

## اثرات تجویز داخل بطن مغزی سالمون کلسی تونین بر پارامترهای اسپرمی در موش‌های صحرایی

کاوه رحیمی<sup>۱</sup>، جواد ساجدیان فرد<sup>۲</sup>، مسلم ریاحی<sup>۳</sup>، سعید نظیفی<sup>۴</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد، نقش مهمی در تنظیم باروری دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر تزریق داخل بطن مغزی (Intracerebroventricular) ICV پپتید سالمون کلسی تونین sCT (Salmon calcitonin) بر هورمون‌های جنسی و کیفیت اسپرم در موش صحرایی انجام شد.

**روش‌ها:** این مطالعه‌ی تجربی در سال ۱۴۰۲ در دانشگاه شهید چمران اهواز و دانشگاه شیراز انجام شد. ۱۲ سر موش صحرایی به دو گروه (n = ۶) تقسیم شدند. به موش‌های گروه اول (شاهد) مایع مغزی نخاعی مصنوعی با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق شد. موش‌های گروه دوم، sCT با دوز ۱/۵ نانومول با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق گردید. ۷۲ ساعت بعد از تزریق داخل بطن مغزی، غلظت سرمی (Luteinizing hormone) LH، (Follicle-stimulating hormone) FSH و تستوسترون اندازه‌گیری شد. همچنین برای تعیین کیفیت اسپرم از اسپرم‌های اپیدیدیم استفاده گردید.

**یافته‌ها:** تزریق sCT بصورت ICV به طور معنی‌داری سطوح LH، FSH و تستوسترون را کاهش داد. sCT به طور معنی‌داری غلظت اسپرم را نسبت به گروه شاهد کاهش داد اما بر روی تحرک اسپرم تأثیر معنی‌داری نداشت. sCT به طور معنی‌داری باعث کاهش اسپرم زنده و آکروزوم دست نخورده در مقایسه با گروه شاهد و افزایش اسپرم مرده شد.

**نتیجه‌گیری:** تزریق sCT بصورت ICV می‌تواند کیفیت اسپرم را احتمالاً از طریق ایجاد عدم تعادل در تولید FSH و LH و همچنین تستوسترون کاهش دهد.

**واژگان کلیدی:** سالمون کلسی تونین؛ LH؛ FSH؛ تستوسترون؛ اسپرم

**ارجاع:** رحیمی کاوه، ساجدیان فرد جواد، ریاحی مسلم، نظیفی سعید. اثرات تجویز داخل بطن مغزی سالمون کلسی تونین بر پارامترهای اسپرمی در

موش‌های صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۲۵): ۵۱۶-۵۱۱

## مقدمه

محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد می‌تواند باروری را تنظیم کند (۱). سلول‌های گنادوتروپیک هیپوفیز قدامی نقش مهمی در تنظیم سیگنال بین GnRH در هیپوتالاموس و غدد جنسی ایفا می‌کنند. اتصال GnRH به گیرنده‌ی آن در سلول‌های گنادوتروپیک در غده‌ی هیپوفیز قدامی، مسیر سیگنالینگ را فعال می‌کند که در نهایت منجر به آزاد شدن FSH و LH می‌شود. مسیر سیگنالینگ در نتیجه‌ی عمل محور نورواندوکرین هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد فعال می‌شود (۲).

در مردان، LH تولید هورمون تستوسترون توسط سلول‌های لیدیک و پروتئین اتصال‌دهنده‌ی آندروژن توسط سلول‌های سرتولی

را تحریک می‌کند. FSH به گیرنده‌های خود در سطح سلول‌های سرتولی متصل می‌شود و همراه با تستوسترون باعث تکثیر و توسعه‌ی اسپرماتوگونی می‌شود (۳). کاهش گنادوتروپین‌ها در جنس نر، موجب کاهش کیفیت اسپرم می‌گردد (۴).

