● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ پانزدهم، شمارهٔ ۱، ص ۶۹-۶۱، ۱۳۸۶

مقالهٔ پژوهشی

# تعیین اثرات مت‌آمفتامین بر خصوصیات اسپرم موش صحرایی بالغ

محمدمحسن تقوی*[۱]، دکتر سیدحسن علوی[۲]، دکتر سیدعادل معلم[۳]، دکتر عبدالرضا وارسته[۴]

**خلاصه**

**مقدمه:** مت‌آمفتامین یک داروی محرک سیستم عصبی مرکزی می‌باشد، اما این دارو به طور فزاینده‌ای به شکل قرص‌های روان گردان توسط جوانان و نوجوانان یعنی گروهی که در سن تولید مثل می باشند، مورد سوءمصرف قرار می‌گیرد. این موضوع به صورت یک معضل اجتماعی درآمده است. در این مطالعه تجربی، اثرات مت‌آمفتامین بر روی خصوصیات اسپرم موش‌های صحرایی بالغ ارزیابی شده است.

**روش:** مت‌آمفتامین یا سالین به صورت داخل صفاقی در سه تجربه زیر تزریق گردید. در تجربه اول ۲۴ موش صحرایی بالغ نر برای یک بار تحت تزریق دارو به میزان ۱۰mg/kg قرار گرفته و اسپرم‌ها از ناحیه دم اپیدیدیم ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت (در هر زمان ۴ موش) بعد از تزریق نمونه‌برداری شدند. به۶ موش سالین تزریق شد و به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. در تجربه دوم، به چهار گروه چهارتایی از موش‌ها به ترتیب سه دوز مت‌آمفتامین (۱۵mg/kg، ۱۰، ۵) و سالین تجویز شد و ۲۴ ساعت بعد مورد ارزیابی قرار گرفتند. در تجربه سوم، ۱۶ موش به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند و به مدت ۱۴ روز هر روز یک بار ( دوره اسپرم‌سازی) تحت تزریق دارو (۱۰mg/kg و۵، ۱ مت‌آمفتامین و کنترل) یا سالین قرار گرفتند و ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، اسپرم‌ها نمونه‌برداری شدند. تحرک، تعداد و مورفولوژی اسپرم‌های نمونه‌برداری شده مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق همچنین وزن بدن و بیضه‌ها در پایان هر سه تجربه اندازه گرفته شد و از نسبت وزن بیضه به وزن بدن به عنوان یک ایندکس در پایان هر تجربه استفاده شد.

**نتایج:** در ساعات ۲۴ و ۴۸ بعد از یک بار تزریق ۱۰mg/kg مت‌آمفتامین تعداد اسپرم‌ها کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل داشتند (به ترتیب P≤۰/۰۰۱، P≤۰/۰۵). در تجربه دوم، تعداد اسپرم‌ها برای هر سه دوز مت‌آمفتامین با P≤۰/۰۰۱ برای دو دوز بالا و P≤۰/۰۵ برای دوز پایین، کاهش معنی‌داری داشت. نتایج تجربه سوم مشابه بود اما کاهش تعداد اسپرم‌ها در این تجربه شدیدتر از تجربه دوم بود. مت‌آمفتامین نسبت وزن بیضه به وزن بدن را در تجربه اول و دوم تغییر نداد، اما دارو ایندکس فوق را در موش‌های تجربه سوم که روزانه دوزهای ۱۰ mg/kg و ۵ دارو دریافت کرده بودند به صورت معنی‌داری کاهش داد. اختلاف معنی‌داری در رابطه با مورفولوژی و تحرک اسپرم‌ها بین گروه‌های آزمایش و کنترل مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد که مصرف مکرر و دوزهای بالای داروی مت‌آمفتامین ممکن است باعث کاهش تعداد اسپرم‌های بالغ موجود در دم اپیدیدیم شود و اثرات منفی روی قدرت تولید مثل افراد معتاد داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی:** مت‌آمفتامین، خصوصیات اسپرم بالغ (sperm parameters)، اپیدیدیم، موش صحرایی بالغ

۱- مربی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان و دانشجوی دورهٔ دکترای علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد ۲- استادیار گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- استادیار گروه فارماکودینامی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد ۴- دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد ● **آدرس پست الکترونیک:** taghavi164@yahoo. com

**دریافت مقاله:** ۱۳۸۶/٤/۱۱ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸۶/۸/۱۸ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۶/۹/۷

