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 مشکی باف[۲*]، زهره مأکولاتی[۳]، 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 دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۲/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: این مطالعه به‌منظور 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 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به‌صورت گاواژ 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 ۲ و ۳ 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 ازنظر 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

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 (۲، ۳). داروی مت آمفتامین در درمان بسیاری از اختلالات ازجمله اختلال بیش فعالی، حمله خواب (نارکولپسی) و چاقی استفاده می‌شود (۴). مت آمفتامین به چهار صورت خوراکی، استنشاقی، تزریقی و تدخینی (دودکردنی) مورداستفاده قرار می-گیرد (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. ازجمله اثر مهاری این دارو بر روی تولید تستوسترون توسط سلول‌های

*نویسندگان مسئول: محمدحسن مشکی باف، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران
Email:meshkibaf2000@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-8912-9040

بینابینی بیضه است، این اثر از طریق افزایش تولید AMP حلقوی، کاهش فعالیت کانال‌های کلسیم و آنزیم‌های مربوط به تولید این هورمون القا می‌گردد (۷).

پژوهشگران در گزارشی، به اثرات مخرب اکستازی بر روی محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد جنس نر اذعان نموده و بیان کردند که مصرف طولانی‌مدت این ماده روان‌گردان اثرات مخربی بر محور هیپوفیز—گناد اعمال می‌کند (۸). بسیاری مطالعات صورت گرفته در این زمینه، حاکی از آن است که غلظت‌های مختلف مت آمفتامین بر روی مواد وراثتی و DNA مربوط به اندام‌های بدن اثر متفاوتی بر جای خواهد گذاشت. این دارو از طریق تولید انواع اکسیژن واکنش‌پذیر و نیز آسیب به اندامک‌های درون‌سلولی ازجمله میتوکندری و لیزوزوم‌ها، باعث نقص در عملکرد سلول‌ها شده و به همین دلیل این‌گونه مواد را در رده ترکیبات ژنوتوکسیکوسیتی و سیتوتوکسیکوسیتی طبقه‌بندی می‌کنند (۱۰-۹). عده‌ای از محققین معتقدند که این ماده باعث مهار آنزیم سوپر اکسید دسموتاز شده و به دنبال آن باعث اکسیداسیون پروتئین‌های سیتوپلاسمی می‌شود و با افزایش استرس اکسیداتیو، مرگ سلولی را در بافت‌ها، القا می‌کند (۱۱). گرچه مکانیسم مربوط به تأثیر مت آمفتامین چندان مشخص نیست، ولی گزارش‌ها حاکی از آن است که این‌گونه ترکیبات، دستگاه تولیدمثل را تحت تأثیر قرار داده و مصرف طولانی‌مدت 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 اندام‌های تناسلی جنس نر، باعث صدمه به DNA اسپرم، ادم بافت بیضه و کاهش درحرکت اسپرم شده و افراد را به سمت ناباروری سوق می‌دهند (۸، ۱۲). نتایج به‌دست‌آمده در مورد بررسی اثرات مت آمفتامین بر تکوین بیضه در موش‌های صحرایی نابالغ نیز نشان داد که مصرف مکرر مت آمفتامین حتی در غلظت‌های پایین از طریق اثر بر محور هیپوفیز- گناد و عوامل مختلف دخیل در اسپرماتوژنز باعث اختلال در اسپرماتوژنز می‌شود که ممکن است سبب کاهش باروری در جنس نر گردد (۱۳). همچنین در مطالعه‌ای اثر القایی آپوپتوزیس مت آمفتامین در لوله‌های اسپرم‌ساز به اثبات رسیده است (۱۴). پژوهش‌های تقوی و همکاران نیز حاکی از آن است که حتی مصرف یک‌بار مت آمفتامین به‌ویژه با غلظت بالا، می-تواند باعث تغییر نسبت تکثیر به آپوپتوزیس در بافت بیضه موش‌های صحرایی نر بالغ که تحت تیمار با آمفتامین قرارگرفته بودند، گردد درنتیجه فرآیند طبیعی اسپرم‌سازی مختل شده که این امر نیز به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر در بروز مشکلات باروری در مردان وابسته به آمفتامین در نظر گرفته می‌شود (۱۵). در پژوهشی صافی و همکاران نیز بیان کردند که تزریق مت آمفتامین حتی در دوزهای پایین، با مکانیسم‌های متعددی نظیر اتصال به رسپتورها و اثر بر محور هیپوفیز-گناد، ناهنجاری‌های مختلفی را در رابطه با افزایش یا کاهش فعالیت تخمدان و اووژنز ایجاد می‌کند که به‌احتمال‌زیاد اختلال در کیفیت تخمک‌گذاری و بلوغ اووسیت‌ها را به همراه دارد (۱۶). عده‌ای هم بامطالعه بر روی موش‌های صحرایی نشان دادند که این‌گونه داروها، آنزیم-های ترانس آمیناز، نیتریک اکسید سینتاز و سطح پراکسید هیدروژن را کاهش داده و با اکسید کردن پروتئین‌ها و آنزیم‌های میتوکندری باعث کاهش تولید انرژی و نهایتاً مرگ سلول‌ها خواهند شد (۱۷).

