مجله‌ی علمی، پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان
دوره‌ی ۱۸، شماره‌ی ۷۲، پاییز ۱۳۸۹، صفحات ۲۵ تا ۳۳

بررسی تجویز توام هورمون تستوسترون و امواج فراصوت بر تعداد و عملکرد اسپرم‌ها در موش نر بالغ

فرهاد مرتضی‌زاده[۱]، دکتر محمدمحسن تقوی[۲]، دکتر منصوره موحدین[۳]، حمیدرضا جعفری نوه[۴]

نویسنده‌ی مسئول: کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده‌ی پزشکی افضلی پور، گروه علوم تشریح fmmorteza@gmail.com

دریافت: ۸۸/۹/۱ پذیرش: ۸۹/۲/۶

چکیده

زمینه و هدف: *در سال‌های اخیر کوشش‌هایی برای تکامل روش‌های جدید ناباوری در مردان صورت گرفته است، اما هنوز عقیم سازی مردان از طریق بستن لوله‌ها (وازکتومی) تنها روش قابل اعتماد می‌باشد. در مطالعه‌ی تجربی حاضر، اثرات تجویز تستوسترون توام با امواج فرا صوت در عقیم سازی موش‌های بالغ نر مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *۲۸ موش سوری بالغ نر به شکل تصادفی به چهار گروه به ترتیب تقسیم شدند. گروه نرمال، گروه تستوسترون، گروه امواج فراصوت، گروه تستوسترون و امواج فراصوت. حیوانات به‌مدت شش هفته به ترتیب تحت تجویز نرمال سالین، تستوسترون، امواج فراصوت و تستوسترون همراه با امواج فراصوت قرار گرفتند. سپس زنده ماندن، تحرک و تعداد اسپرم‌ها ارزیابی شد. همچنین پارامترهای مورفومتریک شامل قطر لوله‌ها مطالعه شد.*

یافته‌ها: *تعداد اسپرم‌ها در گروه تستوسترون نسبت به گروه‌های کنترل اول و سوم کاهش معنی‌داری داشت ($P\leq ۰/۰۱$). درصد زنده ماندن اسپرم در گروهی که تستوسترون را به تنهایی دریافت کردند، نسبت به دو گروه دیگر کاهش معنی‌داری دیده شد ($P\leq ۰/۰۰۱$). تفاوت معنی‌داری در رابطه با درصد تحرک اسپرم مشاهده نشد. قطر لوله‌های اسپرم ساز و میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه امواج فراصوت تغییر پیدا کرد. در این گروه به دلیل فشردگی بیشتر لوله‌های اسپرم ساز، تعداد سلول‌های بیشتری شمرده شد. ارتفاع اپی تلیوم در گروه تستوسترون کاهش نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد که امواج فرا صوت در جذب تستوسترون تاثیری ندارد و تغییرات بافت‌شناسی ناشی از تابش امواج، بیشتر مکانیکی و یا حرارتی می‌باشد.*

واژگان کلیدی: ***ناباروری، پارامترهای اسپرمی، تستوسترون، امواج فراصوت، لوله‌های اسپرم‌ساز***

مقدمه

با توجه به مساله‌ی انفجار جمعیت که امروزه بسیاری از کشورها درگیر آن می‌باشند، نیاز به یافتن متدهای مطمئن و ایمن ناباروری مردان که جایگزینی برای متدهای ناباروری زنان باشد، احساس می‌شود (۱). در سال‌های اخیر کوشش‌های زیادی در این زمینه انجام گرفته است، اما قابل اعتمادترین روش موجود عقیم کردن مردان از طریق

۱- کارشناس ارشد علوم تشریح، کارشناس گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۲- دکترای تخصصی علوم تشریح، استادیار دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
۳- دکترای تخصصی علوم تشریح، دانشیار دانشگاه تربیت مدرس تهران
٤- کارشناس ارشد علوم تشریح، مربی گروه علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

