

بررسی اثرات کلومیفن و تاموکسیفن سیترات بر اویداکت در وزغ ماده *Bufo Viridis*

دکتر کاظم پریور - دکتر پروین رستمی - مریم رحیم زاده خوشرو

گروه زیست شناسی - دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت معلم تهران و آزاد اسلامی واحد شمال تهران

چکیده:

فعالیت تولید مثلی در دوزیستان ماده، در محیط مناسب با رشد لوله اویداکت و تغییرات بافتی در آن همراه است. در این کار تحقیقاتی اثرات دو ماده کلومیفن سیترات و تاموکسیفن سیترات بر روی اویداکت در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است. این ترکیبات در دوزیستان در دوز بالا بصورت آگونیست با استروژن و در دوز پائین بعنوان آنتاگونیست استروژن (آنتی استروژن) در سطح رسپتورهای استروژنی بافتهای حساس نظیر اویداکت، هیپوتالاموس، هیپوفیز و کبد عمل می‌کند. کلیه آزمایشها بر روی وزغهای ماده بالغ با وزن متوسط ۵۰ گرم و در ۶ گروه که در هر گروه پنج حیوان قرار داشت صورت گرفت. کلومیفن بصورت محلول در رینگردوزیستان در دو دوز 0.14 mg/kg (۱۴ میکروگرم بر حسب هر گرم وزن بدن 14 mg/gr.B.Wg) و 0.28 mg/kg (۲۸ میکروگرم بر حسب هر گرم وزن بدن 28 mg/gr.B.Wg) به گروههای تجربی و همزمان هم حجم آن رینگردوزیست به گروه شاهد به طریق داخل صفاقی تزریق شد. تاموکسیفن نیز با دوزهای مشابه به حیوانات تجربی و شاهد تزریق گردید اما بدلیل آنکه تاموکسیفن در آب بسیار کم محلول است ابتدا این ماده در ۱۰۰ الکل اتیلیک ۹۰٪ حل و سپس با کمک رینگردوزیست حجم آن به ۱۰۰ رسید (نسبت ۱ به ۱۰) و به حیوانات تجربی تزریق شد. به گروه شاهد نیز هم حجم گروه تجربی رینگردوزیست تزریق گردید. دو گروه شاهد موجود در آزمایشها هیچگونه

اختلافی با یکدیگر نشان ندادند بعبارتی در این سطح الكل هیچگونه آسیب بافتی یا عدم تحملی را در حیوان بوجود نمی‌آورد. دوره آزمایش ۶ هفته با دوبار تزریق در هفته بود. بنابر این مقدار كل ماده‌ای که هر وزغ تجربی پس از پایان مدت آزمایش دریافت می‌کرد به ترتیب ۸ میلی‌گرم (mg total) و $1/5$ میلی‌گرم بود (mg total) و $1/5$ (mg total) مطالعه اثر ترکیبات فوق بر روی لوله اویداکت نشان می‌دهد که اولاً دو دارو مشابه هم اثر می‌کنند و ثانیاً دوز ۸ میلی‌گرم با $p < 0.05$ موجب افزایش وزن، قطر كل، ضخامت جداره و قطر لومن در اویداکت می‌شود و همچنین سلولهای اپیتلیومی مخاط اویداکت رشد کرده و سلولهای مژکدار و ترشحي آن متمایز می‌شوند. در حالیکه در دوز $1/5$ میلی‌گرم با $p < 0.05$ کاهش اندازه‌های اویداکت بوجود آمده و سلولهای اپیتلیومی تحلیل رفته و متمایز نیستند. نتایج بدست آمده از مطالعات ماکروسکوپی، بافت شناسی و آماری نشان می‌دهد که:

- ۱- دوز ۸ میلی‌گرم از تاموکسیفن و کلومیفن سیترات بصورت آگونیست و دوز $1/5$ میلی‌گرم بصورت آنتاگونیست استروژن در وزغ ماده *Bufo viridis* عمل می‌کند.
- ۲- بافت اویداکت در هنگام شروع دوره تولید مثلی به ترکیبات استروژنی حساس بوده و کلومیفن و تاموکسیفن سیترات در این زمان در دوز ۸ میلی‌گرم بصورت آگونیست با استروژن‌ها عمل می‌کنند و موجب رشد و افزایش ابعاد

اوبداکت می شوند در حالیکه در دوز ۱/۵ میلی گرم اثرات آنتی استروژنی داشته و موجب کاهش رشد و نمو اوبداکت می شوند.

مقدمه:

سالیان متمادی است که مطالعات مربوط به چگونگی فعالیت سیستم تولید مثلی و تأثیرات محیط به این سیستم در موجودات زنده بخصوص مهره داران آغاز گردیده است. مسائل گوناگونی در زمینه مذکور وجود داشته است. در این میان دوزیستان همواره به عنوان یک مدل آزمایشگاهی مطرح بوده اند بر حسب تنوع دوزیستان رفتار تولید مثلی آنها نیز متنوع می باشد اگر چه در اصل الگوی کنترل رفتاری یکسانی دارند. در این موجودات نیز مانند سایر مهره داران بدیده تولید مثل تحت کنترل عوامل داخلی اعم از سیستم هورمونی و یا سیستم عصبی می باشد که شرایط محیطی مانند روشنایی و حرارت و رطوبت هوا از طریق کمپلکس غده پینه آل و چشمها و با تأثیر بر مراکز بالاتر مغزی در تولید مثل دخالت دارند و اثرات خود را در سطح محور هیپوتالاموس هیپوفیز بخصوص هیپوفیز قدامی اعمال می کنند (Rastogi, 1975).

در این کار تحقیقاتی از وزغ گونه *Bufo viridis* که بومی ایران می باشد استفاده گردیده است. خانواده *Bufo* (Toads) می باشند که در مناطق مختلف جغرافیایی بخصوص مناطق حاره و گرمسیر یافت می شوند. محدوده زیستی آنها متغیر بوده و در ارتفاعات و یا در اراضی هم سطح دریا زندگی می کنند. این جانوران با دارا بودن غدد پاراتوئید در طرفین سر، فقدان بادکش در نوک انگشتان، بهن بودن زواید عرضی مهره های خاجی (sacral) فقدان دندان در آرواره ها و عدم وجود پیش جناغ از سایر دوزیستان مجزا شده اند. گونه *Bufo viridis* یا وزغ سبز یکی از معمول ترین وزغ های ایران است (بلوچ، کمی حاج قلی، ۱۳۷۰).

