مطالعه اثر تجویز طولانی مدت کتوکونازول بر ضرایب اسپرماتوژنز و بافت بیضه در موش سوری

سید اسماعیل صفوی[۱]، میر هادی خیاط نوری[۲*]، فرهاد عظیمی[۳]

۱. گروه بافت شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۲. گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۳. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: khayat_nouri@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۸۷/۸/۹، پذیرش نهایی: ۸۸/۱/۳۱)

چکیده

کتوکنازول داروی ضد قارچ وسیع‌الطیف با کاربرد وسیع در درمان بیماری‌های قارچی می‌باشد. علاوه بر اثر ضد قارچی، مطالعات نشان داده‌اند که این دارو روی تولید هورمون‌های استروئیدی از جمله گلوکوکورتیکوئیدها و هورمون‌های جنسی اثر مهاری دارد. همچنین مصرف کتوکنازول باعث کاهش مقدار تستسترون در خون و تغییرات بافتی مختلف در بافت بیضه حیوانات آزمایشگاهی می‌شود. هدف از این مطالعه تعیین اثر تجویز طولانی مدت کتوکنازول بر روی شاخص‌های اسپرماتوژنز در بافت بیضه موش سوری می‌باشد. در این مطالعه تجربی، از ۵۰ سر موش سوری نر استفاده شد که به ۵ گروه ۱۰تایی تقسیم شدند. موش‌های سوری دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را روزانه به مدت ۱۵ روز، ۱، ۲ و ۳ ماه از راه خوراکی دریافت کردند. یک گروه به عنوان شاهد و ٤ گروه دریافت کننده کتوکنازول بودند. بعد از گذشت زمان‌های ذکر شده نمونه بافت بیضه اخذ گردید و پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، از لحاظ شاخص‌های اسپرماتوژنز شامل: ضریب تمایز لوله‌ای (TDI)، ضریب اسپرمیوژنز (SI) و ضریب بازسازی (RI) مطالعه شد. نتایج نشان داد که SI و RI در روز پانزدهم و TDI، SI و RI در ماه‌های اول، دوم و سوم بعد از تجویز دارو در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) داشتند. نتایج بیانگر این مطلب است که تجویز طولانی مدت کتوکنازول باعث کاهش اسپرماتوژنز و شاخص‌های آن در بافت بیضه موش سوری می‌شود. این کاهش در مقدار TDI، SI و RI احتمالاً از طریق کاهش غلظت سرمی تستسترون می‌باشد. البته اثر این دارو در روند اسپرماتوژنز و ناباروری انسان نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۷، دوره ۲، شماره ٤، ۲۹۳-۲۸۵.
کلمات کلیدی: کتوکونازول، ضرایب اسپرماتوژنز، موش سوری

مقدمه

عفونت‌های قارچی در انسان و حیوانات در سال‌های اخیر از نظر شدت و شیوع افزایش چشمگیری داشته‌اند. درمان دارویی بیماری‌های قارچی با کشف داروهای خوراکی و نسبتاً غیرسمی آزولی، دچار تحول شده و فرمولاسیون‌های جدیدی از این داروها در دسترس قرار گرفته است (۱۰ و ۱۱). داروهای ضد قارچی که در حال حاضر در دسترس هستند، به چند گروه تقسیم می‌شوند. داروهای سیستمیک که به دو صورت خوراکی یا تزریقی برای عفونت‌های سیستمیک و

مخاطی- جلدی و داروهای موضعی که برای عفونت‌های مخاطی – جلدی به کار می‌روند (۱۰ و ۱۱). آزول‌ها یکی از داروهای ضدقارچ موضعی و سیستمیک هستند که از دهه ۱۹۸۰ معرفی شده و تا به‌حال نقش مهم و فزاینده‌ای در درمان بیماری‌های قارچی ایفا کرده‌اند (۱۰ و ۱۱). فعالیت ضدقارچی داروهای آزولی نتیجه کاهش سنتز ارگوسترول در غشاء قارچ‌ها می‌باشد. این کار توسط مهار آنزیم‌های سیتوکروم p٤٥٠ قارچی صورت می‌گیرد. اختصاصی بودن عملکرد داروهای آزولی از این موضوع ناشی می‌شود که تمایل این داروها به آنزیم‌های سیتوکروم p٤٥٠ نوع قارچی بیشتر از نوع انسانی است. با این حال مثل سایر داروها، آزول‌ها نیز باعث بروز اثرات جانبی می‌شوند (۱۰ و ۱۱). کتوکونازول نخستین آزول خوراکی بود که مورد استفاده بالینی قرار گرفت. این دارو از نظر تمایل به مهار آنزیم‌های سیتوکروم p٤٥٠ پستانداران نسبت به داروهای جدیدتر تمایل بیشتری داشته و به عبارت دیگر خاصیت انتخابی بودن این دارو برای p٤٥٠ قارچی کمتر از آزول‌های جدید است. این پدیده دو پیامد به‌دنبال دارد، نخست آن‌که مهار آنزیم‌های سیتوکروم p٤٥٠ انسان توسط کتوکونازول با بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی آدرنال و گنادی تداخل می‌کند و باعث ایجاد آثار آندوکرینی مهم از قبیل ژنیکوماستی، عقیمی و بی‌نظمی‌های قاعدگی می‌شود. دوم آن‌که تداخل این دارو با آنزیم‌های p٤٥٠ می‌تواند متابولیسم سایر داروها را تغییر داده و باعث افزایش سمّیت این عوامل شود. آثار جانبی کتوکونازول تا حدود زیادی وابسته به دوز است (۱۰ و ۱۱). از اثرات جانبی این دارو سردرد، سرگیجه، خارش، تهوع، استفراغ، درد شکم، اسهال، یبوست، نفخ شکم، افزایش آنزیم‌های کبدی، هپاتوتوکسیسیتی، ژنیکوماستی یا بزرگی پستان در مردان گزارش شده است (۱). مطالعات نشان داده‌اند که این دارو روی تولید هورمون‌های استروئیدی از جمله گلوکوکورتیکوئیدها و هورمون‌های جنسی اثر مهاری دارد، همچنین مصرف کتوکنازول باعث کاهش مقدار تستسترون در خون و تغییرات بافتی مختلف در بافت بیضه حیوانات آزمایشگاهی می‌شود (۵، ۷، ۱۰، ۱۱ و ۱٤).