محور هیپوفیز-گناد یکی از پیچیده‌ترین و فعال‌ترین محورهای فیزیولوژیک بدن موجودات زنده است که نه‌تنها اعمال تولیدمثلی بلکه به‌واسطه سنتز و ترشح آندروژن‌ها، بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژیکی فرد ازجمله تمایز جنسی، بروز صفات ثانویه جنسی و رفتار را نیز کنترل می‌کند. شناخت عواملی که به نحوی بر این محور تأثیر می‌گذارند و راه‌های جلوگیری یا تشدید این اثرات همواره مدنظر محققین مختلف بوده است. با توجه به این‌که ازیک‌طرف مصرف این دارو در بین اقشار مختلف جامعه گسترش وسیع دارد و از طرف دیگر این عقیده در بین مصرف‌کنندگان این قبیل داروها وجود دارد که مصرف تفننی این داروها هیچ‌گونه عوارضی ندارد و تولیدکنندگان و پخش‌کنندگان، برای اغفال جوانان و نوجوانان از چنین حربه‌هایی استفاده می‌کنند؛ لذا در این مطالعه بر آن شدیم که اثر این دارو بر روی تغییرات محور هورمونی هیپوفیز – گناد و بافت بیضه را در موش‌های صحرایی بالغ بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی بر اساس مطالعات قبلی و محاسبات آماری از ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۵±۲۰۰ گرم و سن هشت هفته استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد حیوان خانه با دسترسی کافی به آب و غذا و دمای مناسب ۳±۲۱ درجه سانتی‌گراد و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. لازم به ذکر است

که کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. ازآن‌جهت که ماده مؤثر مورد مصرف در این مطالعه مت آمفتامین 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 به‌صورت 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 پیپت 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 (KA0309 –Abnova-Taiwan)، LH (KA2332 –Abnova-Taiwan) و FSH (KA2330 –Abnova-Taiwan) میزان هورمون‌ها سنجیده شد. علاوه بر این، بافت‌های بیضه نیز خارج و پس از شستشو و خشک‌کردن 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 لیدیگ شناسایی و تعداد آن‌ها در ده برش و در هر برش دو لوله اسپرم‌ساز شمارش گشت. در پایان میانگین تعداد آن‌ها در هر گروه به دست آمد (۱۹). داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون دانکن تجزیه‌وتحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

