

بررسی اثر کلرپرومازین بر عملکرد جنسی و تولید مثلی رت ماده

زهرا زمانی^{۱*}، صمد زارع^۱، رجبعلی صدرخانلو^۱، عباس احمدی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

^۲ گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

چکیده

سابقه و هدف: آنتی‌سایکوتیک‌ها داروهایی هستند که در درمان شیذوفرنی و دیگر بیماری‌های روانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. گزارشاتی در مورد اثرات جانبی منفی بر سیستم تولید مثلی در نتیجه مصرف این داروها وجود دارد. کلرپرومازین آنتی‌سایکوتیکی است که استفاده گسترده‌ای در درمان شیذوفرنی دارد. در این مطالعه، اثر داروی آنتی‌سایکوتیک کلرپرومازین بر عملکرد تولید مثلی رت ماده بررسی شد.

روش بررسی: این تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. ۳۲ سر رت ماده نژاد ویستار به ۴ گروه تقسیم شدند. یک گروه به عنوان کنترل شام مقدار ۵ mg/kg محلول ۰/۵٪ متیل سلولوز را دریافت کرد. در گروه‌های تیمار رت‌های ماده، کلرپرومازین را به صورت خوراکی (گلاواژ) در دوزهای ۳ mg/kg، ۱۰، ۳۰ به طور روزانه به مدت ۲۸ روز دریافت کردند. ترکیب آزمایش به صورت انحلال در محلول ۰/۵٪ متیل سلولوز تهیه شد. در روز ۲۹ همه رت‌ها توسط گاز دی‌اکسیدکربن آسان‌کشی شدند. مطالعات بافت شناسی روی غدد پستانی و واژن انجام شده و مقادیر پرولاکتین سرمی و پتانسیل باروری حیوانات اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: رت‌های ماده تیمار شده با کلرپرومازین افزایش مشخصی در غلظت پرولاکتین سرم در دوزهای بالا نشان دادند ($p < 0/05$)، همچنین کلرپرومازین تغییرات بافتی در غدد پستانی و واژن در دوزهای بالا ایجاد کرد ($p < 0/05$)، $p < 0/01$). همچنین کلرپرومازین موجب کاهش میزان باروری در رت‌های ماده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل، این نظریه را که کلرپرومازین اثرات منفی بر پارامترهای باروری در رت ماده دارد را تایید می‌کند.

واژگان کلیدی: کلرپرومازین، پرولاکتین، باروری، رت.

مقدمه

در حال حاضر فنوتیازین‌ها نماینده گروهی از داروهای آنتی‌سایکوتیک هستند که به عنوان داروهای موثر و بی‌خطر برای درمان این بیماری و موارد مشابه به طور گسترده‌ای تجویز می‌شوند. این داروها توانایی بلوکه‌کردن رسپتورهای D_2 دوپامین را دارند. به نظر می‌رسد که عملکرد فنوتیازین‌ها به عنوان داروهای آنتی‌سایکوتیک، بر روی نورون‌های دوپامینرژیک سیستم مزولیمبیک، که با نشانه‌های روانی در ارتباط است، صورت می‌گیرد (۱).

علی‌رغم شواهد فراوان در مورد سودمندی و سلامتی این داروها، برخی گزارشات اثرات جانبی منفی مثل تغییرات در عملکرد اندوکراین و اثرات نامناسب روی سیستم قلبی عروقی و

شیذوفرنی یکی از بیماری‌های روانی است که معمولاً در اوایل سنین جوانی بروز می‌کند و موجب ناتوانی طولانی مدت در فرد مبتلا می‌شود. داروهای آنتی‌سایکوتیک که اغلب باید در کل زندگی فرد مصرف شوند، اساس درمان بیماران مبتلا به شیذوفرنی هستند.