**مقدمه**

مت‌آمفتامین یک داروی محرک سیستم عصبی مرکزی می‌باشد اما سوء مصرف آن به صورت یکی از ترکیبات موجود در قرص‌های روان‌گردان در جامعه به خصوص در بین جوانان و نوجوانان یعنی گروهی که در سن تولید مثل می‌باشند رو به افزایش بوده و به صورت یک معضل اجتماعی در آمده است (۱،۲). در مورد اثرات مضر این دارو بر روی دستگاه‌های مختلف فرد بالغ مطالعات زیادی صورت گرفته است (۳). از سال‌ها قبل اثرات تراتوژنیک و سمیتی که این دارو برای جنین دارد، مورد توجه محققین بوده است (۴). Inoue و همکاران به بررسی تکامل قلب جنین‌های موش‌های صحرایی که مادران آنها در دوران بارداری مت‌آمفتامین دریافت کرده بودند پرداخته و نتایج به دست آمده نشان داد دارو باعث آسیب به سلول‌های عضلانی قلب جنین و تکامل غیرطبیعی آن می‌گردد (۵). Smith و همکاران در یک مطالعه گذشته نگر محدودیت پارامترهای رشد نوزادانی که مادران آنها در طول بارداری دارو مصرف کردند را نشان دادند (۶). همچنین در سال‌های مختلف اثرات تراتوژنیک و سمیت جنینی این دارو توسط Yamamoto و همکاران بررسی و به اثبات رسیده است (۷،۸،۹). پژوهش‌هایی که تاکنون در باره اثر این دارو بر روی دستگاه تناسلی نر انجام گرفته است محدود و بیشتر متمرکز بر روی بیضه و اسپرم‌سازی می‌باشد که از آن بین می‌توان به یکی دیگر از کارهای Yamamoto اشاره کرد. وی در ادامه پژوهش‌های خود بر روی این دارو نشان داد که میل و توانایی جفت‌گیری موش‌های نر با تجویز این دارو کاهش می‌یابد و در توجیه این یافته‌ها، گزارش نمود که دارو در دوزهای بالا باعث کاهش تحرک اسپرم‌ها می‌شود (۱۰). همین محقق چند سال بعد با استفاده از تکنیک تانل (TUNEL) القاء مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (آپوپتوزیس) در لوله‌های اسپرم‌ساز موش‌های نر توسط مت‌آمفتامین را گزارش کرد و نقش عواملی مثل تغییر سطح تستوسترون خون را در این مورد عنوان کرده، اما مکانیسم‌های دقیق این فرایند برای وی ناشناخته ماند. در همین مطالعه مشخص شد که سلول‌های اسپرماتوژنیک در مقایسه با نورون‌ها سلول‌های حساس‌تری بوده و به محض مواجهه با دوزهای پایین مت‌آمفتامین، فرایند آپوپتوزیس در آنها افزایش می یابد (۱۱). مطالعات دیگر بر روی اثرات مهاری آمفتامین، داروی دیگری از این خانواده، بر روی تولید تستوسترون توسط سلول‌های بینابینی بیضه را نشان داد. این اثر از طریق افزایش تولید AMP حلقوی، کاهش فعالیت کانال‌های کلسیم و آنزیم‌های مربوط به تولید این هورمون القاء می‌گردد. همچنین مشخص گردید که این دارو با کاهش ترشح گونادوتروپین‌ها مانع از ترشح تستوسترون می‌گردد (۱۲). چندین گزارش موردی در رابطه با اثرات سوء این دارو بر روی دستگاه تولید مثل حیوان نر وجود دارد. برای مثال DubinN یک مورد از Priapism را در یک مرد جوان گزارش کرد (۱۳). اخیراً در مطالعاتی که به ارزیابی اثر مواد مختلف (مثل آفت‌کش‌ها و سموم، داروها و حتی مواد آرایشی) بر روی دستگاه تولید مثل نر می‌پردازند، به غیر از بیضه‌ها، به عنوان عضو اصلی این دستگاه توجه خاصی به اپیدیدیم و نحوه بلوغ اسپرم‌ها در آن می‌گردد چرا که اسپرم‌ها در طول عبور از اپیدیدیم توانایی باروری تخمک و تحرک پیشرونده را کسب می‌کنند و ترشحات جدار این مجرا یک محیط مناسب برای تکامل نهایی اسپرم‌ها ایجاد می‌نماید (۱۴،۱۵). با توجه به فرهنگ حاکم در جامعه ما پسران آزادی اجتماعی بیشتری دارند در نتیجه احتمال سوء مصرف از این دارو در بین آنها بیشتر است. در این مطالعه بر آن شدیم که به بررسی اثرات داروی مت‌آمفتامین بر روی خصوصیات اسپرم (sperm parameters) شامل مورفولوژی، تحرک و تعداد اسپرم‌های موجود در اپیدیدیم موش‌های صحرایی بالغ (مخصوصاً بعد از تجویز طولانی مدت) بپردازیم.

**روش بررسی**

**حیوانات:** در این مطالعه تجربی تعداد ۶۲ سر موش صحرایی بالغ، نر، نژاد آلبینو، ۸-۷ هفته‌ای با وزن

۲۵۰-۲۰۰ گرم از خانه حیوانات پژوهشکده بوعلی مشهد انتخاب گردید. حیوانات در طول مطالعه دسترسی کافی به آب و غذا داشته و سیکل نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی برای آنها تأمین گردید.

**آماده‌سازی محلول مت‌آمفتامین:** مت‌آمفتامین هیدروکلرید خالص با روش یددار کردن نورافیدیرین هیدروکلرید و احیاء به مت‌آمفتامین در گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی مشهد تهیه گردید (۱۶). دارو در غلظت‌های مورد نظر با نرمال‌سالین حل شده و در ساعت مشخص به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد.

