تأثیر مصرف طولانی مدت رانی‌تیدین بر ساختار هیستولوژیک بیضهٔ رت بالغ

مجید طوافی [1]، احمد تمجیدی‌پور [2] ، بیژن نوری [2]، محمد جواد طراحی [2]
۱- استادیار، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی لرستان
۲- مربی، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره هفتم / شماره ۳ و ۴ / پاییز و زمستان ۸۴ / مسلسل ۲۶

چکیده

دریافت مقاله: ۸۳/۳/۲۷، پذیرش مقاله: ۸۳/۱۱/۱۹

★ مقدمه: باتوجه به اثر رانی تیدین در مهـار آنـزیـمهای $Na^+ K^+$ ATPase ، Ca^{++} ATPase و Mg^{++} ATPase در بیضه‌ها ، افزایش سطح پرولاکتین ، اختلال در متابولیسم استروژن درکبد و گزارشاتی مبنی بر ژینکوماستی تأثیر مصرف طولانی مدت رانی تیدین بر بیضه مورد مطالعه قرار گرفت.

★ مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ۴۰ رت نر بالغ دو ماهه آلبینو به چهار گروه ۱۰ تایی (یک گروه کنترل و سه گروه آزمایشی ۱، ۲ و ۳) تقسیم شدند. حیوانات گروه آزمایشـی ۱ ، ۲ و ۳ برای مدت دو ماه به ترتیب تحت تجویز دهانی رانـی‌تیدیـن با دوزهای ۱۰ ، ۷۰ و۴۰۰ mg/kg/day قرار گرفتند. بیضـه راست برداشته و در محلول بوئن ثابت گردید. بعد از پردازش بافتی و برش گیری ، برشها با روشهای H&E ، پاس و تریکروم رنگ‌آمیزی و مورد مطالعه کیفی و مرفومتریک قرار گرفتند.متغیرهای کمی با تست توکی و $p<0.05$ به کمک نرم افزار spss12 ارزیابی شد.

★ یافته ها: رانی تیدین دردوز اپتی مم(۱۰g/kg/day) و دراز مدت ضایعه بافتی درساختار طبیعی بیضه ایجاد نکرده و بر تغییر قطر و ضخامت پوشش لوله های سمینی فرنسبت به گروه کنترل تأثیر معنی داری نشان نداد. رانی تیدین در دوزهای بالا (۷۰ و۴۰۰ mg/kg/day) موجب ایجاد شکاف در پوشش لوله ها ، حفره دار شدن لوله ها ، آتروفی لوله ها و کاهش معنی دار ضخامت پوشش لوله های سمینی فر شد ($p<۰/۰۵$)؛ ولی موجب تغییر قطر لوله ها شد.

★ نتیجه گیری: رانی تیدین دردوز اپتی مم و دراز مدت ضایعه ای درساختار طبیعی بیضه ایجاد نکرده واثر معنی داری بر تغییر قطر و ضخامت پوشش لوله های سمینی فر نشان نمی دهد.

واژه های کلیدی: رانی‌تیدین ، لولهٔ سمینی‌فر ، اثرات جانبی، مرفومتری

آدرس مکاتبه: دانشکده پزشکی لرستان گروه بافت شناسی
پست الکترونیک: E-mail: Mtavafi@yahoo.com

