Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:01 IRDT on Tuesday August 8th 2017

ارزیابی کیفیت، بلوغ هسته و آسیب DNA هسته اسپرم در موش‌های سوری بالغ درمان شده با سولپراید

آرام احمدی،[1*] رجبعلی صدرخانلو،[1] سیامک سلامی،[2] عباس احمدی[1]

۱- گروه بافت و جنین‌شناسی، بخش علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲/۱۷

زمینه و هدف: مصرف بعضی از داروهای آنتی‌سایکوتیک تاثیر شدیدی بر باروری جنس نر دارد. اثرات هیپوفیزی و تغییر در غلظت سرمی بعضی از هورمون‌ها مثل پرولاکتین، LH و FSH تاثیرات مختلفی بر تولید اسپرم دارد. در این مطالعه اثر داروی سولپراید بر روی کیفیت، میزان آسیب DNA و وضعیت بلوغ هسته اسپرم مطالعه شد.

روش بررسی: ۲۴ موش نر سوری بالغ (سن: ۸-۶ هفته) به سه گروه تیمار، کنترل شم و کنترل تقسیم شدند. به‌مدت ۴۵ روز روزانه به گروه تیمار محلول سولپراید به‌میزان ۴۰mg/kg و به کنترل شم حلاّل دارو به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. گروه کنترل چیزی دریافت نکرد. پس از این مدت تمامی موش‌ها به روش جابه‌جایی گردن کشته شده، اپیدیدیم به روش جراحی خارج شد و در ۱ml محیط کشت Human Tubal Fluid (HTF) به‌مدت نیم ساعت در داخل انکوباتور CO2 به منظور شناورسازی اسپرم‌ها گذاشته شد. تعداد، قدرت تحرک و قدرت زیست‌پذیری اسپرم‌ها مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین کیفیت بلوغ هسته و میزان آسیب DNA اسپرم توسط رنگ‌آمیزی آنیلین بلو و آکریدین اورنج ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد در موش‌های گروه درمانی، کاهش چشمگیری در تعداد و قدرت تحرک اسپرم‌ها مشاهده شد و تعداد اسپرم‌های غیرطبیعی در مقایسه با دو گروه دیگر افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). کاهش مشخصی در قدرت زیست‌پذیری و بلوغ هسته اسپرم‌ها دیده شد و میزان آسیب DNA در مقایسه با گروه‌های دیگر افزایش چشمگیری یافت (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: مشخص شده داروی آنتی‌سایکوتیک سولپراید دارای اثرات منفی بر پارامترهای اسپرم در موش‌های درمان شده است و در تعدادی از نمونه‌ها هیپوگنادیسم ثانویه ایجاد می‌کند.

کلمات کلیدی: سولپراید، کیفیت اسپرم، آسیب DNA، بلوغ هسته.

* نویسنده مسئول: ارومیه، بخش علوم تشریح، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران، صندوق پستی: ۵۷۱۵۳-۱۱۷۷ تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۷۰۵۰۸

E-mail: aram.ahmadi82@gmail.com

مقدمه

بیش‌تر داروهای آنتی‌سایکوتیک اثرات سوء بر عملکرد جنسی نر هستند.[1] سولپراید (2-methoxy-N-((1-propylpyrolidin-2-yl))-(methyl)-5-Sulphamyl benzamide (Sulpiride, Sigma, USA) داروی آنتی‌سایکوتیک غیر کلاسیکی است که در طیف وسیع تجویز می‌شود. این دارو به طور انتخابی آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامین D2 همراه با فعالیت ضد افسردگی است[2] و از نظر کلینیکی به‌عنوان دارویی برای درمان انواع اسکیزوفرنی مزمن و حاد و سایر اختلالات روانی مثل توهم به‌وفور مورد استفاده قرار می‌گیرد.[3] این دارو با مهار گیرنده‌های دوپامین D2[4] و به مقدار کم‌تر D3[5و6] در توبرو- اینفاندیبولار (Tubero infundibular) باعث از بین رفتن اثر مهاری دوپامین بر روی سلول‌های لاکتوتروف هیپوفیزی گشته و در نتیجه باعث افزایش ترشح پرولاکتین و ایجاد هیپرپرولاکتینمی در

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:01 IRDT on Tuesday August 8th 2017

