

Elahe Jamali<sup>1</sup>, Mehrdad Shariati<sup>2\*</sup>

1. M.Sc in Cell and Developmental Biology, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

2. Associate Professor, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

## The Study of Testicular Development in Newborn Male Rats from the Mothers Treated with Maprotiline Hydrochloride Drug

Received: 15 Jul. 2017; Accepted: 4 Jan. 2018

### Abstract

**Background:** Maprotiline hydrochloride is a norepinephrine reuptake inhibitor; that is using for the treatment of depression. In this research, were studied the effect of maprotiline on changes of the testicular tissue and the concentration of testosterone and gonadotropins in newborn male rats from the mothers treated with this drug.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 40 newborn male rats wistar strain, from pregnant mothers that received 30, 60 and 90 mg/Kg of maprotiline hydrochloride in the three experimental groups orally for pregnancy period that is 21 days. Divided to 5 group of 8 animals. The control group received nothing, and the sham group received solvent. In 22th days after parturition, the newborns weighted and blood samples were taken from the hearts, and concentrations of FSH, LH and testosterone were measured by RIA method. The newborns testes were separated and histological changes were studied.

**Results:** 60 and 90 mg/kg of maprotiline hydrochloride can be reduced significantly testosterone levels while it increased significantly LH levels compare with control group ( $p < 0.05$ ). FSH levels don't showed significant changes between the experimental and control groups. Histological examination showed a significant decrease in the sperm density, the number of spermatogonia, primary spermatocytes, spermatids and leydig cells in the experimental groups receiving 60 and 90 mg/kg of the drug, compared to the control group. Also in the experimental groups receiving the drug, with increasing amounts of the drug, decreased body weight and testes weight compared to the control group.

**Conclusion:** 60 and 90 mg/kg of maprotiline hydrochloride decreases significantly the concentration of testosterone and the number of spermatogenic cells and increases LH levels.

**Keywords:** Maprotiline hydrochloride, Gonadotropins, Testosterone, Newborn rat

\*Corresponding Author:  
Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Tel: 0917-3133221  
Email: mehrdadshariati@hotmail.com

## بررسی تکوین بیضه نوزادان موش‌های صحرایی متولد از مادران تحت تیمار با داروی مایروتیلین هیدرو کلراید

الهه جمالی<sup>۱</sup>، مهرداد شریعتی<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، گروه بیولوژی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران  
<sup>۲</sup> دانشیار، گروه بیولوژی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۶/۴/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** مایروتیلین هیدروکلراید یک مهارکننده باز جذب نوراپی نفرین است که جهت درمان افسردگی استفاده می‌گردد. در این تحقیق تأثیر مایروتیلین هیدروکلراید بر تغییرات بافت بیضه و هورمون‌های گنادوتروپین و تستوسترون در نوزادان موش صحرایی متولد از مادران تحت تیمار با این دارو بررسی گردید.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ۴۰ سر نوزاد نر موش صحرایی نژاد ویستار از مادرانی که قبلاً در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب مقادیر ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی مایروتیلین هیدرو کلراید در دوره ۲۱ روزه بارداری به صورت خوراکی دریافت کرده بودند به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد. گروه شاهد فقط حلال دارو (آب مقطر) دریافت کرد. بعد از پایان دوره ۲۲ روزه نوزادی گروه‌ها وزن‌کشی، و خون‌گیری از قلب انجام شد و غلظت سرمی هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون به روش رادیوایمونواسی اندازه‌گیری گردید. بیضه‌ها از بدن خارج، مقاطع بافتی تهیه و مورد مطالعه قرار گرفت.

**یافته‌ها:** مصرف داروی مایروتیلین هیدرو کلراید در مقادیر ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل باعث کاهش غلظت تستوسترون و افزایش غلظت LH در سطح  $p < 0.05$  شده است. میزان هورمون FSH بین گروه‌های تجربی و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نداد. بررسی مقاطع بافتی نیز نشان می‌دهد تراکم اسپرم، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و لیدیک در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده مقادیر ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از دارو، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دارند. همچنین در گروه‌های تجربی با افزایش دوز، کاهش وزن بدن و بیضه‌ها در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** مصرف مایروتیلین هیدروکلراید در دوزهای ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری باعث کاهش غلظت تستوسترون و تضعیف روند تولید سلول‌های اسپرماتوژنیک و افزایش غلظت هورمون LH می‌گردد.

**کلمات کلیدی:** مایروتیلین هیدروکلراید، گنادوتروپین، تستوسترون، نوزاد موش صحرایی

\* نویسنده مسئول:

گروه بیولوژی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۰۹۱۷-۳۱۳۳۲۲۱

Email: mehrdadshariati@hotmail.com

## مقدمه

افسردگی یک اختلال روانی است که در نتیجه برخی فعل‌و‌انفعالات شیمیایی در مغز اتفاق می‌افتد و در مجموع بیش از ۱۵ درصد از افراد را در طول عمر خود مبتلا ساخته است. نوراپی نفرین و سروتونین دو نوروترانسمیتر از نوع آمین زیستی هستند که بیشترین دخالت را در پاتوفیزیولوژی اختلالات خلقی دارند. افزایش این نوروترانسمیترها منجر به اضطراب و کاهش آن‌ها منجر به افت خلق می‌گردد. ارتباط میان تقلیل گیرنده‌های آدرنژیک و پاسخ بالینی به داروهای ضدافسردگی مشاهده شده در مطالعات علوم پایه، می‌تواند دلیل قانع‌کننده‌ای بر نقش مستقیم دستگاه نورآدرنژیک در افسردگی باشد.<sup>۱</sup>

ماپروتیلین هیدرو کلراید (بانام تجاری Ludiomil) از داروهای ضدافسردگی چند حلقه‌ای نسل دوم بوده و به شکل قرص‌های روکش دار ۲۵ و ۷۵ میلی‌گرمی جهت درمان طولانی‌مدت افسردگی، همچنین درمان افسردگی توأم با اضطراب مورد استفاده قرار می‌گیرد. مکانیسم اثر این دارو دقیقاً شناخته شده نیست ولی به نظر می‌رسد از طریق مهار باز جذب نوراپی نفرین و سروتونین در پایانه‌های عصبی نورون‌های پیش سیناپسی اثر خود را اعمال می‌کند، که به افزایش غلظت و فعالیت این نوروترانسمیترها در شکاف سیناپسی که در هنگام افسردگی کاهش یافته بودند، می‌انجامد.<sup>۲</sup> ماپروتیلین همچنین آنتاگونیست قوی گیرنده Histamine، آنتاگونیست متوسط گیرنده‌های 5-Hydroxy Tryptamine و  $\alpha_1$  آدرنژیک و آنتاگونیست ضعیف گیرنده‌های Dopamine و muscarinic Acetyl Cholinergic می‌باشد. اخیراً نیز به‌عنوان یک آنتاگونیست قوی برای گیرنده 5-Hydroxy Tryptamine<sup>۷</sup> شناخته شده است، بنابراین به‌طور بالقوه نقش مهمی به‌عنوان یک ضدافسردگی بازی می‌کند.<sup>۳</sup> جذب دارو از طریق دستگاه گوارش به آهستگی ولی به‌طور کامل صورت می‌گیرد. به‌طور گسترده در بدن از جمله CNS و شیر مادر ترشح می‌شود. ۸۸ درصد دارو به پروتئین‌های پلاسما متصل می‌شود. توسط کبد به آهستگی به متابولیت فعال دز- متیل ماپروتیلین متابولیزه می‌شود. این دارو اثر عبور اولیه قابل ملاحظه کبدی دارد. اوج غلظت سرمی ۲۴-۸ ساعت بعد از مصرف خوراکی حاصل می‌شود. نیمه‌عمر پلاسمایی آن ۵۱ ساعت و زمان رسیدن به حداکثر غلظت پلاسمایی ۱۲ ساعت می‌باشد. غلظت پایدار

