May & June 2023. Vol 22. No 2

Jundishapur
Scientific Medical Journal

Research Paper

Effects of Mycophenolate Mofetil in Isolation and in Combination with Testosterone on Sperm, Sex Hormones, and Antioxidant Enzymes in Male Rats

Fatemeh Hayati[1], *Homeira Rashidi[2], Ebrahim Soofari[3], Ghodrat Aalah Mohammadi[4]

1. Assistant Professor of Nephrology, Chronic Kidney Failure Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
2. Associate Professor of Endocrinology & Metabolism, Diabetes Research Center, Health Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
3. Medical student, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
4. Assistant Professor of Veterinary medicine, School of Veterinary medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Hayati F, Rashidi H, Soofari E, Mohammadi Gh. [Effects of Mycophenolate Mofetil in Isolation and in Combination with Testosterone on Sperm, Sex Hormones, and Antioxidant Enzymes in Male Rats (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2023; 22(2):237-246. 10.32592/JSMJ.22.2.237

https://doi.org/10.32592/JSMJ.22.2.237

ABSTRACT

Background and Objectives Mycophenolate mofetil (MMF) is an immunosuppressant drug that is used to inhibit organ transplant rejection and treat autoimmune diseases. Theoretically, such medications have spermatotoxic and genotoxic effects. Nonetheless, there is limited evidence on the effects of MMF on fertility. The present study aimed to assess the effects of MMF and testosterone on sperm, sex hormones, and antioxidant enzymes in male rats.

Subjects and Methods In this experimental study, 24 adult male Naval Medical Research Institute (NMRI) rats were randomly assigned to three groups: 1- saline serum (control), 2- MMF, and 3- MMF along with testosterone by subcutaneous injection for 65 days. Change in body weight, sperm quality (concentration, motility, and morphology), serum level of gonadotropin hormones, and testosterone, superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), catalase, total antioxidant capacity (TAC) in serum and epididymis were evaluated.

Results Both MMF treatment groups compared to control displayed a marked decrease in body weight, number and motility of sperm, level of testosterone, antioxidant enzymes (SOD, GSH, and catalase), and TAC ($P<0.05$), as well as an increase in gonadotropin hormones and sperm morphology abnormality ($P<0.05$). The adverse effects on sperm count and epididymis testosterone levels in the Mycophenolatemofetil +testosterone group were less than the Mycophenolate mofetil group ($P<0.05$).

Conclusion As evidenced by the obtained results, MMF exerts adverse effects on sperm count, gonadotropins, testosterone, and antioxidant pathway enzymes. Moreover, it was revealed that the use of testosterone cannot reduce the adverse effects of MMF. The adverse effects of MMF can be ascribed to a decrease in the level of antioxidants.

Keywords Antioxidants, Gonadotropins, Mycophenolate mofetil, Testosterone

Received: 25 Jan 2023
Accepted: 17 Sep 2023
Available Online: 22 Jul 2023

Corresponding Author:
Homeira Rashidi
Address: Diabetes Research Center, Health Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel: 09123142337
E-Mail: hrashidi2002@gmail.com

Extended Abstract

Introduction

Mycophenolate mofetil (MMF) is an immunosuppressive drug that is used to prevent organ transplant rejection and also to treat autoimmune diseases. By inhibiting the enzyme inosine monophosphate dehydrogenase, this drug reduces DNA synthesis and prevents the proliferation of T and B lymphocytes. Immunosuppressive drugs including MMF have different effects on reproduction and fertility. Most of these drugs decrease testosterone levels, increase gonadotropins and have different effects on spermatogenesis. Also, these drugs may directly and indirectly cause sexual dysfunction and spermatogenesis disorder and epididymal maturation change, but their effects and exact mechanism have not yet been determined. Immunosuppressive drugs increase reactive oxygen species (ROS) and reduce antioxidants. Also, ROS reduces the amount of male sex hormones and destroys the hormonal balance of male reproduction. Antioxidant systems including SOD, GSH and catalase can reduce ROS activity and oxidative conditions caused by some diseases and neutralize their cytotoxic properties. On the other hand, testosterone plays a role in many vital processes of the body, including reproduction and spermatogenesis. The therapeutic benefits of testosterone in men with its deficiency have been observed in the form of improved sexual performance and improved anthropometric parameters. Evidence on the effects of MMF on male fertility is limited and controversial. Therefore, this study aims to investigate the possible effects of MMF alone and in combination with testosterone on sperm indices, gonadotropins, testosterone and antioxidant enzymes such as SOD, GSH, catalase and TAC in the serum and epididymis of rats. A male desertion was performed.

Methods

This experimental study was approved by the Animal Ethics Committee of Ahvaz University of Medical Sciences with the ethics code IR.AJUMS.REC.1397.099, and all experimental protocols were in accordance with animal care guidelines and standards. In this study, 24 adult male NMRI mice (17-16 weeks) weighing 215-238 grams were randomly divided into 3 groups and treated for 65 days. The first group (control) received 0.1 ml of saline daily, the second group received 60 mg/kg of MMF and the third group received 60 mg/kg of MMF and 3 mg/kg of testosterone daily. They received enanthate as a subcutaneous injection. All mice were weighed before the study and on the last day of the study, and a blood sample was taken from them. On the 65th day after treatment, mice were anesthetized with 70 mg/kg ketamine and 7 mg/kg xylocaine by intraperitoneal injection and were euthanized. Then left testicle and its epididymis were separated and transferred to 2 ml of saline solution. The optical microscope was checked and the percentage of motile sperms was calculated. The percentage of sperm defects or abnormalities was calculated under the microscope. Blood samples were taken from left ventricle . The levels of plasma and epididymal testosterone hormones, LH and FSH in the serum were measured by ELISA method. The levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), catalase and total antioxidant capacity (TAC) enzymes in serum and epididymis were measured by calorimetric method. Statistical Analysis: The data were expressed as mean ± standard deviation, and the significance level was considered $p<0.05$ in the tests. SPSS version 22 software was used for statistical analyses.

