مطالعه اثر کربنات لیتیوم (Lithium Carbonate) بر بافت بیضه نوزاد موش صحرائی در تغذیه با شیر مادر

- **سعید طلوع**: دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران
- **سیدسجاد حجازی***: گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۶

چکیده

مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر سمی لیتیوم بر میزان تغییرات سطح سرم هورمون تستسترون و تغییرات هیستومورفومتری بافت بیضه به‌ویژه بر روند اسپرماتوژنز آن در بیضه نوزادان موش صحرائی از طریق شیر مادر می‌باشد. نوزادان موش صحرائی به‌دنیا آمده با کربنات لیتیوم، از روز اول تا پایان دوره شیردهی (۲۱ روز) به‌طور متوالی یک‌روز در میان با دوز متوسط ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق داخل صفاقی به مادران شیرده تزریق شد. آزمایش هورمونی توسط کیت های Free Testosteron به‌روش الایزا انجام شد. نمونه‌های بافت بیضه به‌روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شده و زیر میکروسکپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها به‌صورت Mean±SE بیان شد و تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز آماری T-TEST توسط نرم‌افزار SPSS۱۳ جهت مقایسه وجود اختلاف بین دو گروه تیمار و شاهد استفاده شد. از نتایج به‌عمل آمده در مطالعه حاضر سطح هورمون تستوسترون خون، ضخامت قطر لوله منی‌ساز بافت بیضه، طول بیضه‌ها نوزاد و وزن بیضه‌های موش‌های نوزاد اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تیمار و شاهد به‌دست آمد. اما اثر تراوش دارو در شیر مادر بر ضریب Repopulation Index نوزادان اختلاف معنی‌داری نداشت. هم‌چنین وقوع تقسیمات میوز ۱ و میوز ۲ اسپرماتوژنز گروه شاهد رخ داده بود درحالی‌که در گروه تیمار روند اسپرماتوژنز کامل نشده بود. در مطالعه حاضر نیز نتایج به‌دست آمده حاکی از توقف و به تعویق انداختن فرایند اسپرماتوژنز به‌دنبال تراوش کربنات لیتیوم در شیر مادر بود که مطابق با یافته تحقیق فوق می‌باشد.

کلمات کلیدی: بیضه، شیر مادر، کربنات لیتیوم، موش صحرائی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: sajjad.hejazi@iaut.ac.ir