۱- میانگین غلظت سرمی هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH

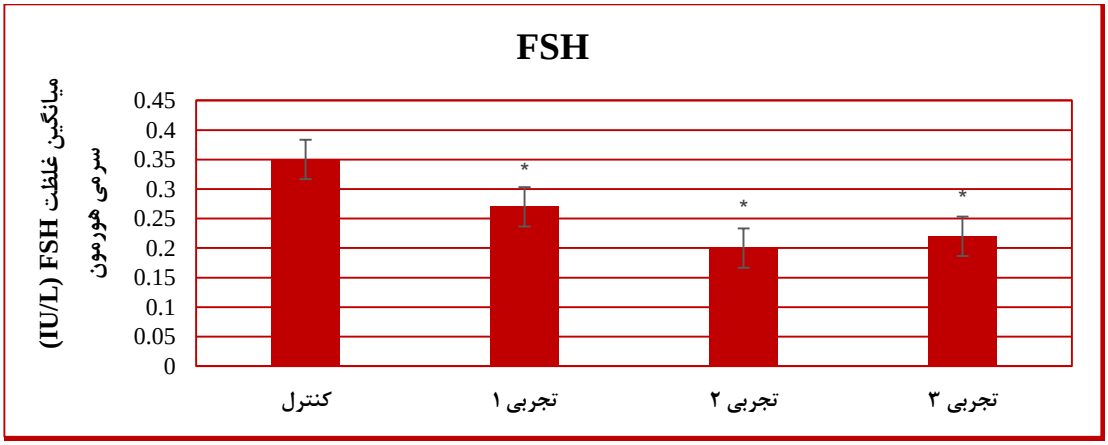
میانگین غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی ۲ (۱/۶۶±۰/۰۶) و ۳ (۱/۸±۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل (۱/۲۲±۰/۰۲) افزایش معنی‌داری را نشان داد (P≤۰/۰۵)؛ اما گروه تجربی ۱ (۱/۳±۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت (نمودار ۱). میزان غلظت پلاسمایی هورمون FSH در گروه دریافت‌کننده غلظت حداقل ۰/۲۷±۰/۰۲، در گروه غلظت متوسط ۰/۲±۰/۰۱ و در گروه غلظت حداکثر ۰/۲۲±۰/۰۱ بوده است که نسبت به گروه کنترل (۰/۳۵±۰/۰۲) کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهند (P≤۰/۰۵) (نمودار ۱). غلظت پلاسمایی هورمون LH در گروه دریافت‌کننده غلظت حداقل ۰/۵۳±۰/۰۴۸، در گروه غلظت متوسط ۰/۴۸±۰/۰۴۹ و در گروه غلظت حداکثر ۰/۴۵±۰/۰۴۶ بوده است که نسبت به گروه کنترل ۰/۶۳±۰/۰۱ کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهند (P≤۰/۰۵) (نمودار ۱).

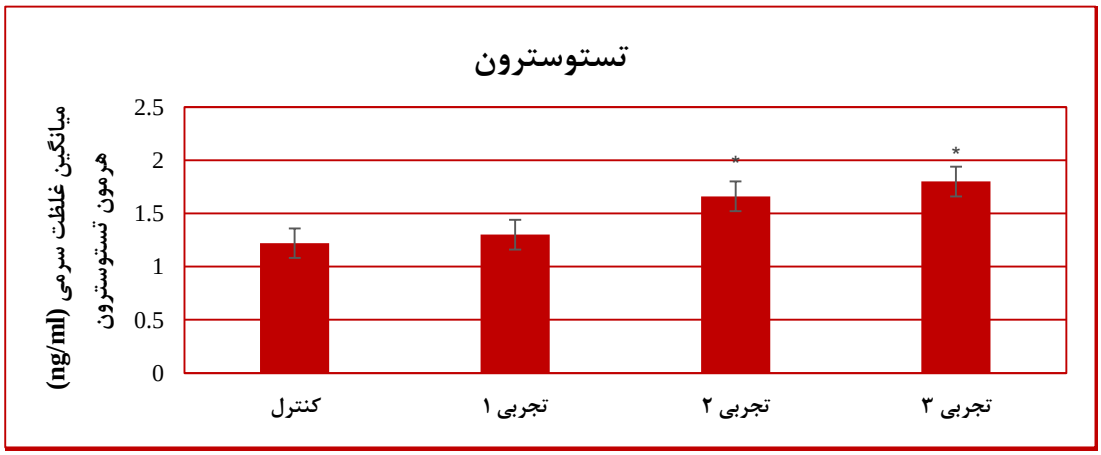
جدول ۱- مقایسه تعداد سلول‌های مختلف (میانگین± انحراف معیار) در بافت بیضه در گروه‌های مختلف (گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ روزانه به ترتیب مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به‌صورت گاواژ دریافت کردند). (*): تفاوت معنی‌داری با همه گروه‌های تجربی در همان ردیف (P≤۰/۰۵).