Results

The results showed that the body weight gain in MMF treated groups was lower than the control group (P=0.01). Compared to MMF alone, the group treated with MMF+testosterone showed significant weight loss at the end of the treatment period (P<0.05) .The results showed that MMF decreases the concentration and movement of sperm and increases the abnormality in the shape of sperm in the drug-treated groups compared to the control group (P<0.001). Also, the decrease in the number and movement of sperm and the increase in the abnormality of sperm morphology in the combination treatment group with testosterone was less than in the MMF group alone (P<0.001). The effect of MMF on the changes of enzymes and sex hormones showed that the two treatment groups with MMF were associated with a decrease in testosterone levels and a decrease in the levels of SOD and TAC enzymes in serum and epididymis compared to the control (P=0.01). Serum catalase and GSH levels did not decrease significantly in the two treatment groups however, their levels in the epididymis in the treatment groups showed a significant decrease compared to the control group (P=0.01). Testosterone levels in serum and epididymis were more decreased in treated groups compared to control (P<0.05). Also, epididymal testosterone decreased more in the MMT group compared to the MMT+testosterone group (P<0.05). The serum levels of FSH and LH in the two treatment groups showed a significant increase compared to the control group (P<0.05).

Conclusion

The results of this study showed that MMF has negative effects on spermatogenesis, including a decrease in the number and motility of sperm, an increase in sperm disorder, an increase in the levels of sex hormones LH and FSH, a decrease in the level of testosterone and enzymes of the antioxidant pathway in the serum and epididymis of rats. It has a male desert and the use of testosterone cannot prevent the adverse effects of MMF. The negative effects of MMF may be due to a decrease in the level of antioxidants. But only based on the results of the present study and very limited evidence, spermatotoxic and genotoxic potentials of this drug cannot be rejected. Therefore, conducting more clinical studies in a controlled manner can help to understand the effects of MMF on the male reproductive system.

Jundishapur
Scientific Medical Journal

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This experimental study was approved by the Animal Ethics Committee of Ahvaz University of Medical Sciences with the ethics code IR.AJUMS.REC.1397.099, and all experimental protocols were in accordance with animal care guidelines and standards.

Funding

This study is extracted from a general medicine thesis with Research Project number CRD-9701 sponsored by Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz.

Authors contributions

Conceptualization and design of the study: HR،G.M, FH

Data collection, analysis and interpretation: ES, GM, FH.

Manuscript preparation: HR, ES

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: H.R, FH,ES

Statistical Analysis: ES,GM,HR.

Study supervision: HR,FH,ES

Conflicts of interest

None to declare.

Acknowledgements

This manuscript is the result of a general medical thesis with no, CRD-9701 in School of Medicine of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran. This research is financially supported by the Vice President of Research and Technology of Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz supported. Hereby, from the efforts of the faculty of veterinary medicine of Shahid University Chamran is appreciated and thanked.

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

مقاله پژوهشی

مقایسه‌ی اثرهای مایکوفنولات‌موفتیل به‌تنهایی و با تستوسترون بر اسپرم، هورمون های جنسی و آنزیم های آنتی اکسیدانی در موش صحرایی نر

فاطمه حیاتی[۱]، *حمیرا رشیدی[۲]، ابراهیم سوفاری[۳]، قدرت ا... محمدی[۴]

۱. استادیار بیماری های کلیه‌ی بالغان، مرکز تحقیقات نارسایی مزمن کلیه، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۲. دانشیار غدد درون‌ریز و متابولیسم (بالغین)، مرکز تحقیقات دیابت، پژوهشکده‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز،ایران.
۳. دانشجوی پزشکی عمومی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۴. قدرت‌الله محمدی، استادیار دام‌پزشکی، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Hayati F, Rashidi H, Soofari E, Mohammadi Gh. [Effects of Mycophenolate Mofetil in Isolation and in Combination with Testosterone on Sperm, Sex Hormones, and Antioxidant Enzymes in Male Rats (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2023; 22(2):237-246. 10.32592/JSMJ.22.2.237

https://doi.org/10.32592/JSMJ.22.2.237

CC BY NC

چکیده

زمینه و هدف مایکوفنولات‌موفتیل (MMF) داروی سرکوب‌کننده‌ی سیستم ایمنی است که برای جلوگیری از رد پیوند عضو و درمان بیماری های خودایمنی استفاده می شود. از نظر تئوری، این داروها دارای اثرهای اسپرماتوکسیک و ژنوتوکسیک هستند. بااین‌حال، شواهد درباره‌ی اثرهای این دارو بر باروری محدود و بحث‌برانگیز است. این مطالعه تأثیر داروی MMF و تستوسترون بر اسپرم، هورمون های تولیدمثلی و آنزیم های آنتی اکسیدانی در موش صحرایی نر را بررسی کرد.

روش بررسی در این مطالعه‌ی تجربی، ۲۴ موش نر بالغ Naval Medical Research Institute (NMRI) به‌صورت تصادفی، به سه گروه تقسیم شدند: ۱. سرم نمکی (کنترل)؛ ۲. مایکوفنولات‌موفتیل؛ ۳. مایکوفنولات‌موفتیل همراه با تستوسترون به‌صورت تزریق زیرجلدی به مدت ۶۵ روز. تغییرات وزن بدن، مشخصات اسپرم (غلظت، تحرک و مورفولوژی)، سطوح گنادوتروپین ها، تستوسترون و آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون (GSH)، کاتالاز و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) در سرم یا اپیدیدیم بررسی شد.

