Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 18:18 +0330 on Saturday September 23rd 2017

مقاله پژوهشی

مطالعه اثرات ضدباروری یک مشتق جدید Nifedipine در موشهای صحرائی نر بالغ

دکتر حمیدرضا صادقی پور رودسری* ، پریسا حسنین **

چکیده:

1,4dihydro 2,6dimethyl 4(4.nitrophenyl)3,5pyridinedicarboxylic acid dimethyl ester (DDNPD) یک آنالوگ جدید nifedipine است که فاقد اثر بر کانالهای کلسیمی قلب و عروق می باشد با توجه به این که nifedipine می تواند (با اثر بر کانالهای کلسیمی غشا اسپرم و ممانعت از واکنش آکروزومی اسپرم) باعث کاهش باروری در جنس نر گردد، لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر احتمالی DDNPD بر دستگاه تولیدمثل و باروری در موش بزرگ آزمایشگاهی صورت گرفت.

در این مطالعهDDNPD دوبار در روز به مدت ۵۰ روز به میزان ۱۰mg/kg به صورت زیر پوستی به موشهای گروه آزمایش(n=۲٤) تزریق شد و همچنین حلال پروپیلن گلایکول (که فاقد اثر بر دستگاه تولید مثل نر می باشد) به میزان ۱ mg/kg دوبار در روز به مدت ۵۰روز به صورت زیر پوستی به موشهای گروه کنترل (n=۲٤) تزریق گردید.

در بررسی برخی شاخص های باروری ، کاهش قابل توجهی در میزان تحرک اسپرم و قابلیت زنده ماندن اسپرم ($p<0.001$) ، میزان ذخیره اپیدیدیمی اسپرم ($p<0.001$) و میزان باروری ($p<0.001$) در گروه آزمایش مشاهده شد اما سطح تستوسترون سرمی بین گروه آزمایش و کنترل تفاوتی نداشت.

این نتایج حاکی از آن است که DDNPD با مقدار ۱۰mg/kg وبمدت ۵۰ روز با اثر برتکامل و بلوغ اسپرمها در اپیدیدیم باعث کاهش باروری در موش صحرائی نر شده است.

کلید واژه ها : اسپرماتوزوئید / کانالهای کلسیمی / موش / ناباروری

مقدمه :

تحولات علمی و پیشرفتهای فن آوری منجر به کنترل بسیاری از بیماریها، افزایش طول عمر بشر و در نتیجه افزایش رشد جمعیت شده است. این مساله لزوم ارائه خدمات بهداشت باروری و تنظیم خانواده را در جامعه با تنوعی بیشتر و کیفیتی افزونتر نمایان می سازد.

روشهای جلوگیری از بارداری موجود، عمدتاً روشهائی هستند که توسط زنان بکار گرفته می شوند که با توجه به عواقب و اشکالات خاص هر یک از این روشها ، نقش و مشارکت مردان در خدمات تنظیم خانواده آشکارتر می گردد (۱). از سویی دیگر ، در حال حاضر روشهای ضد بارداری قابل استفاده توسط مردان(مثل مقاربت منقطع،کاندوم و وازکتومی) محدود بوده و هر یک دارای اشکالات عمده ای هستند که استفاده از آنها را محدود می سازد ، بنابراین در صورت وجود قرص های خوراکی و آمپولهای تزریقی برای مردان ، این روشها مقبولیت بیشتری خواهند داشت. بدیهی است یک روش ضد باروری در مردان بایستی بدون اینکه

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 18:18 +0330 on Saturday September 23rd 2017

تداخلی در وضعیت هورمونی و صفات ثانویه جنسی ایجاد کند، قابل اطمینان، موثر و فاقد عوارض جانبی بوده و قابلیت بازگشت پذیری داشته باشد(۲).