در اوبداکت این حیوان سیکل سالانه ای دیده می شود، به این صورت که پس از تخمک گذاری وزن اوبداکت ناگهان کاهش می یابد و به آرامی در طی فصول بعدی افزایش می یابد.

در حیواناتی که اواریکتومی شده اند آتروفیه شدن اوبداکت دیده می شود در حالیکه استروژن اگزوزن باعث ترمیم اوبداکت می شود. فعالیت های ترشحی در غده های داخلی اوبداکت در طی تخمک گذاری موجب تشکیل لایه های ژله ای دور تخمک می شود (Redshaw, 1972). وجود این لایه های ژله ای علاوه بر نقش حفاظتی و تغذیه ای جنین برای انجام لقاح موفق ضروری می باشد بطوریکه در *Bufo Japonicus* چهار لایه ژله ای تشخیص داده شده اند که با برداشتن حتی ۲ لایه آن لقاح به سختی صورت می گیرد. عمل این لایه های ژله ای نگاهداشتن تعداد زیادی اسپرم به دور تخمک می باشد که موجب بالا رفتن ظرفیت واکنش های آکروزومی اسپرم با تخمک می شود. وجود یونهای Ca^{2+} و Mg^{2+} در ساختمان ژله ای برای لقاح ضروری است (Omata, 1993).

آنتی استروژنها:

بشر به منظور به کنترل در آوردن زاد و ولد و تکثیر از ابتدا به دنبال مواد سنتتیک می گشت که بتواند بدین منظور از آنها استفاده نماید. توجه به ترکیبات ضد استروژن حاصل نیاز روز افزون به مواد ضد باروری بوده است و هم اکنون از این داروها برای جلوگیری از اوولاسیون استفاده می شود. اما در بعضی موارد از جمله در مورد انسان با کمال تعجب مشاهده شده است که آنها باعث القاء تخمک گذاری می گردند. آزمایشها نشان داده است که این داروها در دوزهای پائین در بیشتر موارد در حیوانات حالت آنتی استروژنی و در دوزهای بالاتر اثر استروژنی دارد و یا یک دوز ممکن است در دو محیط مختلف اثرات متفاوتی نشان دهد (Roy, 1992).

دو ترکیب غیر استرادیولی از سری های تری فیل اتیلن که در مهره داران پست و عالی استفاده می گردد، کلومیفن و تاموکسیفن سترات می باشد. اثرات آنتی استروژنها بر روی ماهیها، دوزیستان، خزندگان و پرندگان نیز مطالعه و مشخص شده که نتایج مشابه پستانداران بدست می آید و آنها قابلیت باز دارندگی استروژنها را در سطح بافتهای حساس دارا می باشند. (Rastogi, 1975) این داروها بهترین مواد برای

آنتی استروژن عمل می‌کند (Iela, 1975). در دوز آنتی استروژنی تاموکسیفن، و سیپرترون استات (آنتی آندروژن) اثرات خود را در این حیوان بصورت مهار کننده‌های رقابتی در سطح رسپتورهای استروئیدی در اندامهای هدف مانند اویداکت اعمال می‌کنند و در سطح هیپوفیز بر روی سلولهای بازوفیل اثر کرده و منجر به ترشح گنادو تروپین‌ها می‌گردد. (Rastogi, 1971).

تاموکسیفن بر روی تمساح Alligator موجب بلوکه کردن اثر استرادیول بر روی هیپرتروپی اویداکت می‌شود و اویداکت تحلیل می‌رود و همچنین از سنتز و ترشح ویتلوژنین یا زرده توسط سلولهای کبدی جلوگیری می‌کند (Lance, 1991).

ابزارها، مواد و روش‌های اجرایی:

آکواریوم‌های شیشه‌ای به ابعاد ۶۰×۳۰×۲۵ تهیه و سوراخهای کوچکی به قطر ۵ میلی‌متر در دیواره عرضی آنها به منظور عبور شیلنگ‌های نازک و قابل انعطاف تعبیه شده بود. از طریق این شیلنگ‌ها جریان آرام و بطنی آب به داخل آکواریوم‌ها وارد و مواد زائد از طریق شیلنگ دیگری که در دیواره عرضی مقابل قرار داشت خارج می‌شد شیلنگ‌ها به شیر اصلی متصل بودند که با مخلوط کردن آب گرم و سرد دمای آن ثابت ۲۰°C باقی می‌ماند. از آنجائیکه وزغها حیواناتی بسیار تحریک‌پذیر می‌باشند داخل آکواریوم سنگ‌های مناسب، خزه و جلبک به گونه‌ای قرار داده شد که حیوان در هنگام ترس خود را پنهان نماید و شرایط زیستی تا حد زیادی مشابه به محیط طبیعی زندگی آنها گردد. در بالای هر دو آکواریوم یک لامپ ۱۰۰ وات قرار داده شد و با کمک تایمر بصورت مصنوعی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تأمین می‌شد. دمای آزمایشگاه در حد ۱۹-۲۳°C ثابت نگهداشته می‌شد. و زغهای ماده و نر در فصل بهار و تابستان در سه نوبت تهیه و پس از حمل به آزمایشگاه به مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند تا به شرایط محیطی عادت نمایند و همچنین حیوانات بیمار مشخص و از بقیه جدا شدند تا موجب آلودگی آکواریوم‌ها نگردند. سپس

مطالعات اثرات آگونیستی و آنتاگونیستی در سطح رسپتورهای استروژنی می‌باشد.

کلومیفن Clomiphene:

یک ترکیب تری - آریل اتیلن غیر استروئیدی با اثرات توأم استروژنی و آنتی استروژنی می‌باشد فرمول شیمیایی آن $C_{26}H_{28}Cl.No.C_8H_8O_7$ اتان آمین ۲- [۴- ۲ کلرو، ۲- دی فیل اتیل] فنوکسی | N-N دی اتیل ۲ هیدروکسی - ۱، ۲، ۳ پروپان تری کربوکسیلات (۱:۱) می‌باشد.

