

UOT 3209.01

Tibb

KALSİUM ANTAQONİSTLƏRİNİN YÜKSƏK DOZALARI FƏNUNDA YUMURTALIĞIN STRUKTUR-FUNKSIONAL ELEMENTLƏRİNİN KƏMİYYƏT TƏRKİBİNDƏ VƏ ESTRADIOL SƏVİYYƏSİNDƏ BAŞ VERƏN DƏYİŞİKLİKLƏR

A.U. Kazımova, AMEA-nın müxbir üzvü Y.D.Məmmədov

Məqalədə kalsium antaqonistlərinin müxtəlif kimyəvi qruplardan olan nümayəndələrinin – verapamil, nifedipin diltiazemin dişə ağ siçovulların yumurtalıqındakı qenerativ elementlərin kəmiyyət tərkibində törətdiyi dəyişikliklər və estradiolun qandakı səviyyəsinə təsiri barədə məlumatlar verilir. Tədqiqatın nəticələrinə görə müvafiq tədqiqat preparatlarının yüksək dozaları fənunda yumurtalıqın struktur-funksional elementlərinin kəmiyyət tərkibində əhəmiyyətli dəyişiklik baş vermiş və estradiolun qandakı səviyyəsinin endiyi aşkar olunmuşdur.

Açar sözlər: kalsium antaqonistləri, reproduksiya, steroid hormonlar, yumurtalıq, estradiol arzuolunmaz təsir

Giriş

Beynəlxalq Tibbi Statistika Komitəsinin məlumatlarına görə, antihipertenziv dərmanlardan istifadə edilmənin tezlik göstəriciləri arasında kalsium antaqonistlərinin (KA) payı 36% təşkil edir ki, bu da praktik olaraq AÇF blokatorlarından istifadə tezliyinə bərabər olub, beta blokatorlar və diuretiklərin müvafiq göstəricilərindən 2-3 dəfə çoxdur [1]. Bütün dünyada [2], o cümlədən respublikamızda ürək-damar sistemi xəstəliklərinin cavanlaşması KA-dən reproduktiv yaşda istifadə tempinin artmasına gətirib çıxarır [3]. Ədəbiyyat mənbələrində KA-nin reproduktiv funksiyaya, o cümlədən bəzi qonadal steroid hormonların sekresiyasına təsiri barədə tədqiqat materiallarına rast gəlinərsə də, [4;5] estradiolun qandakı səviyyəsi və dişilərdə yumurtalıqın histo-morfologiyə quruluşuna təsiri barədə məlumatlar yox səviyyədədir.

Ca^{2+} ionlarının müxtəlif növ canlılarda meyoza prosesinin tənzimlənməsində iştirakı artıq əksər alimlər tərəfindən qəbul olunmuşdur [6;7] və endokrin hormonların reproduksiya orqanlarına göstərdiyi təsirdə vasitəçi rol oynadığı sübuta yetirilmişdir [8]. Həmçinin Ca^{2+} ionlarının hüceyrədaxili hemeostazını saxlamaq üçün müvafiq ionların axını potensialdan asılı kalsium kanalları vasitəsilə sərbəst şəkildə rəqulyasiya olunur. Belə ki, hüceyrə

membranı vasitəsilə Ca^{2+} ionlarının transportunda baş verən dəyişiklik cinsi hüceyrələrin formalaşmasına [9;10] və steroidogeneza güclü təsir göstərə bilər [11]. Sadalananları nəzərə alaraq qarşıya qoyduğumuz məqsəd KA-nin müxtəlif kimyəvi qruplardan olan nümayəndələrinin – verapamil, nifedipin və diltiazemin dişilərdə estradiolun qan plazmasındakı səviyyəsinə və yumurtalıqın histo-morfologiyə strukturuna təsirini öyrənməkdir.