**روش اجرا:** سه تجربه به صورت زیر به‌کار گرفته شد:

**تجربه اول:** هدف از این تجربه، بررسی اثرات یک بار تزریق میزان mg/kg ۱۰ دارو بعد از گذشت ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت بود. بدین منظور تعداد ۳۰ موش انتخاب شد و به ۲۴ موش (گروه آزمایش) دارو و به ۶ موش باقی‌مانده (گروه کنترل) سالین تزریق گردید. اندازه‌گیری خصوصیات اسپرم به روش دستی و با کمک تکنیسین‌های با تجربه یکی از آزمایشگاه‌های معتبر سطح شهر انجام شد. به منظور کورسازی مطالعه تکنیسین‌های فوق اطلاعی از گروه‌بندی موش‌ها نداشتند. در ساعات مورد نظر از گروه آزمایش ۴ حیوان و از گروه کنترل ۱ حیوان با تیوپنتان (۳۰ mg/kg) بی‌هوش شده بعد از کوتاه نمودن موهای کیسه بیضه، با یک برش، بیضه و اپیدیدیم نمایان شد. بعد از سوراخ نمودن دم اپیدیدیم و فشار دادن آن، مایع خارج شده جمع‌آوری شد (۱۴). برای مطالعه تحرک اسپرم‌ها، بلافاصله بعد از خارج شدن مایع اپیدیدیم، حجم اندکی از آن در روی لام نئوبار با نرمال‌سالین مخلوط شده و بعد از پوشاندن با لامل در زیر میکروسکوپ مجهز به دوربین Sony SSC از حرکت اسپرم‌ها فیلم‌برداری و عکس‌برداری گردید و در فرصت مناسب با تکرار آنها، حرکت اسپرم‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نتایج مربوطه توسط تکنیسین‌ها به شکل تحرک نرمال و غیرنرمال گزارش گردید (۱۷). با توجه به حساسیت زیاد اسپرم‌ها به تغییرات دما، قبلاً نرمال‌سالین، لام‌ها و لامل‌ها به مدت نیم ساعت در انکوباتور با دمای $37^{\circ}C$ قرار گرفتند. برای تعیین تعداد اسپرم‌ها، مقداری مایع اپیدیدیم با وزن و در نتیجه حجم ثابت برای تمامی حیوانات، برداشته شد. از آنجا که تراکم اسپرم‌ها در این مایع بسیار زیاد می‌باشد و اندک تغییر و اشتباه در مقدار مایع برداشت شده باعث مخدوش شدن نتایج حاصله خواهد شد لذا توزین مایع فوق با استفاده از یک ترازوی بسیار دقیق که تا ده‌هزارم گرم را نشان می‌داد، انجام گردید. قبل از شمارش تعداد اسپرم‌ها به دلیل ویسکوزیته بسیار زیاد مایع اپیدیدیم و تراکم فوق‌العاده زیاد اسپرم‌ها در آن، نمونه‌های مایع جمع‌آوری شده با نرمال‌سالین رقیق و با استفاده از دستگاه هم‌زن به‌صورت یک سوسپانسیون هموژن در آمد و سپس با استفاده از لام نئوبار شمارش اسپرمی صورت گرفت و به منظور اطمینان از نتایج به‌دست آمده هر چهار بخش ۱۶ خانه‌ای موجود در روی لام شمارش شده و میانگین آنها محاسبه گردید و سپس با لحاظ کردن ضریب رقت تعداد اسپرم‌ها برحسب وزن مایع اپیدیدیم نمونه‌برداری شده به‌دست آمد (۱۵). برای مطالعه مورفولوژی اسپرم‌ها از میکروسکوپ تحقیقاتی مدل Olympus و نرم‌افزار کامپیوتری life science و میکروسکوپ الکترونی استفاده شد. به طور خلاصه، برای آماده‌سازی نمونه‌ها جهت مطالعه با میکروسکوپ نوری ۵۰ میکرون از سوسپانسیون فوق در روی لام قرار گرفته و در هوای آزمایشگاه خشک گردید، سپس به مدت ۵ دقیقه با متانول ثابت شد و با ائوزین ۰/۵ درصد رنگ‌آمیزی و در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی‌های مختلف مطالعه گردید. در این مطالعه اسپرم‌ها با توجه به مورفولوژی خود در یکی از دسته‌های زیر قرار می‌گرفتند: سر و دم نرمال، سر ناقص با دم نرمال، سر نرمال با دم ناقص، اسپرم‌های فیوز شده و سر بدون دم (۱۸). برای آماده‌سازی نمونه‌ها جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی، بعد از تمامی مراحل فوق، دم اپیدیدیم به قطعات کوچکی تقسیم شده و برای پردازش مراحل بعدی تحویل بخش میکروسکوپ الکترونی پژوهشکده بوعلی شد و تصاویر به‌دست آمده از گروه‌های مختلف با هم مقایسه گردیدند.

**تجربه دوم:** روش کار مشابه با تجربه اول بود اما این بار اثرات سه غلظت متفاوت دارو ( mg/kg ۱۵و ۱۰، ۵) بعد از ۲۴ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد موش‌ها در هر گروه ۴ سر انتخاب گردید. با احتساب گروه کنترل جمعاً ۱۶ موش مورد ارزیابی قرار گرفت.

