



مقاله پژوهشی

تأثیر داروی مت آمفتامین بر محور هورمونی هیپوفیز-گناد و بافت بیضه در موش‌های صحرایی بالغ

زهرا علائیان جهرمی^۱، اکبر وحدتی^۱، محمدحسن مشکى باف^{۲*}، زهره ماکولاتی^۲، مجید نقدی^۳

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

۲- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

۳- گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۲/۲۵

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۱۱/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: این مطالعه به منظور بررسی تأثیر داروی مت آمفتامین بر محور هورمونی هیپوفیز-گناد و بافت بیضه انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به ۴ گروه کنترل، تجربی ۱، ۲ و ۳ تقسیم شدند. گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به صورت گاوژ دریافت کردند. پس از پایان دوره، خون‌گیری از قلب حیوانات انجام شد. میزان هورمون‌ها توسط کیت الایزا اندازه‌گیری و پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی، تغییرات بافت بیضه بررسی شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS و آزمون ANOVA آنالیز شد.

نتایج: غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد. غلظت سرمی هورمون‌های LH و FSH در تمامی گروه‌های تجربی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید در همه گروه‌های تجربی کاهش معنی‌دار وابسته به غلظت نسبت به گروه کنترل داشت. در برش‌های بافتی نیز تغییرات وابسته به غلظت در گروه‌های تجربی از نظر تعداد سلول‌های مختلف دودمانی، آرایش سلول‌های مختلف و فضاهای ایجادشده در داخل لوله‌های اسپرم‌ساز نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. **نتیجه‌گیری:** مصرف مت آمفتامین اثرات مخربی بر محور هیپوفیز-گناد و بافت بیضه دارد که این امر می‌تواند احتمال ابتلا به ناباروری را در جنس نر تسریع نماید.

کلمات کلیدی: مت آمفتامین، محور هورمونی هیپوفیز-گناد، بیضه

مقدمه

(۲، ۳). داروی مت آمفتامین در درمان بسیاری از اختلالات از جمله اختلال بیش‌فعالی، حمله خواب (نارکولپسی) و چاقی استفاده می‌شود (۴). مت آمفتامین به چهار صورت خوراکی، استنشاقی، تزریقی و تدخینی (دودکردنی) مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). این ماده بسته به روش مصرف بر خلق افراد اثرات تخریبی شدید و متفاوتی را ایجاد می‌کند به‌طوری‌که اشکال خوراکی و استنشاقی دارو علائم خفیف‌تری ایجاد می‌کند (۶).

در رابطه با اثرات مصرف مت آمفتامین بر روی دستگاه‌های مختلف بدن فرد بالغ مطالعات زیادی صورت گرفته است. از جمله اثر مهاری این دارو بر روی تولید تستوسترون توسط سلول‌های

مت آمفتامین یک داروی محرک و توهم‌زا است که بر روی تمام سیستم‌های بدن به‌ویژه سیستم عصبی مرکزی تأثیرگذار است و به‌عنوان ماده‌ی نوروتوکسیک طبقه‌بندی می‌شود (۱) و مصرف آن به‌عنوان یکی از ترکیبات موجود در قرص‌های روان-گردان در جامعه به‌خصوص در بین جوانان و نوجوانان یعنی گروهی که در سن رشد و تولیدمثل هستند رو به افزایش بوده و به‌صورت یکی از معضل‌های مهم و اساسی اجتماع بشمار می‌آید

*نویسندگان مسئول: محمدحسن مشکى باف، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی،

Email: meshkibaf2000@gmail.com

دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

https://orcid.org/0000-0002-8912-9040

بودند، گردد در نتیجه فرآیند طبیعی اسپرم سازی مختل شده که این امر نیز به عنوان یکی از عوامل مؤثر در بروز مشکلات باروری در مردان وابسته به آمفتامین در نظر گرفته می شود (۱۵). در پژوهشی صافی و همکاران نیز بیان کردند که تزریق مت آمفتامین حتی در دوزهای پایین، با مکانیسم های متعددی نظیر اتصال به رستورها و اثر بر محور هیپوفیز-گناد، ناهنجاری های مختلفی را در رابطه با افزایش یا کاهش فعالیت تخمدان و اووژنز ایجاد می کند که به احتمال زیاد اختلال در کیفیت تخم گذاری و بلوغ اووسیت ها را به همراه دارد (۱۶). عده ای هم با مطالعه بر روی موش های صحرایی نشان دادند که این گونه داروها، آنزیم های ترانس آمیناز، نیتریک اکسید سینتاز و سطح پراکسید هیدروژن را کاهش داده و با اکسید کردن پروتئین ها و آنزیم های میتوکندری باعث کاهش تولید انرژی و نهایتاً مرگ سلول ها خواهند شد (۱۷).

محور هیپوفیز-گناد یکی از پیچیده ترین و فعال ترین محورهای فیزیولوژیک بدن موجودات زنده است که نه تنها اعمال تولیدمثلی بلکه به واسطه سنتر و ترشح آندروژن ها، 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 راه های جلوگیری یا تشدید این اثرات همواره مدنظر محققین مختلف بوده است. با توجه به این که از یک طرف مصرف این دارو در بین اقشار مختلف جامعه گسترش وسیع دارد و از طرف دیگر این عقیده در بین مصرف کنندگان این قبیل داروها وجود دارد که مصرف تفنی این داروها هیچ گونه عوارضی ندارد و تولیدکنندگان و پخش کنندگان، برای اغفال جوانان و نوجوانان از چنین حربه هایی استفاده می کنند؛ لذا در این مطالعه بر آن شدیم که اثر این دارو بر روی تغییرات محور هورمونی هیپوفیز - گناد و بافت بیضه را در موش های صحرایی بالغ بررسی کنیم.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی بر اساس مطالعات قبلی و محاسبات آماری از ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی 200 ± 15 گرم و سن هشت هفته استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد حیوان خانه با دسترسی کافی به آب و غذا و دمای مناسب 21 ± 3 درجه سانتی گراد و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. لازم به ذکر است

بینابینی بیضه است، این اثر از طریق افزایش تولید AMP حلقوی، کاهش فعالیت کانال های کلسیم و آنزیم های مربوط به تولید این هورمون القا می گردد (۷).