وازکتومی می‌باشد، امّا عمل جراحی و عوارض بعد از عمل اهمیت این روش را کاهش داده است (۲). از مهم‌ترین روش‌های دیگر که مورد سنجش قرار گرفته است، می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: استفاده از گیاهان داروی از جمله دانه‌های کاریکا پاپایا (Carica Papaya) به‌عنوان یک داروی ناباروری بالقوه شناخته شده که تأثیر زیادی بر موش‌های نر داشته، این تأثیرات قابل برگشت بوده، مسمومیت هم نداشته است. همچنین می‌توان از این دسته، داروی گوسیپول (Gossypol) که یک پلی‌فنل است و از دانه، ریشه و ساقه‌ی گیاه پنبه گرفته شده است، نام برد (۴ و۳). روش‌های هورمونی نیز مثل استفاده از آنتاگونیست هورمون‌های گنادوتروپین دارای تاثیرات متفاوتی است. بعضی‌ها معتقدند که این آنتاگونیست‌ها به تنهایی یا به همراه آندروژن‌ها نمی‌توانند یک آزواسپرمی متحدالشکل و طولانی‌مدت ایجاد کنند، اما به طور مؤثری وظایف بیضه را کاهش می‌دهند. به همین ترتیب بیان شده است که استفاده از آن‌ها برای تنظیم باروری، نیازمند همراهی آندروژن‌ها است، تا کاهش سطح تستوسترون سرم را جبران کند (۵). در همین راستا آنوات و همکاران به ارزیابی تاثیرات لونورژسترل و تستوسترون با هم پرداخته، نتیجه گرفتند که اگر چه استفاده توام از این دو، کارایی بیشتری نسبت به تستوسترون به تنهایی داشته، سطح آزواسپرمی را از۳۳ به ۶۶ درصد افزایش می‌دهد اما باعث افزایش وزن و کلسترول شده به عبارت دیگر اثرات جانبی به جا می‌گذارد (٦). در بررسی سایر مطالعات مشابه نیز مشخص گردید که در مورد استفاده تستوسترون به تنهایی و یا همراه با سایر هومون‌ها اتفاق نظری وجود ندارد. امروزه از امواج فرا صوت در زمینه‌های مختلف استفاده می‌شود. این امواج در زمینه‌ی نمایش ساختمان‌های درونی بدن کاربرد وسیعی دارند. شواهد نشان می‌دهد که سلول‌هایی که در معرض امواج فراصوت قرار می‌گیرند، دچار تغییرات ساختمانی و غشایی شده، این تغییرات شامل تغییر در نفوذپذیری غشا به یون‌های پتاسیم و کلسیم و تغییرات سطحی سلول است. مطالعات میکروسکوپ الکترونی وجود سوراخ‌هایی در حد میکرومتر و اختلال موضعی غشای سلولی در اثر آسیب حرارتی یا وقایع حفره‌دار شدن (Cavitation) بعد از تابش امواج فرا صوت را نشان می‌دهد (۷). لئوسی و همکاران در مطالعه‌ی خود نشان دادند که استفاده از این امواج می‌تواند باعث کاهش اندازه‌ی بیضه و کیفیت مایع منی در سگ‌ها گردد ولی اثبات آن را منوط به مطالعات بیشتر دانستند (۸). به‌همین ترتیب کوتزلر و همکارش یکی از روش‌های کنترل جمعیت سگ‌ها و گربه‌های ولگرد را استفاده از این امواج می‌دانست (۹). بررسی‌های دیگر نشان می‌دهند که در بسیاری از موارد امواج فراصوت توانایی بالایی در افزایش اثر داروهای مختلف دارند (۷). با توجه به مطالعات صورت گرفته در مورد اثرات مجزای تستوسترون و امواج فراصوت بر روی ناباروری که به پاره‌ای از آن‌ها در بالا اشاره شد، در این مطالعه بر آن شدیم که به بررسی تاثیرات استفاده توام تستوسترون و امواج فراصوت بر ناباروری موش‌های نر بپردازیم و اینکه آیا امواج فرا صوت قادرند میزان جذب تستوسترون را افزایش داده، تاثیرات آن را در جهت ناباروری تقویت و تسریع کند.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی تعداد ۲۸ موش سوری نژاد Bulb-c با سن ٤تا۸ هفته انتخاب گردید. حیوانات در طول مطالعه دسترسی کافی به آب و غذا داشته، سیکل نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای آن‌ها تامین گردید. در این تحقیق تستوسترون انانتات به روش داخل صفاقی هفته‌ای یک‌بار و به میزان ۲۵ میلی‌گرم در هر موش و به‌مدت ۶ هفته تزریق شد. در این تحقیق از دستگاه ٤۹۲- سونوپالس ساخت شرکت ENRAF کشور هلند، استفاده شد. برای نفوذ امواج از ژل مخصوص دستگاه سونوتراپی استفاده شد. فرکانس

