

بررسی اثرات نیکوتین بر تحرک اسپرم در موش‌های نر نژاد Balb/c تحت درمان با متیل فنیدیت

سیمین فاضلی پور^۱، مهسا هادی پور جهرمی^۲، زهرا طوطیان^۳، لادن بابایی^۴، سید بابک کیایی^۵

^۱ دانشیار، گروه آناتومی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

^۲ استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

^۳ دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

^۴ کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه تهران

^۵ پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: نیکوتین قسمت مهمی از دود سیگار است که دارای اثرات روانی و جسمی در افراد معتاد می‌باشد. متیل فنیدیت با نام تجاری ریتالین دارویی است که از سال‌ها قبل در درمان اختلالات بیش‌فعالی و نقص توجه (ADHD: Attention deficit hyperactivity disorder) مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این تحقیق، مطالعه تاثیر ریتالین و نیکوتین و بررسی توام آنها بر تحرک اسپرم که یکی از فاکتورهای موثر در باروری دستگاه تناسلی نر است، می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۱۲۰ سر موش نر به ۱۱ گروه تجربی و ۱ گروه شاهد تقسیم شدند. در گروه تجربی از ریتالین به میزان ۲ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از نیکوتین به میزان ۱۰۰، ۲۰۰، و ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن، به طور جداگانه و توامان به صورت گاوژ به مدت ۴۰ روز استفاده شد. در پایان آزمایش، حیوانات بیهوش شده و سپس درصد تحرک اسپرم‌ها از طریق گامت‌های خارج شده از مجرای دفران تعیین گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون *t* و کروسکال والیس و *Post-Hoc (Scheffe)* تحلیل شدند و $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در اکثر گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری در درصد تحرک اسپرم مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد در افرادی که حتی به میزان کم از سیگار استفاده می‌کنند، مصرف ریتالین به میزان بالا می‌تواند کاهش معنی‌داری در تحرک اسپرم ایجاد نماید.

واژگان کلیدی: متیل فنیدیت، نیکوتین، تحرک اسپرم، موش سوری.

مقدمه

بچه‌های مبتلا به این بیماری با L و D-متیل فنیدیت درمان می‌شوند (۴). ADHD به طور تقریبی در ۷ تا ۱۶ درصد افراد بین سنین ۸ تا ۱۹ سال در آمریکا دیده می‌شود و در مردان به میزان بیشتری قابل تشخیص است (۶-۴). نیکوتین یک آلکالوئید سمی است که از گیاه تنباکو استخراج می‌شود (۷). این ماده یکی از بیشترین مواد در دود سیگار است (۷، ۸) که از این راه می‌تواند به میزان ۱ میلی‌گرم جذب بدن شود (۷). مطالعات گسترده‌ای در گونه‌های مختلف پستانداران انجام

متیل فنیدیت با نام تجاری ریتالین یک نانوتیومر D و L-متیل فنیدیت است که در درمان اختلالات بیش‌فعالی و نقص توجه (ADHD) کودکان استفاده می‌شود (۳-۱). بیش از ۹۰ درصد

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی، گروه آناتومی، دکتر سیمین فاضلی پور
(email: Simin_fazelipour@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۷/۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۱۰/۲۷

میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و میزان مصرف نیکوتین ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن در نظر گرفته شد. حیوانات به ترتیب زیر طبقه‌بندی شدند:

گروه اول: گروه شاهد که هیچ دارویی دریافت نکردند و به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفتند.

گروه دوم: گروهی که روزانه از ریتالین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه سوم: گروهی که روزانه از ریتالین به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه چهارم: گروهی که روزانه از نیکوتین به میزان ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه پنجم: گروهی که روزانه از نیکوتین به میزان ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه ششم: گروهی که روزانه از نیکوتین به میزان ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه هفتم: گروهی که روزانه از ریتالین به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از نیکوتین به میزان ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه هشتم: گروهی که روزانه از ریتالین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از نیکوتین به میزان ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه نهم: گروهی که روزانه از ریتالین به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از نیکوتین به میزان ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه دهم: گروهی که روزانه از ریتالین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از نیکوتین به میزان ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه یازدهم: گروهی که روزانه از ریتالین به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از نیکوتین به میزان ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

گروه دوازدهم: گروهی که روزانه از ریتالین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از نیکوتین به میزان ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند.