تاموکسیفن Tamoxifen:

یک آنتی استروژن غیر استروئیدی بوده که بطور رقابتی از اتصال استرادیول به رسپتورهای استروژنی پلاسما جلوگیری می‌کند. فرمول شیمیایی تاموکسیفن سیترات $C_{26}H_{29}.NO.C_8H_8O_7$ (Z) ۲- (۴- ۱، ۲- دی فیل بوت - ۱- نیل) فنوکسی | N- دی متیل اتیل آمین منوسیترات می‌باشد. این ترکیب یک داروی غیر استروئیدی، آنتی استروژنیک است که دارای اثرات ضعیف استروژنی نیز می‌باشد. براساس گونه حیوان، نوع ارگان گیرنده، تاموکسیفن می‌تواند اثرات آگونیستی و یا آنتاگونیستی با استروژن داشته باشد. (Patterson, 1981).

اثرات آنتاگونیستی آن در سطح هیپوتالاموس و غده هیپوفیز مشخص شده است و این نشان می‌دهد که این ترکیب قادر است از سد خونی - مغزی عبور کند (Patterson, 1981). آزمایشها نشان داده است که آنتی استروژنها در پینه شست قورباغه و اویداکت نقش متوقف کننده اثرات تستوسترون و 17β - استرادیول را داراست (Rastogi, 1975). اثرات کلومیفن سیترات بر روی پارامترهای خونی در Bufo melanosticus مشخص کرد که تحت اثر دوز کم این ماده (۱ میلی گرم) گنادوتروپین‌ها افزایش و تحت اثر دوز (۳-۴ میلی گرم) کاهش می‌یابند.

اثر تاموکسیفن در Rana esculenta نشان می‌دهد که این ماده در دوزهای بالا مانند استروژن و در دوزهای پائین مانند

حیوانات به گروه‌های آزمایشی و شاهد تقسیم و در هر گروه ۵ وزغ ماده و به همین تعداد وزغ نر قرار داده شد و جود وزغ نر در کنار ماده به منظور تحریک کردن آنها به رفتار در برگیری و ایجاد محیط طبیعی ضرورت داشت. حیوانات هر سه روز در میان در فصل زمستان با جگر و در فصول دیگر بوسیله حشرات و کرم خاکی تغذیه می‌شدند. و به هر آکواریوم در هفته یکبار آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین به مقدار کم برای جلوگیری از رشد باکتریها و قارچها اضافه می‌شد و در ضمن با مراقبت روزانه احتمالاً اگر حیوان مرده یا بیماری وجود داشت از بقیه جدا می‌شد تا موجب صدمه و آسیب به سایر وزغهای آکواریوم نگردد. از رینگر دوزیستان به تنهایی در مورد داروی کلومیفن و یا به همراه الکل اتیلیک (به نسبت 10^{-4} الکل در مقابل 10^{-4} محلول) در مورد داروی تاموکسیفن استفاده شد. بعنوان محلول شاهد نیز برای تزریق به گروه کنترل از رینگر دوزیستان استفاده شد.

محلول‌های تزریقی در دو دوز مختلف برای هر دو دارو تهیه می‌شد دوز اول 0.7 میلی‌گرم و یا به عبارتی 14 mg/gr.B.wg و دوز دوم 0.1 میلی‌گرم و یا 2 mg/gr.B.wg بود طول دوره آزمایشی ۶ هفته با دوبار تزریق در هر هفته و تزریقات بطریق داخل صفاتی (I.P) صورت می‌گرفت. در گروه دریافت‌کننده داروها با دوز 0.7 میلی‌گرم پس از طی دوره آزمایش مقدار کل دوز دریافتی هر وزغ ۸ میلی‌گرم ($8 \text{ mg total dose/Bufo}$) و در مورد گروه دریافت‌کننده 0.1 میلی‌گرم، $1/5$ میلی‌گرم ($1/5 \text{ mg to}$) بود. در طی آزمایشها ۴۸ ساعت پس از خاتمه آخرین تزریق اویداکت‌ها خارج می‌گردید و با ترازوی حساس با دقت هزارم گرم وزن شده و جهت مطالعات هیستولوژیکی آماده می‌شدند به این ترتیب که اویداکت‌ها پس از شستشو در رینگر دوزیست به فیکاتیو DMSO و یا بوئن آبی منتقل شده و به مدت ۱۹ ساعت در آنها قرار می‌گرفتند سپس توسط درجات صعودی اتانول آبگیری شده و پس از قرار گرفتن در تولوئن (به منظور شفاف شدن) به حمام‌های پارافین منتقل و قالب گیری می‌شدند. سپس مقاطع

میکروسکوپی با ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید و به روش مایر با همتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی گردید. از هر گروه ۲۵ لام تهیه و در هر لام ۴ میدان دید بصورت تصادفی انتخاب و شمارش‌های مورد لزوم صورت می‌گرفت سپس محاسبات آماری داده‌های تجربیات صورت گرفته و به کمک نرم افزارهای مناسب و در نظر گرفتن شاخصهای آماری میانگین حسابی، انحراف معیار، آنالیز واریانس یک عاملی با تکرار صورت گرفته و به کمک کامپیوتر مقدار p (p.Value) محاسبه شد، مقدار p بدست آمده اگر کمتر از 0.05 باشد اختلاف معنادار و در غیر این صورت معنادار نیست در مواردی که اختلاف معنادار میان گروهها وجود داشت به منظور مقایسه گروهها با یکدیگر آزمون دامنه (multiple range test) انجام پذیرفت.