استفاده شده ۳/۱ مگاهرتز به‌صورت پیوسته بود و تابش با توان ۰/۰۱ ± ۰/۵ وات بر سانتی‌متر مربع توسط یک اپلیکاتور (Transducer) الکترونیکی با قطر ۱ سانتی‌متر با مدل ۹۱۱ـ۱٤٥٨ انجام شد. موش‌ها در یک لیوان که کف آن باز شده بود قرار داده شدند، در حالی که بیضه‌ی آن‌ها در کف لیوان در معرض تابش قرار می‌گرفت و به این صورت کنترل (Handling) موش‌ها راحت انجام شد. زمان تابش امواج ۲ دقیقه بود و تابش امواج به صورت هفتگی و یک روز بعد از تزریق هورمون تستوسترون بود. همچنین گروهی هم به صورت هفتگی بدون تزریق هورمون تستوسترون تحت تابش قرار گرفتند. به دلیل کوچک بودن بیضه‌ی موش‌ها، هر دو بیضه تحت تابش قرار می‌گرفتند، ولی بیضه‌ی چپ آن‌ها جهت نمونه‌گیری انتخاب شد. بعد از بی‌هوش کردن حیوانات، اسپرم‌ها از بخش اپیدیدیم تهیه شدند. اپیدیدیم درون قطراتی از محیط کشت PBS (یک سی‌سی) که قبلاً در انکوباتور به تعادل رسیده بود، گذاشته شده، برش‌های کوچکی در آن ایجاد شد تا اسپرم‌ها بیرون بیایند. بعد از آن مدت ۰/۵ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن قرار داده شده تا اسپرم‌ها ظرفیت‌پذیر شوند (۱۰). پارامترهای اسپرمی تعداد، تحرک و زنده بودن اسپرم ها به شکل زیر مورد مطالعه قرار گرفتند. قدرت زنده ماندن (Viability): برای شناسائی اسپرم های زنده متحرک و غیر متحرک از اسپرم‌های مرده، از رنگ آمیزی فوق حیاتی (Supra Vital Staining) استفاده شد (۱۱). تحرک (Motility) و درجه‌بندی تحرک اسپرم‌ها (Motility Grade) با قرار دادن یک قطره‌ی کوچک از نمونه روی لام و گذاشتن لامل و مشاهده با درشت‌نمایی ٤۰۰ میسر گردید. برای تعیین درصد تحرک ابتدا درصد اسپرم‌های متحرک را در چند میدان میکروسکوپ تخمین زده، سپس میانگین آن‌ها به عنوان درصد تحرک ثبت گردید. برای تعیین سرعت تحرک اسپرم ها نیز چند میدان میکروسکوپی را مشاهده کرده، سپس با استفاده از درجات قراردادی بین ۱ تا ٤، سرعت حرکت اسپرم‌ها با اساس نمره‌ای از ۱۰۰ مشخص شد.

درجه‌ی I (نمره‌ی از ۰ تا ۲۵): اسپرم‌ها درجا حرکت نموده، به سمت جلو پیش نمی‌روند.

درجه‌ی II (نمره‌ی از ۲۵ تا ۵۰): حرکت اسپرم‌ها به طرف جلو است اما این حرکت با سرگردانی و پیچ و خم زیاد همراه است و حرکت دم اسپرم حرکت دم ماهی ساکن را در ذهن تصور می‌کند.

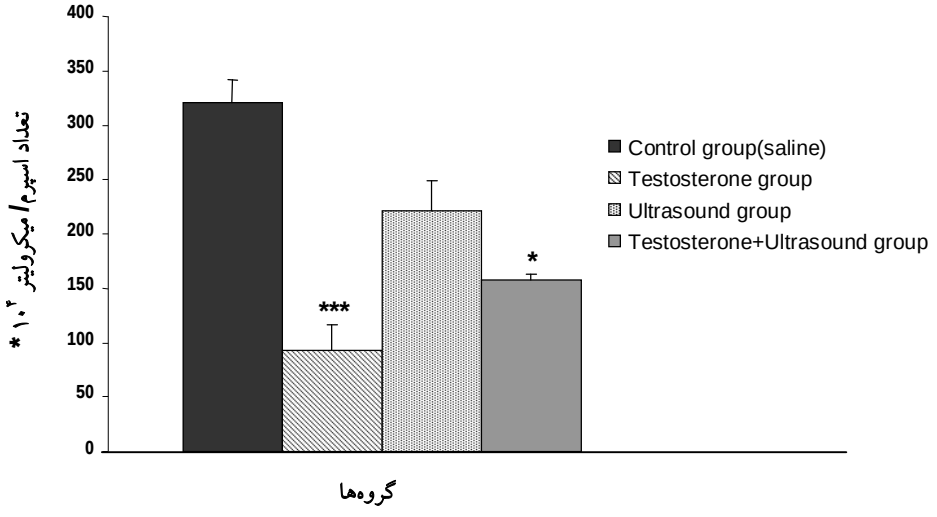
درجه‌ی III (نمره‌ی از ۵۰ تا ۷۵): حرکت اسپرم ها روی یک خط مستقیم و با سرعت متوسط است.