مقدمه

لیتیوم فلزی است از خانواده فلزات قلیائی سدیم، پتاسیم، منیزیوم که به‌صورت آزاد در محیط یافت نمی‌شود ولی از طریق بعضی غذاها، آب‌های معدنی و سبزیجات وارد بدن می‌گردد و میزان دریافت آن روزانه ۲ میلی‌گرم می‌باشد (Opresko، ۱۹۹۵). از ترکیبات این فلز در صنایع خودروسازی، باطری‌سازی، جوشکاری، لحیم‌کاری و سرامیک‌سازی استفاده زیادی می‌شود (Opresko، ۱۹۹۵). هم‌اکنون پر مصرف‌ترین ترکیب آن کربنات لیتیوم می‌باشد که در درمان اختلالات دوقطبی، مانیا، سایکوز و افسردگی ماژور به‌کار می‌رود (Jackson و Allison، ۱۹۸۹). این دارو تقریباً به‌طور کامل از طریق سیستم گوارشی جذب شده و به‌راحتی می‌تواند از سد خونی جفتی عبور کند به‌طوری‌که غلظت سرمی آن در مادر و جنین یکسان می‌گردد. هم‌چنین می‌تواند در شیر مادر نیز ترشح شده و میزان آن در شیر نصف غلظت سرمی مادر شود (Pienelli و همکاران، ۲۰۰۲). در طبقه‌بندی سازمان غذا و داروی ایالات متحده این دارو جزو گروه (D) قرار دارد بدین معنی که شواهدی مبنی بر وجود خطر برای جنین انسان وجود دارد اما منافع دارو استفاده آن را در زمان بارداری اجتناب ناپذیر می‌نماید (خدام، ۱۳۷۳). این دارو تقریباً به‌طور کامل از طریق سیستم گوارشی جذب شده و به‌راحتی توانایی عبور از سد خونی جفتی را داشته، به‌طوری‌که غلظت سرمی آن در مادر و جنین یکسان می‌گردد. هم‌چنین لیتیوم در شیر مادر نیز ترشح شده و میزان آن در شیر نصف غلظت سرمی مادر گزارش شده است (Oszukowska و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعاتی وجود دارد که اثر سمی لیتیوم را بر بافت بیضه و اسپرماتوژنز نشان می‌دهد (Nokhbatolfoghahai و Parivar، ۲۰۰۸). Uma و همکاران (۱۹۹۹)، Winchester و همکاران (۱۹۹۰)، چنین بیان کرده‌اند که لیتیوم به‌دلیل شباهت ترکیب شیمیایی که به کلسیم، منیزیوم، سدیم و پتاسیم دارد، با این عناصر در داخل سلول رقابت نموده و از طرفی باعث مهار تشکیل اینوزیتول و هم‌چنین تغییر در متابولیسم کاتکولامین‌ها را نیز موجب می‌گردد که شاید بتوان تغییرات رشدی حاصل از لیتیوم را به این مکانیسم‌ها مربوط دانست. لیتیوم علاوه بر تأثیر کاهنده‌ای که بر فعالیت محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد داشته و تولید هورمون‌های محرک فرایند اسپرماتوژنز را کاهش می‌دهد در مکانیسم دیگری مستقیماً بر بیضه اثر می‌کند و عوارض عمیقی که به‌جای می‌گذارد ناشی از این تأثیر می‌باشد. این یون به‌دلیل قابلیت عبور از سد خونی - بیضه‌ای مستقیماً بر سلول‌های جنسی در حال تکوین اثر داشته و با متوقف‌کردن چرخه رشد و تمایز سلولی بلوغ و آزاد شدن سلول‌های اسپرماتوزوآ از اپیتلیوم سمینی فر را مختل می‌کند و از این طریق موجب کاهش تعداد کل اسپرم تولیدی روزانه می‌شود، در نتیجه مردان مصرف‌کننده لیتیوم در بلندمدت با عوارضی هم‌چون کاهش فعالیت استروئیدسازی و کاهش بازده فرایند اسپرماتوژنز مواجه خواهند شد (Bagetta و همکاران، ۱۹۹۳). لذا مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر سمی لیتیوم بر میزان تغییرات سطح سرم هورمون تستسترون و تغییرات هیستومورفومتری بافت بیضه به‌ویژه بر روند اسپرماتوژنز آن در بیضه نوزادان موش صحرائی از طریق شیر مادر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی بر روی ۲۰ سر موش صحرائی ماده آبستن نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم و سن ۱۲ هفته از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند خریداری شد. موش‌ها در بخش نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز که از نظر روشنایی، آب آشامیدنی، رطوبت، غذا و کفپوش قفس‌ها مطابق روش‌های استاندارد بود نگه‌داری شدند. موش‌های ماده آبستن به‌طور تصادفی به ۲ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند.

بعد از به‌دنیا آمدن نوزادان در گروه تیمار با کربنات لیتیوم، از روز اول تا پایان دوره شیردهی (۲۱ روز) به‌طور متوالی یک‌روز در میان داروی کربنات لیتیوم دوز میانی ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (Thakur و همکاران، ۲۰۰۳) به مادران شیرده از طریق داخل صفاقی تزریق شد و به گروه شاهد به همان حجم داخل صفاقی آب مقطر تزریق شد. بعد از اتمام زمان دوره شیردهی ابتدا جهت خون‌گیری، آن‌ها را با کلروفرم بی‌هوش کرده و از قلب آن‌ها جهت سنجش سطح سرمی هورمون تستسترون خون‌گیری شد. پس از آن، نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و سرم آن‌ها جداسازی شد. سرم نمونه‌های خون توسط سانتریفیوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد جدا شدند. سرم‌ها تا زمانی که قرار بود همه آن‌ها به آزمایشگاه فرستاده شوند در دمای ۲۳- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. آزمایش هورمونی در تمامی نمونه‌های خونی توسط کیت‌های Free Testosteron به‌وسیله روش الایزا انجام شد. در نهایت موش‌ها به‌روش قطع نخایی گردن (Cervical Dislocation) کشته شدند. بیضه‌ها جداسازی شده و توسط ترازوی دیجیتال مدل wtb (ساخت شرکت radwag لهستان)، با دقت ۰/۰۱ گرم وزن آن‌ها

