Archive of SID

مقاله پژوهشی

تأثیر داروی Selegiline بر محور هیپوفیز– گناد و تغییرات بافتی بیضه در موش های صحرایی نر بالغ

دکتر مختار مختاری* ، مهرآفرین فشارکی** ، نادیا مکاریان***

دریافت : ۸۳/۳/۱۶ ، پذیرش : ۸۳/۱۱/۵

چکیده:

داروی Selegiline یک مهار کنندهٔ آنزیم مونوآمینو اکسیداز (MAO) از نوع B است. با توجه به اهمیتی که این دارو در درمان بیماریهای عصبی مانند پارکینسون، آلزایمر و افسردگی دارد و نقش گسترده آن در درمان بیماریها، اثرات جانبی این دارو بر محورهای آندوکرینی بدن بسیار مهم است. در این مطالعه اثر داروی Selegiline بر محور هیپوفیز- گناد و روند اسپرماتوژنز به منظور ارزیابی عملکرد بیضه مورد بررسی قرار گرفته است.

حیوانات مورد استفاده ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar بودند که به چهار گروه ۸ تایی در قالب گروههای تجربی و کنترل تقسیم شدند. دارو با مقادیر (mg/kg.B.W) ۱۵, ۱۰ , ۵ به گروههای تجربی (B,C,D) به مدت سی روز خورانده شد. حیوانات گروه کنترل (A) فقط سرم فیزیولوژی دریافت کردند. از تمام گروهها در پایان روز سی ام، ۸ ساعت بعد از دریافت آخرین وعدهٔ دارویی، خونگیری به عمل آمد و از نمونه های خونی جمع آوری شده برای اندازه گیری غلظت سرمی هورمون های LH، FSH و تستوسترون استفاده شد. همچنین در پایان سی روز بیضه ها خارج شدند و پس از تهیهٔ مقاطع بافتی و رنگ آمیزی، تغییرات بافتی بیضه نیز بین گروههای تجربی و کنترل بررسی شد. نتایج بدست‌آمده با استفاده از آزمون ANOVA و دانکن ارزیابی شدند.

نتایج نشان داد مصرف دارو با مقادیر ذکر شده در پایان روز سی ام باعث افزایش معنی داری در غلظت سرمی LH در گروههای تجربی نسبت به گروه کنترل می شود. اختلاف معنی داری در میزان هورمون FSH بین گروههای تجربی و کنترل مشاهده نشد. غلظت سرمی هورمون تستوسترون در پایان روز سی ام کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. با توجه به نتایج حاصله از این مطالعه و مطالعات سایر محققین احتمالاً Selegiline در طی دوره سی روزه از طریق افزایش در میزان LH، اثرات کاهشی در فعالیت گیرنده های سلولهای بینابینی بوجود می آورد و منجر به کاهش فعالیت بیضه ها برای ترشح تستوسترون می شود. همچنین احتمالاً Selegiline به عنوان یک مهارکنندهٔ آنزیم مونوآمینواکسیداز (MAO) نوع B باعث افزایش غلظت دوپامین از ناحیه Striatum مغزی شده و منجر به کاهش ترشح پرولاکتین میشود. کاهش ترشح پرولاکتین اثرات LH را بر سلـــول های بینابینی کاهش می دهد و باعث کاهش میزان تستوسترون می گردد. نتایج حاصله از مطالعات بافتی بیضه نشان می دهد که کاهش تراکم اسپرمها در لوله های منی ساز(الیگواسپرمی)، کاهش سلولهای بینابینی و نقص در زنجیرهٔ اسپرماتوژنز را نیز بوجود می آورد .

نتیجهٔ کلی اینکه، Selegiline در این دورهٔ زمانی اسپرماتوژنـــــز را کاهش می دهد و این عمل وابسته به مقدار داروی دریافتی است.

کلید واژه ها : اسپرم سازی / سلژلین / موش / هیپوفیز ـ گناد

* استادیار گروه زیست شناسی ـ فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون (E-mail: moktar_mokhtary@yahoo.com)

**عضو هیأت علمی گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

*** کارشناس ارشد زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه :

محور هیپوفیز- گناد یکی از پیچیده ترین و فعالترین محورهای فیزیولوژیک بدن موجودات زنده است که نه تنها اعمال تولید مثلی بلکه بواسطه سنتز و ترشح آندروژنها، بسیاری از جنبه های فیزیولوژیکی فرد از جمله تمایز جنسی، بروز صفات ثانویه جنسی و رفتار را نیز کنترل می کند. شناخت عواملی که به نحوی بر این محور تأثیر می گذارند و راههای جلوگیری یا تشدید این اثرات همواره مدنظرمحققین مختلف بوده است.