درجه‌ی IV (نمره‌ی از ۷۵ تا ۱۰۰): حرکت اسپرم‌ها روی یک خط مستقیم بوده، سرعت به حدی است که حرکت دم دیده نمی‌شود. برای مطالعه‌ی تعداد اسپرم، دم اپیدیدیم موش‌ها را جدا کرده، در ۱ میلی‌لیتر حجم محلول PBS گذاشته، با قیچی آن‌ها را خرد کرده تا اسپرم درون آن‌ها بیرون بیاید. از هموسیتومتر نئوبائور (Neubaver Hemocytometer) برای شمردن اسپرم‌ها استفاده شد (۱۰). سپس قطره‌ای از این محلول زیر میکروسکوپ قرار داده شد و با بزرگنمایی× ٤۰۰، اسپرم‌ها شمارش شده، در ضریب 10^6 ضرب شد. عدد به‌دست آمده، میزان اسپرم‌ها به صورت تقریبی در ۱ میلی‌لیتر بود. بعد از شمارش اسپرم‌ها در مربع‌ها تعداد آن‌ها در ۱ میلی‌لیتر حجم نمونه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد: $n= a\times5\times b\times10000$ در این فرمول n= تعداد اسپرم در ۱ میلی‌لیتر حجم نمونه، a= تعداد اسپرم‌ها در ۵ مربع $(1\alpha - 1\lambda)$، ۵= عدد ثابت برای به‌دست آوردن تعداد اسپرم‌ها در کل مربع شماره‌ی ۱، b= فاکتور رقت و ۱۰۰۰۰= حاصل تقسیم ۱ میلی‌لیتر (۱۰۰۰ میکرولیتر) بر ۰/۱ میکرولیتر حجم مربع شماره‌ی ۱، به‌دست آمد. از بیضه‌ها مقاطع بافتی تهیه شده، بعد از رنگ آمیزی با روش هماتوکسیلین- ائوزین اپی تلیوم مجاری منی‌ساز

مورد ارزیابی بافت شناسی قرار گرفت. در گروه کنترل سالین هم حجم تستوسترون دریافت شد. در گروه آزمایش اول تنها تستوسترون به میزان ۲۵ میلی‌گرم دریافت گردید (Tes). در گروه آزمایش دوم سالین هم حجم تستوسترون و امواج فراصوت به میزان ۰/۵ وات بر سانتی‌متر مربع دریافت گردید (Ult). در گروه آزمایش سوم تستوسترون به میزان ۲۵ میلی‌گرم و امواج فرا صوت به میزان ۰/۵ وات بر سانتی‌متر مربع دریافت گردید (Tes+Ult). به منظور بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف بین داده‌ها آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و به دنبال آن، آزمون Tukey-Kramer انجام شد. نتایجی که دارای ارزش P کوچکتر یا مساوی با ۰/۰۵ بود، به عنوان نتایج معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین تعداد اسپرم در گروه کنترل $۳/۲\times۱۰^{۶}$، در گروه آزمون Tes $۰/۹\times۱۰^{۶}$، در گروه آزمون Ult $۲/۲\times۱۰^{۶}$، در گروه آزمون Tes+Ult $۱/۵\times۱۰^{۶}$ اسپرم در میلی‌لیتر بود. نتایج آنالیز واریانس تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و (Tes) و گروه‌های Tes و Ult را نشان داد (به‌ترتیب با $P \leq ۰/۰۰۱$ و $P \leq ۰/۰۵$). میانگین تعداد اسپرم بین گروهی که تستوسترون دریافت کردند با گروهی که امواج فراصوت دریافت کردند، تفاوت معنی‌داری داشت و کاهش میانگین تعداد اسپرم به زیر حد نرمال در گروهی که تستوسترون دریافت کرده است، دیده شد. ولی بین گروهی که امواج فراصوت و دارو را با هم دریافت کردند با گروهی که دارو به تنهایی دریافت کرده بودند، تفاوت معنی‌داری دیده نشد (نمودار ۱).



نمودار ۱: بررسی تغییرات تعداد اسپرم‌ها بعد از در معرض قرار گرفتن موش‌ها با تستوسترون، امواج فرا صوت و یا ترکیب از هر دو و مقایسه با گروه کنترل. *بیانگر $P \leq ۰/۰۵$ و بیانگر $P \leq ۰/۰۰۱$ می‌باشد. مقادیر نشان‌دهنده‌ی میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.***

با توجه به جدول ۱، میانگین درصد زنده ماندن اسپرم در گروه آزمون Tes، ٤٧ درصد، در گروه آزمون Ult، ۵۸ درصد و در گروه آزمون Tes+Ult، ٦٤ درصد بود. نتایج آنالیز واریانس بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نشان داد و آزمون مقایسات چندگانه‌ی Tukey نشان داد که بین گروه Tes و Ult با $P = ۰/۰۳۱$ و گروه Tes و Tes+Ult با $P = ۰/۰۰٤$

تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج حاصل از جدول ۱، نشان داد که درصد زنده ماندن اسپرم در گروهی که تستوسترون به تنهایی دریافت کردند، نسبت به دو گروه آزمایش دیگر تفاوت داشت و درصد زنده ماندن اسپرم کاهش یافته است. با توجه به جدول ۱، میانگین درصد تحرک اسپرم در گروه Tes، ۶۳/۷۰ درصد، در گروه آزمون Ult، ٦٤/٧٦ درصد و در گروه آزمون Tes+Ult، ۶۳/۲٦ درصد بود. نتایج آنالیز واریانس بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P = ۰/۲٦۵). نتایج حاصل از جدول ۱، نشان داد که درصد تحرک اسپرم هیچ تغییری نداشته است (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه‌ی تأثیرات همراهی امواج فراصوت با تزریق تستوسترون به مدت ٦ هفته بر درصد زنده ماندن و تحرک اسپرم

ردیف	گروه	درصد زنده ماندن اسپرم(%) (میانگین ± انحراف معیار)	درصد تحرک اسپرم (%) (میانگین ± انحراف معیار)
۱	کنترل	۵۸ ± ۱/۷۳	٦٤/۳۱ ± ۱/۳۰۸
۲	آزمایش Tes	**a** ٤۷ ± ۲/٦۰	۶۳/۷۰ ± ۱/۹۵۹
۳	آزمایش Ult	۵۸ ± ۲/٦۰	٦٤/۷٦ ± ۲/٤۳۱
٤	آزمایش Tes+Ult	٦٤ ± ۰/۸۸	۶۳/۲٦ ± ۲/۹۷

آزمون Tes: گروهی که ٦ هفته تستوسترون با دوز mg/mouse ۲۵ دریافت کردند. آزمون Ult: گروهی که ٦ هفته امواج فراصوت با دوز w/cm^2 ۰/۵ به مدت ۲ دقیقه، هفتگی دریافت کردند. آزمون Tes+Ult: گروهی ٦ هفته امواج فراصوت با دوز w/cm^2 ۰/۵ به مدت ۲ دقیقه همراه با تستوسترون با دوز mg/mouse ۲۵، هفتگی دریافت کردند. a : تفاوت معنی‌دار گروه آزمایش Tes با سه گروه دیگر (تنها تفاوت مشاهده شده)

نتایج حاصل از مطالعات بافت‌شناسی نیز بعضی از تفاوت‌های معنی‌دار را بین گروه‌ها نشان داد. قطر لوله‌های منی‌ساز در گروهی که امواج فراصوت به تنهایی دریافت کرده بود با بقیه‌ی گروه‌ها تفاوت داشت. ارتفاع اپی تلیوم در گروهی که تستوسترون دریافت کرده بود، نسبت به گروهی که فقط امواج فراصوت دریافت کرده بود کاهش نشان داده، ولی ارتفاع اپی‌تلیوم بین گروهی که تستوسترون دریافت کرده بود با گروهی که تستوسترون به همراه امواج فراصوت دریافت کرده بود، دارای تفاوت معنی‌داری نبود. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی بین گروهی که امواج فراصوت به تنهایی دریافت کرده بودند با دو گروه دیگر که دارو یا دارو به همراه امواج فراصوت دریافت کرده بودند، تفاوت معنی‌داری داشت. در گروهی که امواج فراصوت را به تنهایی دریافت کرده بود، لوله‌های منی‌ساز به هم نزدیک شده بود، بنابراین در واحد سطح تعداد سلول‌های بیشتری شمرده شد.

بحث

در تحقیق حاضر تأثیرات همراهی تستوسترون با تابش امواج فراصوت بر موش سوری نژاد Bulb-C مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تعداد و درصد زنده ماندن اسپرم‌ها، در گروهی که ٦ هفته تستوسترون با دوز ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر موش دریافت کرده بودند، کاهش یافته، اما درصد تحرک اسپرم در این گروه تغییری نداشت (شکل و جدول ۱). همچنین با اندازه‌گیری‌های مشخصات مورفومتریک در بافت بیضه موش‌هایی که ٦ هفته تستوسترون با همین دوز دریافت کرده، مشخص شد که ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز و همچنین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتیدگرد نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت. این کاهش بیشتر در مورد سلول‌های اسپرماتوسیت و اسپرماتید گرد دیده شد و سلول‌های اسپرماتوگونی کاهش کمتری نشان دادند. اطلاعات بالا

