Original Article

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۱۸، شماره ۲، تابستان ۸۷، صفحات ۸۱ تا ۸۴

تأثیر تاموکسیفن بر ساختار هیستولوژیکی بیضه در رت‌های نر بالغ نژاد ویستار

شهربانو عریان[۱]، کاظم پریور[۱]، معصومه اصل روستا[۲]

[۱] *استاد، گروه زیست شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران*
[۲] *دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران*

چکیده

سابقه و هدف: *تاموکسیفن نوعی آنتی‌استروژن غیراستروئیدی است که برای درمان سرطان سینه تجویز می شود. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر تاموکسیفن بر ساختار هیستولوژیکی بیضه در رت‌های نر بالغ نژاد ویستار می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، سه گروه از رت‌ها به مدت ۳۰ روز متوالی به ترتیب ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن تاموکسیفن در حلال (شامل اتانول ۶۰ درصد و سرم فیزیولوژی) دریافت نمودند. گروه شم در این مدت فقط حلال دریافت نموده و گروه شاهد هیچ ماده‌ای دریافت نکرد. در اولین روز پس از پایان این دوره، حیوانات جراحی شده و بیضه آنها برداشته شد و در مایع بوئن تثبیت گردید. برش‌هایی از بیضه با ضخامت ۵ میکرومتر توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی گردید.*

یافته‌ها: *ضخامت تونیکا آلبوژینه در گروه‌های دریافت کننده دارو در مقایسه با گروه شاهد افزایشی را نشان داد. هم‌چنین قطر و ضخامت لوله‌های سمینی‌فر، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی A، اسپرماتوگونی B، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، اسپرم، لایدیگ و سرتولی در گروه‌های دریافت کننده تاموکسیفن در مقایسه با گروه شاهد کاهش چشم‌گیری داشت ($P<0/05$). بیشترین تأثیر تاموکسیفن در گروه دریافت کننده دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم مشاهده شد.*

نتیجه‌گیری: *یافته‌های این مطالعه نشان داد که تاموکسیفن به شیوه وابسته به دوز از طریق تأثیرات منفی بر بیضه، توانایی تولید مثل را در رت‌های نر بالغ نژاد ویستار کاهش می‌دهد.*

واژگان کلیدی: *تاموکسیفن، بیضه، رت.*

مقدمه

تاموکسیفن نوعی آنتی‌استروژن غیراستروئیدی است که از سال‌ها قبل برای درمان سرطان پستان به کار می‌رود (۱). این دارو موجب حفظ تراکم استخوان گردیده و سطوح کلسترول خون را کاهش می‌دهد (۲). مطالعات نشان داده‌اند که اگر مردان مبتلا به ژینکوماستی دردناک، روزانه ۱۰ میلی‌گرم تاموکسیفن را به مدت ۳ ماه متوالی مصرف نمایند، بیماری آنها کاهش می‌یابد (۳). تاموکسیفن در غیاب استروژن‌های اندوژن، فعالیت ضعیف استروژنی نشان داده و در حضور استرادیول نقش آنتی‌استروژنی ایفا می‌نماید (۴). تاموکسیفن می‌تواند موجب بروز آپوپتوزیس در لاکتوتروف‌های هیپوفیز گردد (۵). اگر رت‌های نر و ماده در زمان نوزادی تحت تیمار تاموکسیفن قرار گیرند، رشد و تمایز هسته‌ی دو شکلی جنسی واقع در ناحیه‌ی پراپتیک مغز هر دو جنس مهار شده و منجر به بروز عقیمی و عدم تخمک‌گذاری پایدار در ماده‌ها می‌گردد (۶). مصرف روزانه ۲۰ میلی‌گرم از این دارو به مدت ۶ ماه متوالی توسط مردانی با ضعف جنسی، موجب افزایش تعداد اسپرم انزالی در آنها می‌شود (۷). با توجه به وجود گزارش‌های متناقض در مورد اثرات تاموکسیفن بر دستگاه تناسلی نر، تأثیر مصرف خوراکی دوزهای مختلف تاموکسیفن بر ساختار هیستولوژیکی بیضه در رت‌های نر بالغ نژاد ویستار مورد مطالعه قرار گرفت.

