مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۰، شماره ۱، بهار ۸۹، صفحات ۶ تا ۱۰

Original Article

بررسی اثرات سیتوتوکسیک تولوالدواکسیم بر روی اسپرماتوژنز موش‌های نژاد Balb/C نابالغ

کاظم پریور[۱]، هما محسنی کوچصفهانی[۲]، محمدعلی بیگدلی[۳]، قدرت عبادی مناس[۴]

[۱] استاد، دکترای علوم جانوری، گروه زیست شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
[۲] استادیار، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت معلم تهران
[۳] استاد، دکترای شیمی آلی، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه تربیت معلم تهران
[۴] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم جانوری گرایش تکوینی، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت معلم تهران

چکیده

سابقه و هدف: *تاثیر بعضی از اعضاء خانواده اکسیم‌ها بر کاهش تولید اسپرم و تخمک گزارش گردیده است. به دلیل مشابهت ساختاری تولوالدواکسیم با سایر اکسیم‌ها، تاثیر این ماده بر سیستم تولید مثل موش کوچک نژاد Balb/C نابالغ بررسی شد تا در صورت کاهش تولید اسپرم، مقدمه‌ای برای تحقیقات آینده در مورد تولید داروی ضدباروری مردانه باشد.*

روش بررسی: *دراین مطالعه تجربی، تعداد ۳۰ سر موش Balb/C نابالغ نر پس از تعیین وزن به سه گروه شاهد، شم و تجربی تقسیم شدند. میزان LD50 در حد ۳۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تعیین شد. دوز زیرکشنده از ترکیب به میزان ۱۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی به موش‌های نابالغ (۳۰ روزه) گروه تجربی به مدت ۵ هفته و هفته ای سه بار تزریق شد.*

یافته‌ها: *کاهش معنی‌داری در پارامترهای مختلف، بین گروهای تجربی در مقایسه با گروه شاهد وجود داشت ($p<0/05$). این نتایج شامل کاهش در وزن بدن، کاهش تعداد اسپرماتوگونی‌های نوع A و B، کاهش در تعداد اسپرماتوسیت‌ها و کاهش در تعداد اسپرم‌ها بود. در بعضی از نمونه‌ها، تعدادی از سلول‌های اسپرماتوژنیک بصورت کیست درآمده و تعدادی از سلولهای نارس نیز درون لوله‌ها رها شده بود.*

نتیجه‌گیری: *از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که تولوالدوکسیم بدون تاثیر بر میزان هورمون تستوسترون، شاخص‌های مختلف باروری را در موش‌های نژاد سوری کاهش می‌دهد.*

واژگان کلیدی: *تولوالدواکسیم، باروری، موش‌های نابالغ Balb/C ، اسپرم، تستوسترون.*

مقدمه

امروزه پیشرفت‌های علمی در زمینه پزشکی باعث گردیده که بسیاری از بیماری‌ها کنترل، طول عمر افزایش و مرگ و میر کاهش یابد. بنابراین به دلیل کمبود منابع طبیعی کره زمین، دانشمندان به فکر کنترل رشد جمعیت هستند. در حال حاضر، اکثر روش‌های کنترل جمعیت توسط زنان مورد استفاده قرار می‌گیرد که در بعضی موارد همراه با عوارض جانبی و آسیب‌های جسمانی است (۱، ۲). بنابراین یافتن روش‌های کنترل جمعیت از طرف مردان امری ضروری است. متاسفانه تا به حال روش ضدباروری مردانه مناسب و قابل‌برگشتی گزارش نشده است (۳) و در حال حاضر تنها روش ضدباروری در مردان، استفاده از کاندوم و وازکتومی است. برای اولین بار در دنیا دردهه ۱۹۶۰ در یکی از روستاهای چین در بین افرادی که از روغن دانه‌های پنبه

آدرس نویسنده مسئول: آذربایجان غربی، سلماس، خیابان رضایی، کوچه ۱۵، پلاک ٤، قدرت عبادی مناس (email: ebadiminas@gmail.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۲/۲۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۷/۳۰