کلسی تونین، یک هورمون پلی‌پپتیدی حاوی ۳۲ اسید آمینه است (۵). علاوه بر غده‌ی تیروئید، کلسی تونین و گیرنده‌ی آن به طور گسترده در سیستم عصبی مرکزی، غده‌ی هیپوفیز، رحم، ریه‌ها و پروستات وجود دارد. کلسی تونین، نقش مهمی در تولید و آزادسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی و رشد و عملکرد سایر اندام‌ها دارد (۶). گیرنده‌ی کلسی تونین در غده‌ی هیپوفیز، سلول‌های لیدیک بیضه و

۱- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- دکتری فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۴- استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: کاوه رحیمی؛ استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

در اختیار حیوانات قرار گرفت. تا زمان آزمایش، حیوانات در دمای  $22 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی تاریکی/نور ۱۲/۱۲ ساعت نگهداری شدند.

۱۲ سر موش صحرایی به دو گروه ( $n = 6$ ) تقسیم شدند. به موش‌های گروه اول (شاهد) مایع مغزی نخاعی CSF (Cerebro spinal fluid) مصنوعی با حجم ۵ میکرولیتر یکبار و بصورت ICV تزریق شد. موش‌های گروه دوم (sCT)، sCT با دوز ۱/۵ نانومول (۱۷) و با حجم ۵ میکرولیتر یکبار و بصورت ICV تزریق شد.

موش‌های صحرایی با استفاده از کتامین ۸۰ درصد و زایلازین ۱۰ درصد، بیهوش شدند. سپس حیوانات در دستگاه استریوتاکس ثابت شدند. یک کانول در ICV سمت چپ با مختصات  $AP = 0/8$ ،  $L = +1/5$ ،  $DV = 3/5$  کاشته شد و با سیمان دندان‌فیكس گردید. پس از یک روز، تزریق ICV با استفاده از سرنگ همیلتون انجام شد. در نهایت حیوانات با استفاده از  $CO_2$  بیهوش شدند. ۷۲ ساعت بعد از تزریق ICV خون‌گیری انجام شد و سرم‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. بلافاصله پس از آسان‌کشی با  $CO_2$ ، بیضه‌های حیوان خارج شده و اسپرم‌های اپیدیدیم (۱۸) جمع‌آوری شد.

غلظت سرمی LH.FSH (Zellbio آلمان، کیت ELISA) و تستوسترون (ELISA Kit, AccuBind) اندازه‌گیری گردید.

اپیدیدیم به مدت ۳۰ دقیقه در محیط ۱ میلی‌لیتر Ham's F10 انکوبه شد. ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپرم روی لام نوبار قرار داده و غلظت اسپرم در پنج مربع با استفاده از میکروسکوپ نوری (بزرگ‌نمایی ۴۰ برابر) محاسبه شد.

برای مطالعه‌ی تحرک اسپرم، قطره‌ای از مایع اسپرمی رقیق نشده روی یک لام در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد بدون پوشش قرار داده شد و زیر میکروسکوپ فاز کنتراست (نیکون، اکلپس، E200، ژاپن) مورد بررسی قرار گرفت. حداقل ۲۰۰ اسپرم، که به طور تصادفی از حداقل چهار میدان میکروسکوپی انتخاب شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین تمام زمینه‌ها به عنوان امتیاز حرکتی نهایی ثبت شد. تحرک به عنوان درصدی از اسپرم پیشرونده (آهسته و سریع)، بی‌حرکت و غیر پیشرونده ارزیابی شد.

محلول اسپرم (۵ میکرولیتر) روی یک لام شیشه‌ای قرار داده شده در مرحله در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد مخلوط شد. ۳۰ ثانیه بعد، مخلوط آغشته شد و اجازه داده شد تا در هوا خشک شود. اسمی‌رها با محلول گیمسا رنگ آمیزی شدند و با DPX، مخلوطی از دی استایرن، نرم‌کننده و زایلن سوار شدند. اسلایدها سپس در  $100 \times$  زیر یک میدان روشن مورد بررسی قرار گرفتند. ۲۰۰ اسپرم از هر موش

سلول‌های تخمدان شناسایی شده است. سلول‌های گنادوتروپیک در غده‌ی هیپوفیز موش یک پپتید کلسی‌تونین مانند به نام پپتید هیپوفیز CT مانند (pit-CT) تولید می‌کنند.