**تجربه سوم:** هدف از این تجربه بررسی اثرات تکرار تزریق روزانه دوزهای ۱، ۵ و mg/kg ۱۰ دارو به مدت ۱۴ روز یعنی یک دوره کامل اسپرم‌سازی در موش بود. تعداد موش‌ها مشابه با تجربه دوم بود.

در پایان هر تجربه وزن موش‌ها مشخص گردید و بعد از نمونه‌برداری اسپرم‌ها، بیضه‌ها همراه با پوشش سفید (تونیکا آلبوژینه) از بافت‌های اطراف جدا شده و وزن گردیدند و از نسبت وزن بیضه به وزن بدن به عنوان یک ایندیکس در رابطه با اثرات دارو بر روی بیضه‌ها استفاده شد (۱۱).

## نتایج

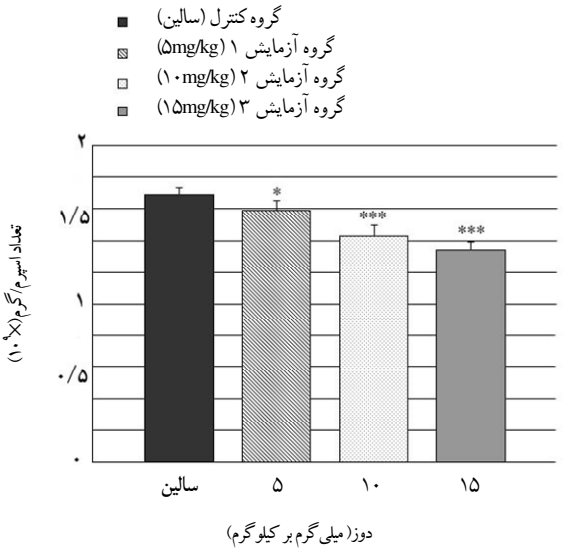
نتایج به‌دست آمده تعداد اسپرم‌ها (برحسب گرم وزن مایع اپیدیدیم) مربوط به سه تجربه در نمودارهای شماره ۱، ۲ و ۳ آورده شده است. همان‌طور که در نمودار ۱ مشخص است تعداد اسپرم‌ها در گروه آزمایش مربوط به تجربه اول در ساعات ۲۴ و ۴۸ بعد از تزریق به ترتیب با P≤ ۰/۰۰۱ و P≤۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل دارد. میانگین تعداد اسپرم‌ها در این دو ساعت در گروه آزمایش به ترتیب $۱/۵ \times ۱۰^{۹}$ و $۱/۶ \times ۱۰^{۹}$ و برای گروه کنترل در هر دو ساعت $۱/۷ \times ۱۰^{۹}$ اسپرم در یک گرم وزن مایع اپیدیدیم بود. قبل و بعد از این ساعات اختلاف معنی‌داری بین دو گروه دیده نشد (نمودار ۱). در نمودار ۲ تعداد اسپرم‌ها برای سه دوز تجویز شده در تجربه دوم آورده شده است و این شاخص در گروه‌های آزمایش کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دارد. برای دوزهای mg/kg ۱۵ و ۱۰، P<۰/۰۰۱ و برای دوز mg/kg۱، P<۰/۰۵ بود. بررسی میانگین تعداد اسپرم‌ها، کاهش وابسته به دوز را نشان داد، به‌طوری که هر چه میزان تزریق دارو بیشتر باشد تعداد اسپرم‌ها کاهش بیشتری نشان دادند (نمودار ۲).

**نمودار ۱:** *بررسی تغییرات تعداد اسپرم‌ها در ساعات مختلف بعد از یک بار تزریق mg/kg۱۰ مت‌آمفتامین در مقایسه با گروه‌های کنترل*

*P≤۰/۰۵ و **P≤۰/۰۰۱

مقادیر نشان‌دهنده mean±SD می‌باشد.

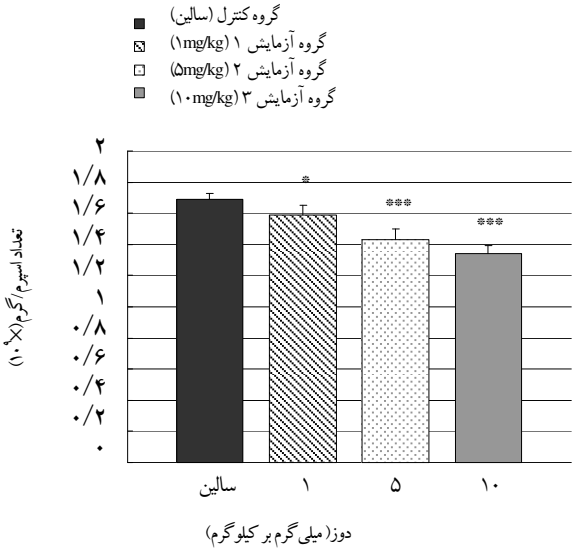
**نمودار ۲:** *بررسی تغییرات تعداد اسپرم‌ها ۲۴ ساعت بعد از یک بار تزریق سه دوز مختلف مت‌آمفتامین در مقایسه با گروه کنترل*




*P≤۰/۰۵ و **P≤۰/۰۰۱

مقادیر نشان‌دهنده mean±SD می‌باشد.