بیماران اسکیزوفرنیک مصرف کننده آن می‌گردد.[۷و۸] پرولاکتین دارای اثر مستقیم بر روی اسپرماتوژنز و استروییدوژنز است زیرا گیرنده‌های آن در سلول‌های لیدیک و سرتولی بیضه وجود دارد.[۹و۱۰] هیپرپرولاکتینمی ایجاد شده توسط این دارو میزان ترشح ضربانی هورمون ترشحه گنادوتروپین GnRH را کاهش داده و باعث ایجاد هایپوگنادیسم ثانویه با کاهش میزان LH، FSH و تستوسترون می‌شود که این عوامل باعث ایجاد مهار اسپرماتوژنیک، کاهش تحرک و کیفیت اسپرم می‌گردد.[۱۱] با توجه به این که مطالعه کاملی در زمینه اثر این دارو بر روی پتانسیل باروری بیماران مصرف کننده آن صورت نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر داروی سولپراید بر روی پارامترهای سمن نظیر تعداد، وضعیت تحرک، قدرت زیست‌پذیری، میزان آسیب DNA و بلوغ هسته اسپرم اجرا گردید.

روش بررسی

برای انجام این مطالعه شاهدی از ۲۴ موش سوری نژاد NMRI نر بارور جوان ۱۲-۸ هفته‌ای که باروری آن‌ها قبلا توسط موش‌های ماده بارور شده مورد ارزیابی قرار گرفته بود، استفاده شد که در فروردین ماه ۱۳۹۰ در مرکز نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه در شرایط استاندارد با دمای $22\pm2^{\circ}C$، رطوبت ۶۰-۳۰ درصد و با سیکل نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگه‌داری می‌شدند. آب و غذا به‌صورت آزاد در دسترس بود. موش‌ها به‌طور تصادفی در سه گروه تیمار (هشت موش)، کنترل شم (هشت موش) و کنترل (هشت موش) تقسیم شدند. در گروه تیمار روزانه ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم محلول دارویی [(سولپراید + حلال دارو)] به‌صورت داخل صفاقی به مدت ۴۵ روز تزریق گردید. گروه کنترل شم نیز روزانه حلال دارو (روغن کنجد (sesame oil)) را ۴۵ روز داخل صفاقی دریافت کردند. در مورد گروه کنترل هیچ دارو یا حلالی مورد استفاده قرار نگرفت. پس از گذشت مدت زمان فوق موش‌های نر را بیهوش کرده و به روش جابه‌جایی گردن کشته و بعد از آن، پوست ناحیه شکمی را با اتانول ۷۰٪ استریل و با ایجاد برش در ناحیه شکم و بعد از جدا کردن بافت‌های همبندی اطراف، دم اپیدیدیم را از بیضه جدا کرده و در داخل پتریدیش شش سانتی‌متری حاوی ۱ml محیط کشت HTF (Sigma, USA) حاوی، Bovine Serum Albumen (BSA)، ۴mg/ml، که قبلا جهت تعادل در داخل انکوباتور قرار داده شده بود قرار داده و بعد از ایجاد چند برش در دم اپیدیدیم برای خروج اسپرم‌ها در داخل انکوباتور CO2 (۵٪CO2، $37^{\circ}C$) گذاشته شد. بعد از ۰/۵ ساعت اسپرم‌ها خارج و در محیط پخش شدند.

بررسی کیفیت اسپرم: برای شمارش اسپرم‌ها رقت یک به ۲۰ از اسپرم مذکور تهیه می‌کنیم. به این صورت که در داخل یک میکروتیوب یک میلی‌لیتری ۱۹۰ میکرولیتر آب مقطر می‌ریزیم و بعد به آن ۱۰ میکرولیتر از اسپرم مورد نظر را اضافه می‌کنیم و بعد ۱۰ میکرولیتر از محلول مورد نظر را بر می‌داریم و بر روی لام نئوبار که لامل سنگی از قبل بر روی آن قرار داده شده است می‌ریزیم و شمارش تعداد اسپرم‌ها را به این روش انجام می‌دهیم.

برای سنجش وضعیت تحرک اسپرم مقدار ۱۰ میکرولیتر از محیط کشت حاوی اسپرم مورد نظر را بر روی لام نئوبار که لامل سنگی بر روی آن قرار داده شده است گذاشته و در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی (۲۰-۱۰) درصد تحرک اسپرم‌ها بررسی گردید.

بررسی قدرت زیست‌پذیری اسپرم: جهت ارزیابی قدرت زیست‌پذیری اسپرم از تست ائوزین نگروزین استفاده شد که مقدار ۲۰ میکرولیتر از نمونه اسپرم مورد نظر را در روی یک لام تمیز با ۲۰ میکرولیتر از محلول ائوزین حل کرده و پس از گذشت ۲۰ الی ۳۰ ثانیه ۲۰ میکرولیتر از محلول رنگی نگروزین به آن اضافه شد و پس از تهیه اسمیر از محلول مورد نظر و خشک شدن لام‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری و با بزرگ‌نمایی (۴۰-۱۰) درصد اسپرم‌های زنده (بی‌رنگ) و اسپرم‌های مرده (رنگ گرفته) مورد بررسی قرار گرفت.