پس از ۴۰ روز، موش‌ها با اتر بیپهوش و مجاری دفران دو طرف آنها از بدن خارج شده و در سرم فیزیولوژی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس مجاری دفران را قطعه قطعه کرده و با قرار دادن محلول روی لام، در صد اسپرم‌های دارای حرکت رو به جلو شمارش و درصد اسپرم‌های متحرک به دست آمد.

گرفته که نشان دهنده تاثیر دود سیگار بر عملکرد دستگاه تناسلی است. به علاوه بررسی‌ها نشان داده‌اند که مصرف سیگار می‌تواند موجب کاهش معنی‌داری در تحرک اسپرم شود. محققین دیگر با تزریق نیکوتین در موش صحرایی ثابت کردند که نیکوتین می‌تواند در صد تحرک اسپرم را کاهش دهد (۸-۱۱). بررسی‌های انجام شده بر روی ماده منی در کشور مکزیک، نشان داده که استفاده از سیگار می‌تواند موجب کاهش معنی‌داری در میزان در صد تحرک اسپرم شود (۱۲). در مطالعه دیگری بر روی اثر دود سیگار بر فاکتورهای تولیدمثلی، نشان داده شده که دود سیگار می‌تواند موجب تغییراتی در کیفیت اسپرم گردد (۷). بررسی پارامترهای منی افراد سیگاری و غیرسیگاری نشان داده که این ماده می‌تواند موجب کاهش معنی‌داری در میزان حجم منی افراد سیگاری شود و بر دستگاه تناسلی نیز تاثیر بگذارد (۱۰). محققین دیگر کاهش لقاح در موش صحرایی در اثر مصرف سیگار را گزارش کرده‌اند (۱۳، ۱۴). به علاوه در مطالعه‌ای که بر روی اثر متیل فنیدیت هیدروکلراید بر روی دستگاه تناسلی صورت گرفته، نشان داده شده که این ماده می‌تواند بر روی قدرت زنده ماندن اسپرم تاثیرگذار باشد (۱۵). حال با توجه به اینکه نیکوتین و ریتالین هر یک به تنهایی توانسته‌اند موجب تغییراتی در یکی از فاکتورهای اصلی تولید مثلی گردند و با توجه به اینکه احتمال می‌رود افرادی که معتاد به سیگار بوده و از ریتالین نیز استفاده می‌کنند، ممکن است با مشکلات بیشتری مواجه شوند، لذا بر آن شدیم که اثر ریتالین و نیکوتین را بر تحرک اسپرم در افراد معتاد به سیگار که تحت درمان با متیل فنیدیت می‌باشند، مورد مطالعه قرار دهیم.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، ۱۲۰ سر موش سوری نر بالغ نژاد Balb/C از موسسه تحقیقاتی رازی تهیه و به آزمایشگاه دانشکده انتقال داده شدند. ابتدا موش‌ها نشاندار شده و در اطاق حیوانات با درجه حرارت 21 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵-۵۵ درصد، ۱۲ ساعت روز و ۱۲ ساعت شب نگهداری شدند. حیوانات دسترسی مداوم به آب و غذا داشتند. جهت انجام آزمایش ابتدا موش‌ها توسط ترازوی دقیق وزن شده و به طور تصادفی به ۱۲ گروه ده‌تایی تقسیم شدند. در این مطالعه تجربی، از ریتالین هیدروکلراید و نیکوتین به صورت محلول در آب مقطر با روش خوراکی گاوژ به مدت ۴۰ روز استفاده شد. دوز مورد استفاده برای ریتالین ۲ و ۱۰

شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0.05$) (جدول ۳). به علاوه نتایج نشان داد در گروه‌هایی که از نیکوتین و ریتالین به صورت توأم استفاده کرده بودند، نسبت به گروهی که فقط از نیکوتین استفاده کرده بودند، تفاوت معنی‌دار بیشتری نسبت به گروه شاهد مشاهده شد.