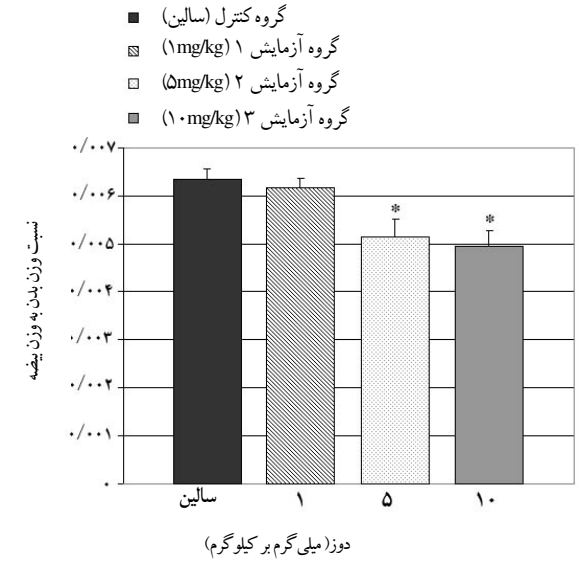
**نمودار ۳:** *بررسی تغییرات تعداد اسپرم‌ها بعد از تزریقات روزانه سه دوز متفاوت مت‌آمفتامین برای یک دوره کامل اسپرم‌سازی (۱۴ روز) در مقایسه با گروه کنترل*




*P≤۰/۰۵ و ***P≤۰/۰۰۱

مقادیر نشان‌دهنده mean±SD می‌باشد.

**نمودار ۴:** *بررسی تغییرات نسبت وزن بیضه به وزن بدن بعد از تزریقات روزانه سه دوز متفاوت دارو برای یک دوره کامل اسپرم‌سازی (۱۴ روز) در مقایسه با گروه کنترل*




*P≤۰/۰۵

مقادیر نشان‌دهنده mean±SD می‌باشد.

نتایج به‌دست آمده در تجربه سوم مشابه با تجربه دوم و با همان تفاوت آماری بود، اما کاهش تعداد اسپرم‌ها در این تجربه در مقایسه با تجربه قبلی شدیدتر بود (نمودار ۳). میانگین اسپرم‌های شمارش شده برای دوزهای mg/kg ۱۵ و ۱۰ تجربه دوم به ترتیب $۱/۴۴\times۱۰^{۹}$ و $۱/۴۷\times۱۰^{۹}$ و برای دوزهای mg/kg ۱۰ و ۵ تجربه سوم $۱/۳۴\times۱۰^{۹}$ و $۱/۴۲\times۱۰^{۹}$ اسپرم بود. نسبت وزن بدن به وزن بیضه‌ها در تجربه اول و دوم تغییرات معنی‌داری پیدا نکرد، اما در تجربه سوم برای دو دوز بالا کاهش معناداری داشت، به‌طوری که این نسبت از میزان ۰/۰۰۶۴ در گروه کنترل به میزان ۰/۰۰۴۹ برای دوز mg/kg ۱۰ و ۰/۰۰۵۱ برای دوز ۵mg/kg کاهش داشت (نمودار ۴).

در ارزیابی مورفولوژی اسپرم‌های موش‌های هر سه تجربه با استفاده از دو نوع میکروسکوپ نوری و الکترونی اختلاف معنی‌داری دیده نشد و به همین ترتیب تحرک اسپرم‌ها در گروه‌های کنترل و آزمایش هر سه تجربه یکسان بود. در تصاویر میکروسکوپ الکترونی هر دو مقطع عرضی و طولی از اسپرم‌ها مشاهده شد. در مقایسه تصاویر الکترونی گروه‌های کنترل با آزمایش به مواردی از قبیل آرایش آکسونوم، غلاف‌های میتوکندری و ستون‌های طولی دم اسپرم‌ها توجه شد، اما اختلاف معنی‌داری یافت نشد. به همین ترتیب ارزیابی که در مورد طول دم و ابعاد سر اسپرم با استفاده از میکروسکوپ تحقیقاتی و نرم‌افزار life science مربوطه انجام گرفت، هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها دیده نشد.

## تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها در تجربه اول به‌وسیله Unpaired student's t-test آنالیز گردیدند. در تجارب دوم و سوم به منظور بررسی وجود یا عدم اختلاف بین میانگین‌ها آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و به دنبال آن، آزمون Tukey-Kramer انجام شد. نتایجی که دارای ارزش P کوچک‌تر از یا مساوی ۰/۰۵ بود، به عنوان نتایج معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**بحث**

همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود در تجربه اول تعداد اسپرم‌ها در گروه آزمایش، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق دارو کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دارد. از آنجا که مت‌آمفتامین یک محرک سیستم عصبی بوده، لذا این احتمال می‌رود که دارو از طریق سیستم عصبی و اعصابی که به دستگاه تناسلی می‌رسند توانسته است این تغییرات را اعمال کند. در مطالعات انجام شده بر روی مت‌آمفتامین مشخص شده است که این دارو از طریق افزایش خالص آزاد شدن مونوآمینو نوروترانسمیترها یعنی سروتونین، نور آدرنالین و دوپامین عمل می‌کند (۳). اپیدیدیم مانند سایر قسمت‌های دستگاه تناسلی نر از سیستم عصبی خودکار الیاف آدرنرژیک و کولینرژیک دریافت می‌دارد. منشأ این الیاف عقده روده‌بندی تحتانی، عقده لگنی بزرگ و عقده لگنی فرعی می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که برداشتن این عقده‌ها در موش سبب یک افزایش مشخص در تعداد اسپرم‌های موجود در دم اپیدیدیم می‌شود. گوانتیدین (Guanethidine) یک ماده شیمیایی است که باعث تخریب انتخابی الیاف نورآدرنرژیک محیطی می‌گردد. تزریق آن به موش باعث افزایش تاخیر انتقال مایع اپیدیدیم و در نتیجه افزایش تعداد اسپرم‌های موجود در این مایع می‌گردد. مطالعات نشان می‌دهد که نوروترانسمیترهای آدرنرژیک علاوه بر کنترل انزال در تنظیم انتقال اسپرم‌ها در اپیدیدیم نیز نقش دارند (۱۹). بنابراین این احتمال وجود دارد که تجویز مت‌آمفتامین باعث افزایش میزان ترشح این نوروترانسمیترها در ناحیه اپیدیدیم گشته و متعاقب آن تعداد اسپرم‌ها کاهش یافته است. در سال ۲۰۰۲، Yamamato و همکاران نشان دادند که مت‌آمفتامین باعث القاء آپوپتوزیس در لوله‌های اسپرم ساز می‌شود و مشاهده کردند که یک بار تجویز ۱۰mg/kg دارو درصد لوله‌های آپوپتوتیک را افزایش می‌دهد، به‌طوری که بعد از ۲۴ ساعت این افزایش شکل معنی‌داری پیدا می‌کند. آنها همچنین مشاهده کردند که با تزریق مت‌آمفتامین، تغییراتی در سطح تستوسترون خون اتفاق می‌افتد و با توجه به اینکه قبل از آن مشخص شده بود که تستوسترون سلول‌های اپی‌تلیوم اسپرم‌ساز را در مراحل VII-VIII تحت تاثیر قرار می‌دهد، بنابراین این پیشنهاد کردند که ممکن است تغییرات ایجاد شده در سطح تستوسترون خون باعث شروع و القاء آپوپتوزیس در لوله‌های اسپرم‌ساز شده است (۱۱). Saito و همکاران اثرات منفی مت‌آمفتامین بر روی رفتارهای جفت‌گیری موش‌های صحرایی نر را نشان دادند (۲۰). بعدها مشخص شد که وجود تستوسترون برای جفت‌گیری ضروری می‌باشد و این هورمون باعث آزاد شدن دوپامین و تحریک گیرنده‌های آن در ناحیه پره اپتیک می شود. این ناحیه برای رفتارهای جنسی نر حیاتی می‌باشد (۲۱). Tsai و همکاران اظهار کردند که مت‌آمفتامین احتمالاً با اثر مستقیم بر روی بیضه باعث کاهش ترشح تستوسترون شده که متعاقب آن رفتارهای جفت‌گیری کاهش می‌یابد (۱۲). کاهش موقت اسپرم‌ها در ناحیه دم اپیدیدیم مربوط به تجربه اول را نمی‌توان مربوط به اثر دارو روی اسپرم‌سازی دانست. چرا که برای رسیدن اسپرم‌ها به این ناحیه حدود ۶ تا ۷ روز زمان لازم می‌باشد (۱۹). همین شرایط نیز در تجربه دوم مشاهده گردید و همان‌طور که در نمودار ۲ مشخص است تزریق یک بار دو دوز ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور مشخص باعث کاهش تعداد اسپرم‌ها شده است ($P<0/001$)، اما این کاهش برای دوز ۱ از شدت کمتری برخوردار بوده است ($P<0/05$). اثرات تزریقات سه دوز مختلف دارو به مدت ۱۴ روز مربوط به تجربه سوم در نمودار ۳، کاهش معنی‌دار تعداد اسپرم‌ها را در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد (برای دوزهای ۱۰ mg/kg و ۵، $P<0/001$ و برای دوز ۱ mg/kg، $P<0/05$). در تجربه سوم به نظر می‌رسد کاهش تعداد اسپرم‌ها بیشتر مربوط به افزایش وقوع آپوپتوزیس در سلول‌های اجدادی اسپرم، در بیضه می‌باشد. به عبارت دیگر به علت آپوپتوزیس سلولی تعداد کمتری اسپرم در لوله‌های اسپرم‌ساز تولید شده است و تعداد اسپرم‌های منتقل شده به دم اپیدیدیم کاهش یافته است. با توجه به مطالعه‌ای که در زیر به آن اشاره می‌شود این احتمال نیز وجود دارد که دارو