تأثیرگذاری تستوسترون بر کاهش تعداد اسپرم را نشان داد. سازمان جهانی بهداشت گزارش داد که تستوسترون انانتات می‌تواند در مردان آزواسپرمی و الیگواسپرمی شدید ایجاد کند و باروری را به نسبت ۸ به ۱ کاهش دهد. تستوسترون تحت تأثیر هورمون لوتئینی (LH) که از غده‌ی هیپوفیز ترشح می‌شود، در سلول‌های لیدیک بیضه ساخته می‌شود. تستوسترون با عمل مستقیم بر هیپوفیز قدامی و همچنین با مهار ترشح هورمون‌های آزادکننده‌ی گنادوتروپین (GnRH) از هیپوتالاموس ترشح هورمون لوتئینی (LH) را مهار می‌کند و غلظت پلاسمایی هورمون لوتئینی را کاهش می‌دهد، ولی روی غلظت پلاسمایی هورمون محرک فولیکولی (FSH) اثر زیادی ندارد. مقداری از تستوسترون ترشح شده از سلول‌های لیدیک، اپی تلیوم لوله‌های منی‌ساز را احاطه می‌کند و غلظت بالای آندروژن را که برای اسپرم‌سازی طبیعی لازم است در سلول‌های سرتولی ایجاد می‌کند. تزریق تستوسترون به بدن غلظت آندروژن‌ها را در بیضه تا این حد بالا نمی‌برد، ولی ترشح هورمون لوتئینی را مهار می‌کند. در نتیجه اثر تزریق تستوسترون بر بدن عموماً کاهش تعداد اسپرماتوزوئیدها است (۱۲). اسپرم سازی نرمال به فعالیت محور هیپوفیز ـ هیپوتالاموسی ـ بیضه ای (HPT – Axis) وابسته است. که این باعث درگیری فعالیت اندوکرین گنادوتروپین‌ها و همچنین مکانیسم‌های فیدبکی پروتئین‌ها و استروییدها و تغییرات پاراکرین و اتوکرین می‌شود (۱۳). از آنجایی که مصرف تستوسترون به تنهایی جهت متوقف کردن تولید اسپرم به طور کامل مردود شناخته شده است. از این جهت ترکیباتی که گنادوتروپین‌های هیپوفیز را مهار می‌کنند، مثل آنالوگ‌های هورمون‌های آزاد کننده‌ی گنادوتروپین و پروژستین‌ها (Progestins) مورد توجه قرار گرفته که آیا به همراه تستوسترون کارایی ناباروری تستوسترون را بالا می‌برند یا خیر؟ در سال ۱۹۹٤ کامینگز و برمند گزارش دادند که مصرف گسترده آگونیست‌های هورمون‌های آزادکننده‌ی گنادوتروپین به همراه تستوسترون نتیجه‌ی مایوس کننده‌ای داشته است (۱٤). اما تحقیقات در مورد مصرف آنتاگونیست‌های هورمون‌های آزادکننده‌ی گنادوتروپین به عنوان رژیم‌های ناباروری امید بخش بوده است. آنتاگونیست‌های هورمون‌های آزادکننده گنادوتروپین به طور قوی تولید FSH و LH را ساعت‌ها بعد از مصرف متوقف می‌کنند و اثر مهاری آن‌ها روی مهار ترشح گنادوتروپین‌ها بیشتر از آن چیزی است که آگونیست‌های هورمون‌های آزادکننده‌ی گنادوتروپین انجام می‌دهند. اخیراً آنتاگونیست‌های جدید هورمون‌های آزادکننده‌ی گنادوتروپین مثل Cetrorelix و Acyline مورد توجه قرار گرفته‌اند.

در تحقیق حاضر به عنوان مدل جدید برای ایجاد آزواسپرمی، اثرات همراهی امواج فراصوت و تستوسترون بررسی شد. بعد از کشف توانایی امواج فراصوت در نمایش ساختمان‌های داخل بدن و استفاده‌ی وسیع آن در امور پزشکی دانشمندان به تحقیق پیرامون آثار بیولوژیکی این امواج مکانیکی پرداختند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که در بسیاری از موارد امواج فراصوت توانایی بالایی در افزایش اثر داروهای مختلف دارند ولی استفاده از این امواج هنوز به طور بالینی معمول نشده است و انجام بررسی‌های آزمایشگاهی برای رسیدن به شرایط مناسب و نتایج قابل قبول ضروری است (۷). در این مطالعه سه گروه از موش‌ها که به ترتیب امواج فراصوت را به همراه تزریق تستوسترون، امواج فراصوت یا تستوسترون به تنهایی دریافت کرده بودند، مقایسه شدند. نتایج مندرج در نمودار ۱ نشان می‌دهد که تجویز تستوسترون باعث عدم حیات بیش از ۵۰ درصد اسپرم‌ها شده است. اما با همراه کردن امواج فراصوت، بیشترین میزان درصد زنده ماندن اسپرم در میان گروه‌ها حاصل شده است (٦٤ درصد) که احتمالاً امواج فراصوت شرایطی را فراهم آورده‌اند که از مرگ تعداد زیادی اسپرم جلوگیری شده است. شاید دلیل این که اثرات مکانیکی امواج فراصوت باعث نزدیکی لوله‌های منی‌ساز به هم شده است،

