و ۴ ساعت پس از انکوباسیون مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد کل اسپرم ها در جدول ۱ نشان داده شده است. این تعداد در هیچ کدام از گروهها در فواصل زمانی تحت مطالعه تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (P=۰/۴۴). تعداد اسپرم های مرده پس از رنگ آمیزی با ائوزین Y در جدول ۲ نشان داده شده است. این میزان در تمامی گروه ها و در دو فاصله زمانی تحت مطالعه به طور معنی داری افزایش یافته است (P <۰/۰۰۱). این میزان در گروه کنترل که دارویی دریافت نکرده بود، از ۱۵/۴۵٪ به ۳۱/۴۱٪ افزایش یافت در صورتی که در گروهی که دارویی دریافت نکرده بود ولی پنتوکسی فیلین در محیط کشت به آن اضافه شده بود، از ۱۵/۸۷٪ به ۲۶/۹۳٪ افزایش یافت که این افزایش از نظر آماری معنی دار می باشد (P <۰/۰۰۱). در گروه دریافت کننده آملودیپین این میزان از ۷/۳۸٪ به ۲۷/۰۷٪ افزایش یافت و در گروه آملودیپین+پنتوکسی فیلین در In Vitro از ۱۲/۰۳٪به ۲۷٪ افزایش یافت که اختلاف معنی داری را نشان می دهد. تعداد اسپرم های با تحرک پیشرونده در جدول ۳ نشان داده شده است. در تمامی گروهها، تحرک پیشرونده در فاصله زمانی ۴ ساعت پس از انکوباسیون نسبت به ۱۰ دقیقه پس از تشریح بطور معنی داری کاهش یافته است (P <۰/۰۰۱). میزان این کاهش در گروه کنترل از ۸۹/۹۴٪ به ۲۹/۸۶٪ رسید در صورتی که در گروه دریافت کننده پنتوکسی فیلین در In Vitro این میزان از ۹۱/۰۹٪ به ۷۴/۲۰٪ رسید که این کاهش معنی دار می باشد (P <۰/۰۰۱). میزان کاهش در گروه دریافت کننده آملودیپین از ۴۳/۷۱٪ به ۷/۵۴٪ رسید در صورتی که در گروه دریافت کننده آملودیپین+پنتوکسی فیلین در In Vitro میزان این کاهش از ۴۳/۹۰٪ به ۲۰/۰۶٪ رسید که از نظر آماری معنی دار است. تعداد

Archive of SID

www.SID.ir

اسپرم های با تحرک آهسته در جدول ۳ نشان داده شده است. در همه گروهها و در فواصل زمانی تحت بررسی این میزان، افزایش معنی داری یافته است (P <۰/۰۰۱). مقایسه میزان افزایش در اسپرم های با تحرک آهسته در گروه کنترل از ۱۰/۳۷٪ به ۴۷/۱۲٪ رسید در حالی که در گروه دریافت کننده پنتوکسی فیلین در In Vitro این میزان از ۶٪ به ۱۸/۶۶٪ افزایش یافت که از نظر آماری معنی‌دار است. در گروه دریافت کننده آملودیپین، این میزان از ۲۲/۵۲٪ به ۴۳/۹۲٪ افزایش یافت و در گروه دریافت کننده آملودیپین+ پنتوکسی فیلین در In Vitro این میزان از ۱۸/۴۵٪ به ۳۰/۶۵٪ رسید که از نظر آماری اختلاف معنی داری را نشان می دهد. تعداد اسپرمهای با تحرک درجا در جدول ۴ نشان داده شده است. این متغیر در همه گروهها و در دو فاصله زمانی تحت مطالعه به طور معنی داری افزایش یافته بود که میزان این افزایش در گروه کنترل از ۵/۱۹٪ به ۲۸/۴۱٪ رسید در صورتی که در گروه دریافت کننده پنتوکسی فیلین در In Vitro این میزان از ۴/۶۸٪ به ۱۴/۷۳٪ رسید که تفاوت قابل ملاحظه ای را نشان می‌دهد (P <۰/۰۰۱). در گروه دریافت کننده آملودیپین، میزان این افزایش از ۵/۸۵٪ به ۱۹/۵۷٪ رسید و در گروه دریافت کننده آملودیپین+پنتوکسی فیلین در In Vitro از ۷/۲۱٪ به ۱۹/۵۳٪ رسید که اختلاف معنی داری را نشان می دهد. تعداد اسپرم هایی که واکنش آکروزومی را انجام داده اند در جدول ۴ نشان داده شده است. در همه گروهها و در هر دو فاصله زمانی، این میزان بطور معنی‌داری افزایش یافته بود (P <۰/۰۰۱). در گروه کنترل میزان این افزایش از ۰/۷۲٪ به ۱۵/۳۳٪ رسید و در گروه دریافت کننده پنتوکسی فیلین در In Vitro این میزان از ۰/۷۷٪ به ۵۰/۷۲٪ رسید که میزان قابل توجهی می باشد. در گروه دریافت کننده آملودیپین میزان افزایش از ۰/۵۴٪ به ۰/۹۵٪ و در گروه دریافت کننده آملودیپین+پنتوکسی فیلین در In Vitro این میزان از ۰/۷۴٪ به ۱۵/۷۶٪ رسید که اختلاف معنی‌داری می باشد (P <۰/۰۰۱).