جدول ۳- اثر توأم ریتالین و نیکوتین بر درصد تحرک اسپرم در موش سوری نر بالغ نژاد Balb/C.

درصد تحرک اسپرم*	
شاهد	90.9 ± 4.3^a
نیکوتین $100 \mu\text{g/kg/day}$ و ریتالین 2mg/kg/day	56.6 ± 20.4^{bc}
نیکوتین $100 \mu\text{g/kg/day}$ و ریتالین 10mg/kg/day	50.8 ± 21.9^c
نیکوتین $200 \mu\text{g/kg/day}$ و ریتالین 2mg/kg/day	73.8 ± 15.2^{df}
نیکوتین $200 \mu\text{g/kg/day}$ و ریتالین 10mg/kg/day	78.8 ± 8.6^f
نیکوتین $400 \mu\text{g/kg/day}$ و ریتالین 2mg/kg/day	57.6 ± 17.3^{bc}
نیکوتین $400 \mu\text{g/kg/day}$ و ریتالین 10mg/kg/day	52.1 ± 21.8^c

* میانگین \pm انحراف معیار؛ حروف ناهم‌هنگ دال بر معنی‌دار بودن اختلاف بین دو گروه است.

بحث

متیل فنیدیت پر مصرف‌ترین دارویی است که در کودکان مبتلا به ADHD استفاده می‌شود (۱۵). به علاوه این دارو در بالغین بدون ابتلا به ADHD و محصلین کالج به صورت داخل وریدی و داخل بینی نیز مصرف می‌شود (۱۶). از استفاده زیاد این دارو در بالغین پیش‌بینی می‌شود که در آینده‌ای نه چندان دور به عنوان یک داروی اعتیادآور شناخته شود (۱). متیل فنیدیت از نظر ساختاری و دارویی شمیمه به یکی از مواد مخدر مانند کوکائین است و آسیب‌پذیری آن در افراد استفاده‌کننده، به علت شباهت به کوکائین می‌تواند اثرات مشابهی را در این زمینه ایجاد نماید (۱۷). بنابراین با توجه به اینکه کوکائین و بعضی از داروها بر اسپرما توژنز اثر نموده و موجب افزایش اسپرم‌های غیرطبیعی و کاهش معنی‌دار در میزان تحرک اسپرم می‌شوند (۲۰-۱۸)، می‌توان پیش‌بینی کرد که متیل فنیدیت نیز می‌تواند بر تحرک اسپرم اثرگذار باشد، کما اینکه در مطالعه‌ای که بر روی اثر متیل فنیدیت هیدروکلراید بر دستگاه تناسلی نر صورت گرفت، مصرف این دارو بر اسپرما توژنز تاثیر گذاشته بود (۱۵). در این مطالعه نیز کاهش معنی‌داری در اثر مصرف متیل فنیدیت

در مقایسه بین گروه‌های تجربی از آزمون کروسکال والیس و Post-Hoc (Scheffe) و در مقایسه بین گروه‌های تجربی با گروه شاهد از آزمون t استفاده گردید و معیار استنتاج آماری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از آزمون t نشان داد که در مقایسه بین گروه شاهد و گروه‌هایی که از ریتالین به میزان 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند، تمایل به معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.06$) (جدول ۱)، در صورتی بین گروهی که ریتالین را به میزان 2 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند، یعنی به میزان کمتری از ریتالین استفاده کردند، و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱- اثر ریتالین بر درصد تحرک اسپرم در موش سوری نر بالغ نژاد Balb/C.