بیضه‌ها به عنوان یک زوج غده تولید کننده سلول‌های زایای نر در داخل اسکروتوم قرار می‌گیرند. بیضه به عنوان یک غده مختلط مورد بررسی قرار می‌گیرد. بخش درون‌ریز به‌واسطه ترشح هورمون‌هایی نظیر تستوسترون، استروژن و اینهیبین توسط سلول‌های لیدیک و سرتولی مشخص می‌شود و بخش برون‌ریز لوله‌های اسپرم ساز هستند که اسپرماتوزوئید را تولید و آزاد می‌کنند (٦). سلول‌های جنسی به صورت اپی‌تلیوم مطبق در چهار تا هشت لایه در ضخامت لوله منی‌ساز قرار گرفته‌اند. این سلول‌ها به تدریج از قاعده لوله‌ها به طرف حفره میانی تمایز یافته و تکثیر آن‌ها باعث رانده شدن سلول‌ها به حفره داخلی لوله می‌شوند. در طی فرآیند اسپرماتوژنز سلول‌های اسپرماتوگونی، پس از طی تقسیمات و تغییرات لازم سرانجام به اسپرماتوزوئید تبدیل می‌شوند. اسپرماتیدها طی روند پیچیده‌ای به نام اسپرمیوژنز، به اسپرماتوزوئید تبدیل می‌شوند (٦). عوامل زیادی بر روی اسپرماتوژنز تأثیر می‌گذارند که می‌توان به عوامل هورمونی و عوامل فیزیکی اشاره نمود. بعضی از این هورمون‌ها عبارتند از تستسترون، هورمون لوتئینی (LH)، هورمون محرک فولیکولی (FSH)، استروژن‌ها و هورمون رشد. هورمون تستوسترون که توسط سلول‌های لیدیگ واقع در فضای میان بافتی بیضه ترشح می‌شود، برای رشد و تقسیم سلول‌های ژرمینال که اولین مرحله در تشکیل اسپرماتوزوئید است، ضروری می‌باشد. هورمون لوتئینی (LH) که توسط غده هیپوفیز قدامی ترشح می‌شود، سلول‌های لیدیگ را تحریک و وادار به ترشح تستوسترون می‌کند. این هورمون باعث فعال شدن واکنش‌های سنتز کلسترول از ریشه استات و تبدیل شدن کلسترول به ۲- آلفا هیدروکسی کلسترول می‌گردد که هر دو واکنش از مراحل مهم در سنتز استروئیدها (پروژسترون و تستوسترون) هستند (۳). هورمون LH موجب القای سنتز آنزیم‌های مهم سنتز استروئیدها از جمله ۳- بتا هیدروکسی

استروئید دهیدروژناز، C_{17-20} لیاز و ۵ آلفا ردوکتاز می‌گردد. با وجود این، اثر اصلی هورمون LH در مراحل اول سنتز تستوسترون یعنی در واکنش تبدیل شدن کلسترول به پرگننولون بروز می‌نماید (۳). هورمون محرک فولیکولی (FSH) که توسط غده هیپوفیز قدامی ترشح می‌شود، بر روی سلول‌های سرتولی اثر کرده، سبب تحریک آدنیلات سیکلاز و در نهایت افزایش cAMP می‌گردد. این هورمون هم‌چنین سبب پیشبرد ساخت و ترشح پروتئین متصل شونده به آندروژن (ABP) می‌شود. بدون وجود این تحریک تبدیل اسپرماتیدها به اسپرماتوزوئید امکان پذیر نمی‌باشد (۳). استروژن‌ها توسط سلول‌های سرتولی پس از تحریک شدن توسط هورمون FSH از تستوسترون تشکیل می‌شوند و احتمالاً برای روند اسپرماتوزوئید شدن ضروری هستند. هورمون رشد نیز برای کنترل اعمال متابولیک بیضه‌ها لازم است. هورمون رشد به طور اختصاصی موجب پیشبرد تقسیمات اولیه در اسپرماتوژنز می‌شود و در غیاب آن مثلاً در کوتوله‌های هیپوفیزی، اسپرماتوژنز شدیداً کاهش می‌یابد (۲). تمام جنبه‌های فیزیولوژی تولید مثل دام نر محتاج تحریک هورمونی گونادوتروپین‌های هیپوفیزی یعنی هورمون لوتئینه کننده و هورمون محرک فولیکولی می‌باشد که این هورمون‌ها نیز به وسیله هورمون آزاد کننده گونادوتروپین (GnRh) از هیپوتالاموس ترشح می‌شود. علاوه بر هورمون‌های فوق سایر هورمون‌های هیپوفیز شامل پرولاکتین و هورمون محرک تیروئید (TSH) در پشتیبانی از فعالیت بیضه نقش ثانویه دارند (۸). بنابراین، با توجه به اثر کتوکنازول بر روی سنتز هورمون‌ها به‌خصوص تستسترون (۱۰ و ۱۱)، و نقش این هورمون در روند اسپرماتوژنز (۲)، و از طرف دیگر با توجه به این‌که هیچ‌گونه تحقیقی در داخل و خارج از کشور مبنی بر اثر کتوکنازول بر روی اسپرماتوژنز وجود ندارد، این مطالعه جهت تعیین اثر تجویز طولانی مدت کتوکنازول بر روی شاخص‌های اسپرماتوژنز در بافت بیضه موش سوری نر طراحی شده است.