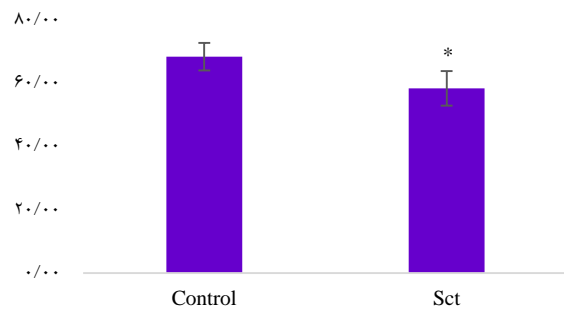
کلسی‌تونین کاربردهای بالینی نیز دارد. از دهه‌ی ۱۹۷۰، sCT به عنوان یک اسپری بینی یا تزریق برای درمان پوکی استخوان و سایر بیماری‌های متابولیک استخوان استفاده شده (۷). sCT همچنین برای درمان پوکی استخوان پس از یائسگی بکار برده شد. اگرچه استفاده از مصرف از راه بینی نسبت به فرم تزریقی مؤثرتر است، اما بصورت تزریقی بیشتر مورد استفاده قرار گرفته است. sCT تراکم مواد معدنی استخوان را افزایش می‌دهد (۸، ۹). اسپری بینی کلسی‌تونین همچنین در درمان بیماران مبتلا به تنگی نخاعی کمری مؤثرتر از گاباپنتین بوده است (۱۰). علاوه بر این، sCT بینی برای بهبود شکستگی‌های حاد دیستال رادیوس پوکی استخوان توصیه شده است (۱۱). یک مطالعه بر روی یک sCT دهانی جدید (SMC021) متمرکز شد و نشان داد که این sCT نتوانست به هدف اصلی خود، یعنی کاهش شکستگی مهره‌ها در زنان یائسه‌ی مبتلا به پوکی استخوان دست یابد. این مطالعه پیشنهاد کرد که تحقیقات بیشتری در مورد این پپتیدها انجام شود (۱۲). sCT دارای اثرات ضد دردی می‌باشد. با وجود اثرات ضد دردی sCT تأثیری بر درمان بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو ندارد (۱۳). مطالعات نشان می‌دهد که کلسی‌تونین می‌تواند کمردرد بیماران مبتلا به درد نوروپاتی یا پوکی استخوان را با تغییر بیان کانال‌ها یا گیرنده‌ها کاهش دهد (۱۴). تجویز محیطی کلسی‌تونین با افزایش cAMP از آزادسازی LH در هیپوفیز قدامی جلوگیری می‌کند. کلسی‌تونین همچنین مستقیماً تستوسترون را در بیضه‌ها مهار می‌کند (۱۵، ۱۶).

با وجود استفاده‌ی بالینی از کلسی‌تونین برخی مطالعات بیانگر این هستند که کلسی‌تونین ممکن است باعث کاهش هورمون‌های جنسی شود و بنابراین عملکرد اسپرم را تحت تأثیر قرار دهد. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با بررسی اثرات تزریق داخل مغزی پپتید سالمون کلسی‌تونین و اثرات آن بر سیستم تولید مثل انجام نشده است؛ مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی تأثیر تزریق sCT بصورت تزریق ICV بر سطح هورمون‌های جنسی سرم و کیفیت اسپرم در موش‌های صحرایی انجام شد.