پژوهشگران در گزارشی، به اثرات مخرب اکستازی بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد جنس نر اذعان نموده و بیان کردند که مصرف طولانی مدت این ماده روان گردان اثرات مخربی بر محور هیپوفیز-گناد اعمال می کند (۸). بسیاری مطالعات صورت گرفته در این زمینه، حاکی از آن است که غلظت های مختلف مت آمفتامین بر روی مواد وراثتی و DNA مربوط به اندام های بدن اثر متفاوتی بر جای خواهد گذاشت. این دارو از طریق تولید انواع اکسیژن واکنش پذیر و نیز آسیب به اندامک های درون سلولی از جمله میتوکندری و لیزوزوم ها، باعث نقص در عملکرد سلول ها شده و به همین دلیل این گونه مواد را در رده ترکیبات ژنوتوکسیکوسیتی و سیتوتوکسیکوسیتی طبقه بندی می کنند (۹-۱۰). عده ای از محققین معتقدند که این ماده باعث مهار آنزیم سوپر اکسید دسموتاز شده و به دنبال آن باعث اکسیداسیون پروتئین های سیتوپلاسمی می شود و با افزایش استرس اکسیداتیو، مرگ سلولی را در بافت ها، القا می کند (۱۱). گرچه مکانیسم مربوط به تأثیر مت آمفتامین چندان مشخص نیست، ولی گزارش ها حاکی از آن است که این گونه ترکیبات، دستگاه تولیدمثل را تحت تأثیر قرار داده و مصرف طولانی مدت آن بر روی محور هیپوفیز-گناد، اثرات مخربی را بر جای می گذارد. محققین قائل به این هستند که از طریق ایجاد اختلال در سیستم هورمونی و تأثیر بر روی اندام های تناسلی جنس نر، باعث صدمه به DNA اسپرم، ادم بافت بیضه و کاهش در حرکت اسپرم شده و افراد را به سمت ناباروری سوق می دهند (۸، ۱۲). نتایج به دست آمده در مورد بررسی اثرات مت آمفتامین بر تکوین بیضه در موش های صحرایی نابالغ نیز نشان داد که مصرف مکرر مت آمفتامین حتی در غلظت های پایین از طریق اثر بر محور هیپوفیز-گناد و عوامل مختلف دخیل در اسپرماتوژنز باعث اختلال در اسپرماتوژنز می شود که ممکن است سبب کاهش باروری در جنس نر گردد (۱۳). همچنین در مطالعه ای اثر القایی آپوپتوزیس مت آمفتامین در لوله های اسپرم ساز به اثبات رسیده است (۱۴). پژوهش های تقوی و همکاران نیز حاکی از آن است که حتی مصرف یک بار مت آمفتامین به ویژه با غلظت بالا، می تواند باعث تغییر نسبت تکثیر به آپوپتوزیس در بافت بیضه موش های صحرایی نر بالغ که تحت تیمار با آمفتامین قرار گرفته

گروه به دست آمد (۱۹). داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون دانکن تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

۱- میانگین غلظت سرمی هورمون‌های تستوسترون،

FSH و LH

میانگین غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی ۲ ($1/66 \pm 0/06$) و ۳ ($1/8 \pm 0/05$) نسبت به گروه کنترل ($1/22 \pm 0/02$) افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P \leq 0/05$)؛ اما گروه تجربی ۱ ($1/3 \pm 0/05$) اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت (نمودار ۱). میزان غلظت پلاسمایی هورمون FSH در گروه دریافت‌کننده غلظت حداقل $0/27 \pm 0/02$ ، در گروه غلظت متوسط $0/2 \pm 0/01$ و در گروه غلظت حداکثر $0/22 \pm 0/01$ بوده است که نسبت به گروه کنترل ($0/35 \pm 0/02$) کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهند ($P \leq 0/05$) (نمودار ۱). غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروه دریافت‌کننده غلظت حداقل $0/48 \pm 0/049$ ، در گروه غلظت حداکثر $0/45 \pm 0/046$ بوده است که نسبت به گروه کنترل ($0/63 \pm 0/01$) کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهند ($P \leq 0/05$) (نمودار ۱).