مقدمه

رانی‌تیدین یکی از داروهای بلوکه کنندهٔ گیرنده‌های هیستامینی نوع دو می‌باشد که از سال ۱۹۸۱ عرضه شده و بعنوان عامل درمانی زخمهای دوازدهه و معده بکار می‌رود و در بین داروهای آنتی‌اولسر به میزان ۴۵٪ مورد استفاده قرارمی‌گیرد. دیگر داروی بلوکه کنندهٔ گیرنده‌های هیستامینی ، سایمتیدین است که آثار آنتی‌آندروژنیک آن اثبات شده است. به طوریکه این دارو موجب مهار اتصال‌دی‌هیدروتستوسترون به گیرنده‌های آندروژنی می گردد (۱) و به میزان ۷/۲٪ دارای خطر ژنیکوماستی می‌باشد (۲). اثرات جانبی رانی‌تیدین توسط ویال[1] گزارش شده است (۳). بر خلاف سایمتیدین ، رانی‌تیدین دارای اثرکمتر و یا فاقد اثر آنتی‌آندروژنی است و اثرات قابل‌ملاحظه‌ای در غلظت تستوسترون، حرکت ، تعداد و مرفولوژی اسپرمها ندارد (۴ ،۵). ولی گزارشهایی مبنی بر ایجاد ناتوانی جنسی ، ژنیکوماستی و ژنیکوماستی دردناک وجود دارد (۱۰-۶). این دارو با تأثیر بر محور هیپوتالامو ـ هیپوفیزی ـ گنادی باعث افزایش سطح پرولاکتین می‌شود که خود موجب القاء ناتوانی جنسی و ژنیکوماستی شده است(۶ ، ۱۱). همچنین مصرف‌دهانی رانی‌تیدین موجب آمنوره ثانویه همراه با هیپرپرولاکتینمیا گردیده است (۶).

گزارشاتی نیز مبنی بر مسمومیت کبدی واختلال در متابولیزه نمودن استروژن توسط کبد بدنبال مصرف رانی‌تیدین وجود دارد (۱۲). به علاوه رانی‌تیدین می‌تواند باعث افزایش ترانس آمینازهای کبدی گشته (۳) و از طرفی مصرف دهانی آن باعث مهار آنزیمهای $Na^+ K^+$ ATPase، Ca^{++} ATPase و Mg^{++} ATPase در بیضه‌ها می شود (۴).

اکثر کارهای انجام شده بر رانی‌تیدین ، حاصل اطلاعات کلینیکی از افرادی است که برای درمان زخم معده این دارو را دریافت نموده‌اند. تنها کار تجربی در این زمینه توسط گیل[2] صورت گرفته است. وی برای مدت ۱۵ روز به موشهای سوری (موش کوچک) بالغ با دوزهای ۱۰ ، ۷۰ و ۱۰۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم وزن بدن (بطور روزانه) به طریقهٔ دهانی رانی‌تیدین خورانید و عنوان نمود که مصرف رانی‌تیدین با دوزهای ۷۰ و ۱۰۰۰ mg/kg موجب کاهش قطر لوله‌های سمینی‌فر و کاهش ارتفاع پوشش لوله های سمینی فرگردیده و آنزیمهای $Na^+ K^+$ ATPase ، Ca^{++} ATPase و Mg^{++}ATPase را مهار می‌کند (۴). هدف از این مطالعه، تاثیر مصرف طولانی مدت رانی تیدین بر بیضه بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۰ رت به چهارگروه ۱۰ تایی (شامل یک گروه کنترل و سه گروه آزمایشی) تقسیم شدند. موشهای بزرگ (رت) آلبینو نر و دو ماهه ازنژاد اسپراگ (Sprague dawley) از انستیتو رازی کرج خریداری و هیدروکلرید رانی‌تیدین از کارخانهٔ داروسازی لرستان تهیه گردید.

به حیوانات دو.هفته استراحت داده شد تا با شرایط جدید خو بگیرند. رتهای گروه کنترل هر روز با آب و رتهای گروههای آزمایشی ۱ ، ۲ و ۳ به ترتیب با دوزهای ۱۰ ، ۷۰ و ۴۰۰ mg/kg/day بطریقهٔ دهانی رانی‌تیدین محلول در آب دریافت نمودند. محلول داروی مورد استفاده هر روز تازه تهیه می‌شد.حیوانات بمدت دو ماه تحت رژیم فوق بودند ودراین مدت آب و غذای کافی دراختیار آنها قرار داشت. دمای محیط ۲۵-۲۱ درجهٔ سانتیگراد وبرنامه روشنایی- تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت بود.