### روش‌ها

این مطالعه‌ی تجربی در سال ۱۴۰۲ بطور مشترک در دانشگاه شهید چمران اهواز و دانشگاه شیراز انجام شد. دستورالعمل این مطالعه به تأیید کمیته‌ی اخلاق دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز رسید. تمام آزمایش‌ها بر روی موش‌های صحرایی نر نژاد اسپراگ داوولی با وزن  $20 \pm 260$  گرم انجام شد. غذا و آب به آزادانه

به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه CSF مصنوعی  $(P = 0/01)$  کمتر بود  $(4/30 \pm 31/00)$ . تعداد آکروزوم‌های از دست رفته در گروه sCT  $(4/21 \pm 27/6)$  نیز به طور معنی‌داری بیشتر از گروه CSF مصنوعی  $(2/94 \pm 21/8)$  بود  $(P = 0/01)$  (جدول ۱).



شکل ۲. غلظت اسپرم در گروه‌های مورد مطالعه

گروه اول (شاهد) مایع مغزی نخاعی مصنوعی با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق شد. گروه دوم، sCT با دوز ۱/۵ نانومول با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق شد.  
سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد. °: نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه sCT با گروه شم

در گروه sCT غلظت سرمی LH به طور معنی‌داری کمتر از گروه اول مشاهده شد  $(P = 0/01)$ . همچنین غلظت FSH و تستوسترون در گروه sCT کمتر از گروه اول بود  $(P = 0/01)$  (جدول ۲).

## بحث

ما نشان دادیم که تزریق ICV پپتید sCT باعث کاهش سطح سرمی FSH LH و تستوسترون می‌شود. همچنین sCT موجب تغییر پارامترهای مختلف مربوط به آنالیز اسپرم شد. مطالعات تحقیقاتی که از سال‌های گذشته بر روی پپتیدهای خانواده‌ی کلسی‌تونین انجام شده، بیشتر بر روی هموستاز کلسیم متمرکز شده است. اخیراً کاربردهای کلسی‌تونین بر روی مغز، غده‌ی هیپوفیز و غدد جنسی مورد توجه قرار گرفته است (۱۹، ۲۰). گیرنده‌های کلسی‌تونین در مغز و غده‌ی هیپوفیز، سلول‌های لیدینگ بیضه و سلول‌های تخمدان یافت شده‌اند (۲۱).

جدول ۱. غلظت هورمون‌های اندازه‌گیری FSH، LH و تستوسترون در سرم.

تستوسترون	LH	FSH	میانگین $\pm$ انحراف معیار
$4/30 \pm 31/00$	$2/94 \pm 21/8$	$2/94 \pm 28/2$	گروه اول (شاهد)
$9/12 \pm 21/4^{\circ}$	$4/21 \pm 27/6^{\circ}$	$4/21 \pm 23/4^{\circ}$	گروه دوم (sCT)

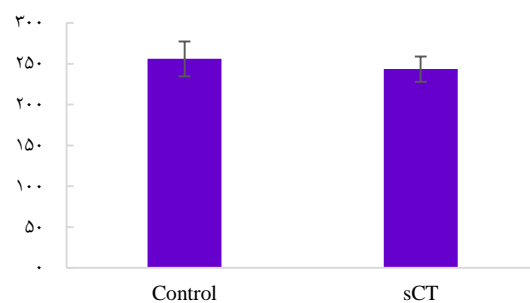
گروه اول (شاهد) مایع مغزی نخاعی مصنوعی با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق شد. گروه دوم، sCT با دوز ۱/۵ نانومول با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق شد. سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد. °: نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه sCT با گروه شم.

صحرائی مورد بررسی قرار گرفت. درصد اسپرم با آکروزوم‌های دست نخورده، به استثنای سلول‌هایی که آکروزوم‌های آسیب دیده یا از دست رفته را نشان می‌دادند، گزارش شد.

برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. داده‌ها با استفاده از روش آماری One-way ANOVA و تست تکمیلی دانکن آنالیز شدند. سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  به عنوان اختلاف معنی‌دار آماری لحاظ شد.