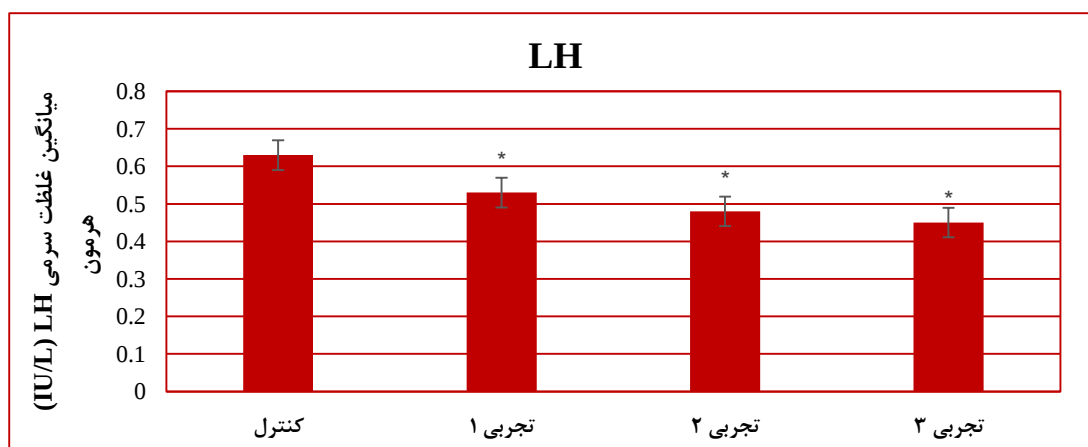
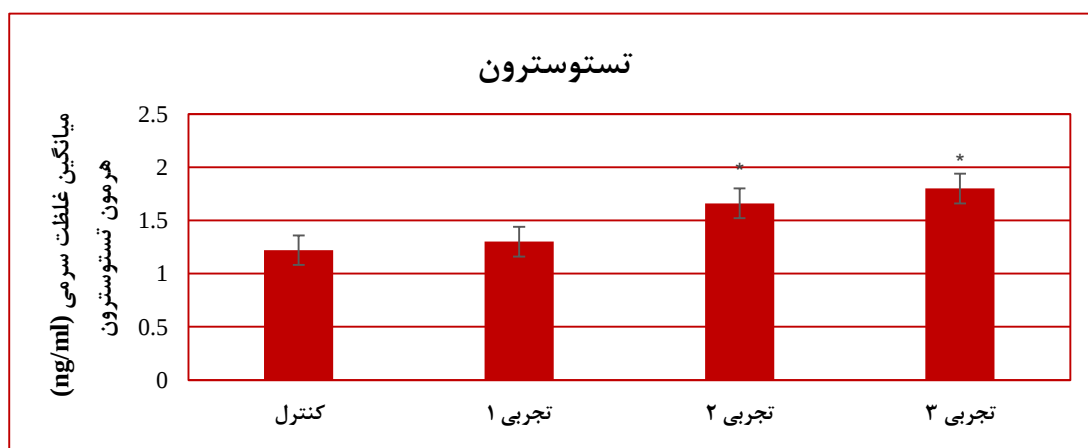
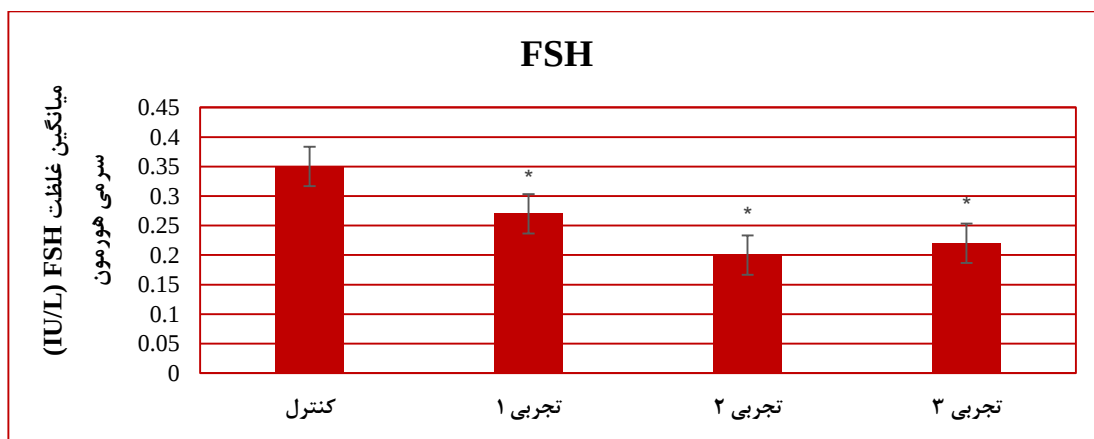
که کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. از آن جهت که ماده مؤثر مورد مصرف در این مطالعه مت‌آمفتامین بود، غلظت‌های آزمایش بر اساس مطالعه قبلی در این زمینه (۱۸) و همچنین میزان مرگ‌ومیر در حیوانات پس از تزریق انتخاب شد. موش‌ها به سه گروه ۹ تایی تجربی و یک گروه کنترل تقسیم شدند. گروه‌های تجربی به ترتیب مقدار ۰/۲ سی-سی محلول حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دارو به صورت خوراکی به مدت ۴۵ روز متوالی دریافت کردند. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد. پس از پایان دوره ۴۵ روزه، حیوانات بی‌هوش شدند و خون‌گیری از قلب آن‌ها انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده به سانتریفیوژ منتقل شدند و سرم توسط پیت پاستور جدا گردید. سرم‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد منجمد و به مدت ۴۸ ساعت در یخچال نگهداری شد. با استفاده از روش الایزا و کیت مخصوص موش صحرایی سنجش هورمون تستوسترون (Abnova-Taiwan - KA0309)، LH (Abnova-Taiwan - KA2332) و FSH (Taiwan - Abnova - KA2330) میزان هورمون‌ها سنجیده شد. علاوه بر این، بافت‌های بیضه نیز خارج و پس از شستشو و خشک کردن در محلول فیکساتور ده درصد فرمالین قرار داده شد و پس از تهیه مقاطع بافتی، جهت انجام مطالعات میکروسکوپی آماده شد. سپس سلول‌های دودمان اسپرمی شامل: تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، سلول‌های سرتولی و لیدیک شناسایی و تعداد آن‌ها در ده برش و در هر برش دو لوله اسپرم‌ساز شمارش گشت. در پایان میانگین تعداد آن‌ها در هر

جدول ۱- مقایسه تعداد سلول‌های مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار) در بافت بیضه در گروه‌های مختلف (گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ روزانه به ترتیب مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت‌آمفتامین به مدت ۴۵ روز به صورت گاوژ دریافت کردند). (*): تفاوت معنی‌داری با همه گروه‌های تجربی در همان ردیف ($P \leq 0/05$).