یافته‌ها هر دو گروه درمانی MMF در مقایسه با گروه کنترل، کاهش وزن بدن، تعداد و تحرک اسپرم، تستوسترون، آنزیم های آنتی اکسیدان و افزایش هورمون های گنادوتروپین و ناهنجاری مورفولوژی اسپرم را نشان دادند (P<۰/۰۵). کاهش اسپرم و سطح تستوسترون اپیدیدیم در گروه مایکوفنولات‌موفتیل همراه با تستوسترون کمتر از گروه مایکوفنولات‌موفتیل بود (P<۰/۰۵).

نتیجه گیری این مطالعه نشان داد که مایکوفنولات‌موفتیل اثرهای ناخواسته‌ای بر اسپرم، هورمون های جنسی، تستوسترون و آنزیم های مسیر آنتی اکسیدانی دارد و استفاده از تستوسترون نمی تواند اثرهای سوء مایکوفنولات‌موفتیل را کاهش دهد. اثرهای ناخواسته‌ی مایکوفنولات‌موفتیل ممکن است به‌دلیل کاهش سطح آنتی اکسیدان ها باشد.

کلیدواژه‌ها مایکوفنولات‌موفتیل، تستوسترون، گنادوتروپین ها، آنتی اکسیدان ها

تاریخ دریافت: ۳۰ خرداد ۱۴۰۲
تاریخ پذیرش: ۲۶ شهریور ۱۴۰۲
تاریخ انتشار: ۱۳ تیر ۱۴۰۲

نویسنده مسئول:
حمیرا رشیدی
نشانی: مرکز تحقیقات دیابت، پژوهشکده‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز،ایران.
تلفن: ۰۹۱۲۳۱۴۲۳۳۷
رایانامه: hrashidi2002@gmail.com

مقدمه

مایکوفنولات‌موفتیل (MMF) داروی سرکوب‌کننده‌ی سیستم ایمنی است که برای جلوگیری از رد پیوند عضو و همچنین، درمان بیماری های خودایمنی استفاده می شود. این دارو با مهار آنزیم اینوزین مونوفسفات دهیدروژناز باعث کاهش سنتز DNA و جلوگیری از تکثیر لنفوسیت‌های T و B می‌شود [۱].

داروهای تضعیف‌کننده‌ی سیستم ایمنی می توانند از طریق تغییر در DNA اسپرم یا ایجاد اثرهای اسپرماتوکسیک و ژنوتوکسیک، باعث اختلال در باروری شوند [۲]. داروهای سرکوب‌کننده‌ی ایمنی، از جمله MMF، اثرهای متفاوتی روی تولیدمثل و باروری می‌گذارند [۳, ۴]. بیشتر این داروها باعث کاهش سطح تستوسترون، افزایش گنادوتروپین ها و اثرهای مختلف بر اسپرماتوژنز می‌شوند [۱, ۵].

همچنین، این داروها ممکن است به‌طور مستقیم و غیرمستقیم، باعث اختلال در عملکرد جنسی و اختلال در اسپرم‌زایی و تغییر بلوغ اپیدیدیم شوند؛ اما تأثیرات و مکانیسم دقیق آن‌ها هنوز مشخص نشده است [۶, ۷].

داروهای سرکوب‌کننده‌ی ایمنی گونه های فعال اکسیژن (ROS) را افزایش [۸] و آنتی اکسیدان ها را کاهش می دهند [۹]. همچنین، ROS میزان هورمون جنسی مرد را کاهش می دهد و تعادل هورمونی تولیدمثل مردان را از بین می برد [۱۰]. سیستم های آنتی اکسیدان، شامل SOD ، GSH و کاتالاز، می توانند فعالیت ROS و شرایط اکسیداتیو ناشی از برخی بیماری‌ها را کاهش دهند و خواص سیتوتوکسیک آن‌ها را خنثی کنند [۱۱].

از طرف دیگر، هورمون تستوسترون در بسیاری از فرایندهای حیاتی بدن، از جمله تولیدمثل و اسپرماتوژنز، توسعه‌ی ویژگی‌های جنسی ثانویه و میل جنسی نقش دارد [۱۲] و مزایای درمانی تستوسترون در مردان با کمبود آن، به‌صورت بهبود عملکرد جنسی و بهبود پارامترهای انتروپومتریک مشاهده شده است [۱۳, ۱۴].

شواهد درباره‌ی اثرهای MMF بر باروری در مردها محدود و بحث‌برانگیز است [۳, ۴]؛ بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثرهای احتمالی داروی MMF (سل سپت) به‌تنهایی و در ترکیب با تستوسترون بر شاخص های اسپرم، گنادوتروپین ها، تستوسترون و آنزیم های آنتی اکسیدان مانندSOD، GSH و کاتالاز و TAC در سرم و اپیدیدیم موش صحرایی نر انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه‌ی تجربی را کمیته‌ی اخلاقی حیوانات در دانشگاه علوم پزشکی اهواز با کد اخلاق IR.AJUMS.REC.1397.099 تأیید کرد و تمام پروتکل‌های آزمایشی مطابق با دستورالعمل‌ها و استانداردهای مراقبت از حیوانات بود. در این مطالعه، تعداد ۲۴ سر موش نر بالغ NMRI (۱۶ تا ۱۷ هفته) با وزن ۲۱۵ تا ۲۳۸ گرم، به‌صورت تصادفی، به ۳ گروه تقسیم شدند و به مدت ۶۵ روز تحت درمان قرار گرفتند. گروه اول (شاهد) روزانه ۰/۱ میلی لیتر سرم نمکی، گروه دوم روزانه ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم MMF (شرکت زهراوی، ایران) [۱۵] و گروه سوم روزانه ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم MMF و ۳ میلی گرم بر کیلوگرم تستوسترون انانتات (شرکت ایران هورمون) به‌صورت تزریق زیرجلدی دریافت کردند [۱۶].