ارزیابی میزان آسیب رشته DNA: برای ارزیابی هر گونه شکستگی در دو رشته‌ی DNA اسپرم موش‌ها، رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج در نظر گرفته شد. در صورتی که DNA اسپرم دچار شکست شده باشد متعاقب رنگ‌آمیزی، DNA در طیفی از رنگ زرد تا قرمز فلوئورسنت بستگی به میزان آسیب، نمایان می‌شود. DNA سالم به رنگ سبز دیده می‌شود. در این روش پس از سه بار شستشوی نمونه سمینال با بافر PBS و حذف مایع رویی، رسوب حاصل به کمک بافر PBS به غلظت نهایی رسانده شد. اسمیرهای مورد نظر از محیط کشت حاوی اسپرم تهیه شد و پس از خشک شدن آن در محیط آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه در داخل ظرف حاوی استون- اتانل به نسبت ۱:۱ قرار گرفت.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:01 IRDT on Tuesday August 8th 2017

پس از خشک شدن لام‌ها در مجاورت هوا، لام‌های فوق به‌مدت هفت دقیقه در ظرف حاوی محلول رنگ آکریدین اورنج قرار گرفت و پس از خشک شدن نهایی توسط میکروسکوپ ایمونوفلوئورسانس و عدسی ۱۰۰X بررسی شد[۱۲] و نتایج حاصل به‌صورت درصد بیان شد.

ارزیابی بلوغ هسته اسپرم: برای این منظور از رنگ‌آمیزی آنیلین بلو استفاده شد. اساس آنالیز بر این نکته استوار است که در طی مرحله اسپرمیوژنز (Spermiogenesis)، پروتامین به‌جای هیستون در کروماتین هسته قرار می‌گیرد که این جایگزینی در تراکم و پایداری اسپرم بسیار با اهمیت است. در این رنگ‌آمیزی، اسپرم‌های نابالغ به‌دلیل هیستون زیاد به‌رنگ آبی تیره مایل به خاکستری درآمده و اسپرم‌های بالغ از رنگ‌پذیری کم‌تری برخوردار هستند. همانند روش ذکر شده در فوق، پس از تثبیت لام‌ها در محلول اتانول- استون و خشک شدن در مجاورت هوا، لام‌ها به مدت هفت دقیقه در محلول حاوی رنگ آنیلین بلو قرار گرفته و پس از خشک شدن در مجاورت هوا با میکروسکوپ نوری و درشت نمایی (۱۰۰×۱۰) بررسی شدند.

ارزیابی مورفولوژیک اسپرم‌ها: برای ارزیابی مورفولوژیک اسپرم‌ها از رنگ‌آمیزی آنیلین بلو استفاده شد. به این شکل که اسپرم‌هایی که دارای ظاهر غیرطبیعی بودند، شمارش و نتایج بر اساس درصد بیان شد. برای ارزیابی دقیق‌تر و هم‌چنین تشخیص بقایای سیتوپلاسمیک که نشان از عدم بلوغ مورفولوژیک اسپرم‌ها دارد رنگ‌آمیزی ائوزین- نگروزین نیز مورد استفاده قرار گرفت. آن دسته از اسپرم‌هایی که حاوی بقایای سیتوپلاسمی بودند به‌عنوان اسپرم‌های نابالغ (از لحاظ مورفولوژیک) در نظر گرفته شدند.

برای تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ و روش آماری ANOVA با P<۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها

وضعیت تحرک اسپرم: درصد اسپرم‌های غیرمتحرک در سه گروه تیمار، کنترل شم و کنترل توسط میکروسکوپ نوری بررسی شد که در گروه تیمار میانگین درصد اسپرم‌های غیرمتحرک (۶۷/۸±۲/۳۲) افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل شم (۳۸/۴±۳/۹۱) و کنترل (۴۱±۱/۳۱) داشت (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).

قدرت زیست‌پذیری اسپرم: اسپرم‌های مرده که در روش رنگ‌آمیزی ائوزین- نگروزین رنگ گرفته بودند در سه گروه تیمار، کنترل شم و کنترل شمارش و درصد آن‌ها به‌دست آمد که در گروه تیمار افزایش معنی‌داری در میانگین اسپرم‌های مرده (۵۷/۵۰±۵/۱۵) نسبت به گروه کنترل شم (۳۳/۷۱±۱/۸۹) و کنترل (۳۱/۵±۱/۲۹) قابل مشاهده است (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).