پلاسمایی و اوج اثر درمانی معمولاً دو هفته است. غلظت سرمی درمانی فرض شده ۲۰۰ تا ۳۰۰ ng/ml می‌باشد.<sup>۴</sup> قسمت اعظم دارو به‌صورت متابولیت و طی سه هفته از راه ادرار و حدود ۳۰ درصد از آن از طریق مجرای صفراوی در مدفوع دفع می‌شود.<sup>۵</sup> احتباس ادرار، ناباروری، اختلال در فعالیت جنسی، بزرگی پستان و ترشح نابجای شیر از شایع‌ترین عوارض جانبی دارو می‌باشند.<sup>۴</sup> ماپروتیلین بر اساس تقسیم‌بندی سازمان غذا و داروی آمریکا، در گروه B قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه مطالعات کافی در زنان باردار صورت نگرفته، بهتر است در دوران بارداری فقط در صورتی که مصرف آن ضروری باشد استفاده شود و با توجه به اینکه در شیر مادر با غلظت مساوی یا بیشتر از سرم مادر ترشح می‌شود، باید با احتیاط مصرف شده و منافع آن برای مادر نسبت به مضرات آن برای کودک سنجیده شود.<sup>۵</sup> مطالعه بر روی اثرات مصرف ماپروتیلین در درمان افسردگی طیف گسترده‌ای از بیماران انجام شده است. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان‌دهنده تأثیر مفید این دارو در درمان افسردگی مقاوم به درمان است.<sup>۶</sup> اثرات درمانی ماپروتیلین در انواع افسردگی‌ها با سایر داروهای رایج ضدافسردگی مقایسه شده به‌طوری‌که در دوزهای بین ۵۰ تا ۱۵۰ mg/day با دوزهای درمانی پاروکستین،<sup>۷</sup> موکلوپامید<sup>۸</sup> و فلووکسامین<sup>۹،۱۰</sup> اثرات مشابه داشته است. در مطالعه‌ای که به بررسی تأثیر داروی ماپروتیلین بر روی ۶۵ بیمار مبتلا به انواع اختلالات افسردگی پرداخته شده بود، بعد از چهار هفته درمان با مقادیر ۵۰ تا ۲۰۰ mg/day ماپروتیلین ۵۰ درصد بیماران به بهبودی کامل و ۳۴ درصد به بهبودی نسبی دست یافتند. محققین در این پژوهش متذکر شدند که داروی ماپروتیلین با دوز حداکثر ۱۵۰ mg/day دارویی مؤثر در درمان اختلالات افسردگی می‌باشد.<sup>۱۱</sup> از طرفی تولیدمثل فرایندی پیچیده است که در جوامع امروزی اهمیت زیادی پیدا کرده است. این فرایند تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد. عوامل هورمونی درون‌ریز عصبی با تنظیم فعالیت واسطه‌های شیمیایی می‌توانند نقش مؤثری در تولیدمثل داشته باشند. بسیاری از واسطه‌های شیمیایی بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد اثر گذاشته و بدین طریق بر اسپرماتوژنز تأثیر می‌گذارند. جهش در بیان ژن‌های موجود در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد و یا اختلال در کنترل سنتز هورمون‌های جنسی موجب بروز اختلالاتی در سیستم تولیدمثلی می‌شود. با توجه به

کردند. و گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ هرکدام شامل ۵ سر موش ماده بود که روزانه ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی مایپروتیلین دریافت می‌کردند. در هر قفس ۳ موش نر یک هفته جهت بارداری کردن موش‌های ماده قرار گرفت. LD<sub>50</sub> مایپروتیلین برای موش صحرائی، ۷۰۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شده و تجویز دارو به صورت خوراکی (دهانی) در طول دوره ۲۱ روزه بارداری و در ساعت مشخصی از روز صورت می‌گرفت. بعد از زایمان، نوزادان نر آن‌ها در ۵ گروه ۸ تایی به همان ترتیب و درحالی‌که وزن تقریبی هرکدام ۲۰±۱۰ گرم بود، گروه‌بندی شد. پس از پایان دوره ۲۲ روزه نوزادی، خون‌گیری از قلب انجام شد. لوله‌های حاوی خون در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ، سرم جدا گردید و تا قبل از اندازه‌گیری میزان هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون در فریزر در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد زیر صفر به صورت منجمد نگهداری شدند<sup>۱۲</sup>.

### روش سنجش هورمونی

برای اندازه‌گیری غلظت هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون از روش رادیوایمونواسی استفاده شد. اساس این روش رقابت میان آنتی‌ژن موجود در نمونه سنجش برای اتصال به آنتی‌بادی است که از آنتی‌بادی رادیواکتیوید ۱۲۵ و از بافرت ریس با کمتر از ۱۰ درصد سدیم آزاد استفاده می‌شود.

### آزمایش‌های بافت‌شناسی

بعد از خون‌گیری، در ناحیه اسکروتوم بیضه‌های چپ و راست از کیسه اسکروتوم جدا و وزن‌کشی شدند و سپس به قطعات کوچک تقسیم و در محلول فرمالین ۱۰ درصد با pH=7.2 به مدت ۷۲ ساعت جهت فیکساسیون قرار داده شدند. سپس مرحله پاساژ بافتی شامل فیکساسیون، آبیگری، شفاف‌سازی و آغشتگی توسط دستگاه پردازش بافتی انجام شد. برش‌های نازک به ضخامت ۵ میکرون توسط میکروتوم دوار تهیه شد. پس از رنگ‌آمیزی برش‌ها با هماتوکسیلین و ائوزین، لام‌های میکروسکوپی تهیه شدند و سپس با دوربین نیکون از میدان‌های میکروسکوپی لام‌ها عکس برداری شد و عکس‌ها به کامپیوتر منتقل شدند. تعداد

افزایش شیوع افسردگی در جامعه از جمله در زنان باردار و استفاده از داروهای ضدافسردگی در دوران بارداری، و با توجه به اینکه بیشتر این داروها در کنار جنبه درمانی، دارای عوارض جانبی کوتاه‌مدت و یا درازمدت بی‌شماری هستند که مصرف آن‌ها در این دوران می‌تواند برای جنین خطرآفرین باشد، در این پژوهش تلاش بر این است با بررسی تأثیر داروی مایپروتیلین هیدروکلراید بر بافت بیضه و هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون در نوزادان موش صحرائی متولد از مادران تحت تیمار با این دارو، نتایج حاصل به انسان‌ها تعمیم داده شود.