تمام موش ها قبل از مطالعه و در آخرین روز مطالعه، وزن شدند و نمونه خون از آن‌ها گرفته شد. ۶۵ روز پس از درمان، موش ها با **کتامین به‌صورت روزانه، با دوز ۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلوکائین با دوز ۷ میلی گرم بر کیلوگرم** به‌صورت تزریق داخل صفاقی، بیهوش و اتانازی شدند. سپس، بیضه‌ی چپ آن‌ها جدا شد و اپیدیدیم از بیضه خارج شد و به ۲ میلی لیتر محلول نمکی منتقل شد. پس از آن، اپیدیدیم بریده شد تا اسپرم ها در محلول بافری فسفات‌سالین آزاد شوند.

پس از ۱۵ دقیقه تیمار در دمای ۳۷ درجه، مخلوط حاوی اسپرم به مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ شد (۴۰۰۰ دور در دقیقه) و ۱ میلی لیتر از محلول رویی حاوی اسپرم جدا شد و با ۱ میلی لیتر محلول رنگ تریپتوفان بلو مخلوط شد و در لام هموسیتومتر قرار گرفت زیر میکروسکوپ نوری بررسی شد و درصد اسپرم های متحرک محاسبه شد. بخشی از محلول حاوی اسپرم نیز بعد از خشک شدن روی لام، با محلول Bouin فیکس شد و درصد نقص یا ناهنجاری‌های اسپرم در زیر میکروسکوپ محاسبه شد [۵].

نمونه‌های خون از بطن چپ گرفته و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفوژ شدند و پلاسمای آن‌ها به‌منظور انجام آزمایش‌های بعدی، در یخچال ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سطوح هورمون های تستوسترون پلاسما و اپیدیدیم، LH و FSH در سرم به‌روش ELISA و با کیت های پارس‌آزمون اندازه گیری شدند. سطوح آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون (GSH)، کاتالاز و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) در سرم و اپیدیدیم با روش کالریمتری با کیت های شرکت کوشان زیست اندازه‌گیری شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

برای تمام تجزیه‌وتحلیل‌های آماری، از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ استفاده شد. تمام داده‌ها برای مفروضات لازم بررسی شدند. برای ساخت

تحلیل مدل‌های واریانس، قبل از تجزیه‌وتحلیل، نرمال بودن توزیع داده‌ها و برابری واریانس‌ها با آزمون Shapiro-Wilk و Levene بررسی شدند. جهت تحلیل داده هادر گروهها از آزمون ANOVA یکطرفه استفاده شد. در صورت معنی داری سپس از آزمون تعقیبی LSD برای نشان دادن اختلاف معنی دار گروه‌ها انجام شد.

برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از آزمون تعقیبی گیمزهاول استفاده شد. برای تست‌های پارامتریک، داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شد. سطح معنی داری در آزمون‌ها P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج نشان داد که میزان افزایش وزن بدن در گروه های تحت درمان با MMF، نسبت به گروه کنترل کمتر بود (P=۰/۰۱). گروه تحت درمان با MMF همراه با تستوسترون در مقایسه با MMF به‌تنهایی، در انتهای دوره‌ی درمان، کاهش وزن درخور توجهی را نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول ۱).

نتایج نشان داد که MMF موجب کاهش غلظت و حرکت اسپرم و افزایش ناهنجاری در شکل اسپرم در گروه های تحت درمان با دارو نسبت به گروه کنترل می شود (P<۰/۰۰۱). همچنین، کاهش تعداد و حرکت اسپرم و افزایش ناهنجاری مورفولوژی اسپرم در گروه درمان ترکیبی با تستوسترون، کمتر از گروه MMF به‌تنهایی بود (P<۰/۰۰۱) (جدول ۲).

نتایج مربوط به اثر MMF بر تغییرات آنزیم ها و هورمون های جنسی حاکی از آن بود که دو گروه درمانی با MMF در مقایسه با گروه کنترل، کاهش سطح تستوسترون و کاهش سطوح آنزیم های SOD و TAC در سرم و اپیدیدیم نشان دادند (P=۰/۰۱). سطح کاتالاز و GSH سرم نیز در دو گروه درمانی کاهش معنی داری نداشت؛ بااین‌حال، میزان آن‌ها در اپیدیدیم در گروه های درمانی، کاهش درخور توجهی در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P=۰/۰۱) (جدول ۳).

جدول ۱. تغییرات وزن بدن در گروه های کنترل و مداخله

وزن بدن (kg) (انحراف معیار± میانگین)	کنترل	MMF	MMF+Testosterone	P-value
روز ۱	۲۳۵/۷۱ ± ۳/۶	۲۲۵/۶۴ ± ۵/۲۵	۲۱۵/۴۵ ± ۹/۶۵	۰/۳
روز ۶۵	T1,2۲۹۱/۲۰ ± ۹/۹۵	CT ۲۶۵/۸۰ ± ۷/۶۰	CT ۱۹۹ ±۱۰/۴۴	۰/۰۱
تغییرات وزن	T1,2۵۵/۴۹ ± ۶/۳۵	CT۴۰/۱۶ ± ۲/۳۵	CT–۱۶/۴۵ ± ۰/۷۹	۰/۰۱