نتایج:

بررسی نتایج ماکروسکوپی در مورد اویداکت:

در دو گروه شاهد موجود در آزمایشها (گروه دریافت‌کننده رینگر دوزیست و گروه دریافت‌کننده الکل اتیلیک به همراه الکل) هیچگونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد به عبارتی الکل اتیلیک به همراه رینگر به نسبت ۱ به ۱۰ هیچگونه آسیب بافتی و عدم تحمل را در این حیوان بوجود نمی‌آورد. ۴۸ ساعت پس از اتمام تزریقات ابتدا حیوانات با ترازو وزن و سپس تشریح شده و پس از خارج نمودن اویداکت، اویداکت نیز با ترازوی حساس بر حسب هزارم گرم وزن شدند و برای هر حیوان شاخص (ایندکس) وزن اویداکت بر حسب 100 گرم وزن بدن محاسبه شد ($100 \times \text{وزن اویداکت}$). نتایج نشان می‌دهد که $p=0.000$ کلومیفن و تاموکسیفن در دوز 8 میلی‌گرم موجب افزایش وزن اویداکت نسبت به شاهد شده در حالی که دوز $1/5$ میلی‌گرم موجب کاهش وزن اویداکت شده است (جداول ۱ و ۲ هیستوگرام ۱)

بررسی نتایج میکروسکوپی بافت اویداکت:

مطالعه بافت اویداکت شامل بررسی قطر کل، ضخامت جداره، قطر لومن و تغییرات سلولهای اپیتلیوم مخاطی تحت

استروژنی بسیار حساس می‌باشد (Rastogi, 1975) در این زمان اثر داروهای آنتی‌استروژنی تاموکسیفن و کلومیفن سترات بر روی اویداکت وزغ ماده گونه *Bufo viridis* بررسی گردید. با توجه به جداول آنالیز واریانس مشخص می‌شود که تحت تأثیر دو داروی فوق در دوز ۸ میلی‌گرم افزایش وزن اویداکت بوجود آمده است در حالیکه در دوز ۱/۵ میلی‌گرم کاهش وزن اویداکت در سطح معناداری $p=0/000$ به چشم می‌خورد. بررسیهای بافتی نشان می‌دهد که در دوز ۸ میلی‌گرم قطر کل لوله اویداکت و ضخامت جداره لوله اویداکت و قطر لومن نیز افزایش یافته و بافت اپیتلیوم مخاطی رشد کرده است و سلولهای آن مشخص و واضح هستند در حالیکه در دوز ۱/۵ میلی‌گرم کاهش موارد فوق مشاهده می‌شود بین دو داروی کلومیفن و تاموکسیفن اختلاف معنادار مشاهده نمی‌شود. از آنجا که ثابت شده است استروژن اگزوزن موجب رشد اویداکت می‌گردد (Rastogi, 1975). بنابراین، این دو ترکیب در دوز ۸ میلی‌گرم اثر مشابه با استروژن نشان داده و با اثر ترسپتورهای بافت اویداکت موجب رشد اویداکت شده‌اند در حالیکه در دوز ۱/۵ میلی‌گرم در سطح رسپتورهای بافت اویداکت اثر آنتاگونیستی استروژن داشته که با جلوگیری اثر استروژن، از رشد اویداکت جلوگیری کرده است و اویداکت حالت آتروفیه پیدا کرده است.

این نتایج مشابه اثر تاموکسیفن بر روی اویداکت در قورباغه *Rana esculenta* می‌باشد تاموکسیفن در دوز بالا دارای اثرات استروژنی بوده و موجب رشد اویداکت در این حیوان گردید در حالیکه در دوز پایین دارای اثرات آنتی‌استروژنی بوده و باعث بلوکه کردن رشد اویداکت شده و اثر آن مشابه اواریکتومی در حیوان بود (Jela, 1975).

Rastogi در سال ۱۹۷۵ نیز اثر آنتی‌استروژن (تاموکسیفن در دوز کم) و آنتی‌آندروژن (سپیرترون استات) را بر روی ماهیها، دوزیستان و خزندگان و پرندگان مطالعه کرد و متوجه شد که این ترکیبات دارای قابلیت بازدارندگی تستوسترون و استرادیول در سطح بافتهای حساس می‌باشند و همچنین نشان داد که در مارمولک *Lacerta sicula* تاموکسیفن در دوز آنتی

اثر دارو بود. این بررسیها نشان می‌دهد که تاموکسیفن و کلومیفن در دوز ۸ میلی‌گرم موجب افزایش ارتفاع سلولهای اپیتلیومی مخاط می‌شود، سلولهای مژکدار (ciliated cells) بزرگتر و کاملاً مشخص گردیده و سلولهای ترشحی غده‌ای (gland cells) بطور واضح دیده می‌شوند (تصاویر ۱ و ۲ و ۳) و آستر مخاط (sub mucosa) هیپرتروفی پیدا کرده است. در حالیکه در دوز ۱/۵ میلی‌گرم از کلومیفن و تاموکسیفن سلولهای اپیتلیومی مخاط رشد کمی داشته و نامشخص می‌باشند و آستر مخاط رشد کمی دارد. (تصویر ۴). در دوز ۸mg از کلومیفن و تاموکسیفن قطر لومن (حفره اویداکت) افزایش یافته و ضخامت جداره و قطر کل افزایش نشان می‌دهد (تصاویر ۵ و ۶ و ۷) در حالیکه در دوز ۱/۵ میلی‌گرم ضخامت آستر مخاط کاهش یافته و قطر جداره و لومن و قطر کل اویداکت نیز کم شده است (تصویر ۸) (جداول ۳ الی ۸ هیستوگرام ۲ و ۳ و ۴).

بحث و تفسیر:

دستگاه تولید مثلی شامل اویداکت و تخمدانها در دوزیستانی که فقط یک بار در سال تخم ریزی انجام می‌دهند از جمله یوفویریذیس دارای تغییرات فصلی می‌باشند. رشد اویداکت و تغییرات آن در دوره مشخصی از سیکل جنسی وزغ ماده در کنار تغییرات تخمدان صورت می‌گیرد و این امر بعنوان صفات ثانویه جنسی در وزغ ماده مطرح می‌باشد و در او رودلها و آنوراها بررسی تخمک گذاری بدون بررسی تغییرات اویداکت میسر نمی‌باشد زیرا این عضو در ایجاد لایه‌های زله‌ای به دور تخمک که لقاح را میسر می‌سازد دخالت دارد و به نحوی در کامل شدن تخمک‌ها عمل می‌کند. اویداکت نیز دارای یک سیکل سالانه است (Rastogi, 1975) که تحت کنترل هورمونهای هیپوفیزی صورت می‌گیرد به این صورت که تحت تأثیر هورمونهای هیپوفیزی از سلولهای فولیکولی پروژسترون ترشح می‌شود که این پروژسترون در القاء سلولهای ترشحی در غده‌های اویداکت دخالت دارد از آنجائیکه پس از تخمک گذاری در وزغها اویداکت تحلیل رفته و سپس شروع به ترمیم و ساخته شدن مجدد می‌کند در این مرحله به ترکیبات

ایران، دانشکده علوم - دانشگاه تهران - رساله برای دریافت درجه لیسانس.