### مواد و روش‌ها

حیوانات مورد استفاده در این پژوهش، ۴۰ سر نوزاد نر موش صحرائی نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۰۰ گرم و سن ۲۲ روز بودند که قبلاً مادران آن‌ها از خانه پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه و در دوره بارداری توسط داروی مایپروتیلین هیدروکلراید تیمار شده بودند. حیوانات در دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داشتند و دمای محیط ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد و در طول شبانه‌روز ثابت بود. آب و غذا در تمام طول آزمایش بدون هیچ محدودیتی در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت. قفس‌های نگهداری حیوانات از جنس پلی‌کربنات در ابعاد ۱۵×۲۵×۴۰ سانتی‌متری با سقفی مشبک از جنس استیل بود. کف قفس‌ها توسط تراشه‌های چوب مفروش شده بود و خاک‌اره‌های موجود در کف قفس هر دو روز تعویض و توسط آب و مواد ضد عفونی‌کننده شستشو می‌شدند. آب مصرفی، آب‌لوله‌کشی شهری، غذای مادران، غذای مخصوص موش و غذای نوزادان، شیر مادر بود.

### تیمار حیوانات

موش‌های مادر در ۵ گروه ۵ تایی به طوری‌که وزن تقریبی هرکدام از آن‌ها ۲۰±۲۰ گرم بود، طبقه‌بندی شدند. گروه کنترل شامل ۵ سر موش ماده بود که هیچ‌گونه تیمار دارویی یا غیر دارویی روی آن‌ها صورت نگرفت. گروه شاهد شامل ۵ سر موش ماده بود که در دوره بارداری روزانه حلال مصرفی دارو (آب مقطر) دریافت

## یافته‌ها

مقایسه نتایج آزمون آماری مربوط به وزن بدن نشان داد، در پی مصرف این دارو در دوزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در طول دوره ۲۱ روزه بارداری با افزایش دوز و در مقایسه با گروه کنترل، کاهش وزن بدن و بیضه‌ها در نوزادان مشاهده می‌گردد. ولی این کاهش در کوتاه‌مدت معنی‌دار نبود. مصرف این دارو در مدت ۲۱ روز در دوزهای ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌داری را در سطح هورمون LH نسبت به گروه کنترل نشان داد. مصرف داروی مایپروتیلین در دوزهای ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار غلظت تستوسترون نسبت به گروه کنترل گردید. میزان هورمون FSH بین گروه‌های تجربی و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۱).

سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید، سلول‌های سرتولی و لیدیگ در لوله‌های سمینفر در گروه‌های مورد مطالعه، شمارش شدند. در شمارش سلولی مقاطع به صورت تصادفی انتخاب شدند. به این منظور در هر گروه از هر موش ۱۵ لوله سمینفر انتخاب گردید به طوری که از هر موش ۳ لام و از هر لام ۵ لوله سمینفر شمارش شد. سپس میانگین کل از تعداد سلول‌ها به دست آمد و داده‌ها از نظر آماری مورد مقایسه قرار گرفتند.

## آنالیز آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از برنامه آماری SPSS و تستهای T-Test و ANOVA مورد بررسی قرار گرفت و اختلاف  $P < 0/05$  معنی‌دار، در نظر گرفته شد.

جدول ۱: مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون و میانگین وزن بدن و بیضه‌ها در گروه‌های مختلف در دوره ۲۱ روزه بارداری

گروه	غلظت هورمون تستوسترون (ng/ml)	غلظت هورمون FSH (mIU/L)	غلظت هورمون LH (IU/L)	میانگین وزن بدن (g)	میانگین وزن بیضه چپ (g)	میانگین وزن بیضه راست (g)
کنترل	۵/۴۰ ± ۰/۱۶	۳/۹۸ ± ۰/۳۰	۷/۶۸ ± ۰/۱۸	۹۹/۲۰ ± ۳/۸۹	۰/۹۴ ± ۰/۰۶	۰/۹۲ ± ۰/۰۷
شاهد	۵/۴۴ ± ۰/۱۶	۴/۳۲ ± ۰/۲۳	۷/۷۲ ± ۰/۱۲	۹۸/۴۰ ± ۵/۸۱	۰/۸۹ ± ۰/۰۷	۰/۸۹ ± ۰/۰۶
تجربی ۱ (30 mg/kg)	۴/۸۳ ± ۰/۱۹	۴/۲۴ ± ۰/۲۱	۷/۷۴ ± ۰/۱۱	۸۹/۸۸ ± ۵/۲۴	۰/۸۷ ± ۰/۰۶	۰/۸۵ ± ۰/۰۶
تجربی ۲ (60 mg/kg)	۴/۱۵ ± ۰/۱۹*	۴/۱۹ ± ۰/۲۱	۸/۲۰ ± ۰/۰۸*	۸۶/۷۵ ± ۲/۲۹	۰/۸۳ ± ۰/۰۵	۰/۸۱ ± ۰/۰۴
تجربی ۳ (90 mg/kg)	۳/۸۹ ± ۰/۱۸*	۴/۲۲ ± ۰/۱۴	۸/۷۹ ± ۰/۰۸*	۸۴/۳۸ ± ۳/۴۱	۰/۸۱ ± ۰/۰۴	۰/۷۸ ± ۰/۰۴

علامت \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار گروه کنترل با دیگر گروه‌ها در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد. هر یک از مقادیر نشان‌دهنده خطای انحراف معیار ± میانگین است.

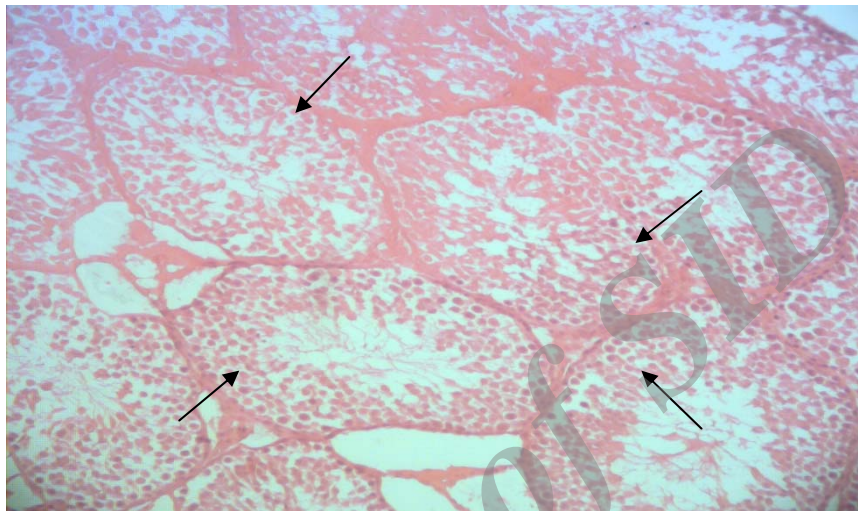
جدول ۲: مقایسه میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و سرتولی در یک لوله سمینفر و لیدیگ در گروه‌های مختلف در دوره ۲۱ روزه بارداری