MMF: Mycophenolate mofetil

C: اختلاف معنی دار با گروه کنترل؛ T: تفاوت معنی دار بین گروه های درمانی؛ CT: تفاوت معنی‌دار بین گروه های کنترل و درمانی

جدول ۲. تغییرات غلظت، حرکت و مورفولوژی اسپرم در گروه‌های کنترل و مداخله

متغیر (انحراف معیار± میانگین)	کنترل	MMF	MMF+Testosterone	P-value
تعداد اسپرم ($\times 10^6$/L)	T1,2 ۶۶/۴۰ ± ۱۴/۰۶	CT ۵۹/۲۰ ± ۱۰/۷۰	CT ۵۵/۳۳ ± ۷/۵۷	<۰/۰۰۱
ابنرمالیتی (درصد)	T1,2 ۵/۵ ± ۴/۲۹	CT ۳۰/۲۵ ± ۳/۸۰	CT ۳۱/۲۵ ± ۵/۸۰	<۰/۰۰۱
موتیلیتی (درصد)	T1,2 ۶۵/۴۰ ± ۴/۵۰	CT ۵۵/۲۶ ± ۱/۶۷	CT ۴۳/۶ ± ۴/۱۲	<۰/۰۰۱

C: اختلاف معنی دار با گروه کنترل؛ T: تفاوت معنی دار بین گروه‌های درمانی؛ CT: تفاوت معنی دار بین گروه‌های کنترل و درمانی

جدول۳. تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدان و هورمون تستوسترون در گروه‌های کنترل و مداخله

متغیر (انحراف معیار± میانگین)	کنترل	MMF	MMF+Testosterone	P-value
سرم(IU/l) GSH	۱۳/۸۰ ± ۳/۷۹	۱۳/۰۷ ± ۶/۰۶	۱۳/۱۲ ± ۲/۵۴	۰/۱
اپیدیدیم(IU/g tissue) GSH	T1,2 ۲/۳۷ ± ۰/۶۹	C ۲/۱۱ ± ۰/۲۰	C ۲/۱۷ ± ۰/۶۲	۰/۰۱
سرم(IU/ml) SOD	T1,2 ۴۴/۳۸ ± ۰/۰۶	C ۴۳/۱۷ ± ۰/۰۶	C ۴۱/۷۵ ± ۱/۰۶	۰/۰۱
اپیدیدیم(IU/g tissue) SOD	T1,2 ۱۳/۸۳ ± ۴/۳۲	C ۱۰/۳۶ ± ۳/۵۸	C ۱۰/۰۷ ± ۳/۱۳	۰/۰۱
سرم(IU/ml) CAT	۲/۸۷ ± ۰/۱۵	۲/۷۹ ± ۰/۳۱	۲/۵۲ ± ۱/۲۸	۰/۱
اپیدیدیم(IU/g tissue) CAT	T1,2 ۰/۵۵ ± ۰/۰۹	C ۰/۴۲ ± ۰/۰۰	C ۰/۴۴ ± ۰/۱۸	۰/۰۱

ادامه جدول ۳

سرم TAC (µmol/l)	۳۸/۰۶ ± ۴/۹۳ T1,2	۳۹/۳۱ ± ۷/۵۳ C	۳۹/۱۷ ± ۶/۶۴ C	۰/۰۱
اپیدیدیم TAC (µmol/g tissue)	۹/۹۵ ± ۲/۵۹ T1,2	۸/۱۱ ± ۳/۴۶ C	۸/۷۸ ± ۵/۱۸ C	۰/۰۱
سرم Testosterone (ng/ml)	۰/۷۸ ± ۲/۷۱ T1,2	۰/۳۳ ± ۰/۰۹ C	۰/۲۳ ± ۰/۶۱ C	۰/۰۱
اپیدیدیم Testosterone (ng/ g tissue)	۰/۶۰ ± ۰/۰۰۳ T1,2	۰/۳۰ ± ۰/۲۳ CT2	۱/۴۴ ± ۷/۸۹ CT1	۰/۰۱
سرم LH (ng/ml)	۰/۵۲ ± ۰/۲۰ T1,2	۰/۵۸ ± ۰/۲۰ C	۰/۵۹ ± ۰/۸۸ C	۰/۰۱
سرم FSH (ng/ml)	۰/۹۱ ± ۱/۲۰ T1,2	۱/۳۴ ± ۰/۴۴ C	۱/۲۹ ± ۰/۹۴ C	۰/۰۱

MMF: Mycophenolate mofetil; GSH: Glutathione; SOD: Superoxide dismutase; CAT: Catalase; TAC: Total antioxidant capacity; LH: Luteinizing Hormone; FSH: Follicle-Stimulating Hormone

C: اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل؛ T: تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های درمانی؛ CT: تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های کنترل و درمانی

سطح تستوسترون سرم و اپیدیدیم در گروه های تحت درمان در مقایسه با گروه کنترل، کاهش بیشتری داشت (P<۰/۰۵). همچنین، تستوسترون اپیدیدیم در گروه MMT، در مقایسه با گروه MMT همراه با تستوسترون، کاهش بیشتری داشت (P<۰/۰۵). سطوح سرمی FSH و LH در دو گروه درمانی، در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که MMF می تواند باعث اختلال در اسپرماتوژنز به‌صورت کاهش تعداد، تحرک اسپرم و افزایش اختلال اسپرم شود و بر افزایش وزن بدن اثر منفی بگذارد. همچنین، مصرف تستوسترون نمی تواند اثرهای منفی MMF بر وزن‌گیری و اسپرماتوژنز را کاهش دهد. بنابراین، اختلال در اسپرماتوژنز بعد از مصرف MMF می تواند به ناباروری در موش های نر منجر شود. نتایج مشابهی مبنی بر اختلال در اسپرماتوژنز و سیستم تولیدمثل مردان در پی مصرف داروهای سرکوب‌کننده‌ی سیستم ایمنی در سایر مطالعات نیز گزارش شده است [۵، ۷، ۱۷].