بلوغ هسته اسپرم: برای ارزیابی بلوغ هسته در روش رنگ‌آمیزی آنیلین بلو، اسپرم‌هایی با هسته حاوی هیستون زیاد بسته به میزان هیستون به رنگ آبی تا خاکستری رنگ گرفتند. تعداد اسپرم‌های نابالغ در سه گروه محاسبه و درصد آن به‌دست آمد. وجود افزایش معنی‌دار در میانگین درصد اسپرم‌های نابالغ گروه تیمار (۳۲/۵۵±۲/۳۰) در مقایسه با گروه کنترل شم (۱۵±۳/۱۱) و کنترل (۱۱/۱۶±۲/۴۸) قابل مشاهده است (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).

مورفولوژی اسپرم: هرگونه اختلال در شکل ظاهری اسپرم و دم آن و وجود باقیمانده‌های سیتوپلاسمی به‌عنوان مورفولوژی غیرطبیعی در نظر گرفته می‌شود. اسپرم‌هایی با مورفولوژی غیرطبیعی در سه گروه شمرده و به‌طور درصد بیان شد. اختلاف معنی‌دار در میانگین درصد اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه تیمار (۳۰±۲/۷۳) در مقایسه با گروه کنترل شم (۱۰/۵±۱/۸۷) و کنترل (۸/۳۳±۱/۶۳) مشاهده شد (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).

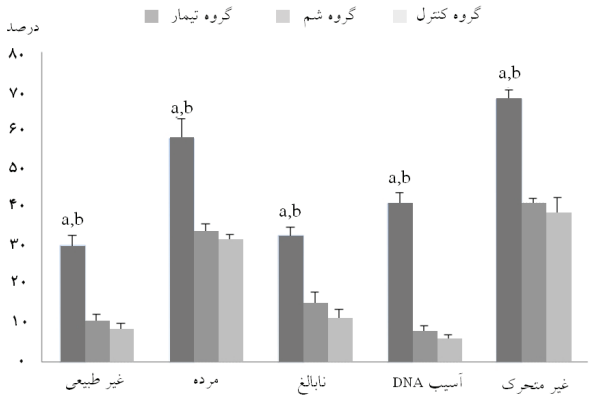
میزان آسیب رشته DNA: تعداد اسپرم‌هایی با کروماتین آسیب دیده در روش ارزیابی با آکریدین اورنج در سه گروه با استفاده از میکروسکوپ فلوئورسنت محاسبه و درصد آن‌ها به‌دست آمد که اسپرم‌هایی با هسته سبز رنگ طبیعی و هسته نارنجی تا قرمز بسته به میزان آسیب کروماتین، به‌عنوان اسپرم‌هایی با DNA آسیب دیده در

جدول- ۱: میانگین تعداد اسپرم‌های شمارش شده در سه گروه آزمایشی

گروه‌ها	تعداد اسپرم در هر موش 10^6 Sperm/ml
تیمار	۲۰/۳±۵/۱۳*
کنترل شم	۲۹/۵±۱/۵۸
کنترل	۳۱/۱۳±۱/۹

اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمار با گروه‌های کنترل شم و کنترل وجود دارد که با علامت * مشخص شده است (P<۰/۰۵).

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:01 IRDT on Tuesday August 8th 2017



نمودار- ۱: میانگین درصد اسپرم‌های غیرمتحرک، اسپرم‌هایی با آسیب DNA، اسپرم‌های نابالغ، غیرطبیعی و اسپرم‌های مرده در گروه‌های تیمار، کنترل شم و کنترل. وجود اختلاف معنی‌دار گروه تیمار با گروه کنترل با a و وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل شم با b مشخص شده است. اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل شم و کنترل دیده نمی‌شود. تمامی داده‌ها بر اساس میانگین ± استاندارد خطا گزارش شده است (P<۰/۰۵).

نظر گرفته می‌شود. اختلاف بین میانگین درصد اسپرم‌هایی با DNA آسیب دیده در گروه تیمار (۴۰/۷۵±۲/۸۷) نسبت به گروه کنترل شم (۸±۱/۴۱) و کنترل (۶/۲±۱/۳۰) معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).