علاوه بر القاء آپوپتوزیس، باعث کاهش تعداد سلول‌های اجدادی در حال تکثیر یا بر هم خوردن نسبت این دو شده باشد. در مطالعه ذکر شده مشخص شد که نهان بیضه‌ای باعث بر هم خوردن نسبت سلول‌های در حال تکثیر به سلول‌های در حال آپوپتوز می‌گردد و این نتیجه بر خلاف تصور آن زمان بود که نهان بیضه‌ای تنها باعث آپوپتوزیس سلول‌های اجدادی اسپرم می‌گردد (۲۲). این احتمال ما را بر آن داشت که در ادامه مطالعات خود بر روی این دارو، با استفاده از دو تکنیک PCNA و TUNEL به ترتیب تکثیر و آپوپتوزیس سلولی در لوله‌های اسپرم ساز را مطالعه کنیم و نتایج حاصله (در مرحله چاپ) نشان داد که دارو نه تنها باعث القاء آپوپتوزیس می‌گردد بلکه تکثیر سلولی را کاهش داده و مهم‌تر از آن باعث بر هم خوردن نسبت تکثیر به مرگ سلولی می‌شود.

فاگوسیتوز فرآیند نهایی آپوپتوزیس محسوب می‌گردد، عدم مشاهده تغییرات معنی‌دار در مورفولوژی و تحرک اسپرم در این مطالعه احتمالاً به دلیل حذف سلول‌های ناقص توسط سلول‌های مجاور طی فرایند فاگوسیتوز می‌باشد. با توجه به قدرت زاد و ولد و اسپرم‌سازی بالای جوندگان کاهش نسبت وزن بیضه به وزن بدن تنها در دوزهای ۵mg/kg و ۱۰ تجربه سوم مشاهده گردید (نمودار ۴) و همین مسأله نشان می‌دهد که کاهش تعداد اسپرم‌ها در تجربه اول و دوم نمی‌تواند مربوط به کاهش کلی اسپرم‌ها و سلول‌های اجدادی آنها در خود بیضه باشد. اما تزریقات مکرر دارو به مدت ۱۴ روز در تجربه سوم تأثیرات خود را در زمینه کاهش وزن بیضه گذاشته است.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سوء مصرف داروی مت‌آمفتامین علاوه بر اثرات منفی که بر سایر اعضای بدن دارد، می‌تواند باعث کاهش تعداد اسپرم‌های بالغ موجود در دم اپیدیدیم شده و موجبات ناباروری در موش‌های نر گردد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به دلیل تصویب طرح پژوهشی و حمایت‌های مالی و از آقای دکترهادی‌زاده بابت ساخت داروی مت‌آمفتامین و از خانم فریبا متجدّد برای کمک‌های عملی تشکر می‌شود.

## *Summary*

### Determining of Methamphetamine Effects on Sperm Parameters of Mature Rat

Taghavi M.M., MSc.[1], Alavi S.S., Ph.D.[2], Moallem S.A., Ph.D.[3], Varasteh A.R., Ph.D.[4]

1. Instructor, Department of Anatomy, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran and Ph.D. Student of Anatomy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. 2. Assistant Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. 3. Assistant Professor, Department of Pharmacodynamy & Toxicology, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran 4. Associate professor of Immunology, Department of Immunobiochemistry and Immunology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Meshhad, Iran

**Introduction:** Methamphetamine (MAMP) is a central nervous system stimulant, but it is increasingly abused as a psychedelic tablet by teenagers and young adults. In this experimental study, we evaluate the effects of MAMP on sperm parameters of mature rat.

**Methods:** MAMP or saline were injected in three experiments as follow: In the first experiment, twenty-four rats were injected one time with 10mg/kg MAMP, and sperms were sampled from tail of epididymis 6, 12, 24, 48, 72, and 168 h after injection (n=4, at each time). Six rats injected with saline served as controls. In the second experiment, four groups of rats each consisting of four rats were administered MAMP (5, 10 and 15

mg/kg) or saline, respectively, and examined 24h later. In the third experiment, 16 rats were evenly divided into four groups (1, 5, and 10 mg/kg MAMP and control) and were injected MAMP or saline once daily for 14 consecutive days (spermatogenesis period) and sperms were sampled 24 h after the last injection. The motility, concentration and morphology of the sampled sperms were evaluated. We also measured the body and testis weights and used the testis/body weight ratio as an index at the end of each experiment.

**Results:** At 24 and 48 h after injection with a single dose of 10 mg/kg MAMP, the number of sperms decreased significantly in comparison with controls ($P \leq 0.001$ and $P \leq 0.05$ respectively). In the second experiment, the number of sperms for three doses of MAMP significantly decreased in the two upper doses ($P < 0.001$) and in the lower dose ($P \leq 0.05$). The results of the third experiment were similar but the decrease of sperms number was more than that in the second experiment. MAMP did not change the testis/body weight ratio in the first and second experiments, but it significantly decreased this index in rats of the third experiment which received 10 and 5 mg/kg MAMP daily. We did not observe differences between experimental and control groups in motility and morphology of sperms.