در مطالعه‌ی آزمایشگاهی Chen و همکاران نیز اختلال شدیدی در اسپرماتوژنز به‌صورت کاهش در تعداد، حرکت اسپرم و افزایش اختلال اسپرم بعد از درمان با عوامل سرکوب‌کننده‌ی سیستم ایمنی، از جمله تاکرولیموس، سیکلوسپورین و سیرولیموس، با دوزهای درمانی مشاهده شد. همچنین، سیکلوسپورین باعث کاهش وزن بدن شد؛ اما تاکرولیموس تأثیری بر وزن‌گیری نداشت [۵]. در دیگر مطالعات نیز گزارش شده است که تجویز سیکلوسپورین باعث کاهش وزن در موش های آزمایشگاهی می شود [۱۸، ۱۹].

داروهای سرکوب‌کننده‌ی سیستم ایمنی با تأثیر مستقیم بر محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–گنادها و کاهش عملکرد فاگوسیتیک سلول های سرتولی و ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت بیضه‌ها، باعث ایجاد اثرهای منفی بر شاخص های تولیدمثلی و افزایش ناهنجاری‌های تولیدمثلی و ناباروری می شوند [۵، ۲۰]. مطالعات انسانی محدودی در زمینه‌ی تأثیر MMF بر شاخص های باروری در مردان انجام شده است که نتایج متناقضی را گزارش کرده‌اند. از جمله در گزارش موردی Zuber و همکاران، گزارش شد که MMF به‌تنهایی تأثیر منفی بر پارامترهای کیفیت اسپرم ندارد؛ اما مصرف هم‌زمان آن با سیرولیموس باعث کاهش چشمگیر تعداد و حرکت اسپرم و افزایش تعداد اسپرماتوزوا آتیپیکال می‌شود [۲۱].

در مطالعه‌ی Koyun و همکارانش نیز گزارش شد که درمان‌های ترکیبی با MMF با ایجاد اثرهای منفی بر تعداد و تحرک اسپرم و کیفیت سمن همراه هستند؛ درحالی‌که MMF به‌تنهایی اثر منفی ندارد [۲۲]. در مطالعه‌ی فالوآپ Kyrieleis و همکارانش، درمان با MMF با تعداد و مورفولوژی نرمال اسپرم، اما کاهش حرکت آن همراه بود [۲۳]. مطالعات ذکرشده دارای محدودیت تعداد نمونه‌ی پایین (به‌صورت گزارش موردی یا گزارش موارد) و نداشتن گروه کنترل بودند و بیشتر درباره‌ی دریافت‌کنندگان پیوند کلیه انجام شده بودند و در آن‌ها، MMF همراه با سایر داروهای ایمونوساپرسیو تجویز شد. بنابراین، بر اساس مطالعات انسانی، اثرهای MMF بر شاخص های اسپرم همچنان نامشخص است. همچنین، اگرچه مطالعه‌ی حاضر تأثیر منفی MMF بر اسپرماتوژنز را نشان داد، این یافته هنوز به تأیید در مطالعات آینده نیاز دارد.

نتایج مطالعه‌ی حاضر همچنین نشان داد که در دو گروه درمانی MMF در مقایسه با گروه کنترل، سطوح تستوسترون سرم و اپیدیدیم کاهش و سطوح سرمی گنادوتروپین ها افزایش معنی داری یافت. همچنین، تستوسترون اپیدیدیم در گروه MMT کاهش بیشتری در مقایسه با گروه MMT همراه با تستوسترون داشت. مطابق با این یافته، Chen و همکاران نشان دادند که مصرف داروهای ایمونوساپرسیو سیکلوسپورین، تاکرولیموس و سیرولیموس باعث کاهش سطح تستوسترون و افزایش گنادوتروپین ها در موش های آزمایشگاهی می شود [۵]. در مطالعه‌ی Seethalakshmi و همکاران نیز گزارش شد که سیکلوسپورین

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

A باعث افزایش گنادوتروپین ها و کاهش تستوسترون می شود؛ اما تجویز تستوسترون می تواند از اثرهای منفی سیکلوسپورین بر اسپرماتوژنز جلوگیری کند [۲۴]. بخشی از این نتایج با یافته های مطالعه‌ی ما مطابقت ندارد که می تواند به‌دلیل تفاوت در داروی مصرفی، مدت درمان ۱۴ روز و دوز تستوسترون ۵ میلی گرم در روز بوده باشد [۲۴].

کاهش سطح تستوسترون سرم به‌علت حذف مکانیسم فیدبک منفی آن بر محور هیپوفیز–هیپوتالاموس، موجب افزایش گنادوتروپین های سرم می شود [۱۲]. کاهش سطح تستوسترون در موش های دریافت‌کننده‌ی MMF ممکن است به‌دلیل اثر اکسیدان ها بر سلول های لیدیگ باشد [۱۰, ۲۵, ۲۶]. استرس اکسیداتیو با آسیب زدن به سلول های لیدیگ، مستقیماً باعث کاهش تولید تستوسترون می شود [۲۷].