آدرس نویسنده مسئول: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، زهرا زمانی

(e-mail: zahrazamani1363@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۵/۱۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۲/۲۰

سیکل جنسی نرمال در رت (استروس، دی استروس ۱، دی استروس ۲ و پرواستروس) معمولاً ۴ روز طول می‌کشد (۶). حیوانات مورد آزمایش به صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. یک گروه به عنوان کنترل ششم حلال دارو (محلول ۰/۵٪ متیل سلولوز) را به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (۷) دریافت کرد. پودر کلرپرومازین با دوزهای ۳، ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوآژ به رت‌های ماده به مدت ۲۸ روز (۴ هفته) داده شد. در طول دوره تیمار اسمیر واژینال برای همه رت‌ها به طور روزانه گرفته می‌شد. در روز ۲۹ (یک روز پس از آخرین تجویز دارو) رت‌ها توسط بیهوشی با گاز دی‌اکسید کربن (CO₂) آسان‌کشی شدند و نمونه‌های خونی برای آنالیزهای بیوشیمیایی گرفته شدند. برای اندازه‌گیری هورمون پرولاکتین از کیت موشی پرولاکتین (ELISA Kit) استفاده شد.

در همه حیوانات، غدد پستانی و واژن در محلول فرمالین ۱۰٪ خنثی قرار داده شد و پس از مراحل ثبوت و پاساژ در پارافین قالب‌گیری شد و بوسیله برش‌های پارافینی (ضخامت ۵ میکرون) و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوژین برای بررسی میکروسکوپی آماده شدند. جهت بررسی اثر دارو بر میزان باروری موش‌های ماده، بعد از گذشت ۲۰ روز از شروع تجویز دارو، از هر گروه ۴ موش به طور تصادفی انتخاب شده و هر موش ماده با ۱ موش نر جوان و بالغ که باروری آنها قبلاً آزمایش شده بود، به مدت ۷ روز هم‌جوار گردید. هم‌جواری موش‌ها در بعدازظهر انجام شد و صبح روز بعد، واژن موش‌های ماده مشاهده گردید که در صورت وجود پلاک واژنی، اسمیر واژینال از آن تهیه و در زیر میکروسکوپ بررسی شد تا از وجود یا فقدان اسپرم در گسترش تهیه شده اطمینان حاصل شود. روز مشاهده اسپرم در نمونه‌ها، روز صفر بارداری محسوب شد. موش‌های ماده تا پایان دوره بارداری در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. حدود ۲۳-۲۱ روز بعد، نوزادها متولد شده و زاده‌ها بررسی شدند. در طول دوره هم‌جواری تجویز دارو ادامه داشت.

یافته‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تحلیل قرار گرفتند. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان و مقادیر $p < 0/05$ ، $p < 0/01$ از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی شدند. جهت ارزیابی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از تست تعقیبی Tukey استفاده شد.

سیستم‌های تولید مثلی در نتیجه مصرف فنوتیازین‌ها وجود دارد. امروزه توجه زیادی به اثرات جانبی آنتی‌سایکوتیک‌ها در بیماران درمان شده با این داروها شده است. در بیماران مبتلا به شیذوفرنی نتایج بالینی این اثرات جانبی می‌تواند درمان‌های دارویی بیماران شیذوفرنی را که با آنتی‌سایکوتیک‌ها درمان می‌شوند پیشرفت دهد (۲).

گزارشات زیادی وجود دارد که داروهای آنتی‌سایکوتیک رسپتورهای D₂ دوپامین را روی سلول‌های لاکتوتروف در غده آدنوهیپوفیز بلوکه کرده و اثر مهارکننده روی ترشح پرولاکتین را برطرف می‌سازند (۳). مشاهدات بالینی نشان داده که انواع این داروها اثرات متفاوتی بر میزان ترشح پرولاکتین داشته‌اند (۴). کلرپرومازین مهم‌ترین ترکیب در گروه مشتقات فنوتیازین‌ها است. این ماده استفاده گسترده‌ای به عنوان کنترل‌کننده هیجان، بی‌قراری و دیگر اختلالات روانی حرکتی در بیماران مبتلا به شیذوفرنی دارد. همچنین در درمان مراحل پیش‌فعالی و پرخاشگری و گاهی در دیگر شرایط روانی برای کنترل اضطراب مصرف می‌شود (۵).

با توجه به استفاده گسترده این دارو و نیز علی‌رغم اینکه اکثر استفاده‌کنندگان آن در سنین باروری هستند توجه کمی به اثرات نامطلوب این دارو در میزان باروری بیماران شده است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر داروی کلرپرومازین توسط افزایش میزان پرولاکتین سرم بر پارامترهای باروری انجام شد.