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست شناسی جانوری، شهربانو عریان (**email**:organ_sh@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۶/۲۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۳/۱۲/۱۷

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-07-11]

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، رت‌های نر نژاد ویستار به وزن ۱۵۰-۱۴۰ گرم و سن تقریبی ۱۱ هفته از مؤسسه پاستور خریداری و در قفس‌های مخصوصی که در آنها به راحتی آب و غذا دسترسی داشتند، نگهداری شدند. این حیوانات از ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بهره بردند. رت‌ها به ۵ گروه تقسیم شدند که ۱۲ حیوان در هر گروه قرار داشت: ۳ گروه تجربی که به ترتیب با دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن تاموکسیفن (شرکت دارویی ایران هورمون) در ۰/۴ میلی لیتر حلال (شامل ۰/۰۵ میلی لیتر اتانول ۶۰ درصد و ۰/۳۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی) به مدت ۳۰ روز متوالی گاواژ شدند؛ گروه شم که در این مدت فقط حلال دریافت نمودند و گروه شاهد که هیچ نوع دارو یا حلالی دریافت نکردند.

در پایان این دوره، رت‌ها جراحی شده و بیضه آنها برداشته و در مایع بوئن به مدت ۲۴ ساعت تثبیت گردید. سپس به ترتیب آب‌گیری (با درجات صعودی الکل)، شفاف نمودن نمونه‌ها (توسط تولوئن)، نفوذ پارافین، قالب‌گیری با پارافین و تهیه برش‌های ۵ میکرومتری انجام گرفت. در نهایت نمونه‌ها با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. ضخامت تونیکا آلبوژینه، قطر و ضخامت لوله‌های سمینی‌فر توسط گراتیکول مدرج چشمی اندازه‌گیری شده و شمارش سلول‌های اسپرماتوگونی A، اسپرماتوگونی B، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، اسپرم، سرتولی و لایدیگ توسط گراتیکول مشبک با بزرگ‌نمایی ۱۰۰× انجام گرفت.

اطلاعات در نرم افزار آماری SPSS وارد و با آزمون ANOVA یک طرفه تحلیل شد. $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ضخامت تونیکا آلبوژینه در گروه‌های دریافت‌کننده تاموکسیفن در مقایسه با گروه کنترل افزایشی را نشان داد (جدول ۱). قطر و ضخامت لوله‌های سمینی‌فر در این گروه‌ها کاهش چشم‌گیری داشت. بیشترین تأثیر تاموکسیفن در گروه دریافت کننده دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن مشاهده گردید.

هم‌چنین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی A، اسپرماتوگونی B، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، اسپرم، سرتولی و لایدیگ در گروه‌های دریافت کننده تاموکسیفن کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۲). بیشترین اثر تاموکسیفن بر تعداد سلول‌های مذکور، در گروه دریافت کننده دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن بود.

جدول ۱- تأثیر تاموکسیفن بر ضخامت تونیکا آلبوژینه، قطر و ضخامت لوله های سمینی‌فر

گروه‌های آزمایشی	ضخامت تونیکاآلبوژینه (μm)	قطر سمینی‌فر(μm)	ضخامت سمینی‌فر (μm)
شاهد	۲۳±۱/۰۹*	۲۹۳/۲±۴/۶۰	۸۶/۶۶±۲/۲۴
شم	۲۴/۹۶±۰/۶۵	۲۹۱/۲±۲/۴۷	۸۶/۵±۳/۳۷
گروه تجربی ۱†	۲۶/۰۳±۱/۹۹	۲۷۶/۸±۵/۲۸	۷۷/۳۳±۲/۴۹
گروه تجربی ۲‡	۲۷/۹±۱/۸۹	۲۷۰/۸±۲/۳۰	۶۹/۶۳±۱/۳۱
گروه تجربی ۳§	۲۹/۵±۱/۷۱	۲۶۴/۸±۵/۰۳	۶۵/۱۶±۱/۹۴

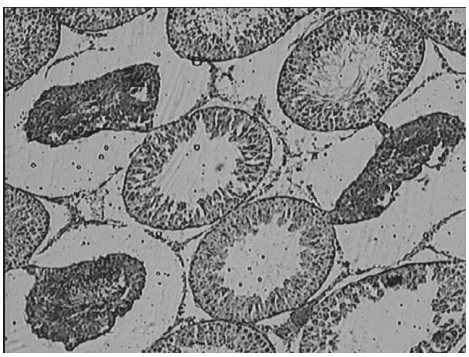
* میانگین ± خطای معیار؛ † دریافت کننده دوز ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن؛ ‡ دریافت کننده دوز ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن؛ § دریافت کننده دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن

همچنین بررسی میکروسکوپی ساختار بیضه گروه دریافت کننده دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلو گرم وزن بدن تاموکسیفن ، وقوع آپوپتوزیس و جمع شدن برخی از لوله‌های سمینی‌فر را نشان داد (شکل ۱)

جدول ۲- تأثیر تاموکسیفن بر تعداد سلول های مختلف بیضه

شمارش سلول ها	کنترل	شم	گروه تجربی ۱†	گروه تجربی ۲‡	گروه تجربی ۳§
اسپرماتوگونی A	۵/۱±۰/۴	۴/۸±۰/۳	۴/۱±۰/۴	۳/۷±۰/۴	۳/۲±۰/۳
اسپرماتوگونی B	۵±۰/۲	۴/۲±۰/۲	۳/۹±۰/۳	۳/۵±۰/۶	۲/۹±۰/۳
اسپرماتوسیت اولیه	۹/۷±۱/۶	۷/۳±۰/۷	۵/۷±۰/۶	۵/۱±۱	۴/۷±۰/۶
اسپرماتید	۲۸/۷±۴/۴	۲۶/۹±۱/۷	۱۷/۹±۱	۱۴/۱±۱/۸	۱۰/۲±۲/۶
اسپرم	۳۵/۷±۲/۵	۳۲/۸±۲/۵	۲۸/۶±۰/۸	۲۶/۱±۱/۶	۲۳/۹±۱/۷
سرتولی	۱/۷±۰/۲	۱/۶±۰/۳	۱/۳±۰/۲	۰/۸±۰/۱	۰/۸±۰/۲
لایدیگ	۲/۱±۰/۳	۱/۵±۰/۳	۱/۲±۰/۳	۱/۱±۰/۳	۰/۷±۰/۲

* میانگین ± خطای معیار؛ † دریافت کننده دوز ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن؛ ‡ دریافت کننده دوز ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن
§ دریافت کننده دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن



[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-07-11]

شکل ۱- برشی از بیضه گروه دریافت کننده تاموکسیفن با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن (بزرگ نمایی ۵۰۰×).
آپوپتوزیس در لوله های سمینی فر و جمع شدن برخی از لوله‌ها مشاهده می‌شود.

بحث

بر اساس مطالعات انجام شده، اگر رت‌های نوزاد نر به مدت ۱۸ روز متوالی تحت تیمار تاموکسیفن با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن قرار گیرند ، وزن بیضه‌ی آنها نسبت به گروه شاهد کاهش چشم‌گیری را نشان خواهد داد (۸). مصرف خوراکی تاموکسیفن توسط رت‌های نر بالغ موجب از بین رفتن جنین در پیش و پس از لانه‌گزینی می‌گردد و علت این امر کاهش اندروژن‌ها یا بلوکه شدن گیرنده‌های استروژنی می‌باشد (۹). تیمار دوزهای ۴۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن در رت‌های بالغ به مدت ۵۰ روز متوالی موجب کاهش جمعیت سلول های لایدیگ، اسپرماتید و اسپرم می‌گردد (۱۰). هم‌چنین مصرف خوراکی تاموکسیفن با دوز ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۲۰ روز متوالی موجب کاهش وزن بیضه، اپی‌دیدیم، پروستات و سمینال وزیکول و هم‌چنین کاهش مقادیر LH و تستوسترون سرم می‌گردد (۱۱). تزریق درون بیضه‌ای تاموکسیفن در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به رت‌های بالغ نژاد ویستار به صورت یک روز در میان به مدت ۱۵ روز، موجب افزایش چشم‌گیری در تعداد اسپرماتوگونی A شده و غلظت تستوسترون را افزایش می‌دهد (۱۲). از طرفی تیمار دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن تاموکسیفن (همراه با روغن زیتون) به مدت ۱۰ روز متوالی در رت‌های بالغ، به صورت وابسته به دوز، موجب تخریب ساختار لوله‌های سمینی‌فر می‌گردد و تعداد سلول‌های دارای هسته‌های غول پیکر در این حیوانات افزایش می‌یابد (۱۳). اگر اسپرم‌های خارپوست دریایی در محیطی حاوی تاموکسیفن قرار گیرند، توانایی لقاح آنها کاهش یافته و اثرات سیتوژنتیک در زادگان حاصل از لقاح این اسپرم‌ها مشاهده می‌گردد (۱۴). در مطالعه‌ای، تیمار دوزهای مختلف تاموکسیفن در جوجه خروس‌های White leghorn به مدت ۲ هفته نشان داد که دوزهای پایین تاموکسیفن موجب بزرگتر بودن بیضه‌ها و تعداد بیشتر اسپرم انزالی نسبت به گروه شاهد می‌شود، در حالی که مصرف دوزهای بالاتر این دارو تأثیر کاملا عکس را بر حجم بیضه و تعداد اسپرم انزالی القا می‌کند (۱۵).