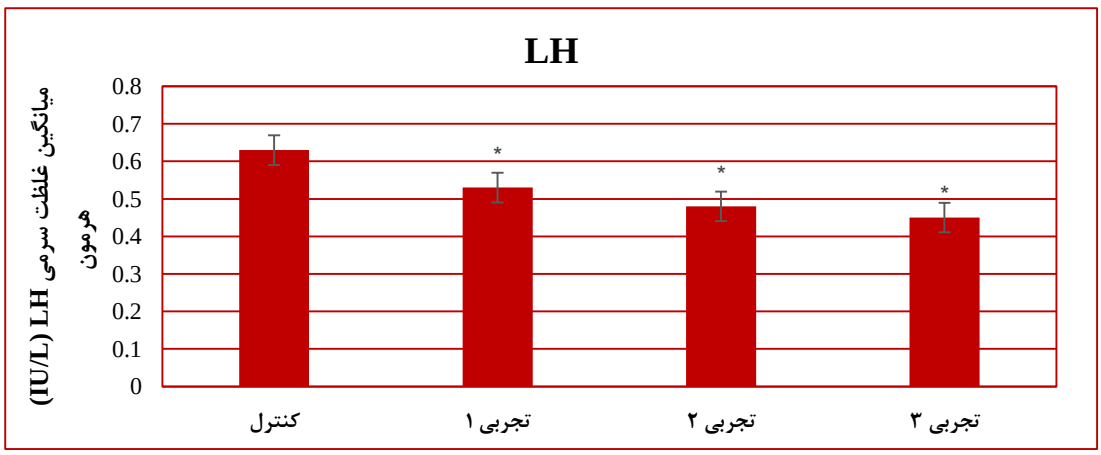
گروه	کنترل	تجربی ۱	تجربی ۲	تجربی ۳
اسپرماتوگونی	*۸۹/۸ ±۳/۳۶	۸۱/۰۰ ±۳/۲۶	۷۹/۰۰ ±۳/۴۶	۷۰/۸ ±۲/۲۳
اسپرماتوسیت	*۱۰۳/۴۰ ±۴/۵۰	۹۸/۰۰ ±۳/۹۸	۹۲/۵ ±۳/۶۵	۸۳/۸۰ ±۳/۴۷
اسپرماتید	*۲۰۵/۴۰ ±۴/۵۱	۱۹۱/۰۰ ±۴/۵۹	۱۸۳/۵۰ ±۴/۷۷	۱۷۹/۸۰ ±۵/۲۳
سرتولی	۲۵/۲۰ ±۲/۹۶	۲۴/۱۶ ±۲/۶۱	۲۴/۵۴ ±۲/۸۷	۲۴/۸۱ ±۲/۳۸
لایدیگ	۱۳/۹۲ ±۰/۹۶	۱۳/۳۲ ±۰/۶۹	۱۲/۷۲ ±۰/۸۷	۱۳/۲۱ ±۰/۶۸

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 معنی‌دار نشان داد. میانگین تعداد سلول‌های سرتولی و لایدیگ در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت (P≤۰/۰۵) (جدول ۱).