بعد از دو ماه حیوانات فوق با کلروفرم بیهوش و از آنها نمونه برداری به عمل آمد. در تمامی گروهها بیضهٔ طرف راست برداشته شد (۱۳). بیضه‌ها به مدت سه روز درفیکسا تیو بوئن (۱۵) قرار داده شدند. هر بیضه به هشت الی ده برش با ضخامت تقریبا یک میلی متری بریده و برش ها تحت پردازش بافتی قرار گرفته و بلوکهای پارافینی تهیه گردید؛ سپس از آنها برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روشهای هماتوکسیلین ـ ائوزین (H&E)، تریکروم ماسون و پاس رنگ‌آمیزی شد (۱۴). جهت مطالعات مرفومتری با هدف اندازه گیری قطر لوله سمینی فر و ضخامت پوشش لوله ها بطریق زیر

1. Vial 2. Gill

عمل گردید. برشهای رنگ آمیزی شده به روش H&E انتخاب شدند.از تمامی اسلایس های هر بیضه ۳۰ برش مورد بررسی قرار گرفت (۱۷-۱۵). از هر برش در میدان دیدی تصادفی لوله هایی جهت اندازه گیری انتخاب می شد که مقطع آن تقریبا گرد و یا بیضی شکل بود (۱۳،۱۵،۱۶،۱۷). در اتاق تاریک تصویر برش بیضه به کمک یک منشور (که بروی لنز چشمی میکوسکوپ نصب شده بود) برروی کاغذ کنار میکروسکوپ روی میز تابانده شده وسپس محدوده لوله سمینی فر روی کاغذ رسم می شد. لنز شیئی مورد استفاده برای تمامی موارد لنز ۱۰ بود. با اندازه گیری تصویرمیلی متر استاندارد بر کاغذ بزرگنمایی خطی تصویر برآورد گردید. اندازه گیریها برروی تصاویر ترسیم شده برکاغذ صورت گرفت و برای هر بیضه حد اقل ۱۰۰ لوله اندازه گیری گردید.

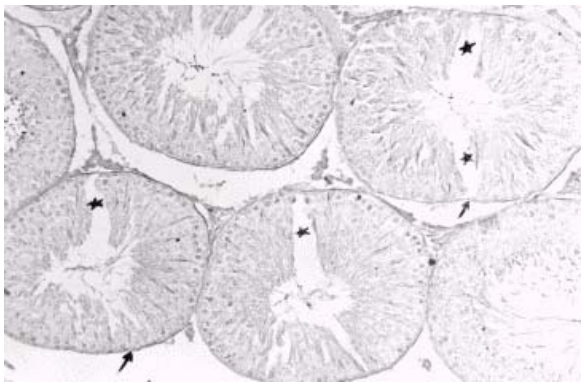
جهت محاسبه قطر لوله سمینی فر، قطر بزرگ وقطر کوچک لوله به کمک خط کش میلمتری اندازه گیری و سپس میانگین دو قطر را بدست آورده و با توجه به بزرگنمایی خطی تصویر، قطر لوله برحسب میکرون محاسبه شد (۱۳،۱۵،۱۶). جهت محاسبه، ضخامت پوشش لوله سمینی فر بر روی تصاویر رسم شده لوله ها بر کاغذ در راستای محل برخورد دو قطر کوچک وبزرگ لوله به پوشش ، چهار ناحیه از ضخامت لوله بر حسب میلمیتر اندازه گیری ، میانگین آن بدست آورده وبا توجه به بزرگنمایی خطی تصویر ، ضخامت پوشش برحسب میکرون محاسبه گردید (۱۲، ۱۵).

داده های حاصل از بررسی های مرفومتریک با تست Tukey (آمار پارامتریک) و$P<0.05$ توسط نرم افزار spss12 در گروههای مورد مطالعه مقایسه شد (۱۵،۱۸).

یافته ها

بررسی میکروسکوپی نشان می‌داد که مصرف رانی‌تیدین با دوز ۱۰ میلیگرم برکیلوگرم وزن بدن (گروه آزمایشی ۱) هیچگونه ضایعهٔ قابل‌مشاهده ای را بـوجود نیاورد. نتایج کیفی حاصل از رنگ‌آمیزی پاس برای مطالعهٔ غشاء پایه لوله‌های سمینی‌فر نشان می دaد که رانی تیدین در تمامی دوزهای بکار رفته پارگی ، ضخیم شدگی ، چند لایه شدن و دیگر تغییرات در غشاء پایهٔ لوله‌های سمینی‌فر بوجود نیاورده است (تصویر شماره ۱).