درصد تحرک اسپرم*	
شاهد	90.9 ± 4.3^a
ریتالین 2mg/kg/day	75.6 ± 10.8^b
ریتالین 10mg/kg/day	69 ± 22.2^{ab}

* میانگین \pm انحراف معیار؛ حروف ناهم‌هنگ دال بر معنی‌دار بودن اختلاف بین دو گروه است.

هم‌چنین نتایج بدست آمده از اثر نیکوتین بر میزان تحرک اسپرم در گروه‌هایی که از نیکوتین به میزان 100 ، 200 و 400 میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده کردند، نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0.05$) (جدول ۲).

جدول ۲- اثر نیکوتین بر درصد تحرک اسپرم در موش سوری نر بالغ نژاد Balb/C.

درصد تحرک اسپرم*	
شاهد	90.9 ± 4.3^a
نیکوتین $100 \mu\text{g/kg/day}$	41 ± 5.2^{bc}
نیکوتین $200 \mu\text{g/kg/day}$	43.7 ± 17.7^b
نیکوتین $400 \mu\text{g/kg/day}$	56.1 ± 20.7^d

* میانگین \pm انحراف معیار؛ حروف ناهم‌هنگ دال بر معنی‌دار بودن اختلاف بین دو گروه است.

در مقایسه هر یک از گروه‌هایی که ریتالین را به میزان 2 و 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم و نیکوتین را به میزان 100 ، 200 و 400 میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بودند، با گروه

می‌توانند بر تکامل اسپرم در اپیدیدیم و تحرک اسپرم موثر واقع شوند.

از نتایج مطالعه حاضر چنین استنباط می‌شود که ریتالین به عنوان یک دارو و نیکوتین به عنوان یک آلكالوئید سمی و ترکیب این دو می‌توانند بر یکی از مهم‌ترین فاکتورهای باروری در دستگاه تناسلی نر اثر گذاشته و در صد تحرک اسپرم را که به طور یقین برای رسیدن به گامت ماده از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، تغییر داده و به طور معنی‌داری موجب کاهش آن شوند. این کاهش معنی‌دار در گروه‌هایی که از نیکوتین استفاده کرده و هم‌زمان از ریتالین نیز استفاده می‌کنند نسبت به گروه‌هایی که از نیکوتین به تنهایی استفاده می‌کنند بیشتر است. لذا با توجه به این که تکامل اسپرم در اپیدیدیم انجام می‌گیرد که بخشی از آن شامل قدرت تحرک اسپرم است، بنابراین می‌توان گفت که کاهش معنی‌دار تحرک اسپرم در اثر مواد دارویی و یا سمی به دلیل اثرات زیان‌آور آنها بر اسکلت سلولی اسپرم بوده که به نوبه خود در نتیجه اختلالات ایجاد شده به هنگام اسپرماتوزن و فرایند بلوغ اسپرم در اپیدیدیم می‌باشد (۱۴). با توجه به نتایج به دست آمده از تاثیر توام نیکوتین و متیل‌فنیدیت و مقایسه آن با نتایج مصرف نیکوتین به تنهایی و کاهش بیشتر با مصرف توام این دو ماده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افراد معتاد به سیگاری که تحت درمان با ریتالین می‌باشند، در مصرف این ماده احتیاط بیشتری نموده و تا آنجا که ممکن است از مصرف ریتالین خودداری نمایند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران که در طراحی و انجام این مقاله برخاسته از طرح پژوهشی ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