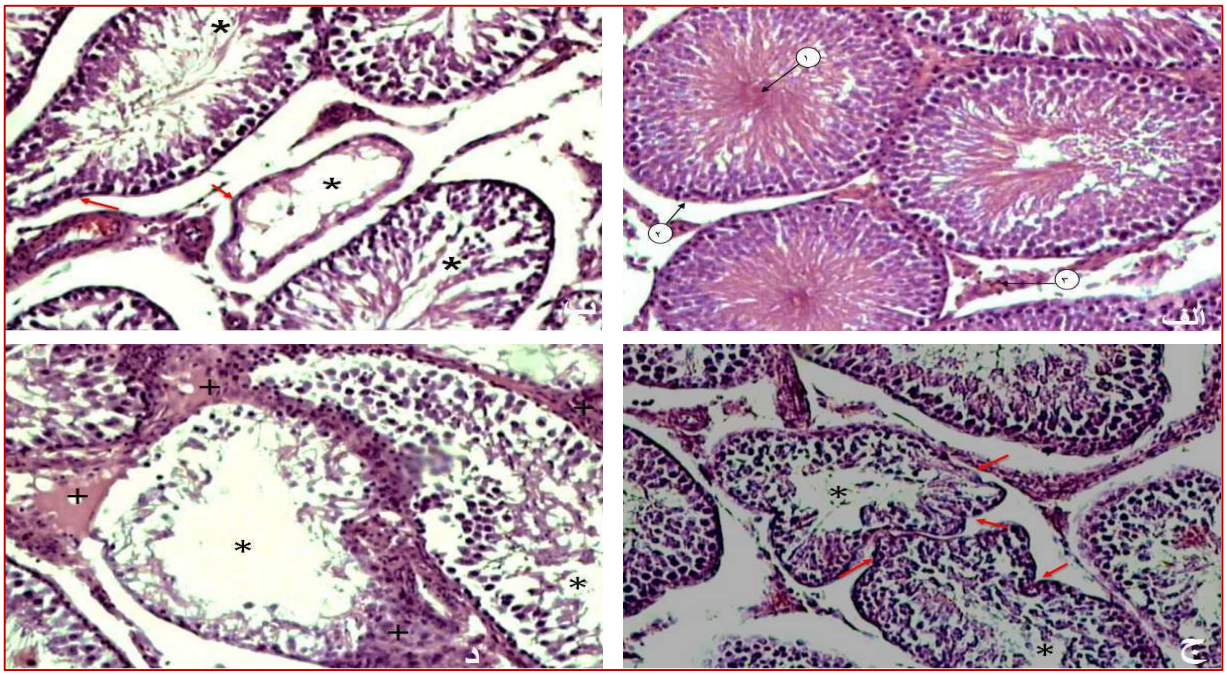




نمودار ۱- میانگین غلظت سرمی هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH در گروه‌های مختلف (گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ روزانه به ترتیب مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به‌صورت گاواژ دریافت کردند). (*): اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (P≤۰/۰۵).

۳- بررسی برش‌های بافتی

با بررسی فتومیکروگراف تهیه‌شده از مقطع عرضی لوله‌های اسپرم‌ساز نتایج زیر به دست آمد: در گروه کنترل تمامی رده‌های دریافت‌کننده غلظت حداکثر به بیشترین مقدار خود رسیده است (شکل ۱).



شکل ۱- فتومیکروگراف نوری لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های مختلف. در گروه کنترل (الف)، لوله‌ها و سلول‌های دودمان جنسی لایه اپی تلیوم ژرمینال به‌صورت منظم قرارگرفته است و هیچ‌گونه تغییر پاتولوژیکی مشاهده نمی‌شود. در گروه تجربی ۱ (ب: دریافت‌کننده ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به‌صورت گاواژ)، چروکیده شدن توبول‌ها (←)، کاهش تعداد سلول‌های زاینده و وجود نقاط خالی داخل توبول‌ها (*) نشان‌دهنده آسیب بافت بیضه است. در گروه تجربی ۲ (ج: دریافت‌کننده ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به‌صورت گاواژ)، چروکیده شدن توبول‌ها (←)، خالی شدن برخی از توبول‌ها (*)، کاهش تعداد سلول‌های دودمان جنسی و ازهم‌گسیختگی اپی تلیوم ژرمینال و وجود نقاط خالی داخل توبول‌ها مشاهده گردید. در گروه تجربی ۳ (د: دریافت‌کننده ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی مت آمفتامین به مدت ۴۵ روز به‌صورت گاواژ)، در این گروه تغییرات بافتی محسوس بود. به‌طوری‌که کاهش معنی‌داری در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و سلول‌های لایدیگ مشاهده شد. از طرفی ازهم‌گسیختگی اپی تلیوم ژرمینال و وجود نقاط خالی زیاد داخل توبول‌ها (*) و در برخی نقاط وجود احتقان پرخونی (+) مشاهده گردید. بزرگنمایی ۱۰۰X رنگ‌آمیزی: هماتوکسیلین- ائوزین. ۱- سلول‌های اسپرماتوزوئید ۲- لایه ژرمینال ۳- سلول‌های لایدیگ در بافت بینابینی.