گروه	کنترل	تجربی ۱	تجربی ۲	تجربی ۳
اسپرماتوگونی	$89/8 \pm 3/36^*$	$81/0 \pm 3/26$	$79/0 \pm 3/46$	$70/8 \pm 2/23$
اسپرماتوسیت	$103/40 \pm 4/50^*$	$98/0 \pm 3/98$	$92/5 \pm 3/65$	$83/80 \pm 3/47$
اسپرماتید	$205/40 \pm 4/51^*$	$191/0 \pm 4/59$	$183/50 \pm 4/77$	$179/80 \pm 5/23$
سرتولی	$25/20 \pm 2/96$	$24/16 \pm 2/61$	$24/54 \pm 2/87$	$24/81 \pm 2/38$
لایدیک	$13/92 \pm 0/96$	$13/32 \pm 0/69$	$12/72 \pm 0/87$	$13/21 \pm 0/68$

معنی‌دار نشان داد. میانگین تعداد سلول‌های سرتولی و لایدیگ در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت ($P \leq 0.05$) (جدول ۱).

۲- میانگین تعداد انواع سلول‌های رده اسپرماتوژنز، سلول‌های سرتولی و لایدیگ میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید در همه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش

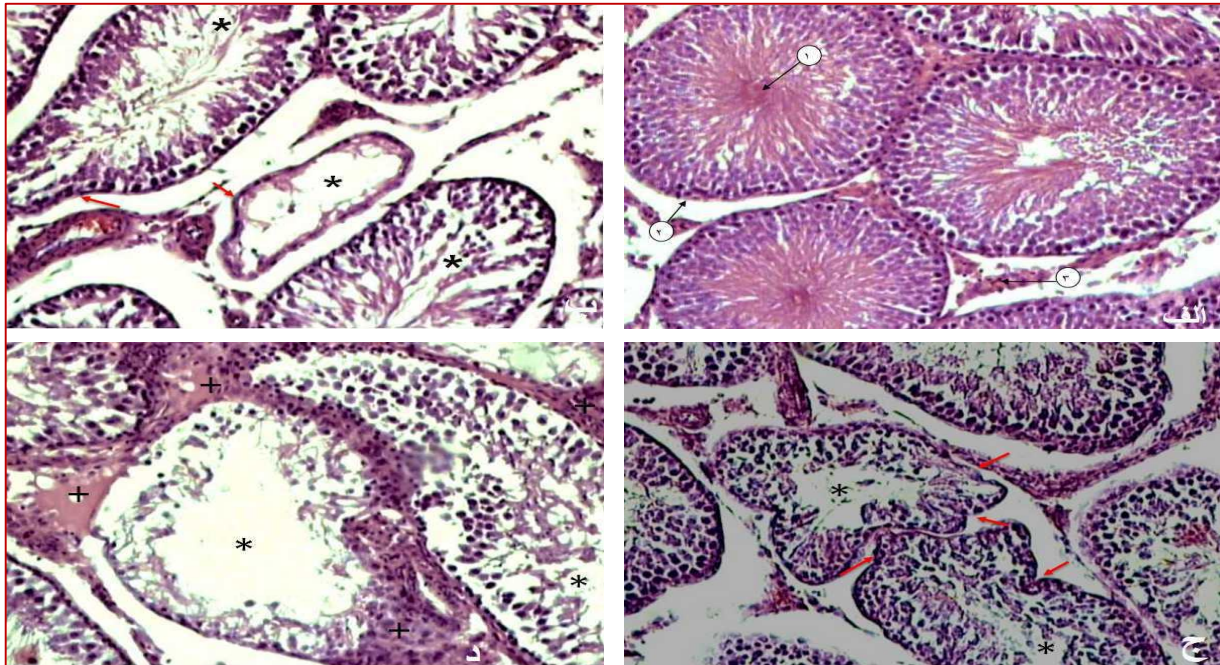


نمودار ۱- میانگین غلظت سرمی هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH در گروه‌های مختلف (گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ روزانه به ترتیب مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به صورت گاوژ دریافت کردند). (*): اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ($P \leq 0.05$).

دریافت کننده غلظت حداکثر به بیشترین مقدار خود رسیده است (شکل ۱).