در مطالعه‌ی حاضر، MMF باعث کاهش سطوح آنزیم های مسیر آنتی اکسیدانی SOD و TAC در سرم و اپیدیدیم و کاهش کاتالاز و GSH در اپیدیدیم شد. همچنین، سطح کاتالاز و GSH سرمی در دو گروه درمانی، کاهش غیرمعنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. این یافته ها نشان می دهند که آنتی اکسیدان های تولیدشده در اپیدیدیم نمی توانند اکسیدان های تولیدشده در اپیدیدیم را مهار کنند. آنتی اکسیدان ها نقشی اصلی در اسپرماتوژنز و فعالیت اسپرم دارند و کاهش سطح آنتی اکسیدان ها به کاهش فعالیت اسپرم کمک می کند [۲۸]. در مجموع، به نظر می‌رسد که اثرهای منفی بر عملکرد سیستم تولیدمثلی در پی مصرف داروی MMF می تواند به‌علت کاهش سطح آنتی اکسیدان ها در سرم و اپیدیدیم باشد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که MMF اثرهای منفی بر اسپرماتوژنز دارد؛ مانند کاهش تعداد و تحرک اسپرم، افزایش اختلال اسپرم، افزایش سطوح هورمون های جنسی LH و FSH، کاهش سطح تستوسترون و آنزیم های مسیر آنتی اکسیدانی در سرم و اپیدیدیم موش های صحرایی نر. همچنین، استفاده از تستوسترون نمی تواند اثرهای سوء MMF را مهار کند.

اثرهای منفی MMF ممکن است به‌علت کاهش سطح آنتی اکسیدان‌ها باشد. تنها بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر و شواهد بسیار محدود، نمی‌توان پتانسیل‌های اسپرماتوکسیک و ژنوتوکسیک این دارو را رد کرد؛ لذا، انجام مطالعات بیشتر در زمینه‌ی بالینی، به‌صورت کنترل‌شده، می تواند به شناخت اثرهای MMF بر سیستم تولیدمثلی مردان کمک کند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه تجربی توسط کمیته اخلاقی حیوانات، دانشگاه علوم پزشکی اهواز با کد اخلاق IR.AJUMS.REC.1397.099 تائید شد و کلیه پروتکلهای آزمایشی مطابق با دستورالعملها و استانداردهای مراقبت از حیوانات بود

حامی مالی

دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

مشارکت نویسندگان

مفهوم سازی و طراحی مطالعه:HR، FH، G.M,

جمع آوری، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده ها: ES,GM,FH.

تهیه نسخه خطی:HR, ES

بازبینی انتقادی نسخه خطی برای محتوای فکری مهم:H.R, FH,ES

تجزیه و تحلیل آماری: ES,GM,HR

نظارت مطالعه:ES،HR,FH

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می کنندکه هیچگونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر حاصل پایان‌نامه‌ی پزشکی عمومی با شماره‌ی طرح CRD-9701، در دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز است. این پژوهش را از لحاظ مالی، معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز حمایت کرد. بدین‌وسیله از زحمات کارکنان دانشکده‌ی دام‌پزشکی دانشگاه شهید چمران تقدیر و تشکر می‌شود..

References

[1] Anderka MT, Lin AE, Abuelo DN, Mitchell AA, Rasmussen SA. Reviewing the evidence for mycophenolate mofetil as a new teratogen: case report and review of the literature. Am J Med Genet A. 2009;149(6):1241-8. [DOI: 10.1002/ajmg.a.32685] [PMID]

[2] Jensen NB, Justesen SD, Larsen A, Ernst E, Pedersen LH. A systematic overview of the spermatotoxic and genotoxic effects of methotrexate, ganciclovir and mycophenolate mofetil. Acta Obstet Gynecol Scand. 2021;100(9):1557-80. [DOI: 10.1111/aogs.14151] [PMID]

[3] Leroy C, Rigot JM, Leroy M, Decanter C, Le Mapihan K, Parent AS, et al. Immunosuppressive drugs and fertility. Orphanet J Rare Dis. 2015;10:136. [DOI: 10.1186/s13023-015-0332-8] [PMID]

[4] Perez-Garcia LF, Dolhain R, Vorstenbosch S, Bramer W, van Puijenbroek E, Hazes JMW, et al. The effect of paternal exposure to immunosuppressive drugs on sexual function, reproductive hormones, fertility, pregnancy and offspring outcomes: a systematic review. Hum Reprod Update. 2020;26(6):961-1001. [DOI: 10.1093/humupd/dmaa022] [PMID]

[5] Chen Y, Zhang Z, Lin Y, Lin H, Li M, Nie P, et al. Long-term impact of immunosuppressants at therapeutic doses on male reproductive system in unilateral nephrectomized rats: a comparative study. Biomed Res Int. 2013;2013:690382. [DOI: 10.1155/2013/690382] [PMID] [PMCID]

[6] Eckersten D, Giwercman A, Pihlsgård M, Bruun L, Christensson A. Impact of Kidney Transplantation on Reproductive Hormone Levels in Males: A Longitudinal Study. Nephron. 2018;138(3): 192-201. [DOI: 10.1159/000484992] [PMID]

[7] Semet M, Paci M, Saïas-Magnan J, Metzler-Guillemain C, Boissier R, Lejeune H, et al. The impact of drugs on male fertility: a review. Andrology. 2017;5(4):640-63. [DOI: 10.1111/andr.12366] [PMID]

[8] Namvaran F, Sharifi A, Namvaran MM, Maruf N, Azarpira N. The Effect of Tacrolimus on Reactive Oxygen Species and Total Antioxidant Status in Pancreatic Beta Cell Line. Exp Clin Transplant. 2015;13(6):510-5. [DOI: 10.6002/ect.2014.0028] [PMID]

[9] Ghaznavi R, Zahmatkesh M, Kadkhodaee M, Mahdavi-Mazdeh M. Cyclosporine effects on the antioxidant capacity of rat renal tissues. Transplant Proc. 2007;39(4):866-7. [DOI: 10.1016/j.transproceed.2007.02.039] [PMID]