گروه	تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در یک لوله سمینفر	تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در یک لوله سمینفر	تعداد سلول‌های اسپرماتید در یک لوله سمینفر	میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در یک لوله سمینفر	میانگین تعداد سلول‌های لیدیگ
کنترل	۶۰/۸۰ ± ۲/۳۳	۷۶/۰۰ ± ۲/۰۷	۱۲۸/۸۰ ± ۱/۵۳	۱۹/۴۰ ± ۱/۳۶	۲۱/۶۰ ± ۱/۳۶
شاهد	۶۰/۲۰ ± ۲/۲۰	۷۵/۴۰ ± ۲/۴۲	۱۲۹/۶۰ ± ۱/۲۹	۱۸/۸۰ ± ۱/۵۰	۲۲/۱۸ ± ۱/۰۸
تجربی ۱ (30 mg/kg)	۵۴/۸۶ ± ۱/۹۸	۷۰/۸۶ ± ۱/۷۵	۱۲۴/۹۶ ± ۱/۹۹	۲۲/۱۴ ± ۱/۵۳	۱۹/۲۱ ± ۰/۸۱
تجربی ۲ (60 mg/kg)	۴۳/۲۵ ± ۱/۵۰*	۶۴/۳۸ ± ۱/۱۳*	۱۱۵/۶۳ ± ۱/۵۱*	۱۸/۵۰ ± ۰/۹۳	۱۳/۶۳ ± ۰/۷۵*
تجربی ۳ (90 mg/kg)	۳۹/۷۵ ± ۱/۳۳*	۶۱/۵۰ ± ۱/۳۲*	۱۰۸/۳۸ ± ۱/۱۳*	۱۹/۶۳ ± ۰/۹۸	۱۱/۱۳ ± ۰/۹۰*

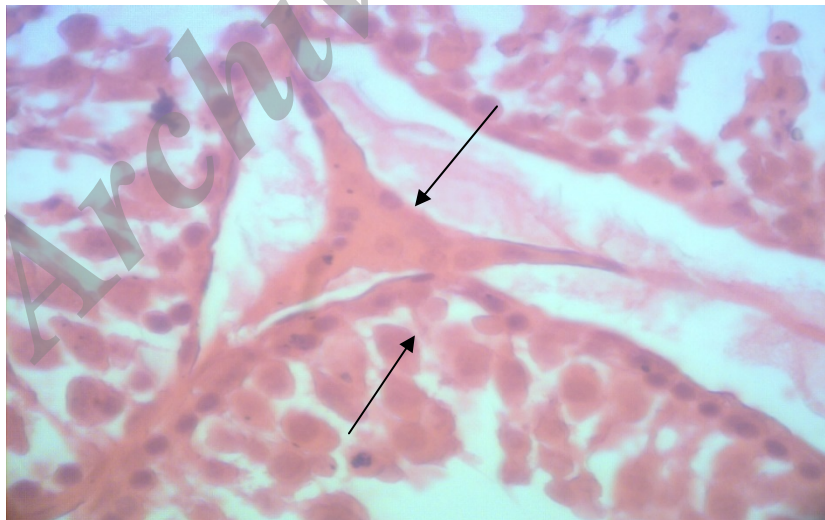
علامت \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار گروه کنترل با دیگر گروه‌ها در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد. هر یک از مقادیر نشان‌دهنده خطای انحراف معیار ± میانگین است.

تیمار در مقایسه با گروه کنترل و با افزایش دوز دارو تغییراتی از نظر تعداد، اندازه، فضای بینابینی و ساختار لوله‌های اسپرم‌ساز صورت گرفته است. این دارو در طول دوره بارداری اثری بر تعداد سلول‌های سرتولی نداشت (جدول ۲) و (شکل‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸).

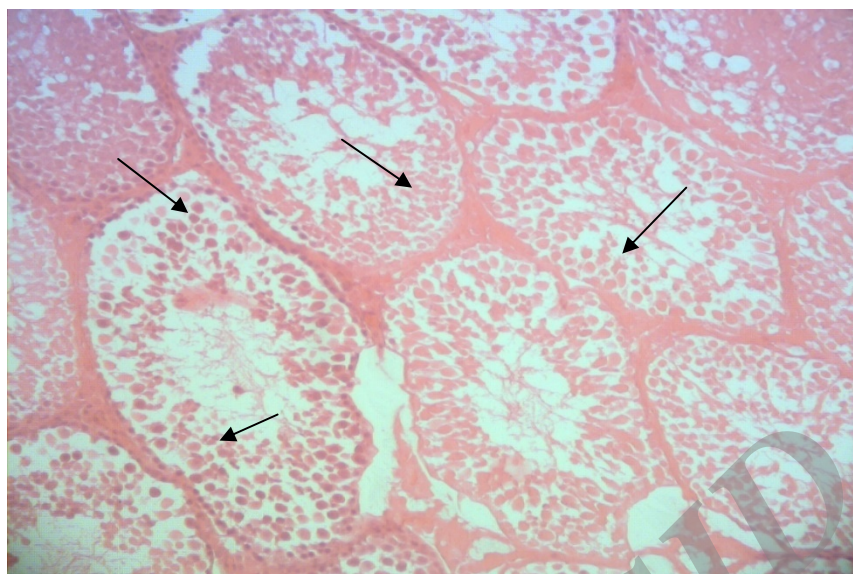
در بررسی مقاطع بافتی بیضه، کاهش معنی‌داری در تراکم اسپرم، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و نیز سلول‌های لیدیگ در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده مقادیر ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از دارو، در مدت ۲۱ روز، در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. همچنین در گروه‌های تحت



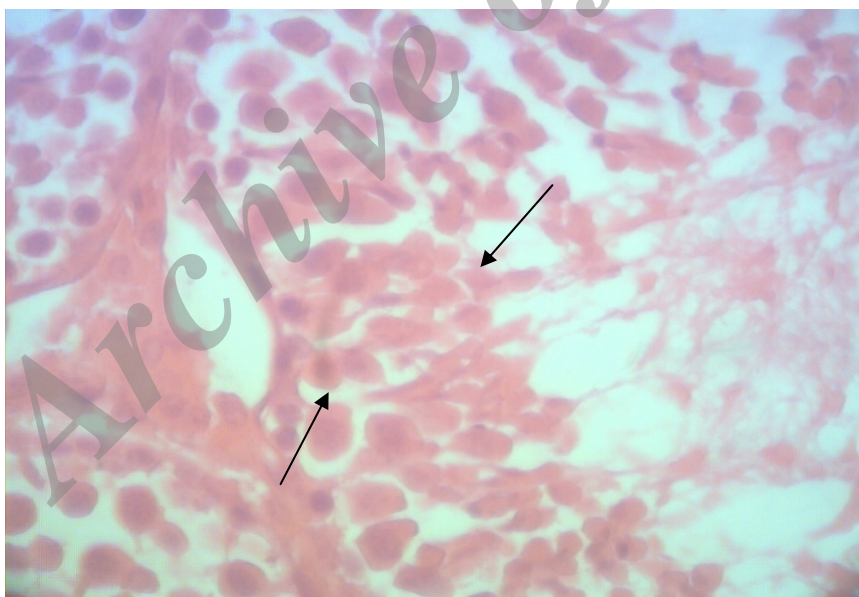
**شکل ۱:** فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه کنترل، بزرگنمایی  $\times 10$ . لوله‌های اسپرم‌ساز با تراکم زیاد، فاصله کم و بسیار مرتب در بافت بیضه مشاهده می‌شوند. علامت فلش نشان‌دهنده اپی تلیوم سلول‌های ژرمینال می‌باشد.