Selegiline یک مهار کننده آنزیم مونوآمینواکسیداز (MAO) از نوعB است و در درمان بیماریهای عصبی مانند پارکینسون، آلزایمرو افسردگی مورداستفاده قرار می گیرد(۱). MAO-B تایپ ایزومری آنزیم است که متابولیزه کردن دوپامین را به نوراپی نفرین و سروتونین ترجیح می دهد(۲). میزان مصرف این دارو ۱۰ میلی گرم در روز است و گاهی به عنوان میزان واحد در صبح؛ امّا در اکثر مطالعات ۵ میلی گرم دو بار در روز است. مطالعات نشان می دهد بهتر است این دارو در صبح و بعد از ظهر تجویز شود(۳). از نظر کلینیکی مشخص شده است میزان ۱۰ میلی گرم در روز مقدار مؤثر است(۴). مطالعاتی که با استفاده از Selegiline نشاندار با کربن ۱۴ صورت گرفته نشان میدهد این دارو به سرعت از مسیر معده ای ـ روده ای جذب می شود و غلظت آن در عرض ۰/۵ تا ۲ ساعت بعد از مصرف از طریق دهان به حداکثر می رسد(۵). نیمه عمر جذب آن در انسان ۰/۴ ساعت است و دارای خاصیت آبدوست و کمی خاصیت بازی است و به سرعت به داخل بافتها نفوذ کرده و سریع در بدن توزیع می گردد.

همچنین مطالعات با استفاده از اتورادیوگرافی بر روی حیوانات نشان می دهد که Selegiline به سرعت وارد مغز و نخاع می شود و پس از ۳۰ ثانیه غلظت های رادیواکتیو آن در مغز نسبت به سرم ۳/۵ برابر بیشتر می شود(۵). توزیع بسیار سریع Selegiline در سرتاسر سد خونی ـ مغزی در نتیجه قطبیت پایین این ماده است(۶). تحقیقات نشان می دهد Selegiline نشان دار شده با کربن ۱۴ به نواحی از مغز از قبیل تالاموس، اجسام مخطط، قشر مغز و ساقهٔ مغز که از نظر میزان آنزیم MAO-B غنی هستند، متصل می شود. با توجه به اینکه تابه حال تحقیقات کاملی در ارتباط با اثرات این دارو بر محور هیپوفیز- گناد و اسپرماتوژنز صورت نگرفته است در این مطالعه تأثیر این دارو بر یکی از مهمترین محورهای آندوکرینی بدن بررسی شده است. از طرف دیگر با توجه به اینکه بیضه یک عضو با اهمّیت در بدن فرد است بنابراین تأثیر این دارو بر فعّالیت بیضه و هورمونهای FSH,LH و تستوسترون از جنبه های آندوکرینی و تولید مثلی بسیار حائز اهمیت است.

در این تحقیق اهداف زیر مدنظر است:

۱- تأثیر Selegiline بر عملکرد محور هیپوفیز ـ گناد و فرآیند اسپرماتوژنز چگونه است؟

۲- آیا تأثیر دارو وابسته به مقدار دریافت دارو است؟

۳- تغییرات بافتی بیضه به دنبال دریافت مقادیر مختلف دارو چگونه است؟

روش کار:

در این مطالعه حیوانات مورد استفاده ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم بودند که از خانهٔ پرورش حیوانات انستیتوپاستور ایران تهیه شد.

به حیوانات پس از انتقال به محلّ انجام آزمایش یعنی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۲۰-۱۵ روز فرصت داده شد تا با محیط جدید سازگاری پیدا کنند و به سن و وزن موردنظر برسند. درجه حرارت محیط در زمان انجام آزمایش ۲±۲۴ درجه سانتیگراد در طول شبانه روز بود(۷). کلیّه حیوانات تحت شرایط نوری استاندارد۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند(۸) و به آب و غذا به مقدار کافی دسترسی داشتند. حیوانات به صورت تصادفی طبق جدول زیر به چهار گروه ۸تایی در قالب گروههای تجربی (B,C,D) و کنترل (A) تقسیم شدند. به گروههای تجربی داروی Selegiline با مقادیر (mg/kg.B.W) ۱۵, ۵,۱۰ به مدت ۳۰ روز و در دو نوبت صبح و بعد از ظهر به فاصله ۱۲ ساعت خورانده شد(۹). حیوانات گروه کنترل فقط محلول نرمال سالین با حجم (۰/۵ ml) دریافت کردند.