اسپرماتوژنز شامل اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید به‌خوبی مشخص بوده و هیچ اختلافی ازنظر اندازه، تعداد، ویژگی‌های سیتوپلاسم، هسته و میزان رنگ‌پذیری آن‌ها مشاهده نمی‌شود. فاصله لوله‌های منی ساز از همدیگر کم بوده و بافت بینابینی لوله‌های منی ساز کم بود. عروق خونی موجود در بافت بینابینی هیچ‌گونه پرخونی نشان نمی‌دهند. درحالی‌که در گروه‌های تجربی، تغییرات زیادی ازنظر تعداد سلول‌های مختلف دودمانی، آرایش سلول‌های مختلف، فضاهای ایجادشده در داخل لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های غلظت حداقل، متوسط و حداکثر دارو نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود که البته تغییرات در گروه

بحث

در مطالعه حاضر بررسی بافت‌شناسی بافت بیضه، پیدایش بی‌نظمی در اپیتلیوم زایای بافت بیضه در موش‌های صحرایی مصرف‌کننده 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

است و مشخص‌شده است که اکستازی منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود و استرس اکسیداتیو به علت سنتز مقدار زیاد رادیکال‌های آزاد و یا گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] ایجاد می‌شود (۲۰). مطالعات مورفومتریک و شمارش سلول‌های لوله‌های منی ساز در گروه‌های تجربی، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد که تأثیرگذاری عوارض ناشی از مصرف مت آمفتامین را مورد تأیید قرار می‌دهد. در مقایسه‌ی هیستوپاتولوژیکی ساختار سلولی لوله‌های منی ساز مشاهده گردید که رده‌های سلولی جداری در لوله‌های منی ساز گروه کنترل از تعدد و تنوع بیشتری برخوردار بوده و روند اسپرماتوژنز در این گروه طبیعی است. درحالی‌که در گروه‌های تجربی، کاهش چشمگیری در سلول‌های جنسی در حال تکثیر و تمایز دیده می‌شود. لذا بر اساس کاهش تراکم سلولی در جدار لوله‌های منی ساز این گروه‌ها به نظر می‌رسد که مت آمفتامین توانسته است به‌گونه‌ای بر روند اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد و این پدیده را با مرگ سلولی مواجه نماید. بر اساس چنین فرضیه‌ای احتمالاً قبل از اینکه سلول‌های جداری لوله‌های اسپرم‌ساز در نمونه‌های گروه‌های تجربی از تمایز کافی برخوردار شوند، دچار مرگ سلولی شده و از دست می‌روند.

مطالعات نشان می‌دهند که به دنبال مصرف طولانی‌مدت مت آمفتامین (اکستازی)، آتروفی شدن بیضه‌ها، اختلال در اسپرماتوژنز و کاهش تعداد سلول‌های جنسی مشاهده می‌شود (۸). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده‌شده که مصرف مت آمفتامین منجر به مرگ سلولی در لوله‌های اسپرم‌ساز موش شده است (۱۴). در پژوهشی دیگر نیز آسیب جدی DNA اسپرم، ادم بین بافتی در بیضه‌ها، کاهش مشخص و وابسته به غلظت در تعداد اسپرم‌ها و کاهش قابلیت تحرک آن‌ها در تمامی غلظت‌های مصرفی اکستازی در موش صحرایی گزارش گردید (۲۱). مطالعات نشان می‌دهند که با مصرف مت آمفتامین دمای بدن به‌طور خطرناکی افزایش می‌یابد و گرمای محیط و فعالیت شدید فیزیکی به این افزایش کمک می‌کند (۲۲). پژوهش‌ها بیانگر آن است که هورمون‌های تیروئیدی باعث افزایش دمای بدن می‌شوند و افزایش دمای بدن در حد متوسط باعث القای مرگ سلولی در روند اسپرماتوژنز موش‌های صحرایی و موش‌ها می‌گردد (۱۴، ۲۳). در مطالعات دیگر دیده‌شده است که تیمار با اکستازی منجر به افزایش قابل‌ملاحظه در میزان هورمون‌های تیروئیدی می‌شود و این افزایش احتمالاً روی بافت بیضه اثر گذاشته و منجر به آتروفی شدن بیضه می‌شود (۲۴).

مقایسه غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون نشان می‌دهد که با افزایش غلظت دارو، میزان هورمون تستوسترون نیز افزایش‌یافته است. نتایج این مطالعه باکار پژوهشی که در آن کریستال مت به‌عنوان یکی از مشتقات آمفتامین به‌عنوان تیمار انتخاب‌شده بود هم‌راستا است (۲۵).