بر میزان تحرک اسپرم مشاهده گردید. نتایج مطالعه ما نشان داد که در دوز کمتر، کاهش بیشتری در میزان تحرک اسپرم دیده می‌شود. زیرا بررسی‌های مختلف در مورد مصرف بعضی از مواد دارویی و سمی نشان داده که در میزان دوز مصرفی بالاتر سیناپس‌ها نسبت به ماده مقاوم‌تر شده و در نتیجه پاسخ آنها ضعیف‌تر خواهد بود (۲۰، ۲۱). بررسی‌های دیگری در زمینه تاثیر بعضی از مواد مخدر مانند هرئوئین بر پارامترهای دستگاه تناسلی نر صورت گرفته و تاثیر این ماده را بر فرآیند تکامل اسپرم در اپیدیدیم نشان داده است (۲۴-۲۲). قابل ذکر است که دود سیگار نیز از مواد مضر تشکلی شده است که اصلی‌ترین آن نیکوتین است و از راه دستگاه تنفس، مخاط دهان و بینی به سرعت جذب و سپس متابولیزه و به کوتینین تبدیل می‌شود (۷). با توجه به اینکه نیمه عمر نیکوتین ۲ ساعت ولی کوتینین ۲۰ ساعت است، لذا وجود کوتینین در مایع منی نشان دهنده جذب نیکوتین از طریق دود سیگار می‌باشد (۱۴، ۲۵). مطالعه‌ای که به طریقه in-vitro در مورد اثر نیکوتین و کوتینین بر روی آنالیز پارامترهای اسپرم صورت گرفته، نشان داده که مصرف کوتاه مدت سیگار نمی‌تواند بر میزان تحرک اسپرم اثر بگذارد (۷). در صورتی که اگر نیکوتین با غلظت بیشتر و به صورت مزمن مورد استفاده قرار گیرد، می‌تواند به طور معنی‌داری میزان تحرک اسپرم را کاهش دهد. از طرفی، مطالعه‌ای که بر روی رت‌های نر صورت گرفته، نشان داده که سطح سرمی نیکوتین و کوتینین با مصرف سیگار افزایش یافته و توانسته است بر فرآیند اسپرماتوزن اثر کرده و موجب کاهش تحرک اسپرم شود (۷، ۱۴). امروزه ثابت شده که بیشترین تغییری که دود سیگار بر روی دستگاه تناسلی نر بر جای می‌گذارد، تغییر در کیفیت اسپرم نظیر تحرک اسپرم است (۲۶). نیکوتین به صورت تزریقی نیز موجب کاهش تحرک اسپرم شده است (۲۷). محققین در بررسی‌های انجام شده بر روی کیفیت اسپرم نشان داده‌اند که نه تنها نیکوتین بلکه مواد دارویی (۱۸، ۲۸) و مواد فیکساتیو (۲۹) نیز

REFERENCES

1. Kollins SH, MacDonald EK, Rush CR. Assessing the abuse potential of methylphenidate in nonhuman and human subjects. *Pharmacol Biochem Behav* 2001; 68: 611-27.
2. Barbarese W, Katusic S, Colligan R, Oankratz V, Weber K, Mrazek D, et al. How common is attention-deficit hyperactivity disorder? Incidence in a population-based cohort in Rochester Minnesota. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156: 217-24.
3. Dafny N, Yang PB. The role of age, genotype, sex, and route of acute and chronic administration of methylphenidate: a review of its locomotor effects. *Brain Res Bull* 2006; 68: 393-405.