۳- بررسی برش‌های بافتی

با بررسی فتومیکروگراف تهیه شده از مقطع عرضی لوله‌های اسپرم‌ساز نتایج زیر به دست آمد: در گروه کنترل تمامی رده‌های



شکل ۱- فتومیکروگراف نوری لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف. در گروه کنترل (الف)، لوله‌ها و سلول‌های دودمان جنسی لایه اپی تلیوم ژرمینال به صورت منظم قرار گرفته است و هیچ گونه تغییر پاتولوژیکی مشاهده نمی‌شود. در گروه تجربی ۱ (ب): دریافت کننده ۰/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به صورت گاواژ، چروکیده شدن توبول‌ها (←)، کاهش تعداد سلول‌های زاینده و وجود نقاط خالی داخل توبول‌ها (*) نشان دهنده آسیب بافت بیضه است. در گروه تجربی ۲ (ج): دریافت کننده ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به صورت گاواژ، چروکیده شدن توبول‌ها (←)، خالی شدن برخی از توبول‌ها (*)، کاهش تعداد سلول‌های دودمان جنسی و ازهم گسیختگی اپی تلیوم ژرمینال و وجود نقاط خالی داخل توبول‌ها مشاهده گردید. در گروه تجربی ۳ (د): دریافت کننده ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به صورت گاواژ، در این گروه تغییرات بافتی محسوس بود. به طوری که کاهش معنی داری در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و سلول‌های لایدیگ مشاهده شد. از طرفی ازهم گسیختگی اپی تلیوم ژرمینال و وجود نقاط خالی زیاد داخل توبول‌ها (*) و در برخی نقاط وجود احتقان پرخونی (+) مشاهده گردید. بزرگنمایی ۱۰۰X رنگ آمیزی: همتاکسیلین- اتوزین. ۱- سلول‌های اسپرماتوزوئید ۲- لایه ژرمینال ۳- سلول‌های لایدیگ در بافت بینابینی.

بحث

در مطالعه حاضر بررسی بافت‌شناسی بافت بیضه، پیدایش بی-نظمی در اپیتلیوم زایای بافت بیضه در موش‌های صحرایی مصرف کننده مت آمفتامین را نشان داد. این امر تخریب سلول‌ها و حالت ادم در بیضه را مطرح می‌سازد که یکی از نشانه‌های آسیب بافتی به شمار می‌رود. یکی از دلایل احتمالی آتروفی شدن بیضه‌ها عواملی است که باعث اختلال در اسپرماتوژنز و کاهش تعداد سلول‌های جنسی می‌شوند. یکی از این عوامل مؤثر بر اسپرماتوژنز وجود رادیکال‌های آزاد است. در مطالعات قبلی وجود این رادیکال‌ها پس از استفاده از اکستازی در کبد به اثبات رسیده

اسپرماتوژنز شامل اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید به خوبی مشخص بوده و هیچ اختلافی از نظر اندازه، تعداد، ویژگی-های سیتوپلاسم، هسته و میزان رنگ‌پذیری آن‌ها مشاهده نمی-شود. فاصله لوله‌های منی ساز از همدیگر کم بوده و بافت بینابینی لوله‌های منی ساز کم بود. عروق خونی موجود در بافت بینابینی هیچ گونه پرخونی نشان نمی‌دهند. درحالی که در گروه‌های تجربی، تغییرات زیادی از نظر تعداد سلول‌های مختلف دودمانی، آرایش سلول‌های مختلف، فضاهای ایجاد شده در داخل لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های غلظت حداقل، متوسط و حداکثر دارو نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود که البته تغییرات در گروه

به افزایش قابل ملاحظه در میزان هورمون های تیروئیدی می شود و این افزایش احتمالاً روی بافت بیضه اثر گذاشته و منجر به آتروفی شدن بیضه می شود (۲۴).

مقایسه غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون نشان می دهد که با افزایش غلظت دارو، میزان هورمون تستوسترون نیز افزایش یافته است. نتایج این مطالعه با کار پژوهشی که در آن کریستال مت به عنوان یکی از مشتقات آمفتامین به عنوان تیمار انتخاب شده بود هم راستا است (۲۵).

در ضمن یافته های پژوهشی که در آن اثر ۳ و ۴ دی اکسی مت آمفتامین روی محور هورمونی هیپوفیز-گناد موش صحرایی نر نابالغ مورد بررسی قرار گرفته بود نیز در راستای تأیید نتایج این تحقیق است (۲۶). مصرف مواد روان گردان نظیر مت آمفتامین و مشتقات آن منجر به آسیب نوروهای سروتونرژیک و در نتیجه افزایش رهاسازی سروتونین در سیناپس های مغزی می شوند (۲۸-۲۶). در مطالعات دیگر مشخص شده است که مصرف داروهای مخرب نوروهای سروتونرژیک (۲۸) و یا مشتقات مت آمفتامینی (۱۴) موجب افزایش غلظت پرولاکتینی می شود که این امر نیز افزایش ترشح تستوسترون را به دنبال دارد (۲۱). از مجموع مطالعات انجام شده می توان نتیجه گرفت که احتمالاً مصرف مت آمفتامین باعث افزایش پرولاکتین و در نتیجه افزایش تستوسترون پس از تیمار با آن شده است. در مطالعه حاضر میزان غلظت پلاسمای هورمون های LH و FSH با افزایش غلظت خوراکی مت آمفتامین کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (نمودارهای ۲ و ۳). این یافته ها با نتایج مطالعه جمشیدپور و همکاران همخوانی داشته (۲۶) اما با نتایج بررسی های علائیان جهرمی و همکاران (۱۸) و همچنین حسامی و همکاران (۸) در تناقض است. در پژوهشی دیگر که در آن بررسی تزریقی اکستازی (MDMA) به صورت زیر جلدی یکبار در روز، با تواتر ۳ بار در هفته به مدت ۱۲ هفته صورت پذیرفته بود نشان داده شد که تیمار مزمن اکستازی بر روی محور هورمونی هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد اثر بلندمدتی ندارد و تغییرات مشهود در غلظت هورمون های مذکور وابسته به غلظت نیست که این نتیجه با یافته های تحقیق حاضر در تضاد است چرا که با افزایش غلظت مصرفی مت آمفتامین تغییرات حاصل مشهودتر می گردد (۲۹). بر اساس مطالعات انجام شده روی مت آمفتامین