## یافته‌ها

نتایج در گروه‌های مورد مطالعه بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار به شرح زیر می‌باشد. تحرک اسپرم در گروه sCT  $(245/81 \pm 15/80)$  کمتر از گروه CSF مصنوعی  $(256/60 \pm 21/68)$  بود با این حال این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود  $(P = 0/88)$ . غلظت اسپرم در گروه sCT  $(58/01 \pm 5/74)$  به طور قابل توجهی کمتر از گروه CSF مصنوعی  $(69/21 \pm 4/43)$  بود  $(P = 0/01)$  (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱. تحرک اسپرم در گروه‌های مورد مطالعه

گروه اول (شاهد) مایع مغزی نخاعی مصنوعی با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق شد. گروه دوم، sCT با دوز ۱/۵ نانومول با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق شد.  
سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

همچنین تعداد اسپرم‌های زنده در گروه sCT  $(4/21 \pm 23/4)$  به طور معنی‌داری کمتر از گروه CSF مصنوعی  $(2/94 \pm 28/2)$  بود  $(P = 0/01)$ . آکروزوم دست نخورده در گروه sCT  $(9/12 \pm 21/4)$

جدول ۲. نتایج مربوط به آنالیز اسپرم

میانگین $\pm$ انحراف معیار	اسپرماتوزوای زنده	اسپرماتوزوای مرده	آکروزوم سالم
گروه اول (شاهد)	$2/94 \pm 2/2$	$2/94 \pm 2/1/8$	$4/30 \pm 2/1/00$
گروه دوم (sCT)	$4/21 \pm 2/3/4^*$	$4/21 \pm 2/7/6^*$	$9/12 \pm 2/1/4^*$

گروه اول (شاهد) مایع مغزی نخاعی مصنوعی با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق شد. گروه دوم، sCT با دوز ۱/۵ نانومول با حجم ۵ میکرولیتر بصورت ICV تزریق شد. سطح معنی داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد. \* نشان‌دهنده اختلاف معنی داری بین گروه sCT با گروه شم.

در یک مطالعه، تجویز کلسی‌تونین و پپتید وابسته به ژن کلسی‌تونین (CGRP) از ورید ژوگولار انجام و نمونه‌های خون در ۰، ۱۰، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰، ۳۶۰ و ۷۲۰ دقیقه پس از تریقی جمع‌آوری شد. تستوسترون پلاسما به تدریج از ۲ تا ۶ ساعت پس از تریقی داخل وریدی کلسی‌تونین یا CGRP کاهش یافت. کلسی‌تونین و CGRP همچنین آزادسازی LH را مهار می‌کنند (۲۲).

در یک مطالعه، اثر مستقیم بالقوه‌ی CGRP روی نورون‌های GnRH بررسی و نشان داد که CGRP بیان mRNA ژن GnRH را تنظیم می‌کند. در سلول‌های GT1-7 پپتید CGRP می‌تواند مستقیماً بر روی نورون‌های GnRH در شرایط آزمایشگاهی عمل کند و بنابراین امکان اثر مستقیم بر انتشار GnRH را افزایش می‌دهد. تجویز CGRP بصورت ICV منجر به سرکوب عمیق پالس‌های LH شد که توسط آنتاگونیست گیرنده‌ی CGRP معکوس گردید (۲۴). نتایج ما نشان داد که تریقی داخل ICV پپتید sCT مشابه دیگر پپتید خانواده‌ی کلسی‌تونین باعث کاهش سطح سرمی LH، FSH و تستوسترون می‌شود. LH، FSH و تستوسترون عوامل غدد درون ریز محوری هستند که عملکرد بیضه را کنترل می‌کنند. سطوح پایین GnRH باعث کاهش FSH و LH شده و در نتیجه باعث اختلال در عملکرد سلول‌های سرتولی و لیدیک می‌شود (۲۳). عدم تولید تستوسترون وابسته به LH منجر به آرواسپرمی می‌شود که نشان می‌دهد تستوسترون برای تولید اسپرم به شدت مورد نیاز است. نقش FSH در فیزیولوژی تولید مثل در هر دو جنس واضح است. در اسپرماتوزن با تستوسترون عمل سینرژیک دارد (۲۴، ۲۵).