محاسبه شد. نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد بافر قرار گرفتند و بعد از طی مراحل معمول تهیه مقاطع بافتی، با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شده و زیر میکروسکپ نوری نیکون (مدل Eclipse E۲۰۰، ساخت کشور ژاپن) مورد بررسی قرار گرفت و توسط عدسی مدرج خطی و با لنز ۴۰، پارامترهای کمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌ها به‌صورت Mean±SE بیان شد و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز آماری T-TEST توسط نرم‌افزار SPSS۱۳ جهت مقایسه وجود اختلاف بین دو گروه شاهد و تیمار شده با کربنات لیتیوم استفاده شد. مقدار p<۰/۰۵ برای تعیین سطح معنی‌دار بودن بین گروه‌ها در نظر گرفته شد. ضخامت لوله‌های منی‌ساز با سطح مقطع یکسان (از نظر شکل) زیر میکروسکوپ توسط عدسی مدرج مورد اندازه‌گیری قرار گرفته شد. برای محاسبه ضریب شاخص تعداد (Repopulation Index) نسبت سلول‌های اسپرماتوگونی فعال به سلول‌های اسپرماتوگونی غیرفعال در لوله‌های منی‌ساز محاسبه گردید. برای این کار نیز بیش از ۲۰۰ مقطع لوله‌های منی‌ساز شمارش گردید (Meistrich و همکاران، ۲۰۰۳).

نتایج

نتایج بیوشیمیایی - اثر بر سطح سرمی هورمون تستسترون : سطح سرمی هورمون تستسترون خون در گروه موش‌های نوزاد شاهد ۱/۰۵۲±۰/۵۹۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر و در گروه موش‌های نوزاد تیمار با کربنات لیتیوم ۰/۹۷±۰/۶۲۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. در اعداد به‌دست آمده اختلاف معنی‌داری دیده شد (p<۰/۰۵)(جدول ۱).

نتایج ریخت‌شناسی- اثر بر ضخامت قطر لوله منی‌ساز بافت بیضه: ضخامت قطر لوله منی‌ساز بافت بیضه در گروه موش‌های نوزاد شاهد ۱۴۵/۹۲±۳/۱۵۲ و در گروه موش‌های نوزاد تیمار با کربنات لیتیوم ۱۲۰/۵۱±۳/۴۳۸ میکرومتر محاسبه شد. در اعداد به‌دست آمده اختلاف معنی‌داری دیده شد (p<۰/۰۵) (جدول ۱).

اثر بر طول بیضه‌های موش‌های نوزاد: طول بیضه چپ در گروه موش‌های نوزاد شاهد ۴/۳۳±۰/۱۰ میلی‌متر و در گروه موش‌های نوزاد تیمار با کربنات لیتیوم ۳/۷۷±۰/۰۸ میلی‌متر محاسبه شد. در اعداد به‌دست آمده اختلاف معنی‌داری دیده شد (p<۰/۰۵)(جدول ۱).

اثر بر وزن بیضه‌های موش‌های نوزاد: وزن بیضه چپ در گروه موش‌های نوزاد شاهد ۰/۲۶±۰/۰۰۱ گرم و در گروه موش‌های نوزاد تیمار با کربنات لیتیوم ۰/۱۸±۰/۰۰۱ گرم محاسبه شد. در اعداد به‌دست آمده اختلاف معنی‌داری دیده شد (p<۰/۰۵) (جدول ۱).

اثر بر ضریب شاخص تعداد (Repopulation Index): ضریب شاخص تعداد در گروه موش‌های نوزاد شاهد ۱/۹۲±۰/۶۲۹ و در گروه موش‌های نوزاد تیمار با کربنات لیتیوم ۱/۷۶±۰/۴۰۸ محاسبه شد. در اعداد به‌دست آمده اختلاف معنی‌داری دیده نشد (p>۰/۰۵)(جدول ۱).

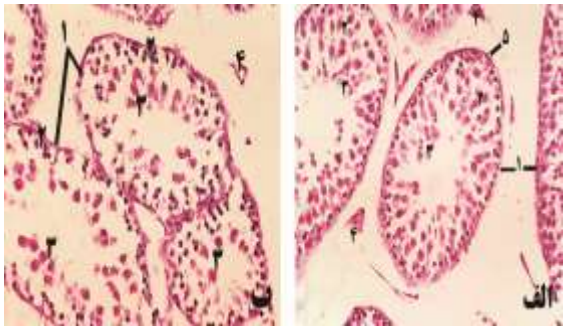
جدول۱: مقایسه میانگین پارامترهای کمی در گروه‌های موش‌های نوزاد شاهد و تیمار شده با کربنات لیتیوم