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-08-02]

همراه با ذرات گیاه استفاده می‌کردند، کاهش شدید باروری در مردان مشاهده شد (۴). بررسی‌ها مشخص کرد که ماده‌ای به نام گوسیپول در دانه‌های پنبه منجر به کاهش باروری شده و در آن زمان به عنوان ماده ضد باروری مردانه مطرح گردید (۵). تحقیق در این زمینه موجب یافتن اثرات ضدباروری مردانه در بعضی از مشتقات چند گروه دارویی مانند سولفونامیدها، کینین‌ها ، نیتروفوران‌ها و اکسیم‌ها گردید (۲، ۶، ۷). در این پژوهش تاثیر تولوالدوکسیم، به عنوان یکی از مشتقات اکسیم‌ها، بر شاخص‌های مختلف باروری و بافت‌شناسی دستگاه تولیدمثلی نر موش‌های کوچک نابالغ نژاد Balb/C در درازمدت مورد ارزیابی قرارگرفت تا در صورت تاثیر بر کاهش تولید اسپرم بتوان در ساخت داروی ضدباروری مردانه از آن استفاده کرد.

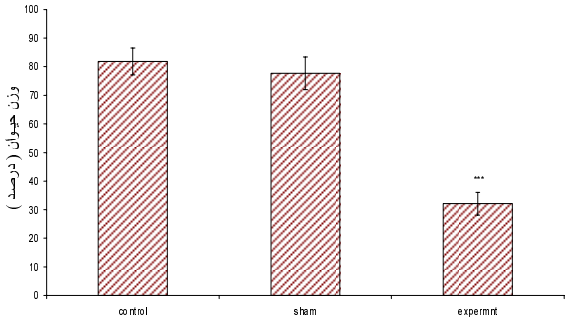
مواد و روشها

دراین مطالعه تجربی، ماده تولوالدوکسیم بصورت پودر سفید رنگ در شرایط استاندارد در آزمایشگاه شیمی آلی دانشگاه تربیت معلم تهران تهیه گردید و از روغن زیتون بودار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به عنوان حلال آن استفاده گردید. موش‌های نر نابالغ نژاد Balb/C در محدوده وزنی ۱۵-۱۰ گرم از حیوان تهیه گردیدند و تحت شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد) در قفس‌های مخصوص و با دسترسی کافی به آب و غذا نگهداری شدند. ۳۰ سر موش Balb/C نابالغ نر به سه گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند: گروه شاهد که دارویی دریافت نکردند؛ گروه شم که روغن زیتون بودار به آنها تزریق شد و گروه تجربی که دوز ۱۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تولوالدواکسیم بر اساس وزن بدن دریافت کردند. درنمونه‌های شم و تجربی تزریق به مدت ۵ هفته و هفته‌ای سه بار و به صورت درون صفاقی انجام گرفت. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین تزریق، موش‌ها پس از توزین با اتر کشته شده و خون آنها برای اندازه‌گیری غلظت هورمون تستوسترون در لوله‌های آزمایش تمیز جمع‌آوری شد. سپس سرم‌ها با سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه جدا شده و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری هورمونی بر اساس روش‌های معمولی با استفاده از روش RIA انجام گرفت. به علاوه کلیه حیوانات تشریح شدند و بیضه‌های آنها خارج شدند که پس از توزین، برش‌برداری و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین – ائوزین، شاخص‌هایی نظیر میزان تغییرات وزن بدن، تغییرات در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نوع A و B، تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و اسپرماتیدها و تعداد اسپرم، تغییرات در تعداد سلول‌های لایدیگ و هورمون تستوسترون مورد بررسی قرار گرفت. جهت شمارش سلول‌ها از گراتیکول مشبک استفاده شد که در ۵۰ میدان دید میکروسکوپی در بزرگنمایی ۱۰۰× ابژکتیو صورت گرفت.