از یافته‌های این مطالعه و تحقیقات پیشین نتیجه‌گیری می‌شود که تاموکسیفن در دوزهای بالا، اثرات مخربی بر ساختار بافتی بیضه داشته و به صورت وابسته به دوز می‌تواند موجب تغییرات بافتی در این اندام گردیده و فرایند اسپرماتوژنز را مهار نماید. به علاوه موجب بروز آپوپتوزیس در لوله‌های سمینی‌فر می‌گردد. به این ترتیب تمامی سلول‌های دخیل در اسپرماتوژنز کاهش می‌یابند و نکته آخر اینکه تاموکسیفن به صورت وابسته به دوز توانایی تولید مثل را در نرهای بالغ کاهش می‌دهد.

REFERENCES

1. Jensen EV, Jordan VC. The estrogen receptor: a model for molecular medicine. Clin Cancer Res 2003;9:1980-89.
2. Lerner LJ, Jordan VC. The development of antiestrogens for the treatment of breast cancer. Cancer Res 1990;50:4177-89.
3. Hanavadi S, Banerjee D, Monypenny IJ, Mansel RE. The role of tamoxifen in the management of gynaecomastia. Breast 2006;15:276-80.
4. Smith CL, O'Malley BW. Coregulator function: a key to understanding tissue specificity of selective receptor modulators. Endocr Rev 2004;25:45-71.
5. Aoki Mdel P, Orgnero E, Aoki A, Maldonado CA. Apoptotic cell death of oestrogen activated lactotrophs induced by tamoxifen. Tissue Cell. 2003;35:143-52.
6. Dohler KD, Srivastava SS, Shryne JE, Jarzab B, Sipos A, Gorski RA. Differentiation of the sexually dimorphic nucleus in the preoptic area of the rat brain is inhibited by postnatal treatment with an estrogen antagonist. Neuroendocrinology. 1984;38:297-301.
7. Traub AI, Thompson W.. The effect of tamoxifen on spermatogenesis in subfertile men. Andrologia 1981;13:486-90.
8. Fisher JS, Turner KJ, Brown D, Sharpe RM.. Effect of neonatal exposure to estrogenic compounds on development of the excurrent ducts of the rat testis through puberty to adulthood. Environ Health Perspect 1999;107:397-405.
9. Balasinor N, Gill-Sharma MK, Parte P, D'Souza S, Kedia N, Juneja HS. Effect of paternal administration of an antiestrogen, tamoxifen on embryo development in rats. Mol Cell Endocrinol 2002;190:159-66.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-07-11]

10. Gopalkrishnan K, Gill-Sharma MK, Balasinor N, Padwal V, D'Souza S, Parte P, et al. Tamoxifen-induced light and electron microscopic changes in the rat testicular morphology and serum hormonal profile of reproductive hormones. Contraception 1998;57:261-69.

11. Gill-Sharma MK, Balasinor N, Parte P. Effect of intermittent treatment with tamoxifen on reproduction in male rats. Asian J Androl 2001;3:115-19.

12. Salata IM, Slowikowska-Hilczer J, Kula K. Influence of intratesticular injections of tamoxifen on spermatogenesis and testosterone secretion in the rat. Ginecol Pol 1994;65:63-66.

13. D'Souza UJ. Tamoxifen induced multinucleated cells (symplasts) and distortion of seminiferous tubules in rat testis. Asian J Androl 2003;5:217-20.

14. Pagano G, Biase A, Deeva IB, Degan P, Doronin YK, Iaccarino M, et al. The role of oxidative stress in developmental and reproductive toxicity of tamoxifen. Life Sci 2001;68:1735-49.

15. Rozenbiom I, Dgany O, Robinzon B, Arnon E, Snapir N. The effect of tamoxifen on the reproductive traits in White Leghorn cockerels. Pharmacol Biochem Behav. 1989;32:377-81.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-07-11]