گروه بندی حیوانات استفاده شده در آزمایش

گروه	نوع گروه	تعداد حیوانات	ماده دریافتی	نحوه دریافت	مدت دریافت دارو	زمان خون گیری
A	کنترل	n=۸	نرمال سالین	هر ۱۲ ساعت یکبار(خوراکی)	۳۰ روز	پایان روز سی ام
B	۵mg/kg	n=۸	سلژلین	هر ۱۲ ساعت یکبار(خوراکی)	۳۰ روز	پایان روز سی ام
C	۱۰mg/kg	n=۸	سلژلین	هر ۱۲ ساعت یکبار(خوراکی)	۳۰ روز	پایان روز سی ام
D	۱۵mg/kg	n=۸	سلژلین	هر ۱۲ ساعت یکبار(خوراکی)	۳۰ روز	پایان روز سی ام

www.SID.ir

Archive of SID

برای تجویز دارو و سرم فیزیولوژی از وسیله ای بنام Animal Feeding مخصوص Rat استفاده شد. از تمام گروهها در پایان روز سی ام، ۸ ساعت بعد از دریافت آخرین وعدهٔ دارویی به روش خونگیری از گوشه چشم خونگیری به عمل آمد . از هر موش حدود ۴-۳ میلی لیتر خون در لوله های آزمایش استریل شده که فاقد ماده ضد انعقاد بود جمع آوری شد. نمونه های خونی جمع آوری شده به مدت۱۵دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند تا سرم از لخته جدا شود سپس با استفاده از سمپلر سرم در هر نمونه از لخته جدا و تا زمان سنجش هورمونی در دمای ۲۰°C- برای اندازه گیری غلظت سرمی هورمونهای FSH،LH و تستوسترون نگهداری شدند. اندازه گیری هورمونی بر اساس روش های معمول با استفاده از روش(RIA) انجام گرفت. کیتهای هورمونی مورد استفاده شامل محلول های استاندارد، ید رادیو اکتیو، آنتی بادی و بافر شستشو بود و از شرکت کاوشیار وابسته به سازمان انرژی اتمی خریداری شد. همچنین پس از باز کردن شکم حیوانات هر دو بیضه از تمام گروهها خارج شدند و پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین ـ ائوزین، شاخصهای زیر بین گروههای تجربی و کنترل در مطالعات بافتی تعیین شدند:

تغییرات تراکم اسپرم در لوله های منی ساز، تغییرات تعداد سلولهای بینابینی، تغییرات تعداد سلولهای سرتولی و زنجیرهٔ اسپرماتوژنز .

تجزیه و تحلیل داده ها: آزمون های آماری مورد استفاده به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج بین گروههای تجربی و کنترل، تستANOVA و دانکن بود. میانگین و انحراف معیار به صورت$\overline{X}$±SEM بیان گردید. P≤۰/۰۵ مرز استنتاج آماری برای بررسی اختلاف معنی دار میانگین بین گروههای تجربی و کنترل بود.

نتایج :

نتایج بدست آمده از آزمایشات انجام شده مربوط به سنجش های هورمونی به همراه محاسبات آماری به صورت جداول بین گروههای تجربی و کنترل آورده شده است.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشان داد که مصرف دارو با مقادیر ذکرشده در پایان روز سی ام باعث افزایش معنی داری در غلظت سرمی LH در گروههای دریافت کننده دارو با مقادیر (mg/kg.B.W) ۱۵ و ۵ نسبت به گروه کنترل می شود. اختلاف معنی داری در میزان هورمون FSH بین گروههای تجربی و کنترل مشاهده نشد(جداول ۱و۲).