تعداد اسپرم‌ها: شمارش اسپرم‌ها در زیر لام نئوبار به منظور ارزیابی طبیعی بودن تعداد اسپرم‌ها توسط میکروسکوپ نوری صورت گرفت و تعداد اسپرم‌ها در سه گروه شمرده شد. کاهش معنی‌داری بین میانگین تعداد اسپرم‌ها در گروه تیمار (۲۰/۳±۵/۱۳) نسبت به گروه کنترل شم (۲۹/۵±۱/۵۸) و گروه کنترل (۳۱/۱۳±۱/۹) مشاهده شد (P<۰/۰۵) (جدول ۱).

بحث

اختلالات جنسی و تولیدمثلی جز عوارض جانبی استرس‌آور و روتین استفاده از داروهای آنتی‌سایکوتیک است که بر کیفیت زندگی بیماران مصرف کننده دارو اثر سویی می‌گذارد.[۱۳] پرولاکتین نقش کلیدی در تنظیم رفتار و فعالیت جنسی و تولیدمثلی ایفا می‌کند[۱۴] و افزایش پرولاکتین سرمی باعث ایجاد ناباروری و گالاکتوره در هر دو جنس و مشکلات نعوذ، ارگاسم، انزال و ژنیکوماستی در جنس نر و اختلال و عدم وجود سیکل جنسی در جنس ماده می‌گردد.[۱۵و۱۶]

بعضی از داروهای آنتی‌سایکوتیک غیرتیپیک Atypical نظیر مشتقات بنزامیدها (سولپراید، آمی‌سولپراید و متوکلوپرامایـد) گیرنده‌های دوپامین را مهار کرده که باعث از بین رفتن سیستم کنترلی بر روی سلول‌های لاکتوتروف در زمینه ترشح پرولاکتین گشته و در نتیجه هیپرپرولاکتینمی ایجاد می‌شود.[۱۷و۱۸] مکانیسم اثر داروی سولپراید شامل بلوکه کردن گیرنده D_2 و D_3 است که باعث کاهش غلظت دوپامین هیپوتالاموسی و افزایش میزان تولید پرولاکتینمی گردد.[۱۹و۲۰] در این مطالعه از تعداد و کیفیت اسپرم‌ها در گروه مصرف‌کننده دارو به‌طور معنی‌داری کاسته شده است. نتایج به دست آمده از مطالعه فوق در زمینه کاهش کیفیت و تعداد اسپرم با نتایج حاصل از مطالعه Garcia Diez مطابقت دارد.[۲۱] مکانیسم ایجاد اختلال در کیفیت اسپرم توسط این دارو از طرق مختلف قابل بررسی و توجیه است. ترشح استروییـد با تولید اسپرم ارتباط تنگاتنگی دارد. سنتز تستوسترون برای تولید اسپرم و تکمیل و افزایش خصوصیات ثانویه جنسی و رفتار طبیعی جنسی الزامی است.[۲۲] هیپوفیز قدامی این اعمال را با ترشح LH و FSH و به‌طور ثانویه با آزادسازی هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRh) از هیپوتالاموس تنظیم می‌کند. FSH برای آغاز اسپرماتوژنز الزامی است و غلظت بالای تستوسترون داخل گنادی این پروسه را فعال می‌کند.[۲۳و۲۴] LH سلول‌های لیدیک را تحریک می‌کند و میزان بالای تستوسترون داخل گنادی القا شده که به‌طور مستقیم یا همراه با یکی از متابولیت‌های آن دی‌هیدروتستوسترون (DHT) بر روی شروع و پیشرفت تقسیم میوزی سلول‌های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه اثر می‌گذارد و در طی اسپرماتوژنز FSH روی سلول‌های سرتولی اثر کرده و تبدیل اسپرماتید به اسپرماتوزوییـد را تسهیل می‌نماید و نیز شروع مراحل بلوغ اسپرماتوگونی را تسریع می‌کند.[۲۵] پرولاکتین به عنوان تنظیم کننده محور هیپوتالاموسی- هیپوفیزی- گنادی عمل می‌کند. غلظت بالای پرولاکتین دارای اثرات مهاری بر روی انسان و بر سایر حیوانات می‌باشد. هیپرپرولاکتینمی ترشح ضربانی LH و به میزان کم‌تر FSH را کاهش داده[۲۶] و باعث کاهش ترشح هورمون آزاد کننده LH می‌گردد.[۲۷] در این مطالعه پس از مصرف ۴۵ روزه داروی سولپراید در گروه تیمار میزان اسپرم‌های تولیدی نسبت به گروه‌های کنترل شم و کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. هیپرپرولاکتینمی ایجادی در اثر مصرف سولپراید با بیوسنتز β-۱۷ استرادیول از سلول‌های لیدیگ تداخل ایجاد می‌کند و باعث کاهش

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:01 IRDT on Tuesday August 8th 2017