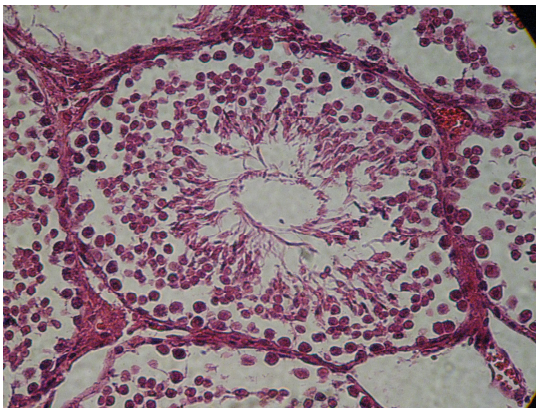
مواد و روش‌کار

برای انجام این مطالعه تجربی از تعداد ۵۰ سر موش سوری نر نژاد NMRI با وزن ۳۰-۲۵ گرم استفاده گردید. این حیوانات در محل پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز نگه‌داری شدند. شرایط نگه‌داری و تغذیه تمام حیوانات یکسان بود. این حیوانات توسط پلیت و گندم تغذیه شده و آب مصرفی آن‌ها از آب شیر معمولی تأمین گردید. موش‌ها در درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. این موش‌ها در ۵ گروه ۱۰تایی تقسیم شدند. موش‌های سوری دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از کتوکنازول را روزانه به مدت ۱۵ روز، ۱، ۲ و ۳ ماه از راه خوراکی (گاواژ) دریافت کردند. به طوری که یک گروه کنترل (نرمال سالین) و ٤ گروه دریافت کننده کتوکنازول بودند. بعد از گذشت زمان‌های ذکر شده، نمونه بافت بیضه اخذ و پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، از لحاظ شاخص‌های اسپرماتوژنز مطالعه شد. برای ارزیابی اسپرماتوژنز در لوله‌های منی‌ساز از سه شاخص تمایز لوله‌ای، ضریب اسپرمیوژنز و هم‌چنین شاخص بازسازی استفاده گردید (۹ و ۱۳). برای محاسبه شاخص تمایز لوله‌ای (Tubular Diffrentiation Index) که به اختصار TDI نامیده می‌شود در دویست مقطع عرضی لوله‌های منی‌ساز که شامل سه و یا بیش از سه رده سلول‌های اسپرماتوژنز تمایز یافته از سلول اسپرماتوگونی A بودند، محاسبه گردید که این سلول‌ها شامل اسپرماتوگونی بینابینی، اسپرماتوگونی تیپ B، اسپرماتوسیت و اسپرماتید می‌باشد. این ضریب بیانگر حیات و تمایز سلول‌های بنیادی لولهٔ منی‌ساز یعنی اسپرماتوگونی A می‌باشد. برای محاسبه ضریب بازسازی (Repopulation Index) که به اختصار RI نامیده می‌شود، نسبت سلول‌های اسپرماتوگونی فعال (با هسته تیره) به سلول‌های اسپرماتوگونی غیر فعال (با هسته روشن) در لوله‌های منی‌ساز محاسبه گردید.

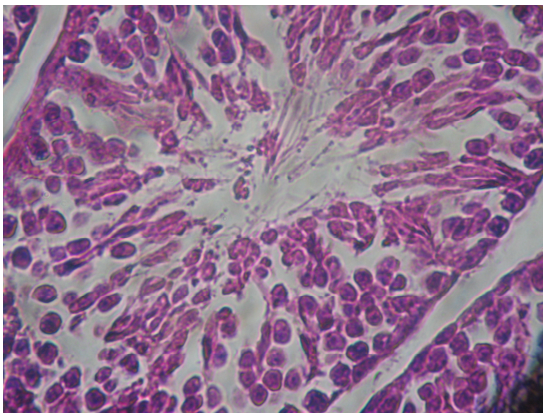
برای محاسبه ضریب اسپرمیوژنز (SI) نسبت لوله‌های منی‌ساز که حاوی اسپرم بودند به لوله‌های فاقد اسپرم محاسبه گردید. برای محاسبه این سه شاخص برای هر بیضه حداقل ۲۰۰ مقطع عرضی لوله‌های منی‌ساز مورد بررسی و شمارش قرار گرفت (۹ و ۱۳). بعد از انجام آزمایشات، داده‌ها به صورت میانگین± خطای معیار بیان شده و جهت آنالیز داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن تست‌های مقایسه چندگانه توکی استفاده گردید، مقدار $p<۰/۰۵$ برای تعیین سطح معنی‌دار بودن بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