4. Kimko HC, Cross JT, Abemethy DR. Pharmacokinetics and clinical effectiveness of methy phenidate. *Clin Pharmacokinet* 1999; 37: 457-70.
5. Zuddas A, Anciletta B, Mugilia P, Cianchetti C. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a neuropsychiatric disorder with childhood onset. *Eur J Pediatr Neurol* 2000; 4: 53-62.
6. Rowland AS, Umbach DM, Catoe KE, Stallone L, Long S, Rabiner D, et al. Studing the epidemiology of attention-deficit hyperactivity disorder: screening method. *Can J Psychiatry* 2001; 46: 931-40.
7. Jorsaraei SGA, Shibahara HA, Hirano Y, Shiraishi Y, Khalatbari A, Yousofnia PY, et al. The in-vitro effects of nicotine, cotinine and leptin on sperm parameters analyzed by CASA system. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 2008; 6: 157-65.
8. Moser VC, Barone S Jr, Smialowicz RJ, Harris MW, Davis BJ, Overstreet D, et al. The effects of perinatal tebuconazole exposure on adult neurological, immunological, and reproductive function in rats. *Toxicol Sci* 2001; 62: 339-52.
9. Gaur DS, Talekar M, Pathak VP. Effect of cigarette smoking on semen quality of infertile men. *Singapore Med J* 2007; 48: 119-23.
10. Pasqualotto FF, Sobreiro BP, Hallak J, Pasqualotto EB, Lucon AM. Cigarette smoking is related to a decrease in semen volume in a population of fertile men. *BJU Int* 2006; 97: 324-26.
11. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Jensen MS, Toft G, Bonde JP. Is smoking a risk factor for decreased semen quality? A cross-sectional analysis. *Hum Reprod* 2007; 22: 188-96.
12. Merino G, Lira SC, Martinez-chequer JC. Effect of cigarette smoking on semen. *Arch Androl* 1998; 41(1):11-15.
13. Tena-sempere M, Barreiro ML. Leptin in male reproduction: the testis paradigm. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 188: 9-13.
14. Gandini L, Lombardo F, Lenzi A, Culasso F, Pacifici R, Zuccaro P, et al. The in-vitro effects of nicotine and cotinine on sperm motility. *Human Reprod* 1997; 12: 727-33.
15. Teo SK, Stirling DI, Thomas SD, Hoberman AM, ChristainMS, KhetaniVD. The perinatal and postnatal of D-methylphenidate and D, L- methylphenidate in rat. *Reprod Toxicol* 2002; 16: 353-66.
16. DEA—Methylphenidate Review Document, Drug and Chemical Evaluation Section, Office of Diversion Control, Drug Enforcement Administration, Washington, DC, 1995, p.1–114.
17. Schenk S, Izenwasser S. Pretreatment with methylphenidate sensitizes rats to the reinforcing effects of cocaine. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 72: 651–57.
18. Reuhl J, Bachl M, Schneider M, Lutz F, Bratzke H. Morphometric assessment of testicular changes in drug-related fatalities. *Forensic Sci Int* 2001; 115: 171-81.
19. Thompson GR, Mason MM, Rosenkrantz H, Braude MC. Chronic oral toxicity of cannabinoids in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1973; 25: 373–90.
20. Wilson B. The effect of drugs on male sexual function and fertility. *Nurse Pract* 1991; 16: 127–14.
21. Ben-Shahar O, Ahmed SH, Koob GF, Ettenberg A. The transition from controlled to compulsive drug use is associated with a loss of sensitization. *Brain Res* 2004; 995: 46–54.
22. el-Gothamy Z, el-Samahy M. Ultrastructure sperm defects in addicts. *Fertil Steril* 1992; 57: 699–702.
23. Fazelipour S, Tootian Z. Effect of heroin used in Iran on male fertility of mice. *Int J Pharmacol* 2007; 3: 406-10.
24. Fazelipour S, Kiaei SB, Tootian Z. Adverse effect of heroin hydrochloride on selected male reproductive parameters in mice. *Comp Clin Pathol* 2009; 19: 565-69.
25. Reddy A, Sood A, Rust PF, Busby JE, Varn E, Mathur RS, et al. The effect of nicotine on in- characteristics of a population in Mexico vitro sperm motion characteristics. *J Assist Repord Genet* 1995; 12: 217-23.
26. Zhang JP, Meng QY, Zhang LJ, Mao YL, Sun ZX. Effect of smoking on semen quality of infertile men in Shandong, china. *Asian J Androl* 2000; 2: 143-46.
27. Mahanem MN, Nor-Asmaniza, AB, Phang HT, Muhammad HR. Effects of nicotine and co-administration of nicotine and vitamin E on testis and sperm quality of adult rats. *Malays Appl Biol* 2006; 35: 47-52.
28. Aydos K, Guven Mc, Can B, Ergun A. Nicotine toxicity to the ultrastructure of the testis in rats. *BJU Int* 2001; 88: 622-26.

29. Tootian Z, Tajik P, Fazelpour S, Taghva M. Effect of formaldehyde injection in mice on testis function. *Int J Pharmacol* 2007; 3: 421-24.