در تلاش برای رسیدن به یک داروی ضد باروری در مردان ، مطالعات گسترده ای روی داروهای مختلف انجام شده است. از جمله این داروها می توان به سولفونامیدها(۳) نیتروفورانها(۴) و ترکیبات‌داروئی خانواده Azoleها (۵) اشاره نمود .یکی دیگر از گروههای دارویی که در این زمینه مورد مطالعه قرار گرفته است، داروهای خانواده مسدودکننده کانالهای کلسیمی می باشد که بر اساس ساختمان شیمیایی به سه گروه تقسیم می شوند. گروه Dihydropyridine که شامل داروهایی مثل nifedipine ,nimodipine می باشد. بر اساس مطالعات انجام شده ، داروهای این گروه دارای اثر ضد باروری در جنس نر بوده اند. مکانیسم اثر این ترکیبات به این گونه است که با توجه به این که کانالهای کلسیمی نوع L در غشا اسپرم، نقش مهمی در انجام واکنش آکروزومی اسپرم که مرحله مهمی جهت انجام فرآیند باروری موفقیت آمیز می باشد دارند(۶)، داروهای گروه دی هیدروپیریدین با اثر بر این کانالها،مانع ورود کلسیم بداخل اسپرم و انجام واکنش آکروزومی می شوند(۷). البته باید توجه داشت که اثرمستقیم تمام داروهای این گروه بر سیستم قلبی عروقی بوده ونمی توان آنها را به منظور مهار فرایند باروری در جنس مذکر استفاده نمود ، اما اگر بتوان درضمن حفظ اثرات مهاری این داروها بر فرآیند باروری، با ایجاد تغییراتی درساختمان شیمیایی آنها اثرات قلبی عروقی را حذف کرد ، شایدبتوان از آنها به عنوان یک ترکیب راهنما ، در طراحی و سنتز داروهای ضدباروری در جنس مذکر استفاده نمود. در همین راستا محققین گروه شیمی آلی دانشکده دارو سازی دانشگاه تهران ، با ایجاد تغییراتی در ساختمان شیمیایی نیفدیپین ، آنالوگی از این دارو سنتز کردند تحت نام شیمیایی :

1,4dihydro 2,6dimethyl 4(4.nitrophenyl) 3,5pyridinedicarboxylic acid dimethyl ester (DDNPD)

که خواص خود را بر کانالهای کلسیمی موجود در قلب و عروق از دست داد و در این مطالعه ما تاثیر آن را بر فرایند اسپرماتوژنز ، سیستم تولید مثل موش صحرائی نر و میزان باروری مورد بررسی قرار دادیم.

روش کار:

داروی مورد نظر (DDNPD) در آزمایشگاه شیمی آلی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران سنتز گردید و به صوت سوسپانسیون در گروه آزمایش مورد آزمایش قرار گرفت. چون داروی فوق در سرم فیزیولوژی محلول نمی باشد و با توجه به اینکه حلال پروپیلن گلایکول تأثیری بر فرآیند تولیدمثل موش صحرایی ندارد از آن به عنوان حلال استفاده شد. گروه کنترل فقط پروپیلن گلایکول دریافت نمودند . از سرم فیزیولوژی ۳۷ درجه برای تهیه رقت مناسب از اسپرم و از رنگ ائوزین نگروزین برای رنگ آمیزی و تهیه گسترش استفاده شد.

موشهای صحرایی نر و ماده بالغ از نژاد Sprague-dawley در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم از موسسه تحقیقاتی انستیتو پاستور ایران تهیه شدند و در اتاق حیوانات گروه فیزیولوژی دانشگاه تهران تحت شرایط استاندارد(۱۴ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و درجه حرارت۲۸-۲۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. آب و غذا به مقدار کافی در تمام اوقات در اختیار موشها قرار داشت.

۴۸سر موش صحرائی نر به دو گروه۲۴ تایی تقسیم شدند. به گروه اول ترکیب داروی حل شده در پروپیلن گلایکول را که به صورت سوسپانسیون روان در آمده و قابل تزریق با سرنگ انسولین بود، روزانه به مقدار ۱۰ mg/kg دوبار در روز به فاصله تقریبا ۱۲ ساعت به مدت ۵۰ روز به صورت زیر جلدی تزریق شد.گروه دوم (کنترل) پروپیلن گلایکول را با حجمی معادل گروه آزمایش و در طی همان مدت به صورت زیر جلدی دریافت کردند. دوزDDNPD وپروپیلن گلایکول استفاده شده، باتوجه به مطالعات قبلی صورت گرفته در مورد نیفدیپین و سایر داروهای گروه دی هیدروپیریدین بدست آمد(۸،۹) .پس از گذشت ۶۰ روز از اولین تجویز دارو ۱۲ عدد موش از هر گروه بعد از توزین بوسیله گیوتین کشته و خون آنها در لوله های آزمایش تمیز جهت اندازه گیری تستوسترون جمع آوری گردید. سپس شکم حیوانات باز شده و اندامهای تولید مثلی خارج گردید و شاخص های باروری مورد ارزیابی قرار گرفت.