گروه‌ها (متغیرها)	نوزادان نرمال تعداد=۱۵	نوزادان تیمار شده با کربنات لیتیوم تعداد=۱۵
سطح سرمی هورمون تستسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۱/۰۵۲±۰/۵۹۴[b]	۰/۹۷ ±۰/۶۲۵[a]
ضخامت قطر لوله منی‌ساز (میکرومتر)	۱۴۵/۹۲±۳/۱۵۲[b]	۱۲۰/۵۱±۳/۴۳۸[a]
طول بیضه چپ (میلی‌متر)	۴/۳۳ ±۰/۱۰[b]	۳/۷۷±۰/۰۸ [a]
وزن بیضه چپ (گرم)	۰/۲۶ ±۰/۰۰۱[b]	۰/۱۸ ±۰/۰۰۱[a]
ضریب شاخص تعداد	۱/۹۲±۰/۶۲۹[a]	۱/۷۶±۰/۴۰۸[a]

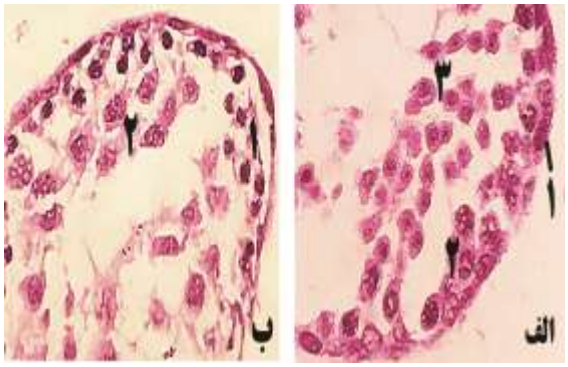
حروف انگلیسی در هر ستون نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

نتایج تغییرات بافتی: بعد از آماده‌سازی نمونه‌های بافتی بیضه، آن‌ها را در زیر میکروسکوپ نوری (نیکون مدل) مورد بررسی قرار داده شد. در نمونه‌های گروه شاهد ، لوله‌های منی‌ساز بافت بیضه دارای سلول‌های جنسی اسپرماتوگنی در بخش قاعده‌ای از دو نوع فعال و غیرفعال قابل مشاهده بود. سلول‌های اسپرماتوگنی فعال با هسته‌ای کروی و هیپرکروماتیک از اسپرماتوگنی‌های غیرفعال با هسته کشیده‌تر و یوکروماتیک قابل تفکیک بودند. سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه که بزرگ‌ترین سلول‌های ردهٔ اسپرماتوژنز می‌باشند با هستهٔ بزرگ و سیتوپلاسم وسیع با طرح کروماتین داخل هسته‌ای با اشکال مختلف مشاهده

شد. این سلول‌ها در رده دوم از سلول‌های جنسی در اپیتلیوم زایگر قرار دارند. سلول‌های اسپرماتید با هسته‌های گرد و کوچک در حفره میانی لوله‌های منی‌ساز قرار دارند. سلول‌های غیرجنسی سرتولی، لابلای سلول‌های جنسی اسپرماتوگنی با هسته‌های روشن سه گوش با هستک مشخص مشاهده بودند. هم‌چنین سلول‌های لایدیگ نیز در فضای بینابینی به‌طور توده‌های چندتایی باهسته‌ای یوکروماتین کروی و سیتوپلاسمی اسیدوفیلی قابل مشاهده بودند. مهم‌ترین رویدادی که در نمونه‌های بافت بیضه گروه شاهد ثبت گردید وقوع تقسیمات میوز ۱ و میوز ۲ اسپرماتوژنز بود. به‌طوری‌که رده سلول‌های جنسی از اسپرماتوگنی تا خود اسپرماتید در این مقطع از سن موش‌های نوزاد انجام شده بود. در بررسی نمونه‌های بافت بیضه از گروه تیمار، سلول‌های اسپرماتوگنی فعال و غیرفعال در قاعده لوله منی‌ساز دیده شدند. و سلول‌های غیرجنسی سرتولی در بین این سلول‌ها با ویژگی ریختی این سلول‌ها قابل شناسایی بودند. در رده دوم سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه وجود داشت با این تفاوت نسبت به گروه شاهد که تمامی جمعیت سلول‌های جنسی در لایه زایگر لوله منی‌ساز (با صرف‌نظر از اسپرماتوگنی‌ها) به‌خود اختصاص داده بودند. در نمونه‌های مورد مطالعه، سلول‌های اسپرماتید در لوله‌های منی‌ساز گروه تیمار دیده نشدند. از لحاظ ریخت‌شناسی لوله‌های منی‌ساز در گروه تیمار شکل هندسی نامنظمی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. پراکندگی توده سلول‌های لایدیگ در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد در سطح کمی مشاهده شد.