محاسبات آماری و تعیین اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تجربی با گروه‌های شم و شاهد توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام گرفت. $p<۰/۰۵$ به لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

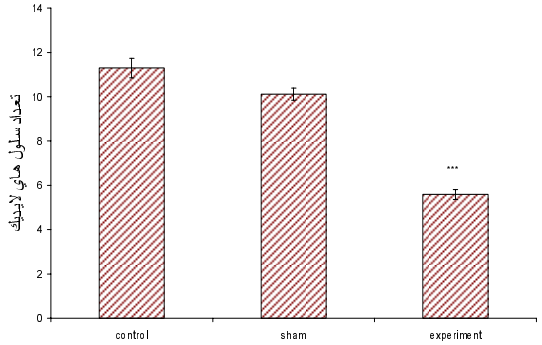
میزان افزایش وزن بدن حیوانات در گروه شاهد ۴/۶۷±۸۱/۸۵ گرم و در گروه تجربی ۳/۹۷±۳۲ گرم بود و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$) (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه درصد افزایش وزن بدن.

کاهش معنی‌داری در گروه تجربی در مقایسه با گروه شم و شاهد مشاهده می‌شود. $^{*}p<۰/۰۵$، $^{**}p<۰/۰۱$، $^{***}p<۰/۰۰۱$

بررسی سلول‌های لایدیگ نشان داد که میانگین آنها در گروه شاهد ۰/۴±۱۰ و در گروه تجربی ۰/۲ ±۵/۵۸ بود ($p<۰/۰۰۱$) (نمودار ۲).

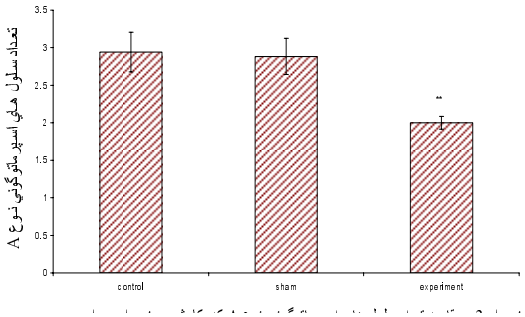


نمودار ۲- مقایسه تعداد سلول‌های لایدیگ.

کاهش معنی‌داری در گروه تجربی در مقایسه با گروه شم و شاهد مشاهده می‌شود. $^{*}p<۰/۰۵$، $^{**}p<۰/۰۱$، $^{***}p<۰/۰۰۱$

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-08-02]

بررسی تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نوع A نشان داد کـه تعـداد آنها در گروه شاهد ۲/۹±۰/۲۶ و در گـروه تجربـی ۲±۰/۰۹ بـود و اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (p<۰/۰۱) (نمودار ۳).

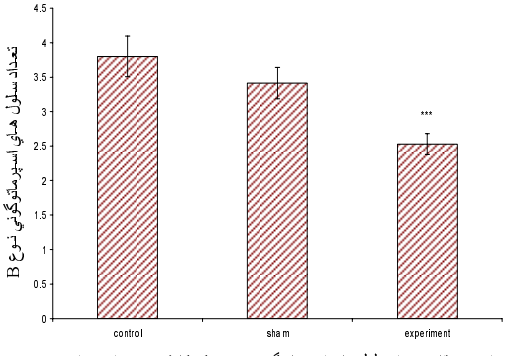


نمودار ۳- مقایسه تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نوع A.

کاهش معنی‌داری در گروه تجربی در مقایسه با گروه شم و شاهد مشاهده می‌شود.

$p<۰/۰۵^{*}$، $p<۰/۰۱^{**}$، $p<۰/۰۰۱^{***}$

تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نوع B بـه طـور معنـی‌داری در گروه شاهد (۳/ ۰±۳/۸) بـیش از گـروه تجربـی (۲/۵۲±۰/۱۵) بود (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۴).