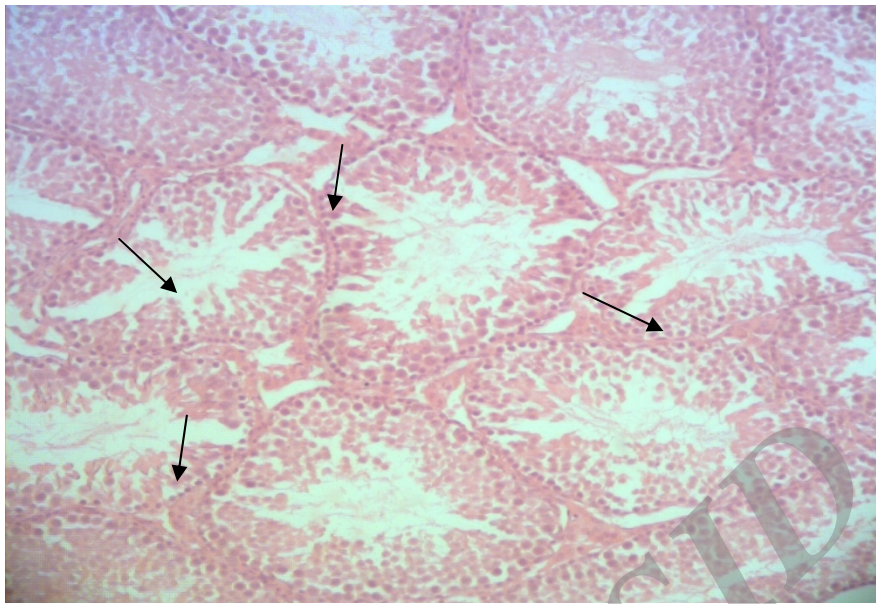
**شکل ۲:** فتومیکروگراف سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، سلول‌های سرتولی و سلول‌های بینابینی در گروه کنترل، بزرگنمایی  $\times 40$ . سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و سرتولی به‌طور منظم بر روی غشای پایه لوله‌های منی ساز، و سلول‌های لیدیگ به‌صورت توده‌ای در کنار هم قرار گرفته‌اند. علامت فلش نشان‌دهنده اپی تلیوم سلول‌های ژرمینال و محل قرارگیری سلول‌های لیدیگ می‌باشد.



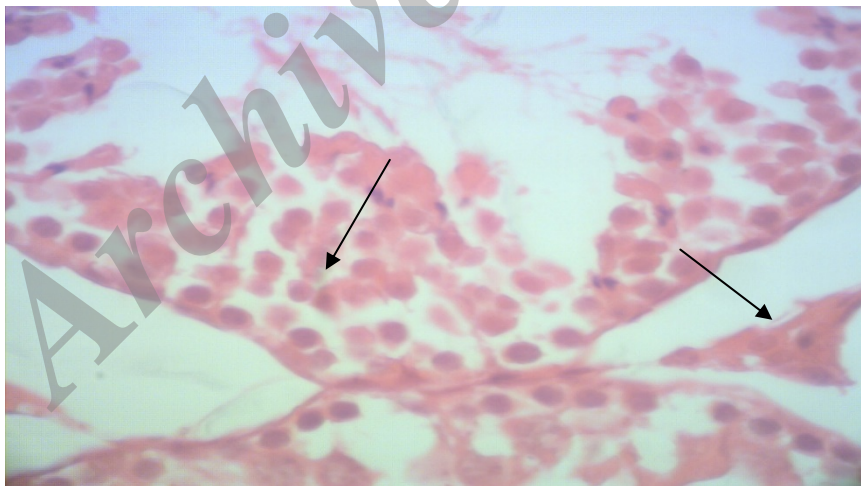
**شکل ۳:** فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه تجربی ۱، بزرگنمایی  $\times 10$ . تغییرات بافتی از نظر تعداد، ساختار و شکل در لوله‌های اسپرم‌ساز نسبت به گروه کنترل صورت نگرفته است. علامت فلش نشان‌دهنده اپی تلیوم سلول‌های ژرمینال می‌باشد.



**شکل ۴:** فتومیکروگراف سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، سلول‌های سرتولی و سلول‌های بینابینی در گروه تجربی ۱، بزرگنمایی  $\times 40$ . تغییراتی در سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، سرتولی و لیدینگ از نظر اندازه، تعداد و ویژگی‌های سیتوپلاسم، هسته و میزان رنگ‌پذیری آن‌ها نسبت به کنترل مشاهده نمی‌شود. علامت فلش نشان‌دهنده اپی تلیوم سلول‌های ژرمینال و محل قرارگیری سلول‌های لیدینگ می‌باشد.

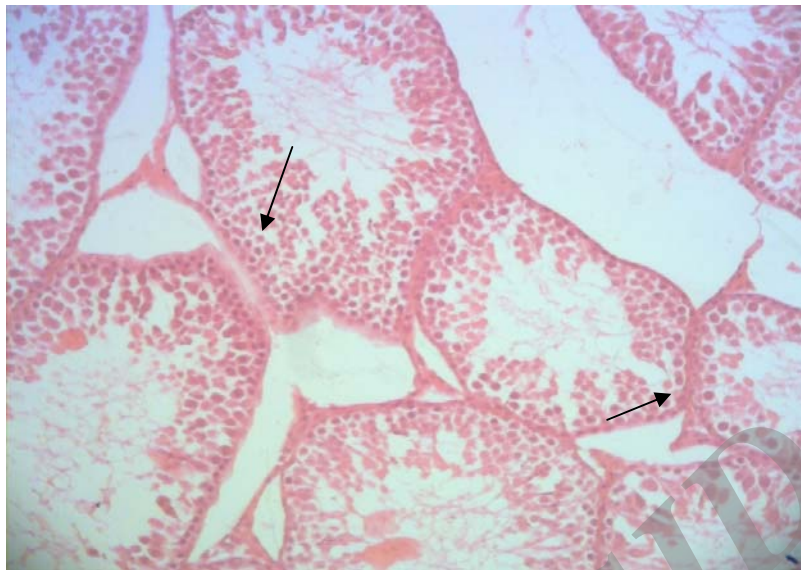


**شکل ۵:** فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه تجربی ۲، بزرگنمایی  $10 \times$ . در لوله‌های اسپرم‌ساز از نظر ساختار و شکل تغییراتی صورت گرفته است. علامت فلش نشان‌دهنده اپی‌تلیوم سلول‌های ژرمینال می‌باشد.