است و مشخص شده است که اکستازی منجر به استرس اکسیداتیو می شود و استرس اکسیداتیو به علت سنتز مقدار زیاد رادیکال های آزاد و یا گونه های فعال اکسیژن (ROS)^۱ ایجاد می شود (۲۰). مطالعات مورفومتریک و شمارش سلول های لوله های منی ساز در گروه های تجربی، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار نشان داد که تأثیرگذاری عوارض ناشی از مصرف مت آمفتامین را مورد تأیید قرار می دهد. در مقایسه ی هیستوپاتولوژیکی ساختار سلولی لوله های منی ساز مشاهده گردید که رده های سلولی جداری در لوله های منی ساز گروه کنترل از تعدد و تنوع بیشتری برخوردار بوده و روند اسپرماتوژنز در این گروه طبیعی است. در حالی که در گروه های تجربی، کاهش چشمگیری در سلول های جنسی در حال تکثیر و تمایز دیده می شود. لذا بر اساس کاهش تراکم سلولی در جدار لوله های منی ساز این گروه ها به نظر می رسد که مت آمفتامین توانسته است به گونه ای بر روند اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد و این پدیده را با مرگ سلولی مواجه نماید. بر اساس چنین فرضیه ای احتمالاً قبل از اینکه سلول های جداری لوله های اسپرم ساز در نمونه های گروه های تجربی از تمایز کافی برخوردار شوند، دچار مرگ سلولی شده و از دست می روند.

مطالعات نشان می دهند که به دنبال مصرف طولانی مدت مت آمفتامین (اکستازی)، آتروفی شدن بیضه ها، اختلال در اسپرماتوژنز و کاهش تعداد سلول های جنسی مشاهده می شود (۸). در مطالعه ای دیگر نشان داده شده که مصرف مت آمفتامین منجر به مرگ سلولی در لوله های اسپرم ساز موش شده است (۱۴). در پژوهشی دیگر نیز آسیب جدی DNA اسپرم، ادم بین بافتی در بیضه ها، کاهش مشخص و وابسته به غلظت در تعداد اسپرم ها و کاهش قابلیت تحرک آن ها در تمامی غلظت های مصرفی اکستازی در موش صحرایی گزارش گردید (۲۱). مطالعات نشان می دهند که با مصرف مت آمفتامین دمای بدن به طور خطرناکی افزایش می یابد و گرمای محیط و فعالیت شدید فیزیکی به این افزایش کمک می کند (۲۲). پژوهش ها بیانگر آن است که هورمون های تیروئیدی باعث افزایش دمای بدن می شوند و افزایش دمای بدن در حد متوسط باعث القای مرگ سلولی در روند اسپرماتوژنز موش های صحرایی و موش ها می گردد (۱۴، ۲۳). در مطالعات دیگر دیده شده است که تیمار با اکستازی منجر

1 - Reactive oxygen species

می‌شود که آن نیز سبب کاهش ترشح هورمون‌های جنسی LH و FSH می‌گردد. در ضمن بالا بودن غلظت هورمون تستوسترون تا حدی از طریق بازخورد منفی موجب کاهش ترشح هورمون‌های LH و FSH می‌شود. در مطالعه حاضر احتمالاً افزایش پرولاکتین که خود نیز حاصل افزایش سروتونین ناشی از مصرف مت‌آمفتامین است؛ منجر به کاهش FSH شده است که این کاهش وابسته به غلظت مصرف دارو است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مت‌آمفتامین‌ها بر روی هورمون‌های جنسی تأثیرگذار بوده و از طریق اختلالاتی که در سطح هورمون‌های جنسی نر (افزایش غلظت هورمون تستوسترون و کاهش غلظت هورمون‌های جنسی LH و FSH) ایجاد می‌کنند احتمال ابتلا به عقیمی و ناباروری را در جنس نر تسریع نمایند. به‌طور کلی نتایج این مطالعه، نشان‌دهنده اثرات تخریبی وابسته به غلظت مت‌آمفتامین، بر محور هیپوفیز-گناد، بافت بیضه‌ها و سلول‌های رده اسپرم‌ساز است. اثبات این موضوع نیاز به تحقیق بیشتر به‌خصوص در نمونه‌های انسانی دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی فسا (کد ۹۳۱۳۹) است که با حمایت مالی این دانشگاه اجرا شده است. نویسندگان سپاسگزاری خود را از مسئولین و همکاران مرکز تحقیقات کوهورت دانشگاه علوم پزشکی فسا به خاطر همکاری صمیمانه‌شان ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافع را اعلام نکرده‌اند.