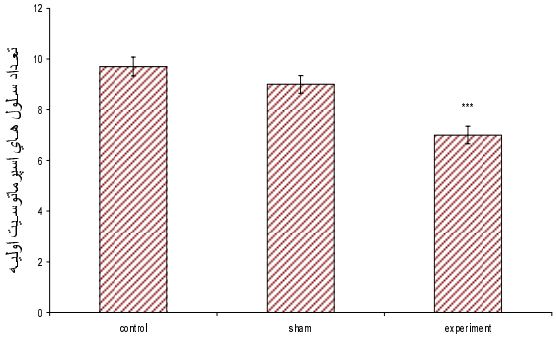


نمودار ۴- مقایسه تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نوع B.

کاهش معنی‌داری در گروه تجربی در مقایسه با گروه شم و شاهد مشاهده می‌شود.

$p<۰/۰۵^{*}$، $p<۰/۰۱^{**}$، $p<۰/۰۰۱^{***}$

تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در گروه شاهد ۹/۷±۰/۳۷ و در گروه تجربی ۷±۰/۳۴ بود و اختلاف بین دو گـروه از نظـر آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۵).

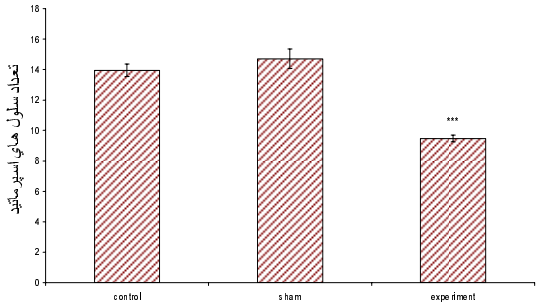


نمودار ۵- مقایسه تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه.

کاهش معنی‌داری در گروه تجربی در مقایسه با گروه شم و شاهد مشاهده می‌شود.

$p<۰/۰۵^{*}$، $p<۰/۰۱^{**}$، $p<۰/۰۰۱^{***}$

تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه شـاهد (۱۳/۹±۰/۴) بـیش از گروه تجربی (۹/۴±۰/۲۳) بود (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۶).

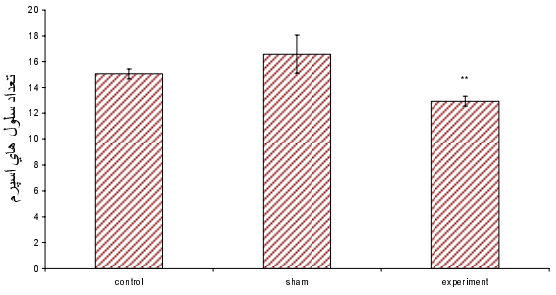


نمودار ۶- مقایسه تعداد سلول‌های اسپرماتید.

کاهش معنی‌داری در گروه تجربی در مقایسه با گروه شم و شاهد مشاهده می‌شود.

$p<۰/۰۵^{*}$، $p<۰/۰۱^{**}$، $p<۰/۰۰۱^{***}$

تعداد اسپرم‌ها در گـروه شـاهد ۱۵±۰/۳۹ و در گـروه تجربـی ۱۲/۹±۰/۳۸ بود (p<۰/۰۱) (نمودار ۷، شکل ۱ و ۲).

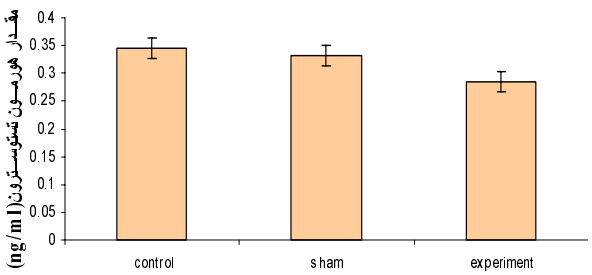


نمودار ۷- مقایسه تعداد سلول‌های اسپرم.

کاهش معنی‌داری در گروه تجربی در مقایسه با گروه شم و شاهد مشاهده می‌شود.