در گـروه آزمایشی سوم با مصرف ۴۰۰ mg/kg/day شکافهای وسیعی در سراسر پوشش لولهٔ سمینی‌فر دیده شد کـه این شکافها از غشاء پایـه تا حفرهٔ داخلی لوله سمینی‌فر ادامه داشت (شکل شماره ۱).



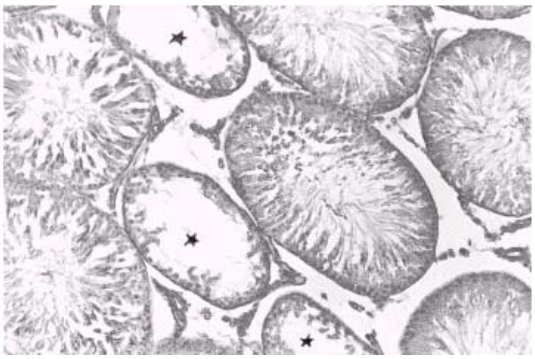
شکل شماره ۱- منظرهٔ میکروسکوپی لوله‌های سمینی‌فر گروه آزمایشی سوم(مصرف رانی تیدین mg/kg/day ۴۰۰). به وضعیت نرمال غشاء پایهٔ لوله‌ها (↗) توجه نمایید. همچنین به شکافهای ایجاد شده در پوشش لـولـه‌های سمینی‌فر(✶) توجه کنید. رنگ آمیزی PAS، ۲۰۰ ×

در گروه آزمایشی دوم (مصرف رانی تیدین mg/kg/day ۷۰) آتروفی تعدادی از لوله‌های سمینی‌فر دیده شد (شکل شماره ۲).



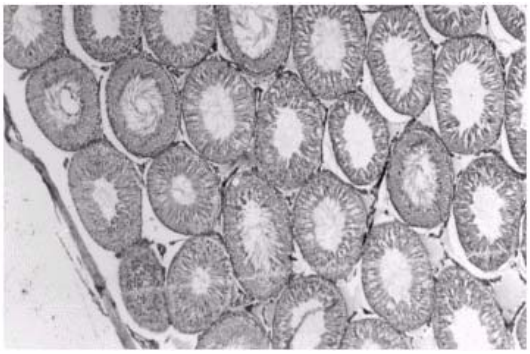
شکل شماره ۲- منظرهٔ میکروسکوپی لوله‌های سمینی‌فر گروه آزمایشی دوم (مصرف رانی تیدین mg/kg/day ۷۰). به لوله‌های آتروفی شده (✶) ولوله‌های در حال آتروفی (↗) که در پوشش آنها حفراتی پیدا شده است توجه نمائید. رنگ‌آمیزی H&E، ۴۰ ×.

در گروه آزمایشی سوم تعداد لوله‌های آتروفی شده بیشتر بود (شکل شماره ۳).



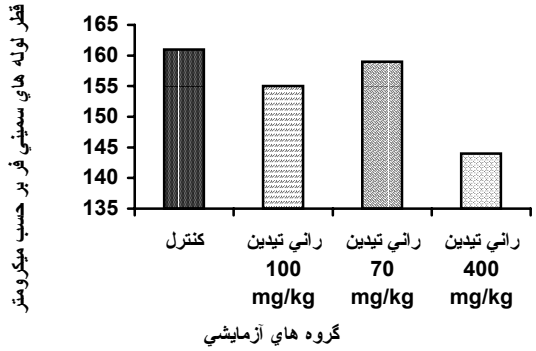
شکل شماره ۳ـ منظرهٔ میکروسکوپی لوله‌های سمینی‌فر گروه آزمایشی سوم (رانی تیدین mg/kg/day ۴۰۰). بـه لـولـه‌های آتروفی شده (✶) توجه نمائید. رنگ‌آمیزی H&E ،۱۰۰ ×.

نتایج کیفی حاصل از رنگ‌آمیزی تریکروم در هیچیک از گـروهـهای آزمایشی افـزایش کلاژنی را در بافت همبند اطراف لوله‌ها نشان نداد (شکل شماره ۴).