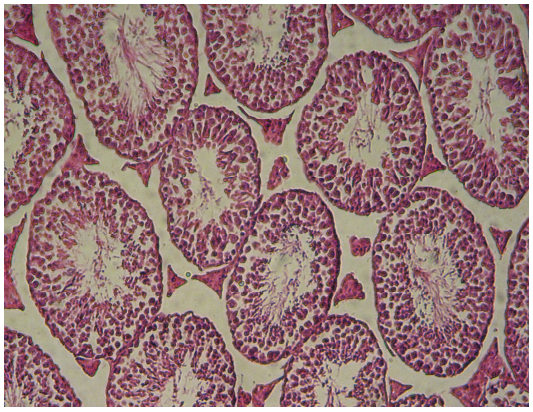
در مطالعه بافت شناسی بیضه موش‌های سوری گروه کنترل مشخص گردید که بیضه از خارج توسط کپسول همبندی متراکم احاطه شده و یک لایه سلول‌های سنگفرشی ساده در اطراف آن وجود دارد. در زیر اپی‌تلیوم، بافت همبند از نوع سست قرار داشته که بلافاصله با بافت همبند رشته‌ای سپید پرده امتداد می‌یابد. در وسط و در عمق سپید پرده مقاطع عروق خونی به‌خصوص وریدهای متسع و پر از خون مشاهده می‌شود. اغلب در نواحی که کپسول همبندی ایجاد تیغه‌های همبندی می‌کند، در عمق کپسول مقاطع سرخرگ‌ها نیز مشاهده می‌شود. در بافت همبند کپسول بیضه، رشته‌های کلاژن نوع یک، فیبروسیت‌ها با هسته‌های کشیده و تیره، فیبروبلاست‌ها با هسته‌های روشن گرد و بیضی شکل و هم‌چنین سلول‌های عضلانی صاف که در عمق کپسول بیضه پراکنده‌اند، دیده می‌شود. در داخل بافت بیضه، لوله‌های اسپرم‌ساز بخش عمدهٔ پارانشیم بیضه را احاطه نموده و بافت بینابینی مابین لوله‌ها به صورت تیغه‌های همبندی باریک مشاهده می‌شود (نگاره‌های۱ و ۲). مطالعه بافت شناسی بیضه در روز پانزده پس از تجویز دارو نشان داد که تعداد سلول‌های زایا در مقایسه با گروه شاهد تفاوت قابل ملاحظه‌ای نشان نمی‌دهد. در داخل لوله‌های اسپرم‌ساز تجمع اسپرم‌ها دیده می‌شود (نگاره ۳). مطالعه بافت‌شناسی بیضه در روز سی‌ام پس از تجویز دارو نشان داد که کاهش محسوسی در تعداد سلول‌های جنسی به‌خصوص سلول‌های اسپرماتید مشاهده می‌شود. در داخل تعداد محدودی از لوله‌های اسپرم‌ساز اسپرم‌ها دیده می‌شوند. افزایش مقاطع عروق خونی در مقایسه با گروه کنترل محسوس است (نگاره ٤). مطالعه بافت بیضه در روز شصت پس از تجویز کتوکنازول نشان داد که فضای بین لوله‌ها (بافت بینابینی) از وسعت زیادی برخوردار است. در لوله‌های اسپرم‌ساز اپی‌تلیوم زایگر ضخامت بسیار کمی داشته و در برخی لوله‌ها، سری سلول‌های اسپرماتوژنز کاملاً تحلیل رفته و به تعداد اندکی مشاهده می‌شود و اکثراً سلول‌های اسپرماتوگونی باقی مانده‌اند. در تعداد کمی از لوله‌های اسپرم‌ساز لایه‌های سلولی اپی‌تلیوم زایگر و نیز تعداد کمی سلول‌های اسپرماتوزوئید با تاژک‌های بلند مشاهده می‌شود ولی به طور واضح بیشتر رده‌های سلول‌های اسپرماتوژنز وجود ندارد. سلول‌های سرتولی تغییرات کمتری را نشان می‌دهند. در داخل بافت بینابینی، عروق خونی در سطح وسیعی مشاهده می‌شود که علاوه بر مویرگ‌ها به صورت وریدچه‌ها و شریانچه‌ها دیده می‌شود. سلول‌های لیدیک با اشکال طبیعی دیده می‌شوند ولی در برخی نواحی به نظر می‌رسد تجمع آن‌ها زیاد باشد (نگاره ۵ و ٦). در روز نود پس از تجویز دارو، مطالعه بافت‌شناسی بیضه نشان داد که در مقایسه با گروه‌های قبل، لوله‌های منی‌ساز بیشتر تحلیل رفته و تعداد سلول‌های اپی‌تلیوم زایگر بسیار کاهش یافته‌اند. البته هنوز در برخی لوله‌ها به صورت محدود سلول‌های رده اسپرماتوژنز مشاهده می‌شود و برخی حاوی سلول‌های اسپرماتوزوئید هستند. بافت بینابینی گسترش زیادی یافته و اغلب در داخل بافت انتشار مایع پلاسمایی به رنگ صورتی دیده می‌شود. مقاطع عروق خونی فراوان در سطح وریدچه و شریانچه در مقطع بافت بیضه مشاهده می‌شود. در برخی از لوله‌های اسپرم‌ساز تمام سلول‌های اسپرماتوژنز حذف شده و تنها تعداد محدودی اسپرماتوگونی و تعداد بیشتری سلول‌های سرتولی مشاهده می‌شود (نگاره‌های ۷، ۸ و ۹).