طبق گزارشات قبلی، کلسی‌تونین در پلاسما منی می‌تواند بر تحرک اسپرم تأثیر بگذارد (۲۶). با این حال تریقی sCT بصورت ICV موجب کاهش تحرک اسپرم شد اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. ممکن است نیاز به گذشت مدت زمان بیشتری باشد تا تریقی ICV پپتید sCT بتواند بر عملکرد میتوکندری‌ها و در نتیجه تحرک اسپرم تأثیر گذار باشد. با این حال sCT موجب کاهش غلظت اسپرم گردید. همچنین نتایج ما نشان داد که sCT باعث کاهش اسپرم زنده می‌شود. sCT موجب کاهش اسپرم‌های با آکروزوم دست نخورده (آکروزوم‌های سالم) شد و نیز موجب افزایش تعداد اسپرم با آکروزوم‌های از دست رفته گردید.

تریقی کلسی‌تونین سالمون برای درمان پوکی استخوان در زنان یائسه استفاده می‌شود. پوکی استخوان، بیماری است که باعث ضعیف شدن استخوان‌ها و شکستن راحت‌تر آن می‌شود. تریقی کلسی‌تونین همچنین برای درمان بیماری پازیه استخوان و کاهش سریع سطح کلسیم در خون در صورت نیاز استفاده می‌شود. کلسی‌تونین یک هورمون است که در جلوگیری از تجزیه‌ی استخوان و افزایش تراکم (ضخامت) استخوان عمل می‌کند (۲۷). ارتباط ضعیفی بین مصرف طولانی مدت کلسی‌تونین داخل بینی و افزایش بروز سرطان، به ویژه کارسینوم سلول بازال وجود دارد با این حال اثرات توکسیک به کلسی‌تونین نسبت داده شده است (۲۸).

استفاده از کلسی‌تونین ممکن است منجر به هیپوکلسمی شود. هیپوکلسمی می‌تواند باعث کزاز، تشنج، تغییر در وضعیت ذهنی و ایست قلبی شود. هنگام استفاده از کلسی‌تونین برای بیماری پازیه یا پوکی استخوان، توصیه می‌شود که بیماران مکمل ویتامین D و کلسیم را برای جلوگیری از هیپوکلسمی مصرف کنند (۲۹). همچنین گزارش شده است که کلسی‌تونین ممکن است باعث کاهش هورمون‌های جنسی شود و بنابراین عملکرد اسپرم را تحت تأثیر قرار دهد (۲۲). LH، FSH و تستوسترون می‌توانند بر پارامترهای مایع منی تأثیر بگذارند. عدم تعادل این هورمون‌ها باعث کاهش کیفیت اسپرم می‌شود (۳۰).

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌ی ما نشان داد، تجویز sCT بصورت ICV می‌تواند کیفیت اسپرم را کاهش دهد. مکانیسم این اثر احتمالاً ناشی از کاهش تولید LH، FSH و تستوسترون باشد. با این حال شناخت کمی در رابطه با اثرات پپتیدهای خانواده‌ی کلسی‌تونین بر سیستم تولید مثلی وجود دارد و همچنین تعمیم نتایج به انسان نیازمند انجام مطالعات بیشتری می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی می‌باشد که در دانشگاه شهید چمران اهواز به تصویب رسیده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی به انجام رسیده است. بدینوسیله از زحمات معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز تقدیر و تشکر می‌شود.