شکل۱: نمای میکروسکپی از لوله‌های منی‌ساز بافت بیضه نوزاد موش سوری. الف-گروه شاهد: شکل هندسی منظم دیواره لوله‌های منی‌ساز(۱)، تقسیم سلول‌های رده اسپرماتوسیتی(۲)، حضور سلول‌های اسپرماتیدی در مرکز لومن(۳)، توده سلول‌های لایدیگ واقع در فضای بینابینی(۴) و سلول‌های میواپی تلیال در دیواره لوله‌های منی‌ساز. ب-گروه تیمارشده با کربنات لیتیوم: به‌هم ریختگی شکل هندسی دیواره لوله‌های منی‌ساز(۱)، پراکندگی سلول‌های اسپرماتوگنی(۲)، پراکندگی سلوهای رده اسپرماتوسیتی و عدم وجود سلول‌های اسپرماتیدی(۳) و کاهش توده سلول‌های لایدیگ(۴)، (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگ‌نمائی× ۴۰۰برابر).



شکل ۲: نمای میکروسکپی از لوله منی‌ساز بافت بیضه نوزاد موش سوری. الف-گروه شاهد: سلول‌های اسپرماتوگنی (۱)، تقسیم سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه (۲)، تجمع سلول‌های اسپرماتیدی در مرکز لومن و تکمیل اسپرماتوژنز(۳). ب-گروه تیمارشده با کربنات لیتیوم: سلول‌های اسپرماتوگنی (۱)، تقسیم سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه و عدم وجود سلول‌های اسپرماتیدی (۲) (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگ‌نمائی × ۱۰۰۰برابر).

بحث

اسپرماتوژنز یک فرایند پویا است که در آن اسپرماتوگونی دیپلویید تحت ۱۰ تقسیم میتوز و ۲ تقسیم میوز تبدیل به اسپرماتوزوای هاپلویید می‌شود (Russel و همکاران، ۱۹۹۰). این فرایند از بلوغ شروع شده و تا پایان عمر ادامه دارد که در موش ۳۵ روز و در انسان ۶۴ روز است (Brinster، ۲۰۰۲). اسپرماتوگونی‌ها روی غشای پایه لوله‌های منی‌ساز قرار دارند، بنابراین در همان محل تقسیم و تمایز می‌یابند (Tegelenbosch و Rooij، ۱۹۹۳). از نتایج به‌عمل آمده در مطالعه حاضر در بخش هیستومورفومتری اثر بر ضخامت قطر لوله منی‌ساز بافت بیضه، اثر بر طول بیضه‌های موش‌های نوزاد و اثر بر وزن بیضه‌های موش‌های نوزاد اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های شاهد و تیمار به‌دست آمد که نشان دهنده تراوش دارو از شیر مادر و انتقال آن به نوزادان در حال رشد و اثرپذیری دارو بر این پارامتر ها می‌باشد. اما اثر تراوش دارو در شیر مادر بر ضریب شاخص تعداد Repopulation Index نوزادان اختلاف معنی‌داری نداشت که می‌تواند مرتبط با دوز یا مدت زمان تجویز دارو دانست. در یک مطالعه‌ای بر روی موش‌های صحرایی، تأثیر استعمال طولانی مدت کربنات لیتیوم در کاهش باروری جنس نر را ثابت نموده است (Miraglia و همکاران، ۲۰۱۱). در تحقیقی که توسط سیدحسینی و همکاران (۱۳۹۲) صورت گرفت، کربنات لیتیوم در وزن، طول بیضه در پایان ۴۰ روز درمان اثر کاهش معنی‌داری را نشان داد ولی عرض بیضه کاهش معنی‌داری نشان نداد. در مطالعه Thakur و همکاران