تفاوت در واحد سطح بوده که سبب شده است تا تعداد سلول‌های بیشتری شمرده شوند. تفاوت ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز در گروهی که تستوسترون دریافت کرده بودند و یا تستوسترون را همراه با تابش امواج فراصوت دریافت کرده بودند، تاییدی بر تاثیرات تستوسترون بود. از نظر درصد تحرک اسپرم تفاوت معنی‌داری بین گروهی که امواج فراصوت به همراه تستوسترون دریافت می‌کردند با گروهی که تستوسترون به تنهایی دریافت کرده بودند، مشاهده نشد. آزمایشات کلینیکی با مصرف خوراکی یا زیرجلدی تستوسترون به عنوان داروی هورمونی ناباروری مردانه تاکنون از کاهش اسپرم سازی برای ایجاد آزواسپرمی در گروه زیادی از مردان، ناتوان مانده است. به استثنای کاشت‌های تستوسترون فقط تستوسترون اندکانیات تزریقی دارای نیمه عمر مناسبی است تا به عنوان تزریق با فواصل طولانی پذیرفته شود و در نتیجه مقبولیت و پذیرش طولانی‌تری داشته باشد. از لحاظ کارایی پروژستین‌ها، نورتیسترون و دزوژسترل و DMPA همراه با کاشت‌های تستوسترون و استرهای قابل تزریق طولانی اثر در بعضی ارزیابی‌های کلینیکی کارآمد معرفی شده‌اند. بیشترین امیدواری از لحاظ پذیرش عمومی، همراهی دو دارو در یک شیوه‌ی استفاده است. در فواید بالقوه‌ی روش‌های دارویی ناباروری موثر مردانه و زنانه اثرات جانبی دارویی را نباید فراموش کرد. برای ناباروری هورمونی مردانه تاثیرات طولانی مدت آندروژن‌ها روی پروستات و تنظیم هماتوکریت نیازمند ارزیابی است (۱۶و ۱۵). همچنین با توجه به وضعیت زنان بیشتر پروژستین‌ها سطح کلسترول (HDL) و لیپوپروتئین را کاهش داده، در دراز مدت بر روی سیستم قلبی ـ عروقی تأثیر می‌گذارد (۱۶). علاوه بر ارزیابی‌های سیستمیک این اثرات جانبی، در مطالعات طولانی مدت نیازمند گسترش سیستم مصرف شخصی هستیم، همچنین طول مدت درمانی که برای ایجاد کارایی لازم است، باید کاهش یابد. که این با تولید و تهیه نسل‌های دوم دارویی برای ایجاد ناباروری و یا ترکیب این تولید ایجاد می‌شود. چشم انداز طولانی مدت در ایجاد ناباروری مردانه گسترش تعدیل کننده‌های انتخابی رسپتورهای آندروژنی است، که کاهش خوبی در اسپرم سازی نشان می‌دهند و همچنین تغییرات کوچک و مفیدی در متابولیسم چربی‌ها و سیستم هماتوکریت ایجاد می‌کنند. در گروهی که تزریق تستوسترون همراه با تابش امواج فراصوت دریافت کردند، تغییرات ایجاد شده در مقایسه با گروهی که فقط تستوسترون دریافت کرده بودند یکسان بود. به نظر می‌رسد که تأثیرات امواج فراصوت بیشتر تأثیرات مکانیکی و گرمایی بوده است. اثرات مکانیکی امواج فراصوت تغییراتی در ساختمان لوله‌های منی‌ساز ایجاد کرده بود که باعث نزدیکی لوله‌های منی‌ساز به هم شده، تا حدودی تخریب در غشای پایه‌ی احاطه کننده‌ی لوله‌های منی‌ساز را ایجاد کرده بود (۷).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که امواج فرا صوت در جذب تستوسترون تاثیرچندانی نداشته است. به نظر می‌رسد که تغییرات بافت‌شناسی ناشی از تابش امواج بیشتر مکانیکی و یا حرارتی باشد. اگر چه موضع و روش تاباندن اشعه بایستی در مطالعات بعدی تغییر یابد و سپس مورد ارزیابی قرار گیرد.

References

1- Sjögren B, Gottlieb C. Testosterone for male contraception during one year: attitude, well-being and quality of sex life. *Contraception*. 2001; 64: 59-65.

2- Comhaire FH. Male contraception: hormonal, mechanical and other. *Hum Reprod*. 1994; 9: 586-90.

3- Lohiya NK, Pathak N, Mishra PK, Manivannan B. Reversible contraception with chloroform extract of Carica papaya Linn. Seeds in male rabbits. *Reprod Toxicol*. 1999; 13: 59-66.