## References

- Son YL, Ubuka T, Tsutsui K. Regulation of stress response on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis via gonadotropin-inhibitory hormone. *Front Neuroendocrinol* 2022; 64: 100953.
- George AJ, Dong B, Lail H, Gomez M, Hoffiz YC, Ware CB, et al. The E3 ubiquitin ligase RNF216/TRIAD3 is a key coordinator of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *iScience* 2022; 25(6): 104386.
- Zirkin BR, Papadopoulos V. Leydig cells: formation, function, and regulation. *Biol Reprod* 2018; 99(1): 101-11.
- Jiang T, Osadchiy V, Santamaria A, Zheng MH, Modiri N, Sigalov JT, et al. Initial gonadotropin levels and sperm parameters differentiate the response to clomiphene citrate in subfertile men. *Transl Androl Urol* 2022; 11(2): 116-23.
- Rahimova A, Zaidi M, Huang CL. Biology of calcitonin as an osteoprotective agent. 2020; 599-607.
- Kamgar-Parsi K, Tolchard J, Habenstein B, Loquet A, Naito A, Ramamoorthy A. Structural biology of calcitonin: from aqueous therapeutic properties to amyloid aggregation. *Isr J Chem* 2017; 57(7-8): 634-50.
- Huang C, Sun L, Moonga B, Zaidi M. Molecular physiology and pharmacology of calcitonin. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2006; 52(3): 33-43.
- Chesnut 3rd CH, Silverman S, Andriano K, Genant H, Gimona A, Harris S, et al. A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the prevent recurrence of osteoporotic fractures study. *Am J Med* 2000; 109(4): 267-76.
- Chesnut 3rd, Azria M, Silverman S, Engelhardt M, Olson M, Mindeholm L. Salmon calcitonin: a review of current and future therapeutic indications. *Osteoporos Int* 2008; 19(4): 479-91.
- Haddadi K, Asadian L, Isazade A. Effects of nasal calcitonin vs. oral gabapentin on pain and symptoms of lumbar spinal stenosis: a clinical trial study. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord* 2016; 9: 133-8.
- Karponis A, Rizou S, Pallis D, Zafeiris C, Georgiou D, Galanos A, et al. Analgesic effect of nasal salmon calcitonin during the early post-fracture period of the distal radius fracture. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2015; 15(2): 186-9.
- Henriksen K, Byrjalsen I, Andersen JR, Bihlet AR, Russo LA, Alexandersen P, et al. A randomized, double-blind, multicenter, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of oral salmon calcitonin in the treatment of osteoporosis in postmenopausal women taking calcium and vitamin D. *Bone* 2016; 91: 122-9.
- Karsdal MA, Byrjalsen I, Alexandersen P, Bihlet A, Andersen JR, Riis BJ, et al. Treatment of symptomatic knee osteoarthritis with oral salmon calcitonin: results from two phase 3 trials. *Osteoarthritis Cartilage* 2015; 23(4): 532-43.
- Knopp-Sihota JA, Newburn-Cook CV, Homik J, Cummings GG, Voaklander D. Calcitonin for treating acute and chronic pain of recent and remote osteoporotic vertebral compression fractures: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int* 2012; 23(1): 17-38.
- Omirinde JO, Azeez IA. Neuropeptide Profiles of Mammalian Male Genital Tract: Distribution and Functional Relevance in Reproduction. *Front Vet Sci* 2022; 9: 842515.
- Zhu B, Liu Q, Lin LI, Zheng X. Reductions in calcitonin gene-related peptide may be associated with the impairment of the contralateral testis in unilateral cryptorchidism. *Exp Ther Med* 2015; 9(5): 1797-800.
- Rahimi K, Sajedianfard J, Owji AA. Effects of salmon calcitonin on the concentrations of monoamines in periaqueductal gray in formalin test. *Balkan Med J* 2019; 36(5): 263-9.
- Adamkovicova M, Toman R, Martiniakova M, Omelka R, Babosova R, Krajcovicova V, et al. Sperm motility and morphology changes in rats exposed to cadmium and diazinon. *Reprod Biol Endocrinol* 2016; 14(1): 42.
- Cooper CW, Peng TC, Obie JF, Garner SC. Calcitonin-like immunoreactivity in rat and human pituitary glands: histochemical, in vitro, and in vivo studies. *Endocrinology* 1980; 107(1): 98-107.
- Flynn JJ, Margules DL, Cooper CW. Presence of immunoreactive calcitonin in the hypothalamus and pituitary lobes of rats. *Brain Res Bull* 1981; 6(4-6): 547-59.
- Gamakharia S, Le Foll C, Rist W, Baader-Pagler T, Baljuls A, Lutz TA. The calcitonin receptor is the main mediator of LAAMA's body weight lowering effects in male mice. *Eur J Pharmacol* 2021; 908: 174352.
- Wang PS, Tsai SC, Hwang GS, Wang SW, Lu CC, Chen JJ, et al. Calcitonin inhibits testosterone and luteinizing hormone secretion through a mechanism involving an increase in camp production in rats. *J Bone Miner Res* 1994; 9(10): 1583-90.
- Aaron L, Franco OE, Hayward SW. Review of prostate anatomy and embryology and the etiology of benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am* 2016; 43(3): 279-88.
- Foran D, Chen R, Jayasena CN, Minhas S, Tharakan T. The use of hormone stimulation in male infertility. *Curr Opin Pharmacol* 2023; 68: 102-33.
- Panza S, Giordano F, De Rose D, Panno ML, De Amicis F, Santoro M, et al. FSH-R Human Early Male Genital Tract, Testicular Tumors and Sperm: Its Involvement in Testicular Disorders. *Life (Basel)* 2020; 10(12): 336-41.
- Mungan NA, Mungan G, Basar MM, Baykam M, Atan A. Effect of seminal plasma calcitonin levels on sperm mobility. *Arch Androl* 2001; 47(2): 113-7.
- Drake MT, Clarke BL, Khosla S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clin Proc* 2008; 83(9): 1032-45.
- Ishii J, Katayama S, Itabashi A, Takahama M, Kawazu S. Salmon calcitonin induces pituitary tumor in rats. *Endocrinol Jpn* 1991; 38(6): 705-9.
- Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int* 2014; 25(10): 2359-81.
- Sengupta P, Dutta S, Karkada IR, Chinni SV. Endocrinopathies and Male Infertility. *Life (Basel)* 2022; 12(1): 10.