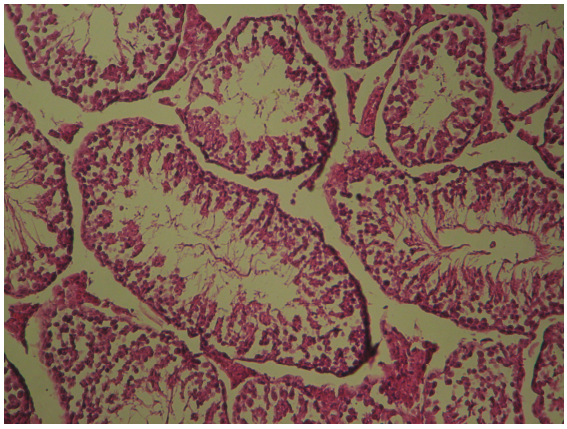
نگاره۱- مقطع بافتی لوله‌های اسپرم‌ساز در بیضه موش سوری گروه شاهد. اپی‌تلیوم لوله‌ها ضخیم بوده و بافت بینابینی گسترش کمتری دارد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، درشت نمایی ٤٠×).



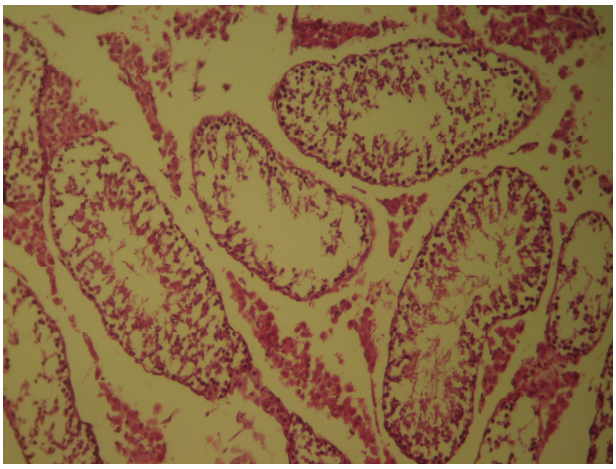
نگاره۲- مقطع بافتی لوله‌های اسپرم‌ساز در بیضه موش سوری گروه شاهد. در اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز تمامی سلول‌های رده اسپرماتوژنز مشاهده می‌شود. اسپرم‌ها در حفره میانی لوله‌ها قابل تشخیص است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، درشت نمایی ۱۰۰×).



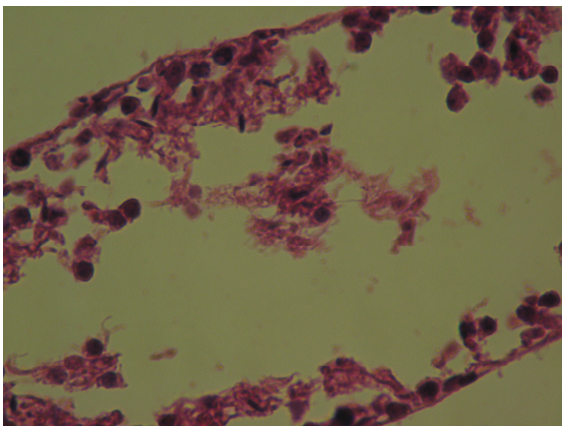
نگاره۳- مقطع بافتی لوله‌های اسپرم‌ساز در بیضه موش سوری ۱۵ روز بعد از تجویز کتوکنازول. مقدار بافت همبندی بین لوله‌ها وسعت بیشتری دارد. در حفره میانی لوله‌ها اسپرم دیده می‌شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین– ائوزین، درشت نمایی ٤٠×).



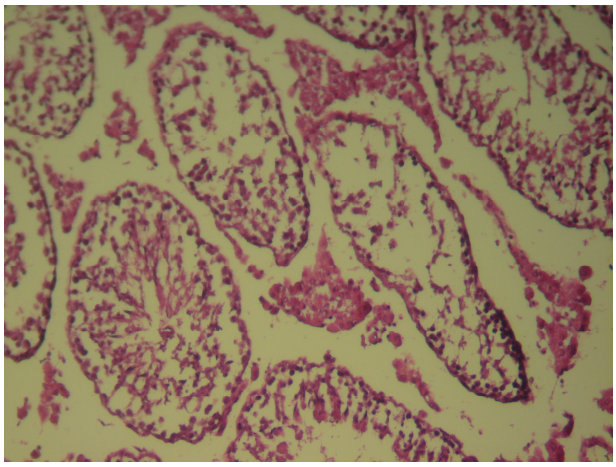
نگاره٤- مقطع بافتی لوله‌های اسپرم‌ساز در بیضه موش سوری ۳۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. قطر اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز کاهش یافته و وسعت بافت همبند بیشتر شده است. مقدار اسپرم در لوله‌ها کاهش یافته است (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین، درشت نمایی ٤٠×).