تعیین درصد تحرک اسپرمها(motility): که نسبت اسپرمهای متحرک به غیر متحرک است و به صورت

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 18:18 +0330 on Saturday September 23rd 2017

درصد بیان می شود. به این ترتیب که تعداد اسپرمهای متحرک را به کل اسپرمهای موجود در زیر میدان دید میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰محاسبه و یادداشت شده و این کار را برای چندین میدان دید تکرار می کنیم ، آنگاه میانگین نتایج را بدست می آوریم.

تعیین درصد اسپرمهای زنده(viability): اسپرمهای زنده رنگ را جذب نمی کنند در حالیکه اسپرمهای مرده رنگ را جذب می کنند. پس از رنگ آمیزی گسترشهای تهیه شده از اسپرمها با رنگ ائوزین نگروزین ، با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۴۰تعداد اسپرمهایی که درزمان رنگ آمیزی زنده بودند، نسبت به کل اسپرمهای موجود در میدان دید محاسبه و یادداشت گردید. این کار برای چند میدان دید تکرار شده و میانگین نتایج محاسبه گردید.

تعیین میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیم Epididymal Sperm Reseve (ESR): برای تعیین میزان ذخیره‌اسپرمی اپیدیدیم از مایع حاصل از هموژنیزه شدن اپیدیدیم، رقت یک صدم توسط سرم‌فیزیولوژیک بدست آمد ، سپس قطره‌ای از محلول رقیق شده برروی لام نئوبار قرارگرفت و بوسیله میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۴۰عدسی شیئی ، تعداد اسپرمها شمارش گردید.

تعیین میـــــزان تولید روزانه اسپـــــرم توسط بیضه ها : Daily Sperm Production (DSP) : برای این منظور ازمایع حاصل از هموژنیزه شدن بیضه ها ، رقت یک دهم بدست آورده و قطره ای از محلول حاصل برروی لام نئوبار قرار داده شد، آنگاه بوسیله میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۴۰تعداد اسپرمها شمارش گردید. چون در موش صحـــــــرائی نر رشـــــــد اسپرماتوزوئیدها تقریبا" ۶/۳ روز در حین اسپرماتوژنز طول می کشد ، بنابراین از تقسیم مقادیر اسپرم بدست آمده برای هر گرم، به ۶/۳ میزان تولیدکل اسپرم برای یک روز بدست می آید.

بررسی تغییرات وزن بدن: با توجه به اینکه وزن موش صحرائی یکی از شاخصهای مهم در ارتباط با سلامتی حیوان است ، بدین لحاظ جهت بررسی اثرات احتمالی داروی مورد مصرف بر روندهای متابولیکی و یا ایجاد عارضه در سیستمهای حیاتی حیوان ، وزن موشهای هر گروه روزانه ثبت می شد.

بررسی تغییرات وزن بیضه ها به وزن بدن Gonado Somatic Index (GSI) : برای این منظـــــور و نیز بررسی اثـــرات احتمالی دارو بر بیضه ها نسبت وزن دو بیضه حیـــــوان به وزن کل بدن را در ۱۰۰ ضرب می کنیم .

اندازه گیری تستوسترون سرم: میزان تستوسترون سرمی بدست آمده از نمونه های خون با روش (RIA) اندازه گیری شد.

بررسی میزان باروری (fertility): برای این منظور از روش گزارش شده توسط ابرلاندر (oberlander) استفاده شد که عبارتست از نسبت نقاط لانه گزینی جنین ها در رحم به کل تعداد جسمهای زرد تخمدانی که به صورت درصد بیان میشود(۵). برای بررسی اثرات طولانی تر دارو بر فرایند باروری موش صحرائی نر ، پس از پایان دوره تزریق ، ۱۲ موش از هر گروه در قفسی مجزا و بطور جداگانه نگهداری شدند.پس از گذشت ۲۰روز از آخرین تجویز دارو ، ۶ موش نر از هر گروه با دو موش ماده مجاور شدند تا درصد باروری مطابق روش قبل بررسی شود. همچنین تست باروری ۴۰ روز پس از آخرین تزریق ، به همین صورت برای ۶ موش نر دیگر انجام گرفت.