## The Effects of Intracerebro-Ventricular Administration of Salmon Calcitonin on Sperm Parameters in Rats

Kaveh Rahimi<sup>1</sup>, Javad Sajedianfard<sup>2</sup>, Moslem Riyahi<sup>3</sup>, Saeed Nazifi<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** The function of the hypothalamus-pituitary-gonadal axis plays an important role in regulating fertility. This study aimed to investigate the effect of intracerebroventricular (ICV) injection of salmon calcitonin (sCT) on sex hormones and sperm quality in rats.

**Methods:** This experimental study was conducted in 2023 at Shahid Chamran University of Ahvaz and Shiraz University. Twelve rats were divided into two groups (n = 6). Rats of the first group (control) were injected with artificial cerebrospinal fluid with a volume of 5 microliters ICV. Rats of the second group injected ICV with sCT at a dose of 1.5 nmol with a volume of 5 microliters. 72 hours after ICV injections, the serum levels of LH, FSH, and testosterone were measured. Also, sperms from the epididymal region were used to determine sperm quality.

**Findings:** ICV injection of sCT decreased the levels of LH, FSH, and testosterone significantly. The sCT reduced sperm density significantly, but not motility, compared to the control group. The sCT decreased significantly the intact acrosome and increased the damaged acrosome compared to the control group.

**Conclusion:** ICV injection of sCT can reduce sperm quality, probably through induction of an imbalance in FSH and LH production as well as testosterone.

**Keywords:** Salmon calcitonin; LH; FSH; Testosterone; Sperm

**Citation:** Rahimi K, Sajedianfard J, Riyahi M, Nazifi S. **The Effects of Intracerebro-Ventricular Administration of Salmon Calcitonin on Sperm Parameters in Rats.** J Isfahan Med Sch 2023; 41(725): 511-6.

1- Assistant Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- Associate Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

3- PhD of Physiology, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

4- Professor, Department of Clinical Science, School of Veterinary Science, Shiraz University, Shiraz, Iran

**Corresponding Author:** Kaveh Rahimi, Assistant Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Email: k.rahimi@scu.ac.ir