جدول ۱: میانگین تعداد کل اسپرمها در هر میدان میکروسکوپی در گروههای آزمایش و کنترل

گروهها (تعداد=۱۰)	میانگین اسپرم ها ۱۰ دقیقه پس از تشریح	میانگین اسپرم ها ۴ساعت پس از انکوباسیون	مقدار P
کنترل	۶۸/۵۳±۱/۶۹	۶۷/۷۷±۲/۶۵	P>۰/۰۵
آملودیپین	۶۷/۰۱±۲/۶۱	۶۸/۲۶±۲/۴۱	P>۰/۰۵
پنتوکسی فیلین در In Vitro	۶۸/۲۷±۳/۸۴	۶۶/۸۷±۱/۲۰	P>۰/۰۵
آملودیپین+پنتوکسی فیلین در In Vitro	۶۹/۷۰±۲/۰۲	۷۰/۰۷±۱/۷۸	P>۰/۰۵

جدول شماره ۲: تعداد و درصد اسپرم های مرده در گروههای مختلف و در هر میدان میکروسکوپی، (SD ± میانگین)

گروهها (تعداد=۱۰)	میانگین اسپرم ها ۱۰ دقیقه پس از تشریح	میانگین اسپرم ها ۴ساعت پس از انکوباسیون	مقدار P
کنترل	۱۰/۵۹±۰/۸۶ (٪۱۵/۴۵)	۲۱/۲۹±۳/۷۳ (٪۳۱/۴۱)	P<۰/۰۰۱
آملودیپین	۵/۰۲±۱/۰۰ (٪۷/۳۸)	۱۸/۴۸±۱/۰۹ (٪۲۷/۰۷)	P<۰/۰۰۱
پنتوکسی‌فیلین در In Vitro	۱۰/۸۴±۱/۰۰ (٪۱۵/۸۷)	۱۸/۰۱±۲/۴۶ (٪۲۶/۹۳)	P<۰/۰۰۱
آملودیپین+پنتوکسی‌فیلین در In Vitro	۸/۳۹±۲/۴۲ (٪۱۲/۰۳)	۱۸/۹۲±۲/۳۰ (٪۲۷/۰۰)	P<۰/۰۰۱

– درصدهای ذکر شده داخل پرانتز، درصد اسپرم های مرده از میانگین تعداد کل اسپرم‌ها را (بر اساس جدول ۱) نشان می دهد.