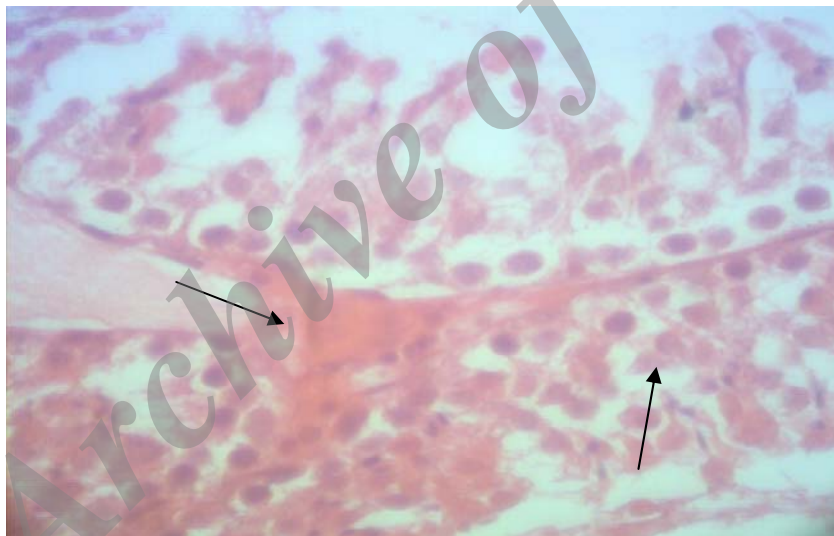


**شکل ۶:** فتومیکروگراف سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، سلول‌های سرتولی و سلول‌های بینابینی در گروه تجربی ۲، بزرگنمایی  $40 \times$ . تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و لیدیگ نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. علامت فلش نشان‌دهنده اپی‌تلیوم سلول‌های ژرمینال و محل قرارگیری سلول‌های لیدیگ می‌باشد.





شکل ۷: فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه تجربی ۳، بزرگنمایی  $\times 10$ . لوله‌های اسپرم‌ساز مورفولوژی طبیعی خود را از دست داده‌اند. همچنین تعداد آن‌ها کاهش یافته است. علامت فلش نشان‌دهنده اپی‌تلیوم سلول‌های ژرمینال می‌باشد.



شکل ۸: فتومیکروگراف سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، سلول‌های سرتولی و سلول‌های بینابینی در گروه تجربی ۳، بزرگنمایی  $\times 40$ . تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و لیدیک نسبت به گروه کنترل کاهش یافته و فضای خالی بیشتری در بافت بینابینی ایجاد شده است. علامت فلش نشان‌دهنده اپی‌تلیوم سلول‌های ژرمینال و محل فرارگیری سلول‌های لیدیک می‌باشد.

داشته، به طوری که در دوزهای ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌داری در سطح  $p < 0.05$  مشاهده می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد ترشح کمتر از حد تستوسترون طبق کنترل فیدبک منفی به هیپوتالاموس اجازه می‌دهد تا مقادیر زیادی GnRH ترشح

## بحث و نتیجه‌گیری

بررسی نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان می‌دهد در گروه‌های تجربی تحت تیمار با داروی ماپروتیلین نسبت به گروه کنترل و شاهد، هورمون LH با افزایش دوز دارو روند افزایشی

مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. مطالعات نشان می‌دهد تستوسترون، اثری رشد دهنده و قوی بر اسپرماتوژنز بر جای می‌گذارد و غلظت بالای آن در تقسیم اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت‌ها نقش دارد.<sup>۱۸،۱۹</sup> و همچنین به‌عنوان مهم‌ترین هورمون آندروژن، در تکامل و تکثیر سلول‌های ژرمینال و تمایز اسپرماتیدهای گرد به اسپرماتیدهای کشیده، نقش اساسی را ایفا می‌کند.<sup>۲۰</sup> با توجه به کاهش تستوسترون در مطالعه حاضر، احتمالاً این دارو می‌تواند با کاهش در غلظت تستوسترون منجر به کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی گردد.<sup>۲۱</sup> و نیز احتمالاً این دارو به دلیل اثری که در مهار باز جذب سروتونین دارد، با افزایش این نوروترانسمیتر می‌تواند منجر به کاهش هورمون رشد و نیز کاهش تقسیمات سلولی شده و حتی بر تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه نیز تأثیرگذار باشد.<sup>۱۹</sup> کاهش تعداد سلول‌های زیای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید می‌تواند در نهایت منجر به کاهش تراکم اسپرم‌ها شود. با توجه به اینکه تستوسترون از سلول‌های لیدیک ترشح می‌شود، بنابراین کاهش تعداد این سلول‌ها به دنبال کاهش میزان تستوسترون منطقی به نظر می‌رسد. این دارو در طول دوره بارداری اثری بر تعداد سلول‌های سرتولی نداشت. مطالعات نشان می‌دهد سلول‌های سرتولی طی دوره تولیدمثل تکثیر پیدا نمی‌کنند. این سلول‌ها مقاوم‌ترین سلول در روند اسپرماتوژنز می‌باشند. سلول‌های سرتولی نسبت به شرایط نامساعد همچون سوء تغذیه، عفونت و اشعه X مقاوم بوده و پس از این شرایط بسیار مقاوم‌تر از سلول‌های رده اسپرماتوژنیک به حیات خود ادامه می‌دهند.<sup>۲۲</sup> این سلول‌ها همچنین در هنگام هیپوفیزکتومی موش‌ها باقی می‌مانند.<sup>۲۳</sup> بنابراین عدم تغییر معنی‌دار تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های تجربی مصرف‌کننده دارو نسبت به گروه کنترل و شاهد دور از انتظار نیست. مقایسه نتایج نشان می‌دهد که وزن گروه‌های تجربی دریافت‌کننده دارو نسبت به گروه کنترل و شاهد با افزایش دوز دارو روند کاهشی داشته ولی این کاهش در سطح  $P < 0.05$  معنی‌دار نمی‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد افزایش سطح نوراپی نفرین و سروتونین منجر به کاهش مصرف غذا می‌گردد؛ احتمالاً ماپروتیلین با افزایش سطح نوراپی نفرین و سروتونین در کوتاه‌مدت باعث کاهش اشتها و نیز کاهش وزن می‌شود.<sup>۲۴</sup> همچنین احتمالاً ماپروتیلین با افزایش نوراپی نفرین باعث ایجاد حرارت در بدن و کاهش وزن می‌گردد.<sup>۲۵</sup> مطالعات