جدول ۱: میانگین غلظت سرمی هورمون LH در گروههای مختلف در پایان روز سی ام

گروه		غلظت هورمون LH (میلی واحد بر میلی لیتر) در پایان روز سی ام
A	کنترل	۰/۲۷۶ ±٪۲۳
B	۵mg/kg.B.W	*۰/۳۵۳ ±٪۳۳
C	۱۰mg/kg.B.W	۰/۲۸۸ ±٪۴۱
D	۱۵mg/kg.B.W	*۰/۳۲۰ ±٪۱۵

* P≤۰/۰۵

جدول ۲: میانگین غلظت سرمی هورمون FSH در گروههای مختلف در پایان روز سی ام

گروه		غلظت هورمون FSH (میلی واحد بر میلی لیتر) در پایان روز سی ام
A	کنترل	۰/۳۰۶ ±٪۱۲
B	۵mg/kg.B.W	۰/۳۲۷ ±٪۲۵
C	۱۰mg/kg.B.W	۰/۲۹۶ ±٪۱۸
D	۱۵mg/kg.B.W	۰/۳۲۸ ±٪۱۵

غلظت سرمی هورمون تستوسترون در پایان روز سی ام کاهش معنی داری در تمام گروههای تجربی نسبت به گروه کنترل نشان داد(جدول۳).

جدول ۳: میانگین غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروههای مختلف در پایان روز سی ام

گروه		غلظت هورمون تستوسترون (نانو گرم بر میلی لیتر) در پایان روز سی ام
A	کنترل	۰/۹۴ ±٪۵۵
B	۵mg/kg.B.W	*۰/۲۴ ±٪۱۳
C	۱۰mg/kg.B.W	*۰/۳۶ ±٪۳۹
D	۱۵mg/kg.B.W	*۰/۴۴ ±٪۵۲

* P≤۰/۰۵

مقادیر برحسب میانگین±خطای معیار($\overline{X}$ ±SEM) آورده شده اند. میانگین هایی که دارای علامت* هستند نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی دار نشان می دهند. تعداد نمونه ها در هر گروه n=۸ است.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج حاصله از مطالعات بافتی کاهش در تراکم اسپرم (الیگواسپرمی) اختلال در زنجیره اسپرماتوژنز، تخریب فضاهای بینابینی و بدنبال آن کاهش سلول های بینابینی را در مقاطع بافتی در گروههای تجربی دریافت کننده دارو نسبت به گروه کنترل بعد از یک دوره زمانی طولانی (۳۰ روزه) نشان می دهد.

بحث:

مطالعه هر چه بیشتر مکانیسم های تنظیم کننده اندام های مختلف بدن و جایگاههای تأثیر پذیری آنها هدف اصلی تحقیقات متعدّدی است که امروزه در سراسر جهان انجام می شود. این تحقیقات به منظور هر چه بهتر روشن شدن ابهامات انجام می شود؛ چرا که روشن شدن نقاط مبهم گاهی در ارائه راهکارهای بهتر و توجیه هر چه بیشتر و دقیق تر مسائل می تواند مؤثر باشند.

در تحقیق حاضر اثر داروی Selegiline بر میزان هورمونهای LH ، FSH ، تستوسترون و تغییرات بافتی بیضه مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج بدست آمده در بررسی تجویز Selegiline بر غلظت سرمی هورمون LH نشان می دهد مصرف این دارو با مقادیر داده شده در پایان روز سی ام میزان هورمونLH را در گروههای تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش می دهد که این اختلاف معنی دار است.

مطالعات نشان می دهد Selegiline به عنوان یک داروی مهار کننده آنزیم مونوآمینواکسید از (MAO) نوع B بطور مستقیم بر روی هیپوفیز عمل می کند و باعث افزایش ترشحLH از سلول های لوتئوتروپ در بخش قدامی هیپوفیز می شود احتمالاً افزایش LH دارای اثرات کاهشی بر فعالیت گیرنده های سلول های بینابینی در بافت بیضه است و منجر به کاهش ترشح تستوسترون می شود(۱۰). همچنینSelegiline باعث افزایش غلظت دوپامین از ناحیه Striatum مغزی می شود و دوپامین آزاد شده از طریق نورونهایTubero-Infundibulur Dopaminergic Activity به سیستم گردش خون پورتال منتقل شده و باعث کاهش ترشح پرولاکتین می شود. کاهش ترشح پرولاکتین اثرات LH را بر سلول های بینابینی کاهش می دهد.

بررسی تأثیر مقادیر مختلف Selegiline بر میزان هورمون FSH نشان می دهد این دارو با مقادیر مختلف در پایان این دورهٔ زمانی باعث اختلاف معنی داری در میزان FSH بین گروههای تجربی و کنترل نمی شود.

بر اساس نتایج بدست آمده از این مطالعه و مطالعات سایر محققان، احتمالاً جهش های زیادی در گیرنده های LH در سلولهای لیدیگ به وجود می آید، اما در گیرنده های FSH در سلول های سرتولی این جهش ها بندرت اتفاق می افتد(۱۱) ، احتمالاً یکی از علل عدم تغییر میزان FSH شاید بخاطر عدم تغییر در فعّالیت گیرنده های FSH پس از مصرف این دارو باشد. در هر حال مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است.