جدول ۳: تعداد و درصد اسپرم‌های با تحرک پیشرونده و آهسته در گروههای مختلف و در هر میدان میکروسکوپی، (SD ± میانگین)

گروهها (تعداد=۱۰)	میانگین اسپرم ها ۱۰ دقیقه پس از تشریح (تحرک پیشرونده)	میانگین اسپرم ها ۴ساعت پس از انکوباسیون (تحرک پیشرونده)	میانگین اسپرم ها ۱۰ دقیقه پس از تشریح (تحرک آهسته)	میانگین اسپرم ها ۴ ساعت پس از انکوباسیون(تحرک آهسته)	مقدار P
کنترل	۶۱/۶۴±۱/۸۰ (٪۸۹/۹۴)	۲۰/۲۴±۱/۶۹ (٪۲۹/۸۶)	۷/۱۱±۱/۵۴ (٪۱۰/۳۷)	۳۱/۹۴±۱/۶۵ (٪۴۷/۱۲)	P< ۰/۰۰۱
آملودیپین	۲۹/۸۳±۱/۱۱ (٪۴۳/۷۱)	۵/۱۵±۳/۸۴ (٪۷/۵۴)	۱۵/۳۲±۲/۰۷ (٪۲۲/۵۲)	۲۹/۹۸±۱/۴۵ (٪۴۳/۹۲)	P< ۰/۰۰۱
پنتوکسی‌فیلین در In Vitro	۶۲/۱۹±۲/۴۸ (٪۹۱/۰۹)	۵۰/۸۲±۱/۱۵ (٪۷۴/۲۰)	۴/۱۰±۰/۹ (٪۶/۰۰)	۱۲/۶۵±۱/۲۲ (٪۱۸/۶۶)	P< ۰/۰۰۱
آملودیپین+ پنتوکسی‌فیلین در In Vitro	۳۰/۳۰±۱/۶۷ (٪۴۳/۹۰)	۱۴/۰۶±۲/۲۰ (٪۲۰/۰۶)	۱۲/۸۶±۱/۸۹ (٪۱۸/۴۵)	۲۱/۴۸±۱/۵۳ (٪۳۰/۶۵)	P< ۰/۰۰۱

- درصدهای ذکر شده در داخل پرانتز، درصد اسپرم های با تحرک پیشرونده و آهسته از میانگین تعداد کل اسپرم ها را (بر اساس جدول ۱) نشان می دهد.

Arenive of SID

www.SID.ir

جدول ۴: تعداد و درصد اسپرم های با تحرک در جا و واکنش آکروزومی در گروههای مختلف و در هر میدان میکروسکوپی، (SD ± میانگین)

گروهها تعداد=۱۰	میانگین اسپرم ها ۱۰ دقیقه پس از تشریح (تحرک درجا)	میانگین اسپرم ها ۴ساعت پس از انکوباسیون (تحرک درجا)	میانگین اسپرم ها ۱۰ دقیقه پس از تشریح (واکنش آکروزومی)	میانگین اسپرم ها ۴ساعت پس از انکوباسیون (واکنش آکروزومی)	مقدار P
کنترل	۳/۵۶±۱/۰۹ (٪۵/۱۹)	۱۹/۲۸±۲/۵۴۵۲ (٪۲۸/۴۱)	۰/۵۰±۰/۱۷ (٪۰/۷۲)	۱۰/۳۹±۱/۰۱ (٪۱۵/۳۳)	P< ۰/۰۰۱
آملودیپین	۳/۹۸±۰/۴۱ (٪۵/۸۵)	۱۳/۳۶±۲/۰۷۹۱ (٪۱۹/۵۷)	۰/۳۷±۰/۰۹ (٪۰/۵۴)	۰/۶۵±۰/۱۵ (٪۰/۹۵)	P< ۰/۰۰۱
پنتوکسی‌فیلین در In Vitro	۳/۲۰±۰/۹۰ (٪۴/۶۸)	۹/۸۵±۱/۰۹ (٪۱۴/۷۳)	۰/۵۳±۰/۱۱ (٪۰/۷۷)	۳۳/۹۲±۱/۹۰ (٪۵۰/۷۲)	P< ۰/۰۰۱
آملودیپین+ پنتوکسی‌فیلین در In Vitro	۵/۰۳±۰/۸۰ (٪۷/۲۱)	۱۳/۶۹±۲/۳۷ (٪۱۹/۵۳)	۰/۵۲±۰/۱۵ (٪۰/۷۴)	۱۱/۰۵±۱/۴۹ (٪۱۵/۷۶)	P< ۰/۰۰۱

درصدهای ذکر شده در داخل پرانتز، درصد اسپرم های با تحرک درجا و واکنش آکروزومی از میانگین تعداد کل اسپرم ها را (بر اساس جدول ۱) نشان می دهد.