(۲۰۰۳) با دوزهای بالا و پایین کربنات لیتیوم بر روی اندام تناسلی نر موش‌های صحرائی چنین بیان نمودند که کربنات لیتیوم با دوز بالا (۸۰۰-۱۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و در معرض طولانی مدت قرار دادن (۹۰ روز) آن اثر معنی‌داری بر کاهش حجم بیضه، اپی‌دیدیم و وزن اندام‌های جنسی دارد. نتایج تحقیقات فوق با نتیجه مطالعه حاضر که با کاهش وزن و طول بیضه همراه شد مطابقت دارد. رفیق‌دوست و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیق اثر کربنات لیتیوم با دوز میانی گزارش شده کرده‌اند که لیتیوم به راحتی می‌تواند ازسدخونی- جفتی عبورکرده و به جنین برسد. در مطالعه حاضر نیز تراوش دارو به شیر و انتقال به نوزاد گزارش شد. Uma و همکاران (۱۹۹۹)، Winchester و همکاران (۱۹۹۰) چنین بیان کرده‌اند که لیتیوم به‌دلیل شباهت ترکیب شیمیایی که به کلسیم، منیزیوم، سدیم و پتاسیم دارد، با این عناصر در داخل سلول رقابت نموده و از طرفی باعث مهار تشکیل اینوزیتول و هم‌چنین تغییر در متابولیسم کاتکولامین‌ها را نیز موجب می‌گردد که شاید بتوان تغییرات رشدی حاصل از لیتیوم را به این مکانیسم‌ها مربوط دانست. Marathe و همکاران (۱۹۸۶)، Smithberg و Dixit (۱۹۸۲) چنین بیان نموده‌اند که ناهنجاری‌های ماکروسکوپیک متعددی در جنین رت و موش‌هایی که مادرانشان در معرض کربنات لیتیوم (با دوز بالا) قرار گرفته‌اند رخ داده است، از جمله می‌توان به ایجاد شکاف کام، سینداکتیلی، نقایص مفصل مچ پا، موجی‌شدن دنده‌ها، مغز خمیری، کوتاهی و تغییر شکل استخوان‌های اندام‌ها اشاره نمود. از طرفی در مطالعه رفیق‌دوست و همکاران (۱۳۸۸) هیچ‌گونه ناهنجاری ماکروسکوپی در جنین‌های گروه آزمایش و شاهد مشاهده نشد. در مطالعه حاضر تراوش دارو به شیر با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث ایجاد ناهنجای‌های ماکروسکوپیک نگردید.

مهم‌ترین نتیجه‌ای که از مشاهدات میکروسکوپی در مطالعه حاضر به‌دست این بود که درگروه شاهد وقوع تقسیمات میوز ۱ و میوز ۲ اسپرماتوژنز رخ داده بود. به‌طوری‌که رده سلول‌های جنسی از اسپرماتوگنی تا خود اسپرماتید دیده شد. درحالی‌که در گروه تیمار روند اسپرماتوژنز کامل نشده بود. از آن‌جایی‌که این روند واسطه به سطح هورمون تستسترون می‌باشد تراوش دارو از شیر و انتقال آن به نوزادان از طریق اختلال در سطح هورمونی تستسترون توانسته این روند را مختل نماید. مطالعات انجام شده گویای آن می باشد. Allagui و همکاران (۲۰۰۵) در مورد عوارض جانبی غلظت سرمی پایین لیتیوم بر عملکرد جنسی، تیروئید و کلیه در رت‌های نر و ماده انجام شد نشان داده شد که با درمان لیتیوم سطح تستسترون کاهش یافت و اسپرماتوژنز متوقف شد که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در مطالعه سیدحسینی و همکاران (۱۳۹۲) چنین گزارش شد که کربنات لیتیوم از طریق کاهش سطح LH و FSH سبب اختلال در اسپرماتوژنز می‌شود. در مطالعه Allagui و همکاران (۲۰۰۶)، چنین بیان شده است که تغییرات رشد رت‌ها و سطح خونی هورمون‌های جنسی و تیرویید در رت‌های تحت درمان مزمن با لیتیوم، داده‌ها نشان‌دهنده این امر بود که سطح سرمی تستسترون و استرادیول بعد از روزهای ۷ و۱۴ و۲۱و ۲۸ در رت‌های نر تحت درمان تستسترون کاهش یافت و اسپرماتوژنز متوقف شد. لیتیوم علاوه بر تأثیر کاهنده‌ای که بر فعالیت محور هیپوتالاموس -هیپوفیز-گناد داشته و تولید هورمون‌های محرک فرایند اسپرماتوژنز را کاهش می‌دهد، در مکانیسم دیگری مستقیماً بر بیضه اثر می‌کند و عوارض عمیقی که به جای می‌گذارد ناشی از این تأثیر می‌باشد. این یون به‌دلیل قابلیت عبور از سد خونی -بیضه‌ای مستقیماً بر سلول‌های جنسی در حال تکوین اثر داشته و با متوقف‌کردن چرخه رشد و تمایز سلولی بلوغ و آزادشدن سلول‌های اسپرماتوزوآ از اپیتلیوم سمینی‌فر را مختل می‌کند و از این طریق موجب کاهش تعداد کل اسپرم تولیدی روزانه می‌شود، در نتیجه مردان مصرف‌کننده لیتیوم در بلندمدت با عوارضی هم‌چون کاهش فعالیت استروئیدسازی و کاهش بازده فرایند اسپرماتوژنز مواجه خواهند شد (Bagetta و همکاران، ۱۹۹۳). در مطالعه حاضر نیز نتایج به‌دست آمده حاکی از توقف و به تعویق انداختن فرایند اسپرماتوژنز به‌دنبال تراوش کربنات لیتیوم در شیر مادر بود که مطابق با یافته تحقیق فوق می‌باشد.