میزان تستوسترون می‌شود که این کاهش روند اسپرماتوژنز را دچار اختلال کرده و میزان اسپرم‌های تولیدی کاهش می‌یابد.[۲۸] کاهش مشخص میزان بلوغ و پروتامیناسیون هسته در نمونه‌های اسپرم گروه تیمار نسبت به دو گروه دیگر در اثر کاهش و مهار ترشح FSH به علت هیپرپرولاکتینمی ایجادی توسط سولپراید، باعث اختلال و عملکرد ضعیف سلول‌های سرتولی در سنتز پروتیین‌های انتقالی یک و دو بیضه‌ای و پروتامین می‌گردد. پروتیین‌های انتقالی به عنوان عامل بسیار مهمی در تسهیل جایگزینی پروتامین در مرحله بلوغ نهایی اسپرم شناخته می‌شوند.[۲۹] کاهش سنتز پروتامین نیز باعث کاهش چشمگیر در میزان پروتامیناسیون اسپرم‌ها و در نهایت افزایش تعداد اسپرم‌های نابالغ مشاهده شده در این گروه گردیده است. در این مطالعه مشاهده افزایش قابل توجه میزان اسپرم‌هایی با DNA آسیب دیده در گروه تیمار نسبت به گروه‌های دیگر مورد آزمایش به دلیل کاهش میزان پروتامیناسیون هسته قابل توجیه است. کاهش پروتامیناسیون باعث اختلال در روند فشردگی هسته شده و احتمال تماس عوامل مضر خارجی از قبیل رادیکال‌های آزاد با DNA سلولی اسپرم را افزایش می‌دهد.[۳۰و۳۱]

بنابراین احتمال ایجاد آسیب به DNA اسپرم‌ها بالا رفته[۳۲] که موید علت افزایش میزان اسپرم‌های دارای آسیب DNA در گروه درمان شده با سولپراید در رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج در مطالعه حاضر می‌باشد. در بررسی میزان اسپرم‌هایی با مورفولوژی غیرطبیعی مشاهدات حاکی از افزایش معنی‌دار درصد اسپرم‌های غیر نرمال در گروه مصرف‌کننده داروی سولپراید است. اختلال ایجادی توسط هیپرپرولاکتینمی حاصل از مصرف سولپراید در میزان FSH تولیدی و به طبع آن تضعیف عملکرد سلول‌های سرتولی در حذف سیتوپلاسم اضافی طی روند اسپرماتوژنز (روند تولید گامت جنسی نر در گنادهای نر) (Spermatogenesis)[۳۳] باعث بروز این تفاوت معنی‌دار در گروه تیمار نسبت به گروه‌های کنترل شم و کنترل گردیده است. در ارزیابی گروه درمان شده با سولپراید، تعداد زیاد اسپرم‌های مرده در مقایسه با دو گروه تجربی دیگر قابل توجه بوده است. با بالا رفتن میزان اسپرم‌های غیرطبیعی نفوذ لکوسیت‌های پراکسیداز مثبت به بافت بینابینی بیضه به منظور پراکسیده کردن غشاء پلاسمایی آن‌ها افزایش می‌یابد که افزایش لکوسیت‌ها و اسپرم‌های غیرنرمال باعث افزایش ROS (گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن یا به عبارتی رادیکال‌های آزاد اکسیژن) می‌گردد.[۳۴]

این روند افزایش اسپرم‌های مرده را به همراه خواهد داشت که دلیلی بر افزایش درصد این سلول‌ها در گروه تیمار در این مطالعه است. مقایسه توان حرکتی اسپرم‌ها در هر سه گروه تیمار، شم و کنترل بیان‌کننده افزایش مشخص تعداد اسپرم‌های غیرمتحرک در نمونه‌های گروه مصرف کننده داروی سولپراید است. افزایش میزان رادیکال‌های آزاد مثل H2O2 و ورود آن‌ها به داخل سیتوزول سلول‌های اسپرماتوزویید از طریق آسیب ایجادی در غشای پلاسمایی آن‌ها، سبب ایجاد اختلال در عملکرد آنزیم گلوکز شش فسفات دهیدروژناز گردیده و توان حرکتی اسپرم را کاهش می‌دهد.[۳۲] کاهش تحرک اسپرم‌ها در این مطالعه احتمالا با توجه به موارد فوق قابل توجیه است. در مجموع نتایج این مطالعه نشان می‌دهد درمان با داروی آنتی‌سایکوتیک سولپراید به دلیل تأثیرات آن بر روی کیفیت اسپرم نه تنها باعث کاهش پتانسیل تولیدمثلی و ایجاد ناباروری می‌شود بلکه عوارض ناشی از این اختلال نیز در کاهش کیفیت زندگی بیمار موثر است لذا با توجه به موارد ذکر شده احتیاط در تجویز و مصرف این دارو به منظور کاهش اثرات جانبی آن در زندگی بیماران مبتلا باید مورد توجه قرار گیرد هرچند انجام تحقیقات و مطالعات بیش‌تر در مورد آن اجتناب‌ناپذیر است.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "مطالعه اثر هیپرپرولاکتینمی ناشی از سولپراید در ساختار بافتی بیضه، کیفیت اسپرم و توان باروری در موش سوری نر" در مقطع دکترای تخصصی در سال ۱۳۹۰ و کد ۲۸۰ می‌باشد که با حمایت دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه اجرا شده است.