[10] Appasamy M, Muttukrishna S, Pizzey AR, Ozturk O, Groome NP, Serhal P, et al. Relationship between male reproductive hormones, sperm DNA damage and markers of oxidative stress in infertility. Reprod Biomed Online. 2007;14(2):159-65. [DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60783-3] [PMID]

[11] He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. Cell Physiol Biochem. 2017;44(2):532-53. [DOI: 10.1159/000485089] [PMID]

[12] Van Belle S, Milich KM. Male Reproductive Endocrinology. Int J Primatol. 2016:1-4. [DOI: 10.1002/9781119179313.wbprim0431]

[13] Traish AM. Benefits and Health Implications of Testosterone Therapy in Men With Testosterone Deficiency. Sex Med Rev. 2018;6(1):86-105. [DOI: 10.1016/j.sxmr.2017.10.001] [PMID]

[14] Morgentaler A, Traish A, Hackett G, Jones TH, Ramasamy R. Diagnosis and Treatment of Testosterone Deficiency: Updated Recommendations From the Lisbon 2018 International Consultation for Sexual Medicine. Sex Med Rev. 2019;7(4):636-49. [DOI: 10.1016/j.sxmr.2019.06.003] [PMID]

[15] Lee Y-F, Cheng C-C, Lan J-L, Hsieh T-Y, Lin N-N, Lin H-Y, et al. Effects of mycophenolate mofetil on cutaneous lupus erythematosus in (NZB × NZW) F1 mice. J Chin Med Assoc. 2013;76(11):615-23. [DOI: 10.1016/j.jcma.2013.07.010] [PMID]

[16] Odom MR, Powers SA, Pak ES, Hannan JL. Testosterone Replacement Enhances Internal Pudendal Artery Relaxation to Reverse Erectile Dysfunction in a Rat Model of Androgen Deprivation Therapy. The FASEB Journal. 2019;33(1):693. [DOI: 10.1096/fasebj.2019.33.1]

[17] Chandra A, Midtvedt K, Åsberg A, Eide IA. Immunosuppression and Reproductive Health After Kidney Transplantation. Transplantation. 2019;103(11):e325-e33. [DOI: 10.1097/tp.0000000000002903] [PMID]

[18] Monteiro JC, Predes FS, Matta SL, Dolder H. Heteropterys aphrodisiaca infusion reduces the collateral effects of cyclosporine A on the testis. Anat Rec (Hoboken). 2008; 291(7):809-17. [DOI: 10.1002/ar.20709] [PMID]

[19] Masuda H, Fujihira S, Ueno H, Kagawa M, Katsuoka Y, Mori H. Ultrastructural study on cytotoxic effects of cyclosporine A in spermiogenesis in rats. Med Electron Microsc. 2003;36(3):183-91.[DOI:10.1007/s00795-003-0213-4] [PMID]

[20] Wagner M, Earley AK, Webster AC, Schmid CH, Balk EM, Uhlig K. Mycophenolic acid versus azathioprine as primary immunosuppression for kidney transplant recipients. Cochrane Database Syst Rev. 2015;12:Cd007746. [DOI:10.1002/14651858.CD007746.pub2] [PMID]

[21] Zuber J, Anglicheau D, Elie C, Bererhi L, Timsit MO, Mamzer-Bruneel MF, et al. Sirolimus may reduce fertility in male renal transplant recipients. Am J Transplant. 2008;8(7):1471-9. [DOI: 10.1111/j.1600-6143.2008.02267.x] [PMID]

[22] Koyun M, Baysal YE, Usta MF, Akman S, Güven AG. Evaluation of reproductive functions in male adolescents following renal transplantation. Pediatr Transplant. 2009;13(6):697-700. [DOI: 10.1111/j.1399-3046.2008.01052.x] [PMID]

[23] Kyrieleis HA, Löwik MM, Pronk I, Cruysberg HR, Kremer JA, Oyen WJ, et al. Long-term outcome of biopsy-proven, frequently relapsing minimal-change nephrotic syndrome in children. Clin J Am Soc Nephrol. 2009;4(10):1593-600. [DOI: 10.2215/cjn.05691108] [PMID] [PMCID]

[24] Seethalakshmi L, Flores C, Carboni AA, Menon M. Quantitative maintenance of spermatogenesis in cyclosporine-treated rats by exogenous administration of testosterone propionate. J Androl. 1990;11(6):491-7. [PMID]

[25] Darbandi M, Darbandi S, Agarwal A, Sengupta P, Durairajanayagam D, Henkel R, et al. Reactive oxygen species and male reproductive hormones. Reprod Biol Endocrinol. 2018;16(1):87. [DOI: 10.1186/s12958-018-0406-2] [PMID] [PMCID]

[26] Hardy MP, Gao HB, Dong Q, Ge R, Wang Q, Chai WR, et al.

Stress hormone and male reproductive function. Cell Tissue Res. 2005;322(1):147-53. [DOI: 10.1007/s00441-005-0006-2] [PMID]

[27] Zirkin BR, Chen H. Regulation of Leydig cell steroidogenic function during aging. Biol Reprod. 2000;63(4):977-81. [DOI: 10.1095/biolreprod63.4.977] [PMID]

[28] Subramanian V, Ravichandran A, Thiagarajan N, Govindarajan M, Dhandayuthapani S, Suresh S. Seminal reactive oxygen species and total antioxidant capacity: Correlations with sperm parameters and impact on male infertility. Clin Exp Reprod Med. 2018;45(2):88-93. [DOI: 10.5653/cerm.2018.45.2.88] [PMID]