کند و در نتیجه موجب افزایش ترشح LH از هیپوفیز قدامی شود. کاهش تستوسترون احتمالاً یک اثر فیدبک منفی علاوه بر هیپوتالاموس، به‌طور مستقیم بر هیپوفیز قدامی دارد و احتمالاً این فیدبک هیپوفیزی به‌طور اختصاصی ترشح LH را افزایش می‌دهد. با توجه به افزایش هورمون LH در پژوهش حاضر می‌توان بیان کرد که ماپروتیلین احتمالاً با تأثیر مستقیم بر سلول‌های گنادوتروپ هیپوفیز مغز باعث افزایش هورمون LH شده است. غلظت سرمی هورمون FSH، در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده مقادیر مختلف دارو در مقایسه با گروه کنترل و شاهد اختلاف معنی‌داری را در سطح  $p < 0.05$  نشان نمی‌دهد. تغییرات هورمون FSH نسبت به LH آهسته‌تر و کمتر می‌باشد.<sup>۱۳</sup> زیرا این هورمون به مقدار کمتری با ترشح نوسان دار هورمون GnRH مترشح از هیپوتالاموس ارتباط دارد و به آهستگی و در طی مدت‌زمان بیشتری در پاسخ به تغییرات درازمدت GnRH تغییر پیدا می‌کند.<sup>۱۴،۱۵</sup> همچنین در FSH احتمالاً مکانیسم فیدبکی فقط توسط استروئیدهای بیضه‌ای انجام نمی‌شود بلکه هورمون‌های اینهیبین، اکتیوین و فولیستاتین نیز با تأثیر مرکزی بر تولید GnRH در تنظیم غلظت FSH نقش دارند و ممکن است که عدم تغییر معنی‌دار ناشی از اثرات تعدیلی این فاکتورها باشد.<sup>۱۶</sup> و به دلیل اینکه رشته‌های هیدروکربنی اتصالی به هورمون FSH بیش از رشته‌های هیدروکربنی اتصالی به هورمون LH می‌باشد، کلیرانس متابولیکی هورمون FSH کمتر از هورمون LH بوده، بنابراین نیمه‌عمر هورمون FSH بیشتر می‌باشد.<sup>۱۵</sup> میزان غلظت سرمی هورمون تستوسترون نسبت به گروه کنترل و شاهد و با افزایش دوز دارو روند کاهشی داشته، به‌طوری‌که در دوزهای ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری در سطح  $p < 0.05$  دیده می‌شود که این کاهش احتمالاً ناشی از بروز تغییرات متابولیکی در سلول‌های بینابینی بافت بیضه می‌باشد. همچنین این دارو با مهار باز جذب سروتونین باعث افزایش سطح این نوروترانسمیتر می‌شود و افزایش سروتونین باعث مهار فعالیت آنزیم‌های مداخله‌کننده در مسیر تولید استروئید بافت بیضه می‌شود و کاهش تستوسترون را به دنبال دارد.<sup>۱۷</sup>

در بررسی مقاطع بافتی بیضه، کاهش معنی‌داری در تراکم اسپرم، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و نیز سلول‌های لیدیک در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده مقادیر ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از دارو، در مدت ۲۱ روز، در

از ارگان‌های بدن کاهش دهند؛ و با توجه به اینکه در تحقیق حاضر میزان هورمون تستوسترون کاهش یافته، بنابراین تعداد سلول‌های جنسی و لیدینگ کم شده و به دنبال آن وزن بیضه نیز کاهش می‌یابد.<sup>۲۶،۲۹</sup> همچنین این دارو با خاصیت مهارکنندگی باز جذب سروتونین و نوراپی نفرین با افزایش نوروترانسمیترها در فضای سیناپسی باعث کاهش هورمون رشد می‌شود و از آنجاکه هورمون رشد موجب رشد تقریباً همه بافت‌هایی که قادر به رشد هستند و نیز سبب بزرگ شدن جنه سلول‌ها و افزایش میتوز همراه با پیدایش افزایش یافته سلول‌ها می‌شود و همچنین این هورمون موجب پیشبرد تقسیم اولیه خود اسپرماتوگونی‌ها و افزایش روند اسپرماتوژنز می‌شود، بنابراین باعث کاهش وزن بیضه شده است.<sup>۱۹</sup> ولی به دلیل اینکه این تحقیق در کوتاه‌مدت انجام شده است، تغییرات وزن بیضه چشمگیر نمی‌باشد.

با توجه به نتایج به دست آمده چنین نتیجه‌گیری می‌شود که مصرف داروی ماپروتیلین در دوز و مدت‌زمان زیاد باعث کاهش غلظت سرمی تستوسترون و تضعیف روند تولید سلول‌های اسپرماتوژنیک می‌گردد. این دارو باعث افزایش غلظت سرمی هورمون LH شده که این نشان‌دهنده فعالیت جبرانی غده هیپوفیز بر اساس تأثیرپذیری آن در برابر داروی ماپروتیلین است. بنابراین احتمالاً مصرف این دارو با دوز و زمان زیاد باعث کاهش عملکرد تولیدمثلی و احتمالاً تخریب کامل بافت بیضه می‌شود؛ زیرا در صورت تخریب سلول‌های بینابینی به‌طورکلی دودمان سلول‌های اسپرماتوژنیک از بین رفته و شخص عقیم خواهد شد.

### تشکر و قدردانی

از زحمات مسئولان دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و تمامی کسانی که به نحوی ما را در انجام این پژوهش یاری کرده‌اند سپاسگزاری می‌شود.

نشان می‌دهد افزایش ترشح هورمون تستوسترون باعث افزایش روند پروتئین‌سازی و تولید بافت‌های ماهیچه‌ای می‌شود؛ با توجه به اینکه ماپروتیلین اثر کاهشی بر تستوسترون دارد احتمالاً این روند کاهش یافته و به دنبال آن وزن کم شود.<sup>۲۶</sup> مطالعه‌ای که بر روی موش‌های صحرایی که با تستوسترون تیمار شده بودند صورت گرفت، مشخص کرد میزان بیان ژن نوروپیتید Y در هسته قوسی هیپوتالاموس افزایش یافته است،<sup>۱۳</sup> بنابراین با کاهش تستوسترون به دنبال مصرف این دارو، نوروپیتید Y کاهش یافته و به دنبال آن اشتها و نیز وزن کاهش می‌یابد. تحقیقات نشان داده گیرنده‌های سروتونین در جذب غذا دخالت دارند، ماپروتیلین به‌عنوان مهارکننده باز جذب سروتونین باعث مهار گیرنده‌های 5-Hydroxy Tryptamine می‌شود. در نتیجه احتمالاً این دارو باعث اختلال جذب غذا و کاهش وزن شود.<sup>۲۷</sup> همچنین افزایش سروتونین در فضای سیناپسی باعث کاهش هورمون رشد و احتمالاً باعث کاهش وزن می‌شود.<sup>۱۹،۲۸</sup> ماپروتیلین اثر مستقیم بر کبد دارد و باعث آسیب کبدی و به هم خوردن تعادل آنزیمی می‌شود. گلوکونوژنز کبد نیز در دوره نوزادی دچار نارسایی می‌باشد. در نتیجه غلظت گلوکز خون نوزادی که هنوز تغذیه نشده کاهش یافته و نوزاد قبل از اینکه بتواند تغذیه انجام دهد، باید برای تأمین انرژی به چربی‌های ذخیره متکی باشد، در نتیجه کاهش وزن دیده می‌شود.<sup>۲۱</sup> از آنجاکه افزایش اشتها و همچنین وزن از عوارض جانبی داروی ماپروتیلین می‌باشد، بنابراین با توجه به مطالب بیان‌شده و اینکه دارو در کوتاه‌مدت استفاده شده است، احتمالاً این دارو می‌تواند در طولانی‌مدت باعث افزایش اشتها و وزن گردد که این افزایش می‌تواند ناشی از احتباس آب یا مصرف زیاد مواد قندی باشد. همچنین وزن بیضه گروه‌های تجربی دریافت‌کننده دارو نسبت به گروه کنترل و شاهد با افزایش دوز دارو روند کاهشی داشته ولی این کاهش در سطح  $p < 0.05$  معنی‌دار نبود. همه عوامل کاهنده وزن بدن به‌نوعی می‌توانند وزن بیضه را به‌عنوان یکی

### References

1. Veith, RC., Raskind, MA., Barenas, RF., Gumbrecht, G., Raskind MA, Barnes RF, Gumbrecht G, Ritchie JL, Halter JB. Tricyclic antidepressants and supine, standing, and exercise plasma norepinephrine levels. Clin Pharmacol Ther. 1983; 29(3): 763-9.
2. Peng, Wen-Huang; Kuan-Lin Lo, Yi-Hsuen Lee, Tai-Huang Hung, Ying-Chih Lin "Berberine produces

antidepressant-like effects in the forced swim test and in the tail suspension test in mice". Life Sciences. 2007;81 (11): 933-938.