(۲) وادمکوم ۲- ایران هورمون، ۱۳۷۲، شرکت ایران هورمون

REFERENCES:

- 1) Iela, I. (1975): Biological activity of some steroidal compounds in the adult and larval frogs. *Steroids*, 26(5), 663-669
- 2) Lance, V (1991): Tamoxifen sex reverses, alligator embryos at male producing temperature but is a antiestrogen in female hatchlings. *Experientia*, 47(3), 263-266
- 3) Omata, S (1993): Relative roles of jelly layers in successful fertilization of *Bufo Japonicus*. *The Journal of experimental Zoology*, 265, 329, 335
- 4) Patterson, J(1981): clinical aspects and development of antiestrogen therapy: A reveiw of the endocrine effects of Tamoxifen in animals and man, *J. Endocr.* 84, 67-75
- 5) Rastogi, R(1976): seasonal cycle in annuran (amphibian) testis: the endocrine and environmental controls, *Bull Zool*, 43, 151-172
- 6) Rastogi R (1971): Effects of antiestrogen and antiandrogen in amphibian, *Hormones and antagonists*, Gynce Insect, 2, 271-275
- 7) Rastogi, R (1975): the effects of antiandrogens and antiestrogens in non mammalian Vertebrates, *General and comparative endocrinology*, 26, 79-91
- 8) Redshaw, M (1972): The hormonal control of the amphibian ovary, *Am. zoology*, 12, 289-306
- 9) Roy, s (1992): Early developmental studies with clomiphene citrate, their subsequent validation and extension, *Indian Journal of experimental biology*, 30 November, 931-946

استروژنی دارای اثرات بازدارندگی در رشد اویداکت می‌باشد. همچنین او با بررسی اثرات تاموکسیفن (آنتی استروژن در دوز ۱ میلی‌گرم) و سیپروترون استات در قورباغه نر و ماده نشان داد که این مواد اثرات خود را بصورت مهار کننده‌های رقابتی در سطح رستورهای استروئیدی در اندامهای هدف مانند اویداکت و پینه شست اعمال می‌نمایند و در سطح غده هیپوفیز بطور غیر مستقیم از طریق هیپوتالاموس بر سلولهای باز و فیل اثر کرده و منجر به ترشح گناد و تروپین‌ها می‌گردد. (Rastogi, 1971).

تاموکسیفن بر روی تمساح Alligator موجب بلوکه کردن اثر استرادیول بر هیپوتروفی شدن اویداکت می‌شود و اویداکت تحلیل می‌رود و همچنین از ستر و ترشح ویتلوزین یا زرده توسط سلولهای کبدی جلوگیری می‌کند. (Lance, 1991) مکانیسم عمل بازدارنده این ترکیبات در جلوگیری از رشد اویداکت بواسطه مهار رقابتی استروژن در سطوح رستورهای پروتئینی داخل سلولهاست که می‌تواند از ورود استروژن به داخل سلول جلوگیری کند و باعث سرعت بخشیدن به پاک سازی آن در سطح سلولهاست (Roy, 1992) در حقیقت کمپلکس گیرنده‌های پروتئینی داخل سلولی به همراه استروژن به جایگاه خاصی از رشته DNA متصل شده و موجب فعال شدن ژن معینی می‌گردد. و mRNA را ستر و با فعال کردن ستر پروتئین‌ها منجر به تغییرات داخل سلولی می‌شوند و آنتی استروژنها با رقابت با ترکیبات استروئیدی برای اتصال به گیرنده‌های پروتئینی داخل سلولی از اثرات آنها جلوگیری می‌کند. اختلاف پاسخ بافتهای مختلف و گونه‌های مختلف موجودات به این داروها در حقیقت به گیرنده‌های سلولی آنها بستگی دارد. (Roy, 1992).

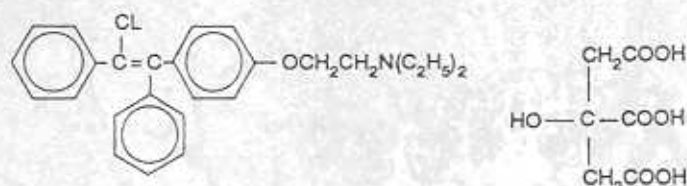
منابع فارسی:

- ۱) کمتی حاجی قلی، بلوچ محمد، ۱۳۷۰ بیوسستماتیک دوزیستان ترکمن صحرا و دشت گرگان. مروری بر سایر دوزیستان

کلومیفن سیترات

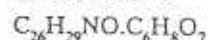


اتان‌آمین، ۲-[۴-(۲-کلرو-۱-۲-دی‌فنیل‌اتیل) فنوکسی]-N،N-دی‌اتیل-،
۲-هیدروکسی-۳،۲،۱-پروپان تری‌کربوکسیلات (۱:۱)

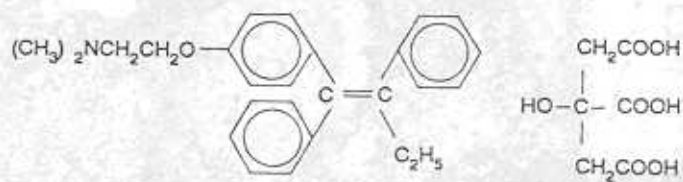


تصویر A: فرمول گسترده کلومیفن (وادمکوم ۲-ایران هورمون - شرکت ایران هورمون، ۱۳۷۲) این دارو از مشتقات فنانتروهاست و آنالوگ مصنوعی استروژن غیر استروئیدی کلروتریانیزن می‌باشد و از نظر ساختمان شیمیایی مشابه استیل بسترول است.