جهت محاسبـــــــات آماری ابتدا از مقادیر بدست آمـــــده برای هریک از شاخصهای باروری در دو گروه آزمایش و کنترل میانگین محاسبه شد و با استفاده از آزمـــــــون آماری t-student ، میانگین هریک از شاخصها بین دوگروه مورد مقایسه و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج :

نتایج بدست آمده از بررسی شاخصهای باروری مورد آزمایش در این مطالعه در دو گروه آزمایش و کنتـــــرل در جـــــدول ۱ آمده است که بشرح زیر می باشد:

- اثر بر وزن بدن: نتایج بدست آمده نشان می دهد که هیچگونه اختلاف معنی داری بین وزن بدن موشها در دو گروه ، قبل از مداخله (تزریق دارو) و پس از مداخله وجود ندارد.
- اثر بر سایر احشاء: برای این منظور ضمن تشریح حیوان، وضعیت ماکروسکوپی احشاء مثل ریه، طحال، کبد و کلیه از نظر وجود نکروز یا سایر تغییرات ماکروسکوپی مورد بررسی قرارگرفت.
- اثر بر میزان تحرک اسپرمها: نتایج حاصل نشـــــان می دهـــــد که تحرک اسپرمـــــها در گروه آزمـــایش

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 18:18 +0330 on Saturday September 23rd 2017

کاهش معنـــی داری نسبت به گروه کنترل نشان میدهد (P<0.001). درصد تحرک اسپرمها در گروه آزمایش حدود۳۵/۸ بود در حالیکه در گروه کنترل حدود ۶۵/۵ گزارش شد. در این بررسی تحرک پیشرونده مد نظر بود و اسپرمهایی که در یک جای ثابت تحرک کمی داشتند، محاسبه نگردیدند(p<0.001).

- اثر بر میزان قابلیت زنده ماندن اسپرمها: در این مورد نیز درصد اسپرماتوزوئیدهای زنده در گروه آزمایش کاهش معنی داری نشان می دهد(p<0.001). درصد اسپرمهای زنده در گروه آزمایش حدود ۵۱/۶ بود در حالیـــــکه در گروه کنترل حدود ۷۴/۶ اسپرمها زنده بودند.

- اثربر میزان ذخیره اسپرماتوزوئیدی اپیدیدیمها : نتایج اختـــــــلاف معنی داری را بین دو گروه نشان میدهند(p<0.001). بطوریکه ذخیره اسپرم در اپیدیدیم گروه آزمایش حدود $۱/۴×۱۰^{۷}$ عدد به ازای هر گرم اپیدیدیم و در گروه کنترل $۸/۶×۱۰^{۷}$عدد به ازای هر گرم اپیدیدیم بوده است.

- اثر برمیزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه ها : نتایج حاصل اختلاف معنی داری را در این شاخص بین دو گروه نشان نمی دهند.

- اثر بر حجم بیضه ها: نتایج حاصل هیچگونه اختلاف معنی داری را در حجم بیضه ها بین دو گروه نشان نمی دهند.

- اثر بر نسبت وزن بیضه ها به کل وزن بدن : نتایج حاصل نشان داد که تفاوت معنی داری از نظـــر(GSI) بین دو گروه آزمایش و کنترل وجود ندارد.

- اثر بر میزان تستوسترون سرم: طبق نتایج حاصل میزان تستوسترون سرمی در دو گروه آزمایش و کنترل با هم تفاوتی ندارند.

- اثر بر توانائی باروری : میزان باروری پس از قطع دارو در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کاهش قابـــل توجهی داشت(p<0.001). در گروه آزمایـــش ، میزان باروری حدود ۴۱/۵٪ و در گروه کنترل حدود ۷۹٪ بود. ۲۰ روز پس از آخرین تزریق هنوز تفاوت معنی داری بین میزان باروری بین دو گروه وجود داشت (p<0.001). اما پس از ۴۰ روز از آخرین تزریق ، بررســـــی میزان باروری بین دو گروه دیگر اختلاف معنی داری را نشان نمی داد.