مشخص شده که این دارو اثرات دو جانبه‌ای دارد؛ یعنی با مقادیر پایین منجر به افزایش قابل‌توجه سطح سرمی FSH و با مقادیر بالا منجر به کاهش قابل‌توجه آن می‌گردد (۲۳). چنانکه در مطالعه حاضر نیز افزایش غلظت دارو در گروه تجربی ۳ باعث کاهش غلظت پلاسمایی هورمون FSH نسبت به گروه تجربی ۱ با کاهش غلظت دارو شد. همچنین، افزایش FSH بیان گلیکوپروتئین‌هایی چون Inhibin را افزایش می‌دهد که به دنبال بیان آن میزان FSH کاهش پیدا می‌کند (۲۹). احتمالاً در گروه حداکثر غلظت دارو کاهش FSH به علت فعال شدن این مکانیسم است. نتایجی که از پژوهش فروزانفر به دست آمد، نشان می‌دهد که چند ماه تزریق اکستازی باعث کاهش معنی‌داری در غلظت سرمی هورمون LH می‌شود که این یافته با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت (۳۰). پژوهش‌های دیگر نیز نشان دادند که در اثر تزریق مت‌آمفتامین، هورمون LH دچار نوسان می‌شود که با نتیجه این تحقیق مطابقت داشت (۳۱). مطالعات پیشین نشان دادند که تزریق تستوسترون در ناحیه میان قاعده‌ای دور هسته قوسی هیپوتالاموس در موش صحرایی نر عقیم، منجر به کاهش چشمگیری در میزان LH در گردش خون شده است (۲۸). مواد روان‌گردان موجب افزایش آزادسازی سروتونین می‌گردد (۲۷)، (۳۱). با توجه به اینکه سروتونین از طریق گیرنده‌های 5HT_{2A} اثر مهارری روی ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی هیپوفیزی دارد (۳۲)، کاهش سروتونین منجر به افزایش ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی از هیپوفیز می‌گردد؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مت‌آمفتامین و مشتقات آن با افزایش میزان سروتونین موجب کاهش سطح GnRH گشته و ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی را کاهش می‌دهند. همچنین مواد روان‌گردان نظیر مت‌آمفتامین‌ها با افزایش غلظت هورمون پرولاکتین منجر به افزایش سطح هورمون تستوسترون می‌گردد و تستوسترون نیز با اثر بر روی هیپوتالاموس موجب کاهش و مهار ترشح GnRH

References

1. Thanos PK, Kim R, Delis F, Ananth M, Chachati G, Rocco MJ, et al. Chronic methamphetamine effects on brain structure and function in rats. *PloS One*. 2016;11(6): e0155457.
2. Comer SD, Hart CL, Ward AS, Haney M, Foltin RW, Fischman MW. Effects of repeated oral methamphetamine administration in humans. *Psycho Pharm*. 2001;155(4): 397-404.

3. O'Malley P. Ecstasy for intimacy: Potentially fatal choices for adolescents and young adults: update for the clinical nurse specialist. *Clin Nurse Specialist*. 2005;19(2): 63-64.
4. Rusyniak DE. Neurologic manifestations of chronic methamphetamine abuse. *Psychiatr Clin North Am*. 2013;36(2):261-75.
5. Karila L, Weins tein A, Aubin HJ, Benyamina A, Reynaud M, Batki SL. Pharmacological approaches to methamphetamine dependence: a focused review. *Br J Clin Pharmacol*. 2010; 69(6): 578-92.
6. Prakash MD, Tangalakis K, Antonipillai J, Stojanovska L, Nurgali K, Apostolopoulos V. Methamphetamine: effects on the brain, gut and immune system. *Pharmacol Res*. 2017; 120: 60-67.
7. Kalant H. The pharmacology and toxicology of "ecstasy" (MDMA) and related drugs. *Canadian Med Assoc J*. 2001;165(7):917-928.
8. Hesami Z, Khatamsaz S, Mokhtari M. The effects of ecstasy on pituitary-gonadal axis and spermatogenesis in mature male rats. *Tabib-e-Shargh*. 2008;10: 207-218. [In Persian]
9. Alvarenga TA, Ribeiro DA, Araujo P, Hirotsu C, Mazaro- Costa R, Costa JL, et al. Sleep loss and acute drug abuse can induce DNA damage in multiple organs of mice. *Hum Exp Toxicol*. 2010;30(9):1275-1281.
10. Pourahmad J, Eskandari MR, Nosrati M, Kobarfard F, Khajeamiri AR. Involvement of mitochondrial/lysosomal toxic cross-talk in ecstasy induced liver toxicity under hyperthermic condition. *Eur J Pharmacol* 2010;643:162-169. [In Persian]
11. Upreti VV, Moon KH, Yu LR, Lee IJ, Eddington ND, Ye X, et al. Increased oxidative-modifications of cytosolic proteins in 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy)-exposed rat liver. *Proteomics* 2011;11(2):202-211.
12. Barenys M, Gomez-Catalan J, Camps L, Teixido E, de Lapuente J, Gonzalez-Linares J, et al. MDMA (ecstasy) delays pubertal development and alters sperm quality after developmental exposure in the rat. *Toxicol Lett*. 2010;197(2): 135-142.
13. Lotfi M, Nori A, Karimi A, Pilehvarian AS. The Effects of Methamphetamine on the Development of the Testes in Immature Male Rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2016; 24 (3): 222-231. [In Persian]
14. Yamamoto Y, Yamamoto K, Hayase T, Abiru H, Shiota K, Mori C. Methamphetamine induces apoptosis in seminiferous tubules in male mice testis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2002;178(3):155-160.
15. Taghavi MM, Moallem SA, Alavi SH. The Evaluation of Single Dose Effects of Methamphetamine on Proliferation and Apoptosis of Sperm Germ Cells in Mature Rat. *Journal of Isfahan Medical School*. 2009; 27(97):399-408. [In Persian]
16. Moon KH, Upreti VV, Yu LR, Lee IJ, Ye X, Eddington ND, et al. Mechanism of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy)-mediated mitochondrial dysfunction in rat liver. *Proteomics* 2008;8(18): 3906-3918.
17. Safi E, Noori A, Pilehvarian AS. The Effect of Methamphetamine Injection during Post-Lactation on the Ovaries of Adult Rats. *Qom Univ Med Sci J* 2018; 12(7):32-40. [In Persian]
18. Allaeian Jahromi Z, Hemayatkhah Jahromi V, Jamali H, Kargar Jahromi H, Allaeian Jahromi A. The Effect of Ecstasy (MDMA) on the Number of Ovary Follicles and Hormonal Axis of Pituitary-Gonadal in Immature Rats. *Journal of Fasa University of Medical Sciences* 2013;2(4): 279-287. [In Persian]
19. Tabibian M, Nasri S, Kerishchi P, Amin G. The Effect of Gundelia Tournefortii Hydro-Alcoholic Extract on Sperm Motility and Testosterone Serum Concentration in Mice. *Zahedan J Res Med Sci*. 2013; 15 (8):18-21. [In Persian]
20. Beitia G, Cobreros A, Sainz L, Cenarruzabeitia E. Ecstasy - induced toxicity in rat live. *Liver* 2000;20(1):8-15.
21. Barenys M, Macia N, Camps L, de Lapuente J, Gomez-Catalan J, Gonzalez-Linares J, et al. Chronic exposure to MDMA (ecstasy) increases DNA damage in sperm and alters testes histopathology in male rats. *Toxicol Lett*. 2009;191(1):40-46.
22. Green AR, O'shea E, Colado MI. A review of the mechanisms involved in the acute MDMA (ecstasy)-induced hyperthermic response. *Eur J Pharmacol*. 2004;500(1-3):3-13.
23. Nash JF Jr, Meltzer HY, Gudelsky GA. Elevation of serum prolactin and corticosterone concentrations in the rat after the administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1988;245(3):873-879.