$p<۰/۰۵^{*}$، $p<۰/۰۱^{**}$، $p<۰/۰۰۱^{***}$

مقـدار هورمـون تستوسـترون در گـروه شـاهد ۰/۳۷±۰/۰۱ نانوگرم در میلی‌لیتر و در گروه تجربی ۰/۳۳±۰/۰۲ نـانگرم در میلی‌لیتر بود که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود (NS).

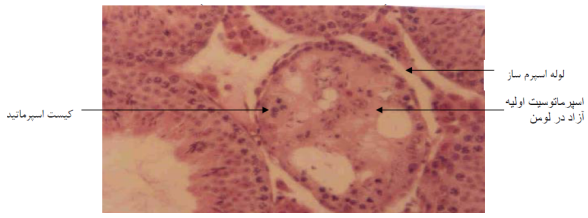


نمودار ۸- مقایسه میزان هورمون تستوسترون.

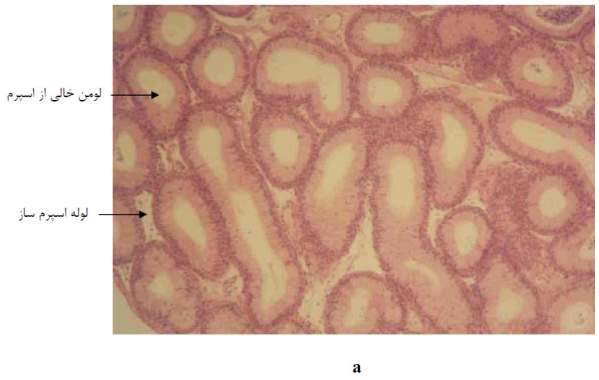
کاهش معنی‌داری در گروه تجربی در مقایسه با گروه شم و شاهد مشاهده می‌شود.

$p<۰/۰۵^{*}$، $p<۰/۰۱^{**}$، $p<۰/۰۰۱^{***}$

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-08-02]



شکل ۱- نمای میکروسکوپی از مقطع عرضی بیضه موش تجربی که درآن لومن خالی از اسپرم و اسپرماتوسیت‌های آزاد در لومن وکیست اسپرماتیدی مشاهده می‌شود. (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×)



a

b

شکل ۲- نمای میکروسکوپی از مقطع عرضی بیضه موش‌های گروه تجربی (a) و شاهد (b). در نمونه تجربی لوله‌های اسپرم‌ساز خالی از اسپرم است. (بزرگ‌نمایی ۱۰×)

بحث

این مطالعه نشان داد که تولوالدوکسیم اثرات بارزی بر عوامل باروری در موش‌های کوچک نژاد Balb/C دارد و می‌تواند بدون تغییر در غلظت تستوسترون سرم، باروری را به میزان قابل توجهی نسبت به گروه شاهد کاهش دهد. مطالعات بر روی موش‌ها نشان داده که تولوالدوکسیم با دوز استفاده شده به طور معنی‌داری موجب کاهش وزن موش‌ها می‌شود و به نظر می‌رسد که تولوالدواکسیم با مهار آنزیم‌های توپوایزومراز Π و تیروزینازموجب کاهش تقسیم سلولی در تمامی سلول‌های سوماتیک و اسپرماتوژنیک شده و از این طریق موجب کاهش رشد می‌گردد (۸، ۹)، چرا که توپوایزومراز، یک پروتئین هسته‌ای است و نقش مهمی در تنظیم رونویسی ژن‌ها ، متراکم شدن و جدایی کروموزوم‌ها دارد (۸، ۱۰، ۱۱). این نتایج با نتایج سایر محققین نیز مطابقت دارد (۱۲).

بررسی تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نوع A و B نشان داد که تولوالدواکسیم موجب کاهش معنی‌دار این دو نوع سلول اسپرماتوژنیک می‌شود. احتمالا کاهش این دو نوع سلول ناشی از کاهش فعالیت سلول‌های سرتولی وکاهش تقسیم سلول‌های زاینده نوع A می‌باشد.