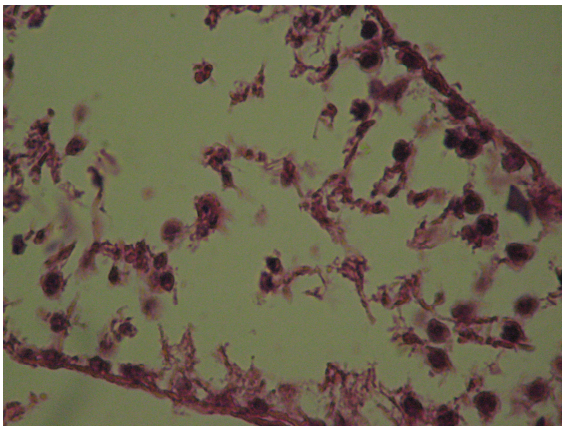
نگاره۵- مقطع بافتی لوله‌های اسپرم‌ساز در بیضه موش سوری ٦۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. وسعت بافت همبند بینابینی به شدت افزایش یافته و تعداد سلول‌های جنسی در اپی‌تلیوم لوله‌ها شدیداً کاهش یافته است (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، درشت نمایی ٤۰×).



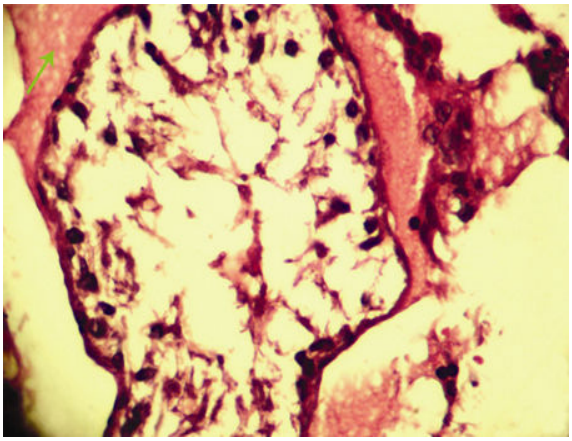
نگاره٦- مقطع بافتی لوله اسپرم‌ساز در بیضه موش سوری ٦۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. تعداد سلول‌های زایا در دیواره اپی‌تلیوم بسیار کاهش یافته و تنها تعدادی سلول اسپرماتوگونی در دیواره اپی‌تلیوم مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین درشت نمایی ٤۰۰×).



نگاره۷- مقطع بافتی لوله‌های اسپرم‌ساز در بیضه موش سوری ۹۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. بافت همبند بینابینی توسعه زیادی نشان می‌دهد. تعداد بسیار محدودی سلول جنسی در دیواره لوله‌ها مشاهده می‌شود. در تعداد کمی از لوله‌ها اسپرم دیده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسین – ائوزین درشت نمایی ٤۰×).



نگاره ۸- مقاطع بافتی لوله اسپرم ساز در بیضه موش سوری ۹۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. اپی تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز تنها حاوی سلول‌های اسپرماتوگونی بوده و سایر سلول‌های جنسی در دیواره مشاهده نمی‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسین – ائوزین درشت نمایی ٤۰۰×).



نگاره ۹- مقطع لوله اسپرم‌ساز در بافت بیضه موش سوری ۹۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. اکسودای فیبرینی در اطراف لوله اسپرم‌ساز مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین، درشت نمایی ٤۰۰×).

آنالیز آماری داده‌ها

در روز ۱۵ پس از تجویز دارو، ضریب تمایز لوله‌ای (TDI) گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان نداد. در روزهای ۳۰، ٦۰ و ۹۰ پس از تجویز دارو، ضریب تمایز لوله‌ای در مقایسه با بیضه گروه کنترل کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد. ضریب اسپرمیوژنز(SI) در گروه‌های تیمار در روزهای ۱۵، ۳۰، ٦۰ و ۹۰ پس از تجویز دارو در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد. ضریب بازسازی (RI) در گروه‌های تیمار در روزهای ۱۵، ۳۰، ٦۰ و ۹۰ بعد از تجویز دارو، در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین ضریب تمایز لوله‌ای (TDI)، ضریب اسپرمیوژنز (SI) و ضریب بازسازی (RI) پس از تجویز خوراکی کتوکنازول (۵۰ mg/kg) در روزهای مختلف (برحسب درصد).

پارامتر / گروه‌ها	TDI	SI	RI
کنترل	۹۵/۵ ± ۰/۵	۹٦ ± ۰/۳۹	۹۵/۳ ± ۰/۷٤
۱۵ روز بعد از تجویز دارو	۹٤/۷ ± ۰/٦۱	* ۹۰/٤ ± ۰/٦	* ۸۹/۹ ± ۱/۳٦
۳۰ روز بعد از تجویز دارو	* ۹۰/۷ ± ۰/٦۸	*** ۸۲/۷ ± ۰/۸	** ۸۷/٤ ± ۱/۱۳
٦۰ روز بعد از تجویز دارو	*** ۷۲/۵ ± ۱/۸۲	*** ٦۸/۳ ± ۱/٦	*** ۷۰/٦ ± ۱/۷
۹۰ روز بعد از تجویز دارو	*** ۲۸/۷ ± ۱/۰۷	*** ۲۵/۹ ± ۱/۸٦	*** ٤۳/۹ ± ۱/٤۱

*: تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ($p<۰/۰۵$)

**: تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ($p<۰/۰۱$)

***: تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ($p<۰/۰۰۱$)

بحث و نتیجه‌گیری

کتوکنازول به عنوان یک داروی ضد قارچ وسیع‌الطیف در درمان قارچ‌های سطحی و سیتمیک مورد استفاده قرار می‌گیرد.