مواد و روشها

این تحقیق تجربی روی ۳۲ رت انجام گرفت. رت‌ها از نژاد ویستار ۸ هفته‌ای در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه در شرایط استاندارد با درجه حرارت کنترل شده 24 ± 2 درجه سانتی-گراد، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی 55 ± 15 ٪ پرورش و نگهداری شدند. در طول تیمار، حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. شرایط پرورش برای تمام حیوانات یکسان بود. پیش از شروع تیمار، اسمیر واژنی به طور روزانه گرفته می‌شد و تنها رت‌هایی که سیکل جنسی منظمی را نشان می‌دادند برای این مطالعه انتخاب می‌شدند. سیکل جنسی توسط اسمیر واژنی که در ساعات اولیه روز گرفته می‌شد و توسط آنالیز نمونه گرفته شده توسط میکروسکوپ نوری میزان سلول‌های لوکوسیت، اپیتلیال و سلول‌های شاخی شده مشخص شد و تغییرات در طول سیکل جنسی ثبت شد.

یافته‌ها

اثر بر توان باروری

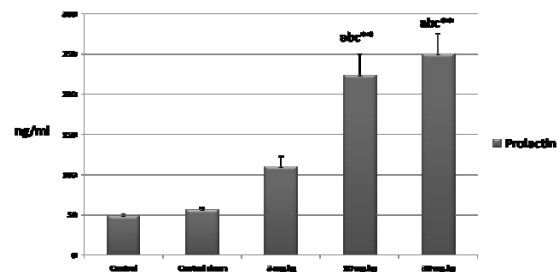
در بررسی سیکل جنسی توسط اسمیر واژینال اختلال در سیکل جنسی به صورت باقی ماندن در مرحله دی‌استروس در دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دیده شد. در مطالعات باروری کاهش در جفت‌گیری در دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاملاً مشخص بود. در طول ۷ روز مجاورت با رت نر، تنها در ۲ مورد در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن جفت‌گیری انجام شد که هیچ‌یک منجر به بارداری نشد. در جدول ۱ شاخص بر باروری بر حسب دوزهای کلرپرومازین آمده است.

جدول ۱- شاخص بر باروری بر حسب دوزهای کلرپرومازین (تعداد نمونه هر گروه ۸ راس)

کنترل شم	۳mg/kg	۱۰mg/kg	۳۰mg/kg
۰	۱	۵	۷
۱۰۰ (%)	۷۵	۰	۰

تغییرات سطح خونی هورمون پرولاکتین

بررسی هورمونی نشان داد که در موش‌های تیمار شده با کلرپرومازین، میزان هورمون پرولاکتین افزایش یافته بود و این افزایش از نظر آماری در دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با کنترل معنی‌دار بود ($p < 0.05$). (نمودار ۱).

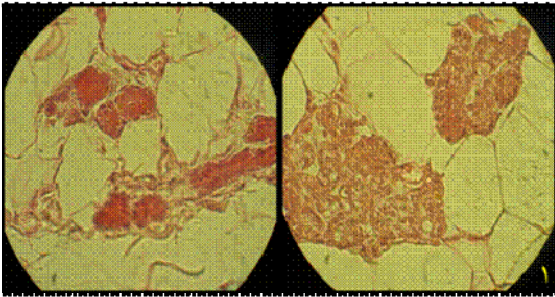


نمودار ۱- میزان پرولاکتین در گروه‌های مورد مطالعه. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

اثر بر اندام‌های جنسی

در بررسی ارگان‌های تولیدمثلی انتخاب شده، در غدد پستانی، هایپرپلازی در آلوئول‌ها در ۳ و ۴ حیوان به ترتیب در دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دیده شد. همچنین

موکوسی شدن واژن در دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاملاً مشخص بود (شکل ۱).



شکل ۱- سمت راست: هایپرپلازی در آلوئول‌های غدد پستانی در گروه دریافت کننده ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن. سمت چپ: آلوئول در غدد پستانی در گروه کنترل (درشت نمایی $\times 400$).

بحث

در این تحقیق نشان داده شده که درمان با داروی کلرپرومازین به عنوان داروی آنتی‌سایکوتیکی که مصرف بالایی در درمان بیماری شیزوفرنی دارد، سبب اختلال در عملکرد تولید مثلی از جمله سیکل جنسی نامنظم و کاهش در میزان باروری در رت ماده می‌شود.