Material və metodlar

Tədqiqatda xüsusi şəraitdə yetişdirilmiş cinsi yetişkənliyə çatmış, 180-220 qram çəkiddə olan 60 baş dişli cinsli ağ siçovuldan istifadə edilmişdir. Təcrübənin əvvəlində təsadüfi hamiləliyin qarşısını almaq üçün heyvanlar ayrılaraq 21 gün (3 estral tsikl) xüsusi qəfəsdə saxlanmışlar. Qəbul edilmiş qaydaya əsasən iki həftə ərzində vaginadan götürülən yaxma ilə estral tsikl yoxlanılmış və tsikl pozulması olan heyvanlar təcrübədən təcrid olunmuşdular. Beləliklə təcrübə 46 baş ağ siçovul üzərində aparılmışdır. Hər tədqiqat qrupunda 12 heyvan olmaqla 1 kontrol və 3 tədqiqat qrupuna bölünmüşdür. 1-ci qrup kontrol heyvanlara gündəlik olaraq 0,2 ml NaCl-in 0,9%-li məhlulu, 2-ci, 3-cü və 4-cü qrupa daxil olan təcrübə heyvanlarına müvafiq olaraq 25 mq/kg dozada verapamil (izoptin, Abbott İtalya), 10

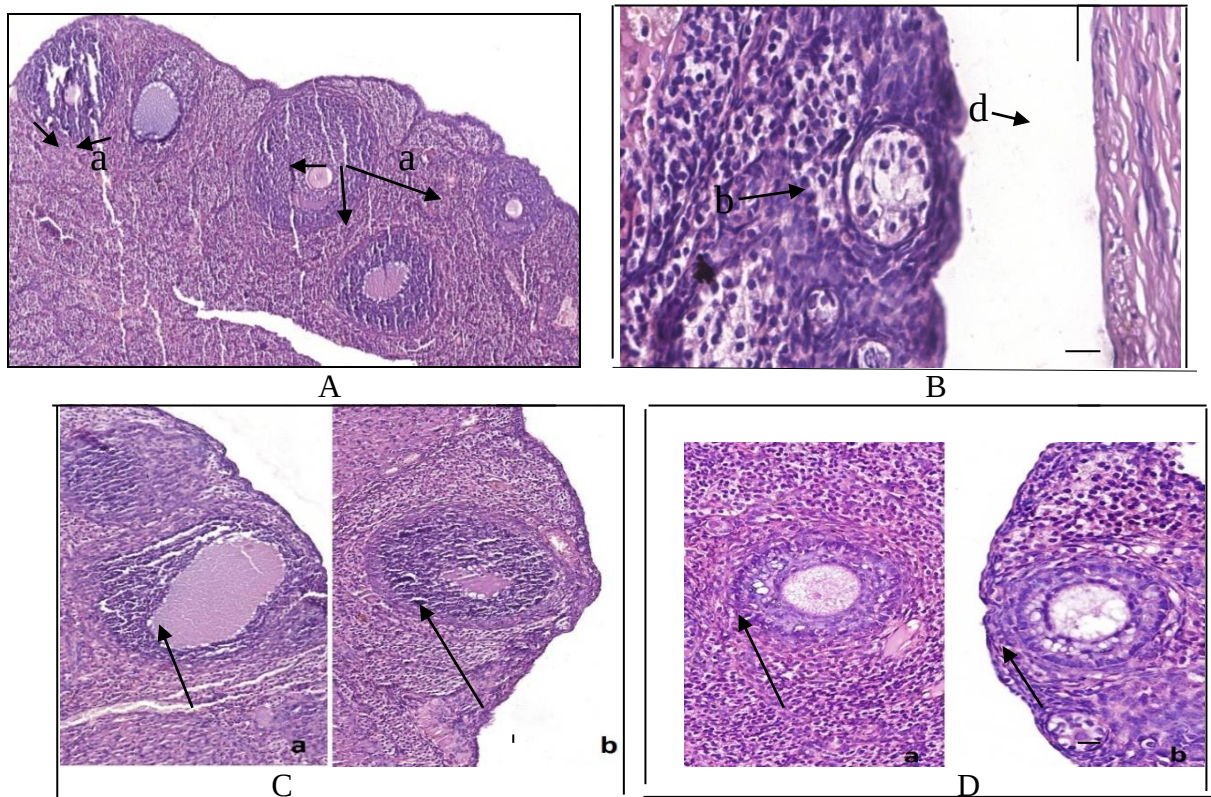
mq/kq dozada nifedipin (Farmodipin, “Farmak” Ukrayna), və 20 mq/kq dozada diltiazem (Diltizem-L, MNİS-İstanbul) yeridilmişdir. Dərman maddələri heyvanların qarın boşluğuna yeridilmiş və dozalar əldə olunan ədəbiyyatlara əsasən müəyyən edilmişdir [12]. Eyni qidalanma və saxlanma şəraitində bəslənmək şərti ilə heyvanlara müalicə kursu 21 gün davam etdirilmişdir, müalicənin son günü heyvanlar efir nakozu altında dekapitasiya edilmiş, intrakardial qan götürülmüş və qan serumundakı estradiol qatılığı “Estradiol Elisa kit İFA” standart reaktiv dəstindən istifadə etməklə “sendiviç” tipli immunoferment metodla təyin edilmişdir. Eyni zamanda heyvanların qarın boşluğu açılaraq hər iki yumurtalıq çıxarılmış və alınan biospiya nümunələri 10 %'li formalin məhlulunda fiksə edilmiş və müxtəlif qatılıqlı spirtlərlə susuzlaşdırılmışdır. Sonrakı mərhələdə tikələr ksilolda şəffaflaşdırılmış və parafinləşdirilərək blok halına gətirilmişdir. Bloklardan mikrotom (Leica RM 2125 RTS, Alma-