4- Coutinho EM, Athayde C, Atta G, Gu ZP, Chen ZW, Sang GW et al: Gossypol blood levels and inhibition of spermatogenesis in men taking gossypol as a contraceptive. A multicenter, international, dose-finding study. *Contraception*. 2000; 61: 61-7.

5- Pavlou SN, Brewer K, Farley MG, et al. Combined administration of a gonadotropin-releasing hormone antagonist and testosterone in men induces reversible azoospermia without loss of libido. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 73: 1360-9.

6- Anawalt BD, Bebb RA, Bremner WJ, Matsumoto AM. A lower dosage levonorgestrel and testosterone combination effectively suppresses spermatogenesis and circulating gonadotropin levels with fewer metabolic effects than higher dosage combinations. *J Androl*. 1999; 20: 407-14.

7- Garaj-Vrhovac V, Kopjar N, Besendorfer V, Papes D. Induction of micronuclei in human lymphocytes after occupational exposure to ultrasound. *Chemosphere*. 1999; 38: 3541-53.

8- Leoci R, Aiudi G, De Sandro Salvati A, Silvestre F, Binetti F, Lacalandra GM. Ultrasound as a mechanical method for male dog contraception. *Reprod Domest Anim*. 2009; 44: 326-8.

9- Kutzler M, Wood A. Non-surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology*. 2006; 66: 514-25.

10- Alavi SH, Taghavi MM, Moallem SA. Evaluation of effects of methamphetamine repeated dosing on proliferation and apoptosis of rat germ cells. *Sys Biol Reprod Med*. 2008; 54: 85-91.

11- Li H, Chen Q, Li S, et al. Effect of Cr (VI) exposure on sperm quality: human and animal studies. *Ann Occup Hyg*. 2001; 45: 505-11.

12- Mendis-Handagama SM, Ariyaratne HB. Differentiation of the adult Leydig cell population in the postnatal testis. *Biol Reprod*. 2001 ; 65: 660-71. Review.

13- Meriggiola MC, Bremner WJ, Constantino A, Pavani A, Capelli M, Flamigni C. An oral regimen of cyproterone acetate and testosterone undecanoate for spermatogenic suppression in men. *Fertil Steril*. 1997; 68: 844-50.

14- Cummings DE, Bremner WJ. Prospects for new hormonal male contraceptive. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1994; 23: 863-922.

15- Liu PY, Death AK, Handelsman DJ. Androgens and cardiovascular disease. *Endocr Rev*. 2003; 24: 313-40.

16- Zitzmann M, Junker R, Kamischke A. Nieschlag E. Contraceptive steroids influence the hemostatic activation state in healthy men. *J Androl*. 2002; 23: 503-11.

Evaluation of the Testosterone Administration Accompaning with Sonotherapy on the Number and Function of Sperms in Mature Male Mice

Morteza Zadeh F[1], Taghavi MM[2], Movahhedein M[3], Jafari Naveh H[2]

[1]Dept. of Anatomy, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

[2]Dept. of Anatomy, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

[3]Dept. of Anatomy, School of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Correspondence Author: Morteza Zadeh F, Dept. of Anatomy, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

E-mail: fmmorteza@gmail.com

Received: 22 Nov 2009 **Accepted:** 26 Apr 2010

Background and Objective: Efforts to develop new methods for a safe male contraceptive have been made during recent decades, but the most reliable method is still sterilization by vasectomy. In this experimental study, effects of administration of testosterone in combination with ultrasound on contraceptive male mice were studied.

Materials and Methods: 28 mature male mice were randomly divided into the following groups: normal group, testosterone group, ultrasound group and testosterone-ultrasound group. Animals were injected with or exposed to normal saline, testosterone enanthate, ultrasound and testosterone enanthate in combination with ultrasound respectively for 6 weeks. After this period, viability, motility rate and number of sperms were assessed. The morphometric parameters such as tubular diameter were also studied.

Results: In the testosterone group, the number of sperms decreased significantly in comparison to the 1st and the 3rd groups ($P \leq 0.01$). The percentage of sperm viability was significantly decreased in the testosterone group comparing to other two groups ($P \leq 0.001$). In concern to the percentage of sperm motility, a significance difference was not observed.

The diameter of seminiferous tubules and the number of spermatogonia were changed in ultrasound group. In this group, the compacted seminiferous tubules were seen, so the number of counted cells was increased. In the testosterone group, the epithelium height decreased significantly.

Conclusion: It seems that the ultrasound did not have effect on the absorption of testosterone and the histological changes resulting from ultrasound may be mechanical and thermal.

Keywords: Contraceptive, Sperm parameters, Testosterone, Ultrasound waves, Seminiferous tubules