24. Sprague JE, Banks ML, Cook VJ, Mills EM. Hypothalamic-pituitary-thyroid axis and sympathetic nervous system involvement in hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy). *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;305(1):159-66.
25. Hatami H, Khajeh Nasiri N. The effect of intraperitoneal injection of crystal meth on the pituitary-gonadal axis in adult male rats. *Yafte journal of medical sciences (YJMS)* is the official scientific quarterly publication of the Lorestan university of medical sciences. 2015;17(2): 81-89. [In Persian]
26. Jamshidpoor L, Frozanfar M, Hemayatkhah Jahroumi V, Kargar Jahroumi H. Effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on pituitary-gonadal hormonized axis in immature male Rats. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*. 2012;14(2):17-21. [In Persian]
27. Frith CH, Chang LW, Lattin DL, Walls RC, Hamm J, Doblin R. Toxicity of methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in the dog and the rat. *Fundam Appl Toxicol*. 1987;9(1):110-119.
28. Rudnick G, Wall SC. The molecular mechanism of "ecstasy" [3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)]: serotonin transporters are targets for MDMA-induced serotonin release. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(5):1817-1821.
29. Malberg JE, Seiden LS. Small changes in ambient temperature cause large changes in 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)-induced serotonin neurotoxicity and core body temperature in the rat. *J Neurosci*. 1998;18(13):5086-5094.
30. Frozanfar M. Effect of 3, 4-methylene dioxy methamphetamine on pituitary-gonadal hormonized axis in immature male Rats. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2012;14(2): 17-22. [In Persian]
31. Capela JP, Carmo H, Remião F, Bastos ML, Meisel A, Carvalho F. Molecular and cellular mechanisms of ecstasy-induced neurotoxicity: an overview. *Mol Neurobiol*. 2009;39 (3):210-271.
32. Sharpe RM, McNeilly AS. The effect of induced hyperprolactinaemia on Leydig cell function and LH-induced loss of LH-receptors in the rat testis. *Mol Cell Endocrinol*. 1979;16(1):19-27.



Original Article

The Effect of Methamphetamine on Pituitary-Gonad Hormone Axis and Testicular Tissue in Adult Rats

Allaeian Jahromi Z, Vahdaty A¹, Meshkibaf MH^{2*}, Makoolati Z³, Naghdi M³

1. Department of Biology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

2. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

3. Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

Received: 30 Jan 2021

Accepted: 15 Mar 2021

Abstract

Background & Objective: This study was performed to evaluate the effect of methamphetamine on pituitary-gonadal hormone axis and testicular tissue.

Materials & Methods: 36 adult male Wistar rats were divided into 4 groups including control, experimental 1, 2 and 3. Experimental groups 1, 2 and 3 received 0.5, 1 and 2 mg/kg of methamphetamine, respectively by gavage for 45 days. At the end of the period, blood samples were taken from the hearts of the animals. Hormone levels were measured by ELISA kit and after preparation of tissue sections and staining, testicular tissue changes were studied. Data were analyzed by SPSS software and ANOVA test.

Results: Serum concentrations of testosterone in experimental groups 2 and 3 showed a significant increase compared to the control group. Serum concentrations of LH and FSH hormones in all experimental groups were significantly reduced compared to the control group. The number of spermatogonia, spermatocytes and spermatids in all experimental groups had a significant concentration-dependent decrease compared to the control group. In tissue sections, concentration-dependent changes were observed in the experimental groups in terms of the number of different lineage cells, different cell arrangements, and the spaces created inside the seminiferous tubules compared to the control group.

Conclusion: Methamphetamine use has destructive effects on the pituitary-gonadal axis and testicular tissue which can accelerate the risk of infertility in males.

Keywords: Methamphetamine, pituitary-gonadal hormonal axis, testis

***Corresponding Author:** Meshkibaf Mohammad Hassan, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
Email: meshkibaf2000@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8912-9040>