References

1. Baldwin D, Mayers A. Sexual side-effects of antidepressant and antipsychotic drugs. *Adv Psychiatr Treat* 2003;9(3):202-10.
2. Abdelal A, El-Enany N, Belal F. Simultaneous determination of sulpiride and its alkaline degradation product by second derivative synchronous fluorescence spectroscopy. *Talanta* 2009;80(2):880-8.
3. Liu J, Cao W, Qiu H, Sun X, Yang X, Wang E. Determination of sulpiride by capillary electrophoresis with end-column

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:01 IRDT on Tuesday August 8th 2017

electrogenerated chemiluminescence detection. *Clin Chem* 2002;48(7):1049-58.
4. Jenner P, Marsden CD. The substituted benzamides: a novel class of dopamine antagonists. *Life Sci* 1979;25(6):479-85.
5. Giros B. Third dopamine receptor. A new target of action of neuroleptics. Pathol Biol (Paris). 1991;39:252-254.
6. Martin-Lopez M, Navarro JF. Effects of sulpiride on body weigh after chronic administration in male mice. *Psicothema* 1996;8(3):609-12.
7. Oseko F, Oka N, Furuya H, Morikawa K. Effects of chronic sulpiride-induced hyperprolactinemia on plasma testosterone and its responses to hCG in normal men. *J Androl* 1988;9(4):231-3.
8. Kinon BJ, Gilmore JA, Liu H, Halbreich UM. Hyperprolactinemia in response to antipsychotic drugs: characterization across comparative clinical trials. *Psychoneuroendocrinology* 2003;28 Suppl 2:69-82.
9. Arowojolu AO, Akinloye O, Shittu OB. Serum and seminal plasma prolactin levels in male attenders of an infertility clinic in Ibadan. *J Obstet Gynaecol* 2004;24(3):306-9.
10. De Rosa M, Zarrilli S, Di Sarno A, Milano N, Gaccione M, Boggia B, et al. Hyperprolactinemia in men: clinical and biochemical features and response to treatment. *Endocrine* 2003;20(1-2):75-82.
11. Vandekerckhove P, Lilford R, Vail A, Hughes E. Bromocriptine for idiopathic oligo/asthenospermia. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;(2):CD000152.
12. Hodjat M, Akhondi MA, Amirjanati N, Savadi Shirazi E, Sadeghi MR. The comparison of four different sperm chromatin assays and their correlation with semen parameters. *Tehran Univ Med J (TUMJ)* 2008;65(3):33-41.
13. Cutler AJ. Sexual dysfunction and antipsychotic treatment. *Psychoneuroendocrinology* 2003;28 Suppl 1:69-82.
14. Clayton AH. Sexual function and dysfunction in women. *Psychiatr Clin North Am* 2003;26(3):673-82.
15. Compton MT, Miller AH. Antipsychotic-induced hyperprolactinemia and sexual dysfunction. *Psychopharmacol Bull* 2002;36(1):143-64.
16. Knegtering H, van der Moolen AE, Castelein S, Kluiter H, van den Bosch RJ. What are the effects of antipsychotics on sexual dysfunctions and endocrine functioning? *Psychoneuroendocrinology* 2003;28 Suppl 2:109-23.
17. Kaneda H, Tanimoto K, Shintani T, Kakigi T, Maeda K. The effect of intracerebroventricular administration of somatostatin on prolactin and TSH release in rats. *Jpn J Psychiatry Neurol* 1991;45(4):903-7.
18. Stanniland C, Taylor D. Tolerability of atypical antipsychotics. *Drug Saf* 2000;22(3):195-214.
19. Hell K, Wernze H. Drug-induced changes in prolactin secretion. Clinical implications. *Med Toxicol Adverse Drug Exp* 1988;3(6):463-98.
20. Schlösser R, Gründer G, Anghelescu I, Hillert A, Ewald-Gründer S, Hiemke C, et al. Long-term effects of the substituted benzamide derivative amisulpride on baseline and stimulated prolactin levels. *Neuropsychobiology* 2002;46(1):33-40.
21. García Díez LC, Gonzalez Buitrago JM. Semen characteristics and serum and seminal plasma hormones in drug-induced hyperprolactinaemia. *Arch Androl* 1982;9(4):311-7.
22. Pardridge WM, Gorski RA, Lippe BM, Green R. Androgens and sexual behavior. *Ann Intern Med* 1982;96(4):488-501.
23. Sharpe RM. Follicle-stimulating hormone and spermatogenesis in the adult male. *J Endocrinol* 1989;121(3):405-7.
24. Parvinen M. Regulation of the seminiferous epithelium. *Endocr Rev* 1982;3(4):404-17.
25. Plant TM, Marshall GR. The functional significance of FSH in spermatogenesis and the control of its secretion in male primates. *Endocr Rev* 2001;22(6):764-86.
26. Murray FT, Cameron DF, Ketchum C. Return of gonadal function in men with prolactin-secreting pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;59(1):79-85.
27. Saitoh Y, Arita N, Hayakawa T, Onishi T, Koga M, Mori S, et al. Hypogonadism of male prolactinomas: relation to pulsatile secretion of LH. *Andrologia* 1990;22(6):519-24.
28. Okada H, Iwamoto T, Fujioka H, Shirakawa T, Tatsumi N, Kanzaki M, et al. Hyperprolactinaemia among infertile patients and its effect on sperm functions. *Andrologia* 1996;28(4):197-202.
29. Aleem M, Choudhari J, Padwal V, Balasinor N, Parte P, Gill-Sharma MK. Hyperprolactinemia affects spermiogenesis in adult male rats. *J Endocrinol Invest* 2005;28(1):39-48.
30. Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999;402(6762):672-6.
31. Shen GY, Chen WR, Midtgaard J, Shepherd GM, Hines ML. Computational analysis of action potential initiation in mitral cell soma and dendrites based on dual patch recordings. *J Neurophysiol* 1999;82(6):3006-20.
32. Kemal Duru N, Morshedi M, Oehninger S. Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertil Steril* 2000;74(6):1200-7.
33. Suzuki N, Sofikitis N. Protective effects of antioxidants on testicular functions of varicocelized rats. *Yonago Acta Medica* 1999;42:87-94.
34. Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urol Clin North Am* 2002;29(4):817-27.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 8:01 IRDT on Tuesday August 8th 2017