**Conclusion:** Our results indicate that the repeated administration and/or higher doses of MAMP reduce the number of mature sperms in the tail of epididymis and have adverse effects on the reproduction and fertility of MAMP users.

**Key words:** Methamphetamine, Sperm parameters, Epididymis, Rat

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2008; 15(1):61-69*

## *References*

1. Comer SD, Hart CL, Ward AS, Haney M, Foltin RW, Fischman MW. Effects of repeated oral methamphetamine administration in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 2001; 155 (4):397-404.
2. O'Malley P. Ecstasy for intimacy: Potentially fatal choices for adolescents and young adults: update for the clinical nurse specialist. *Clin Nurse Spec* 2005; 19(2): 63-4.
3. Kalant H. The pharmacology and toxicology of ecstasy (MDMA) and related drugs. *CMAJ* 2001; 165(7): 917-28.
4. Kasirsky G. Teratogenic effects of methamphetamine in mice and rabbits. *J Am Osteopath Assoc* 1971; 70(10): 119-20.
5. Inoue H, Nakatome M, Terada M, Mizuno M, Ono R, Iino M, *et al.* Maternal methamphetamine administration during Pregnancy influences on fetal rat heart development. *Life sci* 2004;74 (12): 1529-40.
6. Smith L, Yonekura ML, Wallace T, Berman N, Kuo J, Berkowitz C. Effects of Prenatal methamphetamine exposure on fetal growth and drug withdrawal symptoms in infants born at term. *J Dev Behav Pediatr* 2003; 24 (1):17-23.
7. Yamamoto Y, Yamamoto K. The teratogenicity of methamphetamine is influenced by housing conditions of pregnant mice. *Cong Anom* 1994; 34: 337-43.
8. Yamamoto Y, Yamamoto K, Abiru H., Fukui Y, Shiota K. Effects of methamphetamine on rat embryos cultured in vitro. *Biol Neonate* 1995; 68(1):33-8.

9. YamamotoY, Yamamoto K, Fukui Y, Kurishita A. Teratogenic effects of methamphetamine in mice. *Nihon Hoigaku Zasshi* 1992; 46(2): 126-131.

10. Yamamoto Y, Yamamoko K., Hayase T. Effect of methamphetamine on male mice fertility. *J Obstet Gynecol Res* 1999; 25(5): 353-8.

11. Yamamoto Y, Yamamoto K, Hayase T, Abiru H, Shiota K, Mori C. Methamphetamine induces apoptosis in seminiferous tubules in male mice testis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002; 178(3):155-60.

12. Tsai SC, Chen JJ, Chiao YC, Lu CC, Lin H, Yeh JY *et al.* The role of cyclic AMP production, calcium channel activation and enzyme activities in the inhibition of testosterone secretion by amphetamine. *Br J Pharmacol* 1997; 122(5): 949-55.

13. Dubin NN, Razack AH. Priapism: ecstasy related?. *Urology* 2000; 56(6):1057.

14. Lohiya NK, Mishra PK, Pathak N, Manivannan B, Bhande SS, Panneerdoss S, Sriram S. Efficacy trial on the purified compounds of the seeds of Carica papaya for male contraception in albino rat. *Repord Toxicol* 2005; 20(1): 135-48.

15. Srikanth V, Malini T, Arunakaran J, Govindarajulu P, Balasubramanian K. Effects of ethanol treatment on epididymal secretory products and sperm maturation in albino rats. *J pharmacol Exp Ther* 1999; 288(2):509-15.

16. Boswell, Robert. Frederick (Richmond, VA), Lp; Young Seg (Chester, VA). Preparation of amphetamines from phenylpropanolamines. United states patent. June 4, 2002: 6399828.

17. Chitra KC, Ramachandra Rao K, Mathur PP. Effect of bisphenol A and co-administration of bisphenol A and vitamin C on epididymis of adult rats: A histological and biochemical study. *Asian J Androl* 2003; 5: 203-8.

18. Li H, Chen Q, Li S, Yao W, Li L, Shi X, *et al.* Effect of Cr (VI) exposure on sperm quality: human and animal studies. *Ann Occup Hyg* 2001; 45(7): 505-11.

19. Kempinas WD, Suarez JD, Roberte NL, Strader L, ferrell J, Goldman JM, *et al.* Rat epididymal sperm quantity, quality, and transit time after guanethidine-induced sympathectomy. *Biol Reprod* 1998; 59 (4):890-6.

20. Saito T. R, Aoki S, Saito M, Amao H, Niwa T, Terada M, *et al.* Effects of methamphetamine on copulatory behavior in male rats. Jikken Dobutsu 1991; 40(4): 447-52.

21. Hull E. M, Du J, Lorrain DS, Matuszewich L. Testosterone, preopic dopamine, and copulation in male rats. *Brain Res Bull* 1997; 44(4): 327-33.

22. Carmen M, Manas B, Morales E, Luis M, *et al.* Proliferation and apoptosis of spermatogonia in postpuberal boar (sus domesticus) testes with spontaneous unilateral and bilateral abdominal cryptorchidism. *Acto histochemica* 2005; 107:365-72.