بحث

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر آملودیپین و پنتوکسی فیلین بر میزان بقاء، تحرک و واکنش آکروزومی اسپرم موش می باشد. بدین منظور آملودیپین به مدت ۳ ماه به صورت همراه با غذای فشرده به موش های گروههای آزمایش، داده شد. داروهای محرک خاصی جهت تحرک اسپرم در روشهای کمک باروری مورد استفاده قرار می گیرند که از این قبیل داروها می توان به پنتوکسی فیلین اشاره نمود. این دارو به منظور افزایش پتانسیل باروری در بیمارانی که به صورت ارثی دچار کاهش کیفیت اسپرمی هستند (الیگواستنواسپرمی) مورد استفاده قرار می گیرد (۹-۸). پنتوکسی فیلین نوعی مشتق متیل گزانتینی است که باعث افزایش غلظت داخل سلولی کلسیم می شود (۱۰). این افزایش از طریق افزایش نفوذ غشایی آنالوگ های cAMP که مهار کننده های فسفودی استراز می باشند، تحرک اسپرم پستانداران را افزایش می دهد (۹). White و Aitken در سال ۱۹۸۹ طی مطالعه ای نشان دادند که اسپرم همستر قبل از شروع افزایش تحرک با افزایش پیشرونده ای در غلظت cAMP همراه است (۹). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تعداد کل اسپرم ها در گروههای مختلف تحت مطالعه و همچنین موشهایی که به مدت ۳ ماه آملودیپین به صورت خوراکی و به میزان ۲/۵ mg/kg دریافت کرده بودند، در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه پس از تشریح و ۴ ساعت پس از انکوباسیون با یکدیگر و با گروه کنترل تفاوت قابل ملاحظه ای نداشتند. این یافته با یافته های Almeida و همکاران، طی مطالعه ای که بر روی موش های صحرایی انجام دادند و آملودیپین را به میزان ۰/۰۴ mg/rat/day به مدت ۳۰ روز تجویز نمودند و کاهش معنی‌داری را در دانسیته اسپرم جمع آوری شده از دم اپی دیدیم گزارش کردند، مغایرت دارد (۷). این مغایرت می تواند به دلیل نوع گونه باشد (۷). تعداد اسپرم های مرده در فواصل زمانی تحت مطالعه افزایش نشان داد. این افزایش، نشان می دهد که بدون توجه به تعداد کل اسپرم ها، آملودیپین باعث کاهش میزان بقاء اسپرم ها پس از دفع و در شرایط انکوبه شده در محیط کشت می گردد. سرعت افزایش تعداد اسپرم های مرده در گروه دریافت کننده پنتوکسی فیلین در In Vitro در مقایسه با گروه کنترل که دارویی دریافت نکرده بود کمتر بود که بیانگر تاثیر بیشتر پنتوکسی فیلین در محیط In Vitro بر بقاء اسپرم می باشد. در گروه آملودیپین+پنتوکسی فیلین در In Vitro این میزان مشابه با گروه کنترل بود که بیان کننده این است که پنتوکسی فیلین در In Vitro در گروههایی که قبلا تحت تاثیر آملودیپین بوده اند، تاثیری ندارد در حالی که در نمونه هایی که آملودیپین دریافت نکرده اند تا حدودی می تواند در افزایش بقاء اسپرم ها موثر باشد (۸). میزان اسپرم های با تحرک پیشرونده، در دو فاصله زمانی کاهش یافته بود. میزان این کاهش در گروههایی که آملودیپین دریافت کرده بودند به مراتب بیشتر بود که بیانگر تاثیر آملودیپین بر سرعت پیشرونده اسپرم می باشد در حالی که در گروههایی که از پنتوکسی فیلین استفاده کرده بودند میزان این کاهش کمتر بود که نشانگر تاثیر پنتوکسی فیلین بر سرعت پیشرونده اسپرم می باشد. این نتیجه نشان می دهد که در صورت استفاده از آملودیپین میزان تحرک پیشرونده کاهش قابل توجهی می یابد. این یافته ها با نتایج حاصل از مطالعات Anand و همکاران و همچنین Kanwar و همکاران مطابقت دارد (۱۲-۱۱). میزان اسپرم های با تحرک آهسته در دو فاصله زمانی تحت مطالعه، در گروههای دریافت کننده آملودیپین افزایش نشان می دهد اما این افزایش نسبت به تحرک پیشرونده کمتر است که می تواند به دلیل تاثیر کمتر آملودیپین بر تحرک آهسته و تاثیر عمده آن بر تحرک پیشرونده باشد. در گروه دریافت کننده پنتوکسی فیلین در In Vitro، نیز میزان تحرک آهسته افزایش یافته است ولی نسبت به گروه کنترل افزایش اندکی را نشان می دهد این یافته با یافته‌های Anand و همکاران و همچنین Kanwar و همکاران مطابقت دارد (۱۲-۱۱). میزان اسپرم های با تحرک درجا در دو فاصله زمانی تحت مطالعه، افزایش معنی داری یافته است. اما میزان این افزایش نسبت به تحرک پیشرونده و درجا کمتر است. این نتیجه می تواند به این دلیل باشد که آملودیپین بر تحرک درجا تاثیر کمتری دارد. در گروه آملودیپین+ پنتوکسی فیلین در In Vitro میزان این افزایش مشابه گروه مصرف کننده آملودیپین