با توجه به مطالعات انجام شده روی انواع داروهای آنتی‌سایکوتیک، این داروها با توانایی بلوکه کردن رسپتورهای D_2 در مناطق غیر مزولیمبیک موجب کاهش اثر مهاری دوپامین می‌شوند. دوپامین به عنوان مهم‌ترین فاکتور تنظیم‌کننده ترشح پرولاکتین توسط سلول‌های لاکتوتروف در غده آدنوهیپوفیز است و با کاهش اثر مهاری آن افزایش پرولاکتین سرم ایجاد می‌شود (۸،۹). این اثرات در انواع مختلف این داروها متفاوت است (۱۰). در این مطالعه، کلرپرومازین افزایش مشخصی در میزان پرولاکتین در بالا را نشان داد (نمودار ۱). این اثر به علت عملکرد پرولاکتین در غدد پستانی، در نتایج بافت‌شناسی غدد پستانی با ایجاد هایپرپلازی آلوئول‌ها در رت‌های تیمار شده مشهود است (شکل ۱) (۷).

اختلالات ایجاد شده در سیکل جنسی و باروری را می‌توان به افزایش پرولاکتین نسبت داد (جدول ۱)، زیرا هایپرپرولاکتینمی با حفظ جسم زرد در جوندگان توسط فعالیت لوتئوتروپیک پرولاکتین سبب ایجاد حاملگی کاذب و پایداری فاز دی‌استروس می‌شود (۱۱). نتایجی که در اسمیر واژنی روزانه رت‌های مورد آزمایش به دست آمد تایید کننده باقی ماندن رت‌های تیمار شده با کلرپرومازین در فاز

بالغ و القا اختلال در سیکل جنسی، اختلال در تولید مثل نرمل و باروری در ماده‌ها می‌شود (۱۷). در پستانداران ماده، هورمون FSH رشد فولیکولی را القا می‌کند و متعاقباً استرادیول توسط سلول‌های گرانولوزای موجود در فولیکول رشد یافته ترشح می‌شود (۱۹، ۱۸). با توجه به عملکرد این دو هورمون می‌توان اختلالات ایجاد شده در عملکرد تولید مثلی را در رت‌های تیمار شده توجیه نمود.

این نتایج نشان می‌دهد که داروی آنتی‌سایکوتیک کلرپرومازین علاوه بر خاصیت درمانی در بیماری‌های روانی دارای اثر جانبی در افزایش سطح پرولاکتین پلاسما می‌باشد و ایجاد هایپرپرولاکتینمی است. حیوانات مبتلا به هایپرپرولاکتینمی غالباً به علت بروز اختلالات هورمونی وارد فاز دی‌استروس از سیکل جنسی شده و در این سیکل می‌مانند که می‌تواند به علت ایجاد نقص در سیستم هیپوفیزی - تخمدانی باشد.

با توجه به نتایج حاصل لازم به نظر می‌رسد که توجه بیشتری به میزان تجویز این دارو شود و یا از دیگر انواع داروهای آنتی‌سایکوتیک که احتمال ایجاد خطر کمتری برای بیمارانی که در سنین تولیدمثل هستند استفاده شود، زیرا اختلالات تولید مثلی در افراد بیمار موجب افزودن مشکلات روحی جدید در این بیماران خواهد شد.

دی‌استروس که نشانه خوبی در مورد عدم تخمک گذاری موفق و نیز دلیلی برای عدم پذیرش جنس ماده برای جفت گیری و بارداری است، را نشان می‌دهد (۱۲). افزایش حالت موکوسی واژن نیز در نتیجه حفظ جسم زرد و تولید پروژسترون از جسم زرد فعال می‌باشد. پروژسترون تولید شده از جسم زرد موجب تحریک سلول‌های استوانه‌ای بلند در لایه‌های سطحی اپیتلیوم واژن می‌شود که در رت‌های تیمار شده دیده شد (۲).

پرولاکتین یکی از عوامل تنظیم کننده محور هیپوتالاموسی - هیپوفیزی - گنادی است. هایپرپرولاکتینمی موجب کاهش ترشح ضربانی هورمون لوتئینی (LH) و به میزان کمتر هورمون محرک فولیکولی (FSH) می‌شود (۱۳). در غیاب ترشح ضربانی این دو هورمون هیپوگنادیسم (کاهش استرادیول) و در نتیجه آن اختلال در عملکرد جنسی ایجاد می‌شود (۱۴).