تحقیقات نشان داده است که فرآیند اسپرماتوژنز با وزن بیضه‌ها ارتباط مستقیمی دارد. در مطالعه حاضر وزن بیضه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافته است که آثار آن بر روی اسپرماتوژنز قابل مشاهده بود و نتایج این پژوهش این گونه نشان می‌دهد که اختلال در اسپرماتوژنز است. از طرفی لیتیوم موجب کاهش هورمون‌های تستوسترون شده است که شروع و دوام اسپرماتوژنز وابسته به این هورمون‌هاست این احتمال وجود دارد اثر سوء لیتیوم بر روی اسپرماتوژنز به‌صورت غیرمستقیم وابسته به این هورمون‌ها به‌ویژه تستوسترون باشد که در این تجربه کاهش معنی‌داری در گروه تجربی نشان داده است.

منابع

۱. **سیدحسینی، ح.؛ سهرابی، م.؛ موسوی، م.؛ قنبری‌گرگانی، م.؛ سرشار، س.؛ مظوم‌زاده، س. و حسینی، ز.، ۱۳۹۲.** اثر

لیتیوم بر سطح تستوسترون، گنادوتروپین‌های هیپوفیزی و ساختمان بافتی تستیس در موش صحرایی نر بالغ. مجله دانشکده پزشکی اصفهان. شماره ۲۲۷، صفحات ۱۹۱ تا ۱۹۹.

۲. **رفیق‌دوست، ه.؛ حیدری، ز.؛ محمودزاده‌ثاقب، ح. و سربیشگی، م.، ۱۳۸۸.** اثرات فیتوتوکسیک کربنات لیتیوم بر پارامترهای رشد دوره جنینی در موش صحرائی آزمایشگاهی. طبیب شرق. سال ۵، شماره ۲، صفحات ۱۱۵ تا ۱۲۱.

۳. **خدام، ر.، ۱۳۷۳.** داروهای ژنریک ایران. چاپ سوم. انتشارات اشارات. ۲۴۸ صفحه.

۴. **Allagui, M.S.; Hfaiedh, N.; Vincent, C.; Guermazi, F.; Murat, J.C. and Croute, F., ۲۰۰۶.** Changes in growth rate and thyroid- and sex-hormones blood levels in rats under sub-chronic lithium treatment. Hum Exp Toxicol. Vol. ۲۵, No. ۵, pp: ۲۴۳-۲۵۰.

۵. **Allagui, M.S.; Hfaiedh, N.; Croute, F.; Guermazi, F.; Vincent, C. and Soleilhavoup, J.P., ۲۰۰۵.** Side effects of low serum lithium concentrations on renal, thyroid, and sexual functions in male and female rats. C R Biol. Vol. ۳۲۸, No. ۱۰-۱۱, pp: ۹۰۰-۹۱۱.

۶. **Bagetta, G.; Corasaniti, M.T.; Melino, G.; Paoletti, A.M.; Finazziagro, A. and Nistico, G., ۱۹۹۳.** Lithium and Tacrne increase the expression of Nitric Oxide synthase Mrna in the Hippocampus of Rat. Biochemical and Biophysical research communications. Vol. ۱۹۷, No. ۳, pp: ۱۱۳۲-۱۱۳۹.

۷. **Banerji, T.K.; Maitra, S.K.; Basu, A. and Hawkins, H.K., ۱۹۹۹.** Lithium-induced alterations in the testis of the male roseringed parakeet (*Psittacula krameri*): evidence for significant structural changes and disruption in the spermatogenetic activity. Endocr Res. Vol. ۲۵, No.۱, pp: ۳۵-۴۹.

۸. **Brinster, R.L., ۲۰۰۲.** Germline stem cell transplantation and transgenesis. Science. Vol. ۲۹۶, No. ۵۵۷۶, pp: ۲۱۷۴-۲۱۷۶.

۹. **Grinspon, R.P. and Rey, R.A., ۲۰۱۰.** Anti-mullerian hormone and sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. Horm Res Paediatr. Vol. ۷۳, No. ۲, pp: ۸۱-۹۲.

۱۰. **Jackson, E. and Allison, J.R., ۱۹۸۹.** Lithium. In: Noji E, Gabor DK.Text book of manual of toxicology emergencies.۱st edition. Yearbook medical publishers. Chicago, USA. pp: ۳۱۲- ۳۱۶.