Archive of SID

www.SID.ir

است که می تواند بیانگر این باشد که افـزودن پنتوکـسی فیلـین بـه نمونه ای که قبلا به مدت طولانی در معرض آملودیپین بـوده اسـت تاثیری در کاهش تعداد اسپرم های با حرکت درجا ندارد. این یافتـه نیز با یافته های Anand و همکـاران و همچنـین Kanwar همـسو می باشد (۱۳–۱۱). بـرای تعیـین میـزان اسـپرم هـایی کـه واکـنش آکروزومی انجام داده اند، تعداد اسپرم های فاقد کلاهک آکروزومـی در فاصله زمانی ۴ ساعت پس ازانکوباسیون با تعـداد آنهـا در زمـان برداشت نمونـه (۱۰ دقیقـه پـس از تـشریح) مقایـسه گردیـد. ایـن بررسی نشان داد که در گروه کنترل، تعداد اسپرم های واکنش یافتـه در فاصله زمانی ۴ ساعت پس ازانکوباسـیون افـزایش یافتـه اسـت. این افزایش در گروه دریافت کننده آملودیپین کمتر است کـه بیـانگر کاهش میزان واکنش آکروزومی در گروه دریافت کننـده آملـودیپین می باشد که در اثر بلـوک شـدن کانـال هـای کلـسیمی موجـود در اسپرم می باشد (۱۴). در گروههای دریافت کننـده پنتوکـسی فیلـین نیز این میزان افزایش یافته است. تحقیقات نشان داده اند که عـواملی نظیر آنتاگونیست های کانالهای کلـسیمی، ورود کلـسیم را از طریـق غشای سلول مهار می کنند و بدین ترتیـب باعـث کـاهش غلظـت کلسیم در سیتوپلاسم اسپرم شده و حرکـت اسـپرم را کـاهش مـی دهند (۱۴). این نتیجه با نتایج به دست آمده از مطالعات گذشته نیـز سازگار است (۱۶–۱۵). Ruspari Ain و همکاران نـشان دادنـد کـه کلـسیم نقـش اساسـی در فرآینـد هـای ظرفیـت یـابی و واکـنش آکروزومی دارد (۱۸–۱۶).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که تجویز خوراکی آملودیپین باعـث کاهش تحرک پیشرونده اسـپرم و همچنـین کـاهش بـروز واکـنش آکروزومی می‌گردد ولی بـر روی تعـداد اسـپرم هـا تـاثیری نـدارد. تجویز خوراکی پنتوکسی فیلین اثـرات مهـاری آملـودیپین را خنثـی کرده و باعث افزایش تحرک پیشرونده اسـپرم و همچنـین افـزایش میزان واکنش آکروزومی می‌گردد ولی بر روی تعداد کل اسـپرم هـا تاثیری ندارد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به خاطر تامین منابع مالی این طرح و از کلیه عزیزانی که ما را در این طرح یاری نموده اند خصوصا اساتید محترم گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی تبریز به جهت همکاری صمیمانه شان تشکر و قدردانی می شود.