3. Matthys A, Haegeman G, Van Craenenbroeck K, Vanhoenacker P. "Role of the 5-HT7 receptor in the central nervous system: from current status to future perspectives". Mol. Neurobiol. 2011; 43 (3): 228-53.

4. Alkalay D, Wagner WE, Carlsen S, Khemaani L, Volk J, Bartlett MF, Leshner A. Bioavailability and kinetics of maprotiline. *Clin Pharmacol Ther.* 1980;27(5):697-703.
5. Sadock BJ, Sadock VA. Kaplan and Sadock's Synopsis of Psychiatry: Behavioral Sciences/Clinical Psychiatry. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2002; P.534-5.
6. Shigeru Morishita, Seizaburo Arita. The use of maprotiline for major depression: a clinical report of 62 cases. *The Journal of Applied Research.* 2004; Volume 4, Number 2: Pages 252 – 256.
7. Szegegi A, Wetzel H, Angersbach D, Philipp M, Benkert O. Response to treatment in minor and major depression: results of a double-blind comparative study with paroxetine and maprotiline. *J Affect Disord.* 1997; 45(3):167-78.
8. Vaz-Serra A, Figueira ML, Firmino H, Albuquerque AJ, Jara JM, Pestana LC. Multicenter double-blind study of moclobemide and maprotiline. *Clin Neuropharmacol.* 1994; 17 Suppl 1:S38-49.
9. Emrich H M, Berger M, Riemann D, Von Zerssen D. Serotonin reuptake inhibition vs. norepinephrine reuptake inhibition: a double-blind differential-therapeutic study with fluvoxamine and maprotiline in endogenous and neurotic depressives. *Pharmacopsychiatry.* 1987; 20:60–3.
10. Kasper S, Dotsch M, Kick H, Vieira A, Moller HJ. Plasma concentrations of fluvoxamine and maprotiline in major depression: implications on therapeutic efficacy and side effects. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1993; 3(1):13-21.
11. Li SW, Yan HQ. Maprotiline (Ludiomil) treatment of mental depression--a clinical report of 65 cases. *Proc Chin Acad Med Sci Peking Union Med Coll.* 1989; 4(3):139-41.
12. Jose Alves Gurgel, Roberto Cesar Priera Lima-Junior, Cristiano Oliveira Rabelo, Breno Bezerra Gomes Pinho Pessoa, Gerly Anne Castro Brito, Ronaldo Albuquerque Ribebeiro. Amitriptyline, clomipramine, and maprotiline attenuate the inflammatory response by inhibiting neutrophil migration and mast cell degranulation. *Rev Bras Psiquiatr.* 2013; Vol.35. no.4.
13. Francois Pralong., The hypothalamo-pituitary-gonadal axis. Training Course in Sexual and Reproductive Health Research. 2009, February 23, Geneva.
14. Elizabeth, S., Effect of selection for testosterone production on testicular morphology and daily sperm production in pigs. (Dr. Joseph Cassady). *J. Anim. Sci.* 2004; 82:2259- 2263.
15. Turek, Paul. J, Hypothalamic- Pituitary- Gonadal axis and control of spermatogenesis, director male reproductive Laboratory. Department of Urology university of California at San Francisco. 2000;455-458.
16. Huntanieme I., Bartke A., Prespective; male reproduction. *Endocrinology.* 2001;142(6):2178-83.
17. Hedger MP. Khatab S. Gonzales G. de Kretser DM. Acute and short-term actions of serotonin administration on the pituitary-testicular axis in the adult rat. *Reprod Fertile Dev.* 1995; 7: 1101-1109.
18. Meistrich, ML., Kanganiemi, M., Hormone treatment after irradiation stimulates recovery of rat spermatogenesis from surviving spermatogonia, *Journal of Andrology.* 1997;18:80-87.
19. Yu Y, Wong AO, Chang J P. Serotonin interferes with Ca<sup>2+</sup> and PKC signaling to reduce gonadotropin-releasing hormone- Stimulated GH secretion in goldfish pituitary cells. *Gen Comp Endocrinol.* 2008;159: 58-66.
20. McLachlan RI, O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton 1-3 $\alpha$ - hydroxysteroid dehydrogenase tification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man. *Recent Prog Horm Res.* 2002; 57:149-79.
21. Guyton, Arthur C., Hall., John E. Medical physiology, Farrokh Shadan. M. D. Tehran. 2009. [In Persian]
22. Walker, William H., Molecular mechanism controlling sertoli cells proliferation and differentiation, *Endocrinology.* 2003;144(9):3719-21.
23. Plant, T M., Marshall GR., The functional significant of FSH in spermatogenesis and the control of its secretion in male primates. *Endocr Rev.* 2001;22(6):764-86.
24. Almeida RG, Florio, JC., Spinosa, HS., Bernardi, MM., Comparative effects of maternal prenatal and postnatal exposures to astemizole on reproductive parameters of rats. *Neurotoxicol Teratol.* 2002; 24(2):255-65.
25. Anunciacion, Lafuente., Nuria, Marquez., Maria, Perez-Lorenzo., David, Pazo and Ana I, Esquifin., Cadmium effects on hypothalamic- pituitary- testicular axis in male rats, *Experimental Biology and Medicine.* 2001;226:605-611.
26. Jeffrey, R., Gingrich, M. D., Testicular disorders and clinical conferences. 2003. Available from. [www. Vt men. edu/ Endocrinology/ Endocrine 20 Pathophysiology/ chap 2012; 20 htm.](http://www.vtmen.edu/Endocrinology/Endocrine%20Pathophysiology/chap%2012%20.htm)
27. Abdle, Ennaceur., Daniele, E., Dela, Gandaraj., Lautz, M., Introduction, pharmacology. *Pharmrco.* 2006; 50(2):2003.
28. Kirchheiner, J., Heneckel, HB., Franke, L., Meineke, I., Tzvetkov M, Ubelhack R, Roots I, Brockmoller J. Impact of the CYP2D6 ultra- rapid metabolizer genotype on doxepin pharmacokinetics and serotonin in platelets. *Pharmacogenet Genomics.* 2005; 15(8):579-87.
29. Dostal, LA., Chapin, RE., Stefanski, A., Harris, MW., Schwetz, BA., Testicular toxicity and reduced sertoli cell numbers in neonatal rat by (2- ethyl hexyl) and recovery of fertility as adult. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1988; 95(1):104-21.