جدول ۱: تاثیر DDNPD (۱۰mg/kg.day) بر شاخص های باروری در موش صحرائی نر

شاخص های باروری / گروه		پروپیلن گلایکول	دارو
وزن	قبل از مداخله	۲۶۴/۱±۴/۷۲۸	۲۶۴±۴/۷۲۵
	پس از مداخله	۲۶۵/۸±۵/۳۸	۲۶۴/۱±۵/۰۶
[1]GSI		۱/۰۶±۰/۰۲۵	۱/۰۱±۰/۰۱۶
حجم بیضه (m1)		۱/۶±۰/۰۲۷	۱/۴±۰/۰۸
تحرک اسپرم (٪)		۶۵/۵±۱/۴	*۳۵/۸±۲/۰۰۶
قابلیت زنده ماندن اسپرمها(٪)		۷۴/۶±۱/۸	* ۵۱/۶±۲/۱
[2]ESR × 10^7		۸/۶۴±۰/۰۱۹	* ۱/۴۵±۰/۲۴
[3]DSP×10^7		۲/۰۴±۰/۰۲۳	۱/۹±۰/۰۹۱
تستوسترون سرم (ng/dl)		۱۷۲/۵±۲/۶	۱۶۷/۵±۳/۱
میزان باروری		۷۹±۱/۷	* ۴۱/۵±۰/۹
میزان باروری ۲۰ روز پس از قطع دارو		۷۶±۱/۳۴	* ۶۲/۳±۲/۱
میزان باروری ۴۰ روز پس از قطع دارو		۷۷/۸±۲/۵	۷۸/۳±۱/۹

1.Gonado Somatic Index
2.Epididymal Sperm Reserve
3.Daily Sperm Production
* P<0.001

بحث:

مواردی همچون عدم اختلاف وزن بین دو گروه دارو و کنترل و نیز اینکه در بررسی اندامهای داخلی از قبیل کبد و دیگر احشاءهیچگونه تغییر غیرطبیعی دیده نشد و موشها از سلامتی کامل برخوردار بودند ، نوعی امتیاز برای دارو محسوب می شوند. در مورد کاهشی که در تحرک اسپرماتوزوئیدها (motility) در گروه دارو مشاهده شد و با توجه به اینکه اسپرماتوزوئیدهایی که از لوله های منی ساز گرفته می شوند کاملا غیر متحرک بوده و نمی توانند تخمک را بارور سازند و لذا بایستی اسپرماتوزوئیدها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در اپیدیدیم باقی بمانند تا تحرک لازم را کسب کنند ، میتوان نتیجه گرفت که DDNPD با دوز بکار رفته بعضی اثرات خود را از طریق تاثیر بر بافت اپیدیدیم اعمال می کند در مورد بررسی قابلیت زنده ماندن اسپرم ها (viability) با توجه به اینکه DDNPD درصد اسپرمهای زنده را بطور معنی داری کاهش داده و با توجه به اینکه اسپرمها در طی مدتی که در اپیدیدیم حضور می یابند تغییر عملکردی می یابند و از جمله این تغییرات تغییر در متابولیسم است (۱۲)، می توان چنین نتیجه گیری کرد که DDNPD با تاثیری که بر اپیدیدیم داشته ، روند طبیعی تکامل متابولیسمی اسپرم را دچار اختلال نموده است. با توجـــه به اینکه میزان تولید روزانه اسپرم توسط

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 18:18 +0330 on Saturday September 23rd 2017