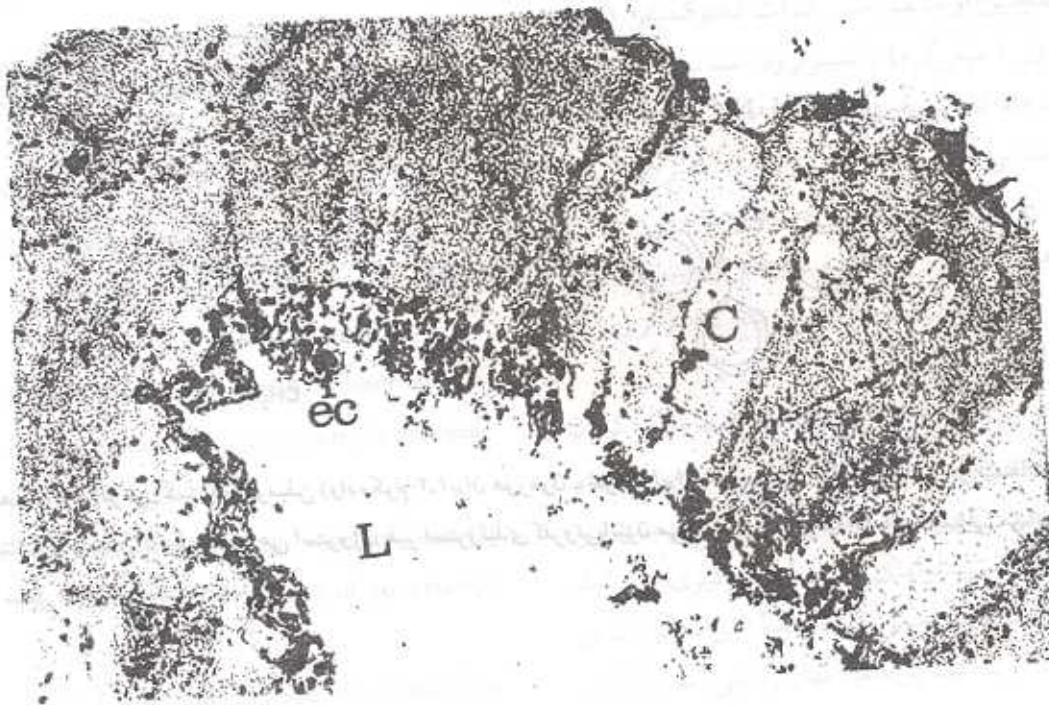
تاموکسیفن سیترات



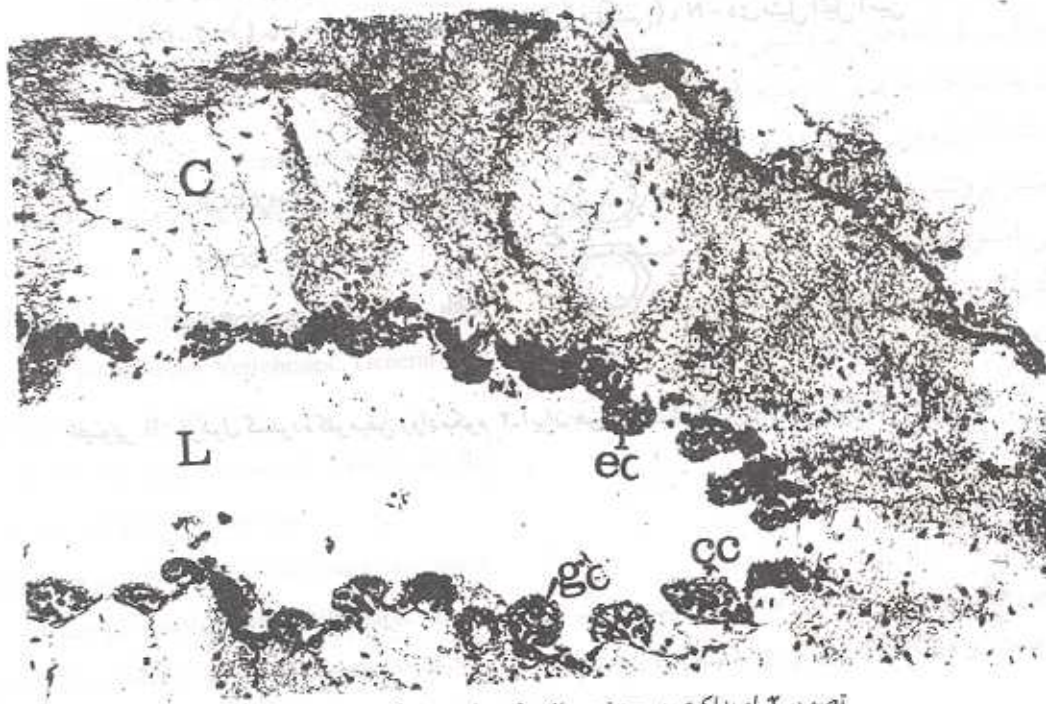
(Z)-۲-(۴-(۲-۱-فنیل بوت-۱-انیل) فنوکسی)-N،N-دی‌متیل‌اتیل آمین
منوسیترات.



تصویر B: فرمول گسترده کلومیفن (وادمکوم ۲-ایران هورمون - شرکت ایران هورمون، ۱۳۷۲)



تصویر ۱: اویداکت دروزغ ماده دریافت کننده ۸ میلی گرم کلومیفن.
بزرگنمایی ۵۰۰x سلولهای اپیتلیالی (ec) بزرگ و کاملاً مشخص می باشد و لومن (L) بزرگ بوده و آستر مخاط (C) رشد یافته است.