niya) vasitəsilə 5 mikronluq kəsiklər hazırlanmışdır. Kəsiklər hematoksinin və eozin boyları (Merck, Almaniya) ilə boyanmışdır. Hazırlanan preparatlar işıq mikroskopu (Leica DM 750, Almaniya) ilə və mikroskopa əlavə edilən kamera (Leica ICC 50, Almaniya) ilə nəzərdən keçirilmişdir.

Tədqiqatın nəticələrindən alınmış kəmiyyət göstəricilərinin statistik təhlili zamanı variasion statistik metoddan (Styudentin t-meyarı) və qeyri-parametrik üsul olan U (Uilkokson-Mann-Uitni) meyarı tətbiq edilmişdir. Statistik araşdırmalar MS EXCEL və S-PLUS proqramlarından istifadə edilməklə aparılmışdır

Nəticələr və onların müzakirəsi

Tədqiqatın nəticələri göstərdi ki, tədqiqat preparatlarının yüksək dozası fonunda yumurtalığın struktur-funksional elementlərinin kəmiyyət tərkibində əhəmiyyətli dəyişiklik baş vermişdir (şəkil 1).



Şəkil 1. KA-nin yüksək dozaları fonunda yumurtalığın histomorfoloji quruluşu; A-kontrol qrup; B-verapamil qrupu; C-nifedipin qrupu; D-diltiazem qrupu; a-antral follikul; b- preantral follikul; d- kubik epitel.

Şəkildən göründüyü kimi nəzarət qrupundan olan siçovulun yumurtalığında çox sayda interstisial hüceyrələrdən təşkil olunmuş geniş stroma içində müxtəlif ölçülü antral follikullar və səthi hissədə yumurtalığı xaricdən örtən kubik epitel görünür. Verapamil (25 mq/kq) tətbiq edilən siçovul yumurtalığında interstisial hüceyrələr ilə əhatə olunmuş tək preantral follikula rast gəlinir. Nifedipinin 10 mq/kq dozası tətbiq edilən siçovulun yumurtalığında orta miqdarda interstisial hüceyrə ilə əhatə olunmuş antral follikullar görünür. Diltiazemin yüksək dozası (20 mq/kq) fonunda siçovulun yumurtalığında orta miqdarda interstisial hüceyrə ilə əhatə olunmuş antral və preantral follikullara rast gəlinir. Vizual müşahidə ilə tədqiqat qrupu heyvanlarının, xüsusən də verapamil (25 mq/kq) qrupuna daxil olan heyvanların bədən ölçülərinin kiçildiyi aşkar olunmuşdur. Verapamilin 25 mq/kq dozası fonunda uzunmüddətli müalicə kursu alan dişi siçovularda antral və preantral follikulların sayı