هم‌چنین کتوکنازول به عنوان یک داروی ضد سرطان در درمان سرطان پیشرفته پروستات استفاده می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که مصرف کتوکنازول، اثرات سوء بر دستگاه تناسلی نر در انسان و حیوانات دارد. این اثرات با کاهش وزن بیضه‌ها و اپی‌دیدیم و کاهش میزان تستوسترون سرم مشخص می‌گردد. همچنین مصرف کتوکنازول موجب بروز ضایعات هیستوپاتولوژیک در بیضه همانند دژنراسیون لوله‌های منی‌ساز و کاهش سلول‌های زایا می‌شود (۵). در مطالعه حاضر، مصرف طولانی مدت کتوکنازول موجب کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز و کاهش تعداد سلول‌های زایا در موش‌های سوری گردید. در این بررسی عمدتاً سلول‌های اسپرماتید و اسپرماتوزوا تحت تأثیر قرار گرفتند. تغییرات عمده‌ای که در بافت بیضه و روند اسپرماتوژنز متعاقب مصرف کتوکنازول صورت می‌گیرد، عمدتاً به‌واسطه کاهش میزان تستوسترون می‌باشد. آزول‌ها با مهار سنتز آنزیم استرول ١٤- الفا دمتیلاز از تولید ارگوسترول غشایی ضروری در ساختار غشاء سطحی قارچ‌ها و مخمرها ممانعت می‌کنند. مشخص گردیده که سکانس DNA آنزیم فوق در بسیاری از قارچ‌ها و مخمرها شبیه سکانس آن در موش صحرایی، خوک و انسان است. این آنزیم در پستانداران لانوسترول را به استرول‌های فعال کننده میوز (MAS) تبدیل می‌کند. اخیراً مشخص شده که MAS، رشد و نمو سلول‌های زایا را در حیوان نر و ماده تعدیل می‌کند. در موش صحرایی ظهور آنزیم استرول ١٤- آلفا دمتیلاز در اسپرماتیدهای پیش میوزی می‌باشد و عمدتاً در مرحله نمو اسپرماتیدها ظاهر می‌شود. در بیضهٔ موش‌های صحرایی بالغ مقادیر بسیار فراوانی از MAS یافت می‌شود. آنزیم دیگری که تحت تأثیر ترکیبات آزولی قرار می‌گیرد، آروماتاز می‌باشد. آروماتاز به طور برگشت‌پذیر می‌تواند به‌وسیله ترکیبات آزول مهار شود. آروماتاز یکی از آنزیم‌های شرکت کننده در روند استروئیدوژنز می‌باشد و دمتیلاسیون اکسیداتیو استرول‌ها را تسهیل می‌کند. آنزیم آروماتاز با دمتیله کردن $C_{١٠}$ به طور اختصاصی باعث سنتز آندروستندیون و تستوسترون می‌شود (۱۵). سانتن و همکاران (۱۹۸۳) نشان دادند که کتوکنازول باعث مهار آنزیم $C_{١٧-٢٠}$ لیاز نیز می‌شود که در نتیجه باعث ممانعت از تبدیل ۱۷- الفا هیدروکسی پروژسترون به آندروستندیون می‌شود (۱۲). اثر مهاری کتوکنازول روی ترشح تستوسترون ممکن است به‌واسطه اثرات مهاری رادیکال‌های آزاد (ROZ) روی آنزیم‌های استروئیدوژن بیضوی باشد. کتوکنازول آسیب‌های اکسیداتیو مشخص در لیپیدهای بیضه و تغییراتی در میزان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مثل کاتالازها و سوپر اکسیددسموتازها ایجاد می‌کند. مصرف برخی از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند عصاره گیاه ژنتینا، آسیب‌های حاصل از مصرف کتوکنازول بر روی بافت بیضه را کاهش می‌دهد (۵). در یک بررسی، مصرف کتوکنازول با دوز mg/kg ۳۰-۱۰ در طی ٢٤ ساعت، موجب کاهش شدید تستوسترون سرم شد، بدون اینکه میزان LH و FSH تغییری کرده باشد (٤). کتوکنازول ممکن است حساسیت هیپوفیزی- هیپوتالاموسی را به کنترل فیدبکی تستوسترون روی ترشح LH کاهش دهد (۵).