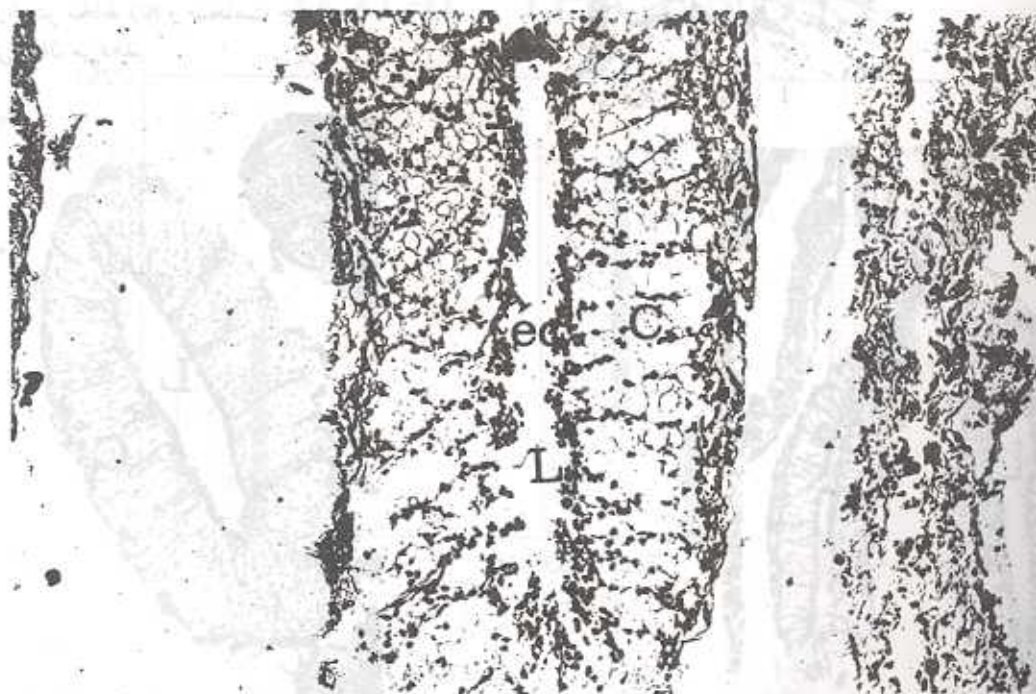


تصویر ۲: اویداکت دروزغ دریافت کننده ۸ میلی گرم تاموکسیفن.
بزرگنمایی ۵۰۰x سلولهای اپیتلیالی (ec) بزرگتر و کاملاً مشخص می باشد و لومن (L) بزرگ بوده و آستر مخاط (C) رشد یافته است. سلولهای ترشحی غده ای (gc) و سلولهای مؤکدار (cc) واضح هستند.



تصویر ۳. اویداکت در وزغ ماده شاهد.

بزرگنمایی $\times 500$ در تصویر لومن (L)، سلولهای اپیتلیالی (ec)، آستر مخاط (c) به منظور مقایسه با نمونه‌های تجربی نشان داده شده است.



تصویر ۴. اویداکت در وزغ ماده دریافت کننده ۱/۵ میلی گرم تاموکسیفن

بزرگنمایی $\times 500$ در تصویر سلولهای اپیتلیالی (ec) رشد کمی دارد و قطر لومن (L) کاهش یافته و آستر مخاط (c) کاهش اندازه نشان می‌دهد.



تصویر ۵: اویداکت در وزغ دریافت کننده ۸ میلی گرم کلومیفن با بزرگنمایی $\times 125$ در مقایسه با شاهد قطرلومن (L) افزایش یافته، آستر مخاط (C) و ضخامت جداره و قطر کل افزایش نشان می‌دهد.



تصویر ۶: اویداکت در وزغ ماده دریافت کننده ۸ میلی گرم تاموکسیفن با بزرگنمایی $\times 125$ قطرلومن (L) افزایش یافته و آستر مخاط (C) و ضخامت جداره و قطر کل افزایش نشان می‌دهد.

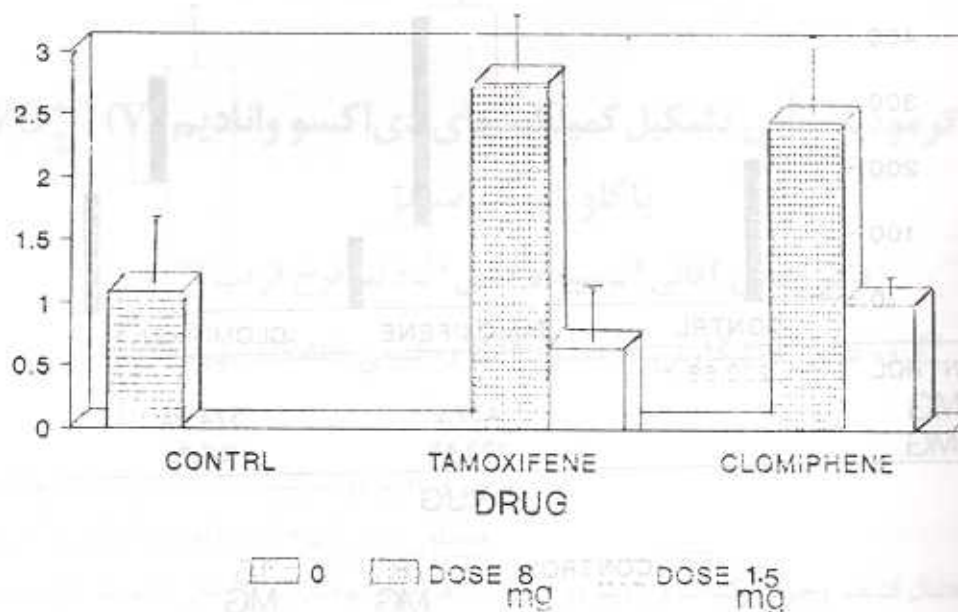


تصویر ۸: اویداکت در وزغ دریافت کننده $1/5$ mg کلومیفن با بزرگنمایی $\times 125$ قطر اویداکت و لومن (L) و آستر مخاط (C) در مقایسه با شاهد کاهش یافته است.



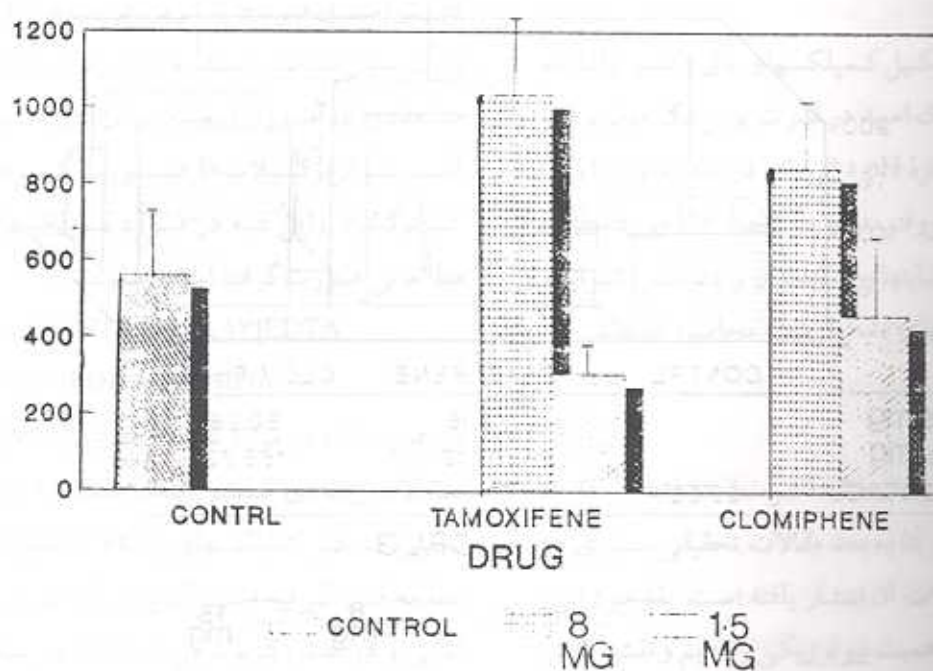
تصویر ۷: اویداکت در وزغ شاهد بزرگنمایی $\times 125$ به بزرگنمایی قطرلومن (L) و آستر مخاط (C) نسبت به گروههای تجربی توجه شود.