References

1. Michel C, Josefina V, Roumen, Yves C, Marc W, Eric S, et al. First evaluation of human sperm quality in various geographic regions in Switzerland. *Chimia* 2008; **62**: 395-400.
2. Dejian R, Betsy N, Gloria P, Alexander J, Shyuefang H, Qing S, et al. A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. *Nature* 2001; **413**: 603-609.
3. Schein S, Colombini M, Finkelstein A. Reconstitution in planar lipid bilayers of a voltage-dependent anion-selective channel obtained from paramecium mitochondria. *J Member Biol* 1976; **30**: 99-120.
4. Shoshan-Barmatz V, Israelson A, Brdiczka D, Sheu S. The voltage-dependent anion channel (VDAC): function in intracellular signalling, cell life and cell death. *Curr Pharm Des* 2006; **12**: 2249–2270.
5. Shoshan-Barmatz V, Hadad N, Feng W, Shafir I, Orr I, Varsanyi M. VDAC/porin is present in sarcoplasmic reticulum from skeletal muscle. *FEBS Lett* 1996; **386**: 205–210.
6. Okada S. Voltage dependent anion channel-1 (VDAC-1) contributes to ATP release and cell volume regulation in murine cells. *J Gen Physiol* 2004; **124**: 513–526.
7. Almeida S, Teofilo J, Anselmo J, Brentegani L. Antireproductive effect of the calcium channel blocker amlodipine in male rats. *Exp Toxic Pathol* 2000; **52**: 353-356.
8. Spuungin B. Calcium mobilization and influx during sperm exocytosis. J. *Cell Sci* 1996; **109**: 1947-1955.
9. Schwarzer C, Barnikol-Watanabe S, Thinnes F, Hilschmann N. Voltage-dependent anion-selective channel (VDAC) interacts with the dynein light chain Tctex1 and the heat-shock protein PBP74. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; **34**: 1059–1070.
10. Xu X, Forbes J, Colombini M. Actin modulates the gating of Neurospora crassa VDAC. *J Membr Biol* 2001; **180**: 73–81.
11. Saha L, Bhargava V, Garg S, Majumdar S. Effect of nimodipine on male reproductive functions in rats. *Indian J Physiology Pharmacol* 2000; **44**(4): 449-455.
12. Edward P. Molecular Physiology of low-voltage-activated T-type calcium channels. *Physiol Rev* 2003; **83**: 117-161.
13. Kanwar U, Anand R, Sanyal S. The effect pf nifedipine, a calcium channel blocker, on human spermatozoal functions. *Contraception* 1993; **48**(5): 453-470.
14. Kazazoglu T. Calcium channel antagonists inhibit the acrosome reaction and bind to plasma membranes of sea urchin sperm. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; **82**(5): 1460-1464.
15. Paul M, Sumpter J, Lindsay K. Factors affecting Pentoxifylline stimulation of sperm kinematics in suspentions. *Human Reproduction* 1996; **11**(6): 1926-1935.
16. Ruspari A, Uma K, Shivaji S, Seshagiri P. Pentoxifylline-stimulated capacitation and acrosome reaction in hamster spermatozoa: involvement of

Archive of SID

www.SID.ir

inntracellular signaling molecules. *Molecular Human Reproduction* 1999; **5**(7): 618-626.
17. De Blas G, Michaut M, Trevino CL, Tomes CN, Yunes R, Darszon A. The intraacrosomal calcium pool plays a direct role in acrosomal exocytosis. *J Biol Chem* 2002; **277**: 49326–49331.
18. Parrish J, Susko-Parrish J, Graham J. In vitro capacitation of bovine spermatozoa: role of intracellular calcium. *Theriogenology* 1999; **51**(2): 461-472.

Archive of SID

www.SID.ir