در مطالعه حاضر ضریب اسپرمیوژنز (SI)، ضریب تمایز لوله‌ای (TDI) و ضریب بازسازی (RI) به عنوان شاخص‌های ارزیابی اسپرماتوژنز که بیانگر روند فعالیت و تکثیر سلول‌های ردهٔ اسپرماتوژنز در اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز می‌باشد، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بیانگر تغییر شاخص‌های فوق در بیضه موش‌های تحت درمان با کتوکنازول در روزهای ۳۰، ٦۰ و۹۰ بود. تغییرات عمده در ضرایب اسپرماتوژنز به‌خصوص کاهش ضریب اسپرمیوژنز در گروه‌های تیمار به دلیل کاهش شدید سلول‌های اسپرماتید و اسپرماتوزوا می‌باشد. در مطالعه انجام شده توسط Amin در سال ۲۰۰۸، مصرف کتوکنازول با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به صورت تزریقی و به مدت ۵ روز در موش‌های صحرایی بالغ علاوه بر کاهش معنی‌دار وزن بیضه و اپی‌دیدیم موجب کاهش تعداد و درصد تحرک اسپرم‌ها گردید. همچنین آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز و کاهش سلول‌های زایا نیز

در گروه‌های تحت درمان با کتوکنازول مشاهده گردید (۵). در مطالعه صورت گرفته توسط Vickery و همکاران (۱۹۸۵)، مصرف خوراکی کتوکنازول در موش‌های نر بالغ با دوز ۲۵۰-۲۰۰ میلی‌گرم و در میمون با دوز ۱۰۰-۸۵ میلی‌گرم موجب کاهش تعداد اسپرم و کاهش تحرک اسپرم در این حیوانات گردید (١٤). در انسان نیز مصرف کتوکنازول با دوز درمانی ۸۰۰-۱۲۰ میلی‌گرم در روز به طور موقت سنتز تستوسترون و پاسخ غده فوق کلیوی به کورتیکوتروپین را مهار می‌کند. در این افراد اولیگواسپرمی (کاهش اسپرم) و آزو اسپرمی (فقدان اسپرم) پس از مصرف طولانی مدت کتوکنازول دیده می‌شود. هم‌چنین ناتوانی و کاهش میل جنسی اغلب در این افراد دیده می‌شود (۷).

به طور خلاصه نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز طولانی مدت کتوکنازول باعث کاهش اسپرماتوژنز و شاخص‌های آن در بافت بیضه موش سوری می‌شود. این کاهش در مقدار TDI، SI و RI احتمالاً از طریق کاهش غلظت سرمی تستسترون می‌باشد. البته اثر این دارو در روند اسپرماتوژنز و ناباروری انسان و حیوانات دیگر نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

فهرست منابع

۱. خدام، ر. (١٣٨٤): راهنمای کاربرد داروهای ژنریک ایران، چاپ دوم، انتشارات دیباج، صفحات: ٤٤٤-٤٤٣.

۲. شادان، ف. و صدیقی ا. (۱۳۸۱): فیزیولوژی پزشکی، (ترجمه)، تالیف: گایتون ا، چاپ اول، جلد دوم، تهران، انتشارات چهر، صفحات: ١٥٠٦-١٤٨٨.

۳. ملک نیا، ن. و شهبازی، پ. (۱۳۸۱): بیوشیمی عمومی، جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، فصل سیزدهم، صفحات: ٤٦٠-٤٣٣، فصل شانزدهم، صفحات: ٥٤٠-٤٩٧، فصل هفدهم، صفحات: ٥٧٨-٥٤١.

4. Adams, M., Meyer, E. and Cicero, T. (1998): Imidazoles suppress rat testosterone secretion and testicular interstitial fluid in vivo. Biology of Reproduction, 59: 248-254.
5. Amin, A. (2008): Ketoconazol-induced testicular damage in rats reduced by gentian extract. Experimental and Toxicologic Pathology, 59: 377-384.
6. Dellman, H.D. and Eurell, J. (1998): Textbook of Veterinary Histology, 5th ed., Williams and Wilkins, pp: 228-233.
7. Donet, A., Graybill, J., Craven, P., Galgiani, J. and Dismukes, W. (1984): High-dose ketoconazole therapy and adrenal and testicular function in humans. Arch Intern Med., 144(11): 2150-2153.
8. Hafez, B. and Hafez, E.S.E. (2000): Reproduction in Farm Animals, 7th ed.,, Lippincott Williams and Wilkins, pp: 12-20.
9. Meistrich, M., Wilson, G. and Porter, K. (2003): Restoration of spermatogenesis in DBCP-treated rats by hormone suppression. Toxicol. Sci., 76(2): 418-426.
10. Papich, M.G., Heit, M.C. and Riviere, J.E. Antifungal and antiviral drugs. In: Adams, H.R. (2001): Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 8th ed., Iowa State University Press / Ames., pp: 918-932.
11. Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. and Moore, P.K. (2003): Pharmacology. 5th ed., Churchill Livingstone International Edition, pp: 666-671.
12. Santen, R., Bossche, H. and Symoens, J. (1983): Site of action of low dose ketoconazole on androgen biosynthesis in men. J. Clin. Endocrinol. Metabol., 57: 732-736.
13. Shetty, G., Wilson, G. and Huhtanieme, I. (2000): Gonadotropin-releasing hormone analogs stimulated and testosterone ingibits the recovery of spermatogenesis in irradiated rats. Endocrinology, 141: 1735-1745.
14. Vickery, B.H., Burns, J., Zaneveld, L. and Goodpasture, J. (1985): Orally administered ketoconazole rapidly appears in seminal plasma and suppresses sperm motility. Advances in Contraception, 1(4): 324-330.
15. Zarn, A., Braschweiler, J. and Schlatter, R. (2003): Azole fungicides affect mammalian steroidogenesis by inhibiting sterol 14-a-demethylase and aromatas. Environmental Health Perspectives, 111: 255-261.