OVIDUCT WEIGHT according to dose & drug



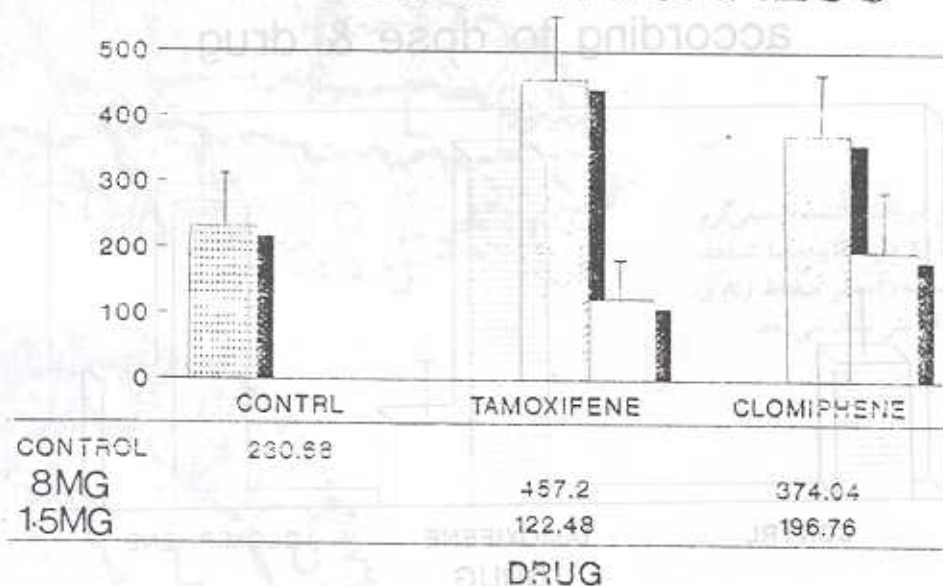
هیستوگرام ۱: مربوط به وزن اویداکت در دوزهای مختلف داروهای تاموکسیفن و کلومیفن سیترات می‌باشد که نشان می‌دهد وزن اویداکت در دوز ۸ میلی‌گرم از هر دو دارو نسبت به شاهد افزایش و در دوز ۱/۵ میلی‌گرم کاهش یافته است.

TOTAL THICKNESS



هیستوگرام ۲: ضخامت کل اویداکت را در گروه‌های شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده تاموکسیفن و کلومیفن نشان می‌دهد که دیده می‌شود تاموکسیفن و کلومیفن در دوز ۸ میلی‌گرم باعث افزایش و در دوز ۱/۵ میلی‌گرم باعث کاهش ضخامت شده است.

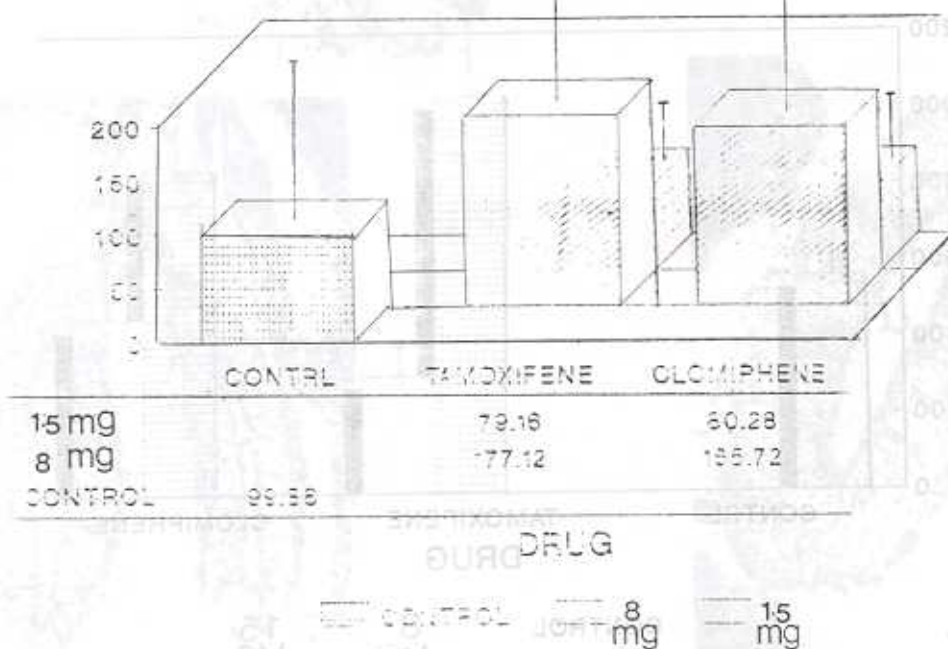
PARIETAL THICKNESS



CONTROL 8 MG 15 MG

هیستوگرام ۳: ضخامت جداره اویداکت را در گروه‌های شاهد و دریافت کننده تاموکسیفن و کلومیفن نشان می‌دهد. تاموکسیفن و کلومیفن در دوز ۸ میلی‌گرم باعث افزایش و در دوز ۱/۵ میلی‌گرم باعث کاهش ضخامت جداره اویداکت شده است.

LUMEN DIAMETER



CONTROL 8 mg 15 mg

هیستوگرام ۴: قطر لومن یا حفره اویداکت را در شاهد و تیمار نشان می‌دهد. قطر لومن در گروه‌های دریافت کننده تاموکسیفن و کلومیفن در دوز ۸ میلی‌گرم افزایش و در دوز ۱/۵ میلی‌گرم نسبت به شاهد کاهش نشان می‌دهد.