kontrol qrup heyvanlarının göstəricilərindən müvafiq olaraq 8 ($p<0,001$) və 2 dəfə statistik etibarlılığı azalmışdır ($p<0,05$). Bununla yanaşı qan serumundakı estradiol səviyyəsinin kontrol qrupla müqayisədə 52,4 % azalması qeydə alınmışdır ($p<0,001$). Nifedipinlə 10 mq/kq və diltiazemlə 20 mq/kq dozalarda müalicə kursu alan dişilərdə antral follikul göstəriciləri kontrol qrupla müqayisədə müvafiq olaraq 70% ($p<0,005$) və 1,7 dəfə ($p<0,001$) azalmışdır ki, bu da verapamil (25 mq/kq) qrupu heyvanlarının göstəricilərindən müvafiq olaraq 4 və 2,2 dəfə artıq olmuşdur. Preantral follikulların sayında da analoji dəyişikliklər aşkar olunmuşdur. Belə ki, nifedipin (10 mq/kq) və diltiazem (20 mq/kq) qrupunda bu azalma kontrol qrupla müqayisədə müvafiq olaraq 71% ($p<0,05$) və 41,7% ($p>0,05$) təşkil etmişdir və müvafiq göstəricilərin verapamil qrupu göstəricilərindən 16,7 % və 1,8 dəfə yüksək olması aşkar edilmişdir (cədvəl 1).

Cədvəl 1

Yüksək dozalar fonunda ağ siçovulların yumurtalığındakı struktur-funksional elementlərin kəmiyyət tərkibində baş verən dəyişikliklər

№	Qruplar (n=12)	Preantral follikullar	Antral follikullar	Degenerativ follikullar	Sarı cisim
1	Kontrol (n=10)	2,0±0,4 (0-3)	10,5±1,0 (6-15)	0,6±0,3 (0-2)	7,3±1,3 (0-13)
2	Verapamil 25 mq/kq	1,0±0,2 (0-2)	1,2±0,2 (0-2)	1,9±0,5 (0-4)	2,8±1,0 (0-9)
	p ₁	<0,05	<0,001	>0,05	p<0,05
3	Nifedipin 5 mq/kq	1,2±0,2 (0-2)	6,2±0,3 (5-8)	1,4±0,4 (0-3)	5,4±0,9 (0-12)
	p ₁ ; p ₂	p ₁ <0,05 p ₂ >0,05	p ₁ <0,005 p ₂ <0,001	p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	p ₁ >0,05 p ₂ <0,05
4	Diltiazem 5 mq/kq	2,8±0,5 (1-5)	3,8±0,3 (3-6)	0,3±0,1 (0-1)	5,0±0,8 (0-9)
	p ₁ ; p ₂	p ₁ >0,05 p ₂ <0,005	p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	p ₁ >0,05 p ₂ <0,05	p ₁ <0,05 p ₂ <0,05

Qeyd: p₁ – kontrol qrupla müqayisədə; p₂ – verapamilə müqayisədə; p<0,05 qruplar arasında fərqin statistik etibarlılığı

Cədvəl 2

Kalsium antaqonistlərinin yüksək dozaları fonunda ağ siçovulların qan plazmasında estradiolun qatılığı