۱۱. **Marathe, M.R. and Thomas, G.P., ۱۹۸۶.** Embryotoxicity and teratogenicity of lithium carbonate in wistar rat. Toxicolo Lett. Vol. ۳۴, No. ۱, pp: ۱۱۵-۱۲۰.

۱۲. **Meistrich, M.; Wilson, G. and Porter, K., ۲۰۰۳.** Restoration of spermatogenesis in DBCP – treated rats by hormone suppression, Toxicol. SCi. Vol. ۷۶, No. ۲, pp: ۴۱۸-۴۲۶.

۱۳. **Miraglia, E.; De Angelis, F.; Gazzano, E.; Hassanpour, H., Bertagna, A.; Aldieri, E.; Revelli, A. and Ghigo, D., ۲۰۱۱.** Nitric oxide stimulates human sperm motility via activation of the cyclic GMP/protein kinase G signaling pathway Reproduction. Vol. ۱۴۱, No. ۱, pp: ۴۷-۵۴.

۱۴. **Morgan, J.; Golub, M.; Kaufman, F. and Hong, L.L., ۲۰۰۲.** Evidence on the developmental and reproductive toxicity of bromacil lithium salt. Available from: www.oehha.ca.gov/prop۶۵/hazard-ident/pdf-zip/bromacil HID.

۱۵. **Pienelli, J.M.; Symington, A.J.; Cunningham, K.A. and Pase, B.A., ۲۰۰۲.** Case report and review of the perinatal implications of maternal lithium use. Am J Obstet Gynecol. No. ۱۸۷, pp: ۲۴۵-۲۴۹.

۱۶. **Winchester J.F.; Lithium. In: Haddad L.M. and Winchester J.F., ۱۹۹۰.** Clinical management of poisoning and drug over dose .۲nd edition. Sanders. Philadelphia, USA. pp: ۶۵۶-۶۶۵.

۱۷. **Nokhbatolfoghahai, M. and Parivar, K., ۲۰۰۸.** Teratogenic effect of lithium carbonate in early development of BALB/c mouse Anat Rec. Vol. ۲۹۱, No. ۹, pp: ۱۰۸۸-۱۰۹۶.

۱۸. **Opresko, D.M., ۱۹۹۵.** Toxicity summery for lithium. Available from: http://rislc.lsd.ornl.gov/lith.shtml.

۱۹. **Oszukowska, L.; Knapska–kucharska, M.; Makarewicz, J. and Lewinski, A., ۲۰۱۰.** The influence of thiamazole, lithium carbonate, or prednisone administration on the efficacy of radioiodine treatment (۱۳۱I) in hyperthyroid patients. Endokrynol Pol. Vol. ۶۱, No. ۱, pp: ۵۶-۶۱.

۲۰. **Russell, L.D.; Ettlin, R.A.; Sinha-Hikim, A.P. and Clegg, E.D., ۱۹۹۰.** Mammalian spermatogenesis. In: histological and histopathological evaluation of the testis. Edited by Russell LD, Ettlin RA, Sinha-Hikim AP, Clegg ED. Clearwater, FL, Cache River Press. pp: ۱-۴۰.

۲۱. **Smithberg, M. and Dixit, P.K., ۱۹۸۲.** Teratogenic effects of lithium in mice. Teratology. Vol. ۲۶, No. ۳, pp: ۲۳۹-۴۶.

۲۲. **Tegelenbosch, R.A. and Rooij, D.G., ۱۹۹۳.** A quantitative study of spermatogonial multiplication and stem cell renewal in the C۳H/۱۰۱ F۱ hybrid mouse. Mutat Res. Vol. ۲۹۰, No. ۲, pp: ۱۹۳-۲۰۰.

۲۳. **Thakur, S.C.; Thakur, S.S.; Chaube, S.K. and Singh, S.P., ۲۰۰۳.** Subchronic supplementation of lithium carbonate induces reproductive system toxicity in male rat. Reprod Toxicol. Vol.۱۷, No. ۶, pp: ۶۸۳-۶۹۰.

۲۴. **Uma, R.; Chattopadhyay, S. and Mukherjee, B.P., ۱۹۹۹.** The effects of lithium on reproductive physiology and maternal behavior in rats. Indian Journal of Pharmacology. No. ۳۱, pp: ۳۰۶-۳۱۰.

۲۵. **Winchester, J.F., ۱۹۹۹.** Lithium. In: Haddad LM, Winchester JF. Clinical management of poisoning and drug over dose .۲nd edition. Sanders. Philadelphia, USA. pp: ۶۵۶-۶۶۵.