مطالعات در بررسی اثر مقادیر مختلف این دارو بر میزان هورمون تستوسترون نشان می دهد مقادیر (mg/kg.B.W) ۱۵، ۱۰، ۵ در پایان روز سی ام در گروههای تجربی کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان می دهد. مطالعات بر روی پروکاربازین که یک مهار کنندهٔ آنزیم مونوآمینواکسیداز است و در اکثر مطالعات آن را همردیف با Selegiline قرار داده اند(۱۲) نشان می دهد که مصرف پروکاربازین در کوتاه مدت اسپرماتوژنز و باروری را افزایش داده امّا مصرف دراز مدت این دارو باعث کاهش باروری و اسپرماتوژنز می گردد(۱۳). همچنین مطالعات سایر محققان نشان می دهد تیمار با پروکاربازین تقریباً ۷۰درصد لوله های منی ساز را تخریب می کند و باعث کاهش ترشح تستوسترون و اسپرماتوژنز می شود(۱۴).

نتایج حاصله از مطالعات بافتی، کاهش تراکم اسپرم در لوله های منی ساز (الیگواسپرمی) از بین رفتن آرایش منظم سلول های اسپرماتوگونی روی غشای لوله های منی ساز ، تخریب فضاهای بینابینی و به دنبال آن کاهش سلولهای بینابینی را در گروههای تجربی نسبت به گروه کنترل،بویژه در مقدار حداکثر دارو یعنی mg/kg.B.W ۱۵ نشان می دهد و نتیجهٔ کلی را که Selegiline در این دورهٔ زمانی باعث کاهش ترشح تستوسترون و نقص در زنجیره اسپرماتوژنز می شود تأیید می کند.

سپاسگزاری :

بدینوسیله از همکاری صمیمانه مسئولین و کارکنان دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، گروه فیزیولوژی و بافت شناسی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان و انستیتوپاستور ایران تشکر و سپاسگزاری می شود.

منابع :

1.Olanow C.W. Deprenyl in the treatment of Parkinson’s disease; clinical effects

www.SID.ir

Archive of SID

and speculation of mechanism of action. J Transm 1996; 48 : 75-84.
2. Katzung BC. Basic and clinical pharmacology. 16th edition, New York: Appleton & Lange, 1997: 18-19
3. Lange KW. Biochemical action of L. deprenyl (Selegiline). Clin Pharmacol 1994; 56 : 734-741.
4. Frankel JP, Kempster PA , Stible CM. A double-blind controlled study of high dose L-deprenyl in the treatment of Parkinson's disease. Clin Neuro Pharmacol 1989; 12 : 448-451.
5. Magyar K. pharmacokinetic aspect of deprenyl effects. Pol J Pharmacol Pharm 1984; 36: 373-384.
6. Fowler JS. Mapping in human brain monoaminooxidase A and B with II C-Labeled suicide inactivators and PET. Science 1987; 23 : 481-485.
7. Grizard G. Artonne C. Effect of short-term starvation on Leydig cell function in adult male rats. Arch Androl 1997; 38 : 207-214.
8. Cabanillas AM, Masini Repiso AM. Thyroid iodide transport is reduced by administration of monoaminooxidase. A inhibitors to rats. J Endocrinol 1994; 143 : 303-308.
9. Cedarbaum JW. L-deprenyl levodopa pharmacokinetics and response fluctuation in Parkinson's disease. Clin Neuro Pharmacol 1990; 13 : 29-33.
10. Knoll J, Dallo J. Striatal dopamine, sexual activity and life span. Longevity of rats treated with(-) deprenyl. Life Sci 1989; 45 : 525-531.
11. Beak Peccoz P, Romoli R. Mutation of LH and FSH receptors. J Endocrinol Invest 2000; 23 : 566-572.
12. Disclaimer T. Bar Bitu Rate A. Professional drug data base oncology, com 1999: 15-21.
13. Meistrich ML. Wilson G. Hormonal treatment after cytotoxic therapy stimulates recovery of spermatogenesis. Cancer Res 1999; 59 : 3357-3560.
14. Kangasniemi M. Wilson G. Administration of constant how low androgen to steers by silastic implant suppression of gonadotropin and peripheral convertion of androgens. J Androl S 1995; 2 : 87-92.

www.SID.ir