بررسی تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید نشان داد که تولوالدواکسیم موجب کاهش تعداد این سلول‌ها می‌گردد. کاهش این سلول‌ها در نتیجه کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نوع B است.

در مطالعه ما، تولوالدواکسیم موجب کاهش معنی‌دار تعداد سلول‌های اسپرم در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد شد که احتمالا ناشی از کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتید است.

همچنین تولوالدواکسیم با دوز تزریقی موجب کاهش معنی‌دار تعداد سلول‌های لایدیگ گردید که احتمالا در اثر بر هم‌کنش این ماده با این سلول‌ها و یا نتیجه سمی بودن این ترکیب است که البته در این مورد و موارد بالا نیاز به تحقیق بیشتری است.

در مطالعه حاضر، بررسی مقدار هورمون تستوسترون نشان داد که تولوالدواکسیم موجب کاهش هورمون تستوسترون می‌شود، هر چند که از نظر آماری این کاهش معنی‌دار نبود. این کاهش، ناشی از کاهش تعداد و فعالیت سلول‌های لایدیگ در اثر ماده تزریقی است.

از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که تولوالدواکسیم بر شاخص‌های مختلف باروری تاثیر منفی دارد، اما میزان هورمون تستوسترون را کاهش نمی‌دهد و بر صفات ثانویه جنسی تاثیر نخواهد داشت. هر چند در دوز تزریقی بر وزن بدن تاثیر منفی دارد که این اثرمنفی احتمالا در دوزهای پایین‌تر ایجاد نمی‌شود که این امر نیاز به تحقیق بیشتری دارد.

REFERENCES

1. Speroff L, Fritz MA, Glass RH, Kase NG. Speroff's clinical gynecologic endocrinology and fertility. Amirkhani J, translators. Tehran: Esharat Publication; 1992. p.18-20. [In Persian]

2. Wu FC. Male contraception: currents and future prospects. Clin Endocrinol 1988; 29: 443-65.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-08-02]

3. Wiat G. Male fertility regulation the challanel for the year 2000. Br Med Bull 1993; 49: 210-21.

4. Tanami H, Hirokazu T, Effect of Male oral contraceptive Gossypol on Testicular DNA Polimerase in Rat Japanese. J Fertil Steril 1994; 39: 283-91.

5. Taylor GT, Griffin MG, Bardgett M. Search for a male contraceptive. The effect of gossypol on sexual motivation and epididymal sperm. J Med 1991; 22: 29-30.

6. Nelson WO, Bunge RG. The effect of therapeutic dosages of nitrofurantoin (furadontin) up on spermatogenesis in Man. J Urol 1957; 77: 275.

7. Sadeghipour Roudsari HR. Efiicacy of Nifouraxime on fertility parameters in male rats. Journal of Iranian Biology. 2000; 9: 88-96.

8. Jayaraju D, Gopal YN, Kondapi AK. Topoisomerase II is a cellular target for antiproliferative cobalt salicylaldoxime complex. Arch Biochem Biophys 1999; 369: 68-77.

9. Ley JP, Bertram HJ. Hydroxy- or methoxy-substituted benzaldoximes and benzaldehyde-O-alkyloximes as tyrosinase inhibitors. Bioorg Med Chem 2001; 9: 1879-85.

10. New port J. Nuclear reconstitution in vitro: stages of assembly around protein-free DNA. Cell 1987; 48: 219-30.

11. Brill SJ, Dinardo S, Voelkel-Meimanam K, Sternglanz R. Need for DNA topoisomerase activity as a swivel for DNA replication for transcription of ribosomal RNA. Nature 1987; 326: 414-16.

12. Malek-Shahtabar FM. Effects of Tolualdoxime (syn-para-methyl-benzaldehid-oxime) on oogenesis and hormones ofmature and immature Balb/C rats [Dissertation]. Yehran: Faculty of Science, Teacher Training University; 1995. [In Persian]

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-08-02]