در ضمن یافته‌های پژوهشی که در آن اثر ۳ و ۴ دی اکسی مت آمفتامین روی محور هورمونی هیپوفیز-گناد موش صحرایی نر نابالغ موردبررسی قرارگرفته بود نیز در راستای تأیید نتایج این تحقیق است (۲۶). مصرف مواد روان‌گردان نظیر مت آمفتامین و مشتقات آن منجر به آسیب نورون‌های سروتونرژیک و درنتیجه افزایش رهاسازی سروتونین در سیناپس‌های مغزی می‌شوند (۲۸- ۲۶). در مطالعات دیگر مشخص‌شده است که مصرف داروهای مخرب نورون‌های سروتونرژیک (۲۸) و یا مشتقات مت آمفتامینی (۱۴) موجب افزایش غلظت پرولاکتینی می‌شود که این امر نیز افزایش ترشح تستوسترون را به دنبال دارد (۲۱). از مجموع مطالعات انجام‌شده می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً مصرف مت آمفتامین باعث افزایش پرولاکتین و درنتیجه افزایش تستوسترون پس از تیمار با آن شده است. در مطالعه حاضر میزان غلظت پلاسمای هورمون‌های LH و FSH با افزایش غلظت خوراکی مت آمفتامین کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (نمودارهای ۲ و ۳). این یافته‌ها با نتایج مطالعه جمشیدپور و همکاران همخوانی داشته (۲۶) اما با نتایج بررسی‌های علائیان جهرمی و همکاران (۱۸) و همچنین حسامی و همکاران (۸) در تناقض است. در پژوهشی دیگر که در آن بررسی تزریقی اکستازی (MDMA) به‌صورت 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 هورمون‌های مذکور وابسته به غلظت نیست که این نتیجه با یافته‌های تحقیق حاضر در تضاد است چراکه با افزایش غلظت مصرفی مت آمفتامین تغییرات حاصل مشهودتر می‌گردد (۲۹). بر اساس مطالعات انجام‌شده روی مت آمفتامین

1 - Reactive oxygen species

مشخص‌شده 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 مت آمفتامین، 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 5HT2A اثر مهاری روی ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی هیپوفیزی دارد (۳۲)، کاهش سروتونین منجر به افزایش ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی از هیپوفیز می‌گردد؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مت آمفتامین و مشتقات آن با افزایش میزان سروتونین موجب کاهش سطح GnRH گشته و ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی را کاهش می‌دهند. همچنین مواد روان‌گردان نظیر مت آمفتامین‌ها با افزایش غلظت هورمون پرولاکتین منجر به افزایش سطح هورمون تستوسترون می‌گردد و تستوسترون نیز با اثـر بر روی هیپوتـالاموس موجب کـاهش و مهار ترشح GnRH 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 هورمون-های LH و FSH می‌شود. در مطالعه حاضر احتمالاً افزایش پرولاکتین که خود نیز حاصل افزایش سروتونین ناشی از مصرف مت آمفتامین است؛ منجر به کاهش FSH شده است که این کاهش وابسته به غلظت مصرف دارو است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مت آمفتامین‌ها 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. به‌طورکلی نتایج این مطالعه، نشان‌دهنده اثرات تخریبی وابسته به غلظت مت آمفتامین، 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 اجراشده 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.

References

1. Thanos PK, Kim R, Delis F, Ananth M, Chachati G, Rocco MJ, et al. Chronic methamphetamine effects on brain s tructure 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 manifes tations 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, Apos tolopoulos 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-methylenedioxymethamphe- tamine (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. Hypothalamicpituitary- 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 scienes (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-methylenedioxy-methamphetamine (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 A[1], Meshkibaf MH[2*], Makoolati Z[3], Naghdi M[3]

1. Department of Biology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
2. Department of Biochemistry, Faculty of Medicin, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
3. Department of Anatomy, Faculty of Medicin, 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 Medicin, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
Email:meshkibaf2000@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-8912-9040

Journal of Advanced Biomedical Sciences; 10 (2020): 3044-3053