LH ترشح هورمون‌های جنسی را از گنادها تحریک می‌کند. در ماده‌ها تخمک‌گذاری فولیکول‌های بالغ در تخمدان توسط افزایش LH در دوره قبل از تخمک‌گذاری تحریک می‌شود (۱۶، ۱۵). هر ماده‌ای که بتواند مانع افزایش ناگهانی این هورمون شود، موجب عدم تحریک تخمک‌گذاری فولیکول‌های

REFERENCES

- Kapur S, Mamo D. Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27: 1081-90.
- Kunimatsu T, Kimura J, Funabashi H, Inoue T, Seki T. The antipsychotics haloperidol and chlorpromazine increase bone metabolism and induce osteopenia in female rats. *Regul Toxicol Pharmacol* 2010; 58: 360-60.
- Wieck A, Haddad PM. Antipsychotic-induced hyperprolactinaemia in women: pathophysiology, severity and consequences. Selective literature review. *Br J Psychiatry* 2003; 182: 199-204.
- Ruth A, William M. Neuroleptic-induced hyperprolactinemia. *Schizophrenia Research* 1999; 35: 75-86.
- Orellana JA, Palacios-Prado N, Sáez JC. Chlorpromazine reduces the intercellular communication via gap junctions in mammalian cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 213: 187-97.
- Rehm S, Stanislaus DJ, Wier PJ. Identification of drug-induced hyperor hypoprolactinemia in the female rat based on general and reproductive toxicity study parameters. *Birth Defects Research (Part B)* 2007; 80: 253-57.
- Lucas JN, Rudmann DG, Credille KM, Irizarry AR, Peter A, Snyder PW. The rat mammary gland: morphologic changes as an indicator of systemic hormonal perturbations induced by xenobiotics. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 199-207.
- Haddad PM, Wieck A. Antipsychotic-induced hyperprolactinaemia: mechanisms, clinical features and management. *Drugs* 2004; 64: 2291-314.
- Byerly M, Suppes T, Tran QV, Baker RA. Clinical implications of antipsychotic-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia spectrum or bipolar spectrum disorders: recent developments and current perspectives. *J Clin Psychopharmacol* 2007; 27: 639-61.
- Atmaca M, Kuloglu M, Tezcan E, Canatan H, Gecici O. Quetiapine is not associated with increase in prolactin secretion in contrast to haloperidol. *Arch Med Res* 2002; 33: 562-65.
- Hapon MB, Simoncini M, Via G, Jahn GA. Effect of hypothyroidism on hormone profiles in virgin, pregnant and lactating rats, and on lactation. *Reproduction* 2003; 126: 371-82.

12. Fell MJ, Neil JC, Marshall KM. Effects of the classical antipsychotic haloperidol and atypical antipsychotic risperidone on weight gain, the estrous cycle and uterine weight in female rats. *Eur. Neuropsychopharmacol* 2004; 14: 385-92.
13. Murray FT, Cameron DF, Ketchum C. Return of gonadal function in men with prolactin-secreting pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59: 79-85.
14. Dickson R, Seeman M, Corenblum B. Hormonal side effects in women: typical versus atypical antipsychotic treatment. *J Clin Psychiatry* 2000; 61: S10-15.
15. Gallo RV. Pulsatile LH release during the ovulatory surge on proestrous in the rat. *Biol Reprod* 1981; 24: 100-104.
16. Hashimoto I, Isomoto N, Eto M, Kawaminami M, Sunazuka C, Ueki N. Preovulatory secretion of progesterone, luteinizing hormone and prolactin in 4-day and 5-day cycling rats. *Biol Reprod* 1987; 36: 599-605.
17. Benie T, Duval J, Thieulant ML. Effects of some traditional plant extracts on rat oestrous cycle compared with clomid. *Phytother Res* 2003; 17: 748-55.
18. Hsu CT, Ting CY, Ting CJ, Chen TY, Lin CP, Whang-Peng J, et al. Vaccination against gonadotropin-releasing hormone (GnRH) using toxin receptor-binding domain-conjugated GnRH repeats. *Cancer Res* 2000; 60: 3701-705.
19. Ferro VA, Costa R, Carter KC, Harvey MJ, Waterston MM, Mullen AB, et al. Immune responses to a GnRH-based anti-fertility immunogen, induced by different adjuvants and subsequent effect on vaccine efficacy. *Vaccine* 2004; 22: 1024-31.