بیضه ها (DSP) در گروه دارو تفاوتی با گروه کنترل نداشت و همچنین تفاوتی از نظر حجم بیضه ها و نیز (GSI) بین دو گروه مشاهده نشد ، می توان نتیجه گرفت که (DDNPD) با مقدار بکار گرفته شده و در زمان یاد شده مستقیماً بر فرایند اسپرماتوژنز تاثیر معنی داری نداشته است. عدم مشاهده اختلاف معنی دار در میزان تستوسترون سرم بین دو گروه نشانگر عدم تاثیر(DDNPD) بر سلولهای لیدیگ بیضه و در نتیجه میزان تستوسترون سرم است که به عنوان یک مزیت برای طراحی یک داروی ضد باروری مردانه محسوب میشود(۱۰). در بررسی میزان باروری مشاهده گردید که میزان باروری در گروه دارو۱۰ روز پس از آخرین تزریق ، بطور معنی داری کاهش یافته بود، با توجه به اینکه تعداد اسپرمهای اپیدیدیمی، قدرت تحرک و همچنین قابلیت زنده ماندن آنها همگی در گروه دارو کاهش یافته بود بنابراین انتظار می رفت با این شرایط میزان باروری کاهش یابد که چنین نیز شد .در بررسی قابلیت برگشت پذیری باروری، مشاهده شد که ۲۰ روز پس از آخرین تزریق دارو درصد باروری افزایش یافت ولی هنوز اختلاف معنی داری با گروه کنترل وجود داشت، بنابراین میتوان نتیجه گرفت که تأثیر کاهنده دارو بر میزان باروری دائمی نیست و قابل بازگشت می باشد البته با توجه به اینکه دارو تاثیری بر سلولهای اسپرماتوگونی نداشت، برگشت پذیری آن قابل انتظار بود برای کسب اطلاعات بیشتر در مورد جایگاه اثر دارو ، ۴۰ روز پس از آخرین تزریق تست باروری مجددا انجام شد نکته قابل توجه آن بود که میزان باروری کاملاً به حد طبیعی برگشته بود و دیگر تفاوتی با گروه کنترل نداشت. باید یادآوری نمود (DDNPD) یک مشتق جدیدnifedipine است که برای اولین بار سنتز شده و این تحقیق فقط به منظور بررسی اثرات ضد باروری آن صورت گرفته است بنابراین ضروری است جهت استفاده از آن به عنوان یک ترکیب راهنما در طراحی یک داروی ضد باروری مردانه ، مطالعاتی در آینده در مورد مقادیر مختلف آن و همچنین عوارض جانبی احتمالی آن صورت پذیرد.

از نتایج بدست آمده میتوان چنین استنباط کرد که (DDNPD) با مقدار ۱۰mg/kg و به مدت ۵۰ روز بطور اختصاصی براپیدیدیم موثربوده است . حال ممکن است این تأثیر مستقیم بر اسپرمها بوده باشد یا بر سلولهای اپی تلیال اپیدیدیم که دراینصورت نیز چون سلولها قدرت تجدید دارند (۱۱) میزان باروری به حد اولیه خود باز می گردد ، بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و اثرات تائید شده از سایر داروهای گروه دی هیدروپیریدین نیز و با انجام مطالعات بعدی در مورد دوزهای مختلف و عوارض جانبی (DDNPD) می توان از آن به عنوان یک ترکیب راهنما در طراحی و سنتز داروهای ضد باروری در جنس مذکر استفاده نمود .

منابع :

1. Waites GMH. Male fertility regulation , the challenge for the year 2000. Br Med Bull 1993;49:210-221.
2. Trevor G, Cooper TG, Teung CH. Approaches to posttesticular contraception. Asian J of Androl 1999;1(1/2):29-36.
3. Schegel PN, Chan TS, Marchall FF. Antibiotics, potential hazards to male infertility. Fertil Steril 1991;55(2): 235-242.
4. Nelson WO, Beung RG. The effect of therapeutic dosage of nitrofurantoin upon spermatogenesis in man. J Urol 1994;77(2):257-281.
5. Oberlander G, Yeung CH, Cooprr TG. Induction of reversible infertility in male rats by oral ornidazole and its effect on sperm motility and epididymal secretion. J Reprod Fertil 1994;100(2):551-557.
6. Liveano A,Santi CM. T-type calcium channels and alpha 1E expression in spermatogenic cell and their possible relevance to the sperm acrosome reaction. FEBS Lett 1990;388(2): 150-154.
7. Faser LR. Calcium channels play a pivotal role in the sequence of ionic changes involved in initation of mouse sperm acrosomal exocytosis. Mol Reprod Dev 1995;36(3): 368-376.
8. Kanwaru, Anad RJ. The effect of nifedipine, a calcium channel blocker on human spermatozoal functions. Contraception 1995;48(5):453-470.
9. Hershlag A, Cooper GW. Pregnancy following discontinuation of a calcium channel blocker in male partner. Hum Reprod 1997;3:255-268.
10. Alexander N. Male contraception: Advances and future prospects.

Asian J Androl 1999;2:77-82.
11. Lamb JC, Foster PMD. Physiology and toxicology of male reproduction. New York : Academic Press , 2001.

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 18:18 +0330 on Saturday September 23rd 2017