№	Qruplar (n=12)	Эстрадиол pq/ml	P ₁	P ₂
1	kontrol (n=10)	72,1±1,6 (64,0-82,2)	—	—
2	verapamil(25 mq/kq)	34,3±0,7 (29,3-37,6)	<0,001	
3	nifedipin (10mq/kq)	65,0±2,4 (53,3-76,8)	<0,05	<0,001
4	diltiazem (20mq/kq)	39,3±0,7 (35,0-42,7)	<0,001	<0,01

Qeyd: p₁ – kontrol qrupla müqayisədə; p₂- verapamillə müqayisədə; p<0,05 qruplar arasında fərqin statistik etibarlılığı

Nifedipin və diltiazemin yüksək dozaları fonunda estradiol səviyyəsinin kontrol qrupla müqayisədə müvafiq olaraq 9,8 % və 45,5 % statistik etibarlı (p<0,05) enməsi, bu dəyişikliyin follikulların kəmiyyət tərkibi və yetişməsi ilə əlaqəli xarakter daşdığını sübut edir (cədvəl 2). Digər tərəfdən nifedipin (10 mq/kq) və diltiazem (20 mq/kq) qrupu tədqiqat heyvanlarında estradiol səviyyəsi göstəriciləri verapamil (25 mq/kq) qrup təcrübə heyvanları göstəriciləri ilə müqayisədə müvafiq olaraq 89,7 % (p₂<0,001) və 14,6% yüksək olmuşdur (p₂<0,01).

Məlum olduğu kimi estradiol yumurtalığın qranulyar hüceyrələrində preovulyator follikullar tərəfindən androgenlərin aromatisasiyası hesabına sintez olunur və adı çəkilən hormonun miqdarı follikulun ölçüsü ilə düz mütənasib olaraq artır. Digər tərəfdən məlum olur ki, degenerasiyaya uğramış follikulların sayının artma tempində bir qədər yüksəlmə müşahidə olunur ku, bu dəyişikliyə verapamil (25mq/kq) qrupunda daha çox rast gəlinir (cədvəl1). Aparılan tədqiqatlarından alınan nəticələr sübut edir ki, bütün tədqiqat qrupları üzrə qan plazmasındakı estradiol səviyyəsinin enməsi, yumurtalığın struktur-funksional elementlərinin kəmiyyət tərkibindəki dəyişikliklə və onların yetişməsi ilə sıx əlaqəlidir. Sarı cismin miqdarına gəldikdə isə məlum olur ki, müvafiq qrup dişilərdə bu göstərici kontrol qrupdan 1,6 dəfə aşağı olmuşdur (p<0.05) (cədvəl 1). Nifedipin (10mq/kq) və diltiazem (20 mq/kq) qrupunda sarı cismin miqdarındakı azalma kontrol qrupla müqayisədə müvafiq olaraq

45% (p>0.05) və 4 dəfə statistik etibarlılığı azalmışdır (p<0.05) və verapamil (25mq/kq) qrupu ilə müqayisədə təxminən 2 dəfə artıq olmuşdur. Bu da çox güman ki, follikulların yetişməsində və yumurtalıqda baş verən destruktiv dəyişikliklə əlaqədardır.

Beləliklə, tədqiqatın nəticələri bizim üçün reproduktiv yaşda və menopauza dövründə KA-nin yüksək dozalarının istifadəsinin göstəriş və əks göstəriş aspektindən nəzəri bazasının artırılması üçün böyük əhəmiyyət kəsb edir. Həmçinin, kliniki praktikada reproduktiv yaşda olan qadınlarda müxtəlif xəstəliklərin farmakoterapiyasında verapamil, eləcə də diltiazemdən istifadə zamanı onların yumurtalıqda neqativ təsir potensialının nəzərə alınmasının vacibliyi müəyyən edildi.