Evaluation of sperm quality, maturation and DNA integrity in adult mice treated with sulpiride

Aram Ahmadi D.V.M.[1*]
Rajab-Ali Sader khanlou D.V.Sc.[1]
Siamak Salami Ph.D.[2]
Abbas Ahmadi D.V.Sc.[1]

1- Department of Basic Sciences, Histology and Embryology Section, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
2- Department of Biochemistry and Nutrition, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

Abstract

Received: January 17, 2012 Accepted: March 07, 2012

***Background*:** Use of certain antipsychotic drugs has severe effects on fertility in males. Hypothalamus and hypophysial impressions and changes in plasma hormones concentration like prolactin, LH and FSH can affect sperm production. In this study, we investigated the effects of sulpiride on sperm quality, maturation and DNA damage.

***Methods*:** Twenty for adult male mice (age: 6-8 weeks) were divided into three groups. The treatment group received 40 mg/kg sulpiride solution and the control sham group was given carrier of the drug intraperitoneally (IP) daily for 45 days but the control group received nothing. Finally, all the mice were sacrificed by cervical dislocation and their cauda epididymis were removed surgically. The excised specimens were placed in 1 ml HTF medium and incubated for 30 min in CO2 incubator to allow the spermatozoa to swim out. Later, sperm count, motility and viability were analyzed. Additionally, sperm chromatin quality and DNA integrity were assessed by aniline blue and acridine orange staining.

***Results*:** Significant decrease in sperm motility and count were observed in the treatment group while the number of abnormal sperm increased as compared with the other two groups. Sperm viability and DNA maturation showed significant reduction and the rate of DNA damage increased in comparison with the control sham and the control groups ($P<0.05$).

Conclusion: The study showed that sulpiride has negative effects on sperm parameters in treated animals and in some cases it could cause secondary infertility.

Keywords: DNA damage, nuclear maturation, sperm quality, sulpiride.

*Corresponding author: Department of Basic Sciences, Histology and Embryology Section, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. P.O.Box:57153-1177.
Tel: +98- 441- 2770508
E-mail: aram.ahmadi82@gmail.com