ƏDƏBİYYAT

1. Карнов Ю.А. Роль антагонистов кальция в лечении пациентов с сочетанием АГ и ИБС // Артериальная гипертензия, 2007, №1, с.27-33.
2. Wielton P.M., Reynolds K.M., Muntaner P. et al. Global burden of hypertension analysis of world wide data // Lancet, 2009, vol. 365 (9455), p.217-2.
3. Агаев Э. М., Абышев А.З. Антагонисты ионов кальция средства для лечения сердечно-сосудистых заболеваний (обзор) // Азерб.мед.ж., 2001, №2, с.3-8.
4. Adefule A., Adesanya O., Akpan H. et.al. Toxity effects of amlodipine on the testis histology in adult Wistar rats // American Journal of Medicine and Medical Sciences 2012, vol. 2(3), p. 36-40.
5. Onwuka F.C., Patrick K.C., Nunodu C.K., Effect of amlodipine, a calcium channel antagonist, on gonadal steroid hormones of male wistar albino rats // Journal of Experimental Pharmacology, 2010, № 3, p 55-58.
6. Boni R., Gualtieri R., Talevir R., Tosti E. Calsium and other ion dynamics during qamete maturation and

fertilization // *Theriogenology*, 2007, vol. 68 p.156-164.
 7. *Lambert C.C.* Signaling pathways in ascidian oocyte maturation: the roles of cAMP/Epac, intracellular calcium levels, and calmodulin kinase in regulating GVBD// *Mol Reprod Dev* 2011, vol.78, p.726–733.
 8. *Yamaguchi M.* Role Ca ions in the regulation of cell homeostasis and function // *Int. J. Mol. Med*, 2005, vol.15, p. 371-89.
 9. *Tosti E., Gallo A., Silvestre F.* Ion currents involved in oocyte maturation, fertilization and early developmental stages of the ascidian *Ca ion intestinalis*// *Mol Reprod Dev*, 2011, vol.78, p.850- 860
 10. *Qallo A., Russo J.L., Tosti E.* T-type Ca^{2+} channel

blocker current activity during the growth and maturation of oocytes in the squirt *Styela Plicata* // 22 jan. 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0054604. PMC. 355.
 11. *Haisenleder D.J., Ferris H.A., Shupnik M.A.* Calcium component of gonadotropin releasing hormone stimulated luteinizing hormone subunit gene transcription is mediated calcium calmodulin-dependent protein kinase of the second type // *Endocrinology*, 2003, vol.144, p.2409-16.
 12. *Асметов В.Я., Гурбанов Г.Н., Ганиев М.М.* Влияние верапамила на побочные эффекты галоперидола // *Экспериментальная и клиническая медицина*, 2007, № 5, с.45-47.

*Azərbaycan Tibb Universiteti
 Patoloji fiziologiya kafedrası
 Farmakologiya kafedrası*

QUANTIFIED CHANGES OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ELEMENTS OF THE OVARY AND IN ESTRADIOL LEVELS IN THE BLOOD AMID HIGH DOSES OF CALCIUM ANTAGONISTS

A.U.Kazimova, Y.D.Mamedov

Case of verapamil taken in 25 mg/kg dose and diltiazem taken in 20 mg/kg dose there were a significant decrease of antral and preantral follicles and reduction in serum estradiol in compare with control group. Significant changes not observed in females from the group of nifedipine (10 mg/kg) compared to other research drugs.

Keywords: reproduction, calcium channel blockers, steroid hormones, ovary, side effects

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ЯИЧНИКА И УРОВНЯ ЭСТРАДИОЛА В КРОВИ НА ФОНЕ ВЫСОКИХ ДОЗ АНТАГОНИСТОВ КАЛЬЦИЯ

А.У. Кязимова, Я.Д.Мамедов

На фоне 25 мг/кг дозы верапамила и в дозе 20 мг/кг дилтиазема отмечалось значительное уменьшение в числе антральных и преантральных фолликул, в том числе уровня эстрадиола в крови по сравнению с контрольной группой. Существенных изменений не отмечалось у самок из группы нифедипин (10 мг/кг) по сравнению с другими исследовательскими препаратами.

Ключевые слова: репродукция, антагонисты кальция, стероидные гормоны, яичники, нежелательный эффект