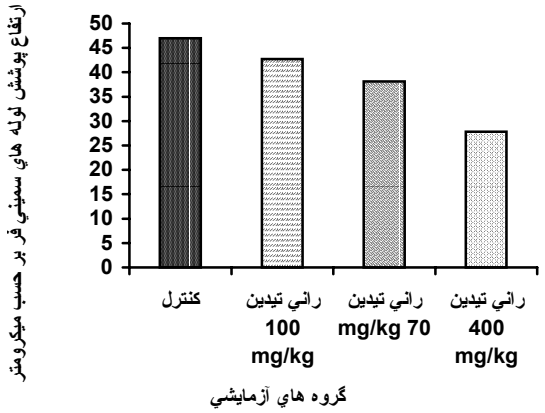
شکل شماره ۴- منظرهٔ میکروسکوپی لوله‌های سمینی‌فر گروه آزمایشی سوم. هیچگونه افزایش کلاژنی در بافت همبند بین لوله‌ها دیده نمی‌شود. رنگ‌امیزی تریکروم ۴۰ ×.

نتایج کمی در نمودارهای ۱ و۲ نشان داده شده اند.



نمودار شماره ۱- مقایسه قطر لوله های سمینی فر بر حسب میکرون بین گروه های مورد مطالعه.

در تمامی دزهای مورد بررسی بین گروه های گیرنده رانی تیدین و گروه کنترل تفاوت معنی داری بین قطر لوله های سمینی فر دیده نشد.



نمودار شماره ۲- مقایسه ارتفاع پوشش لوله سمینی فر بر حسب میکرون بین گروههای مورد بررسی.

در دوز ۱۰mg/kg/day تفاوت معنی داری در ارتفاع پوشش لوله سمینی فر نسبت به گروه کنترل وجود نداشت؛ ولی گروههای دریافت کننده رانی تیدین در دزهای ۷۰ و ۴۰۰ mg/kg/day نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی دار بوده و موجب کاهش ضخامت پوشش لوله شده است. با افزایش دز دارو میزان ارتفاع پوشش بیشتر کاسته می شود ($p<۰/۰۵$).

بحث

چنانچه از نتایج برمی‌آید ضایعات قابل مشاهده ای چون پارگی، ضخیم شدگی ، چند لایه شدن و دیگر تغییرات در غشاء پایهٔ لوله‌های سمینی‌فر درتمامی گروههای آزمایشی دریافت کننده دارو دیده نمی‌شود. این مسئله شاید بیانگر آن بـاشد کـه رانی‌تیدین برسرعت ساخت و ترن اور[1] غشاء پایهٔ لـولـه‌های سمینی‌فر و یا بر آنزیمهای مؤثر در ترن اور غشاء پایه لوله ها تأثیر سوء نداشته است. به عـلاوه نتایج حاصل از رنـگ‌آمیزی تریکروم جهت بـررسی رشتـه‌های کلاژن هیچگونـه افزایشی را در کلاژن بافت همبند اطراف لوله‌ها نشان نمی‌دهد و هیچگونه تراکم سلولهای همبندی و

1. Tarn over

افزایش ارتشاح سلولهای ایمنی که حاکی از وجود التهاب ، ضایعه و یا روند ترمیم باشد در هیچکدام از گروهها دیده نشد. چنانچه گفته شد در گروه آزمایشی سوم شکافهایی در پوشش لوله‌های سمینی‌فر بوجودآمده که این شکافها از غشاء پایه تا حفره داخلی لوله کشیده شده است. بروز این شکافها نتیجه این است که سلولهای سرتولی این نواحی اتصالات خود را از دست داده و با جدا شدن از غشاء پایه این چنین شکافهایی را موجب شده‌اند. به نظر می رسد مهار آنزیمهای $Na^{++}K^{+}$ ATPase، Ca^{++} ATPase و Mg^{++} ATPase منجر به سستی اتصالات سلولهای سرتولی و ایجاد شکاف در پوشش لوله‌ها شده است (۳) و یا اینکه بعضی از سلولهای سرتولی در این نواحی از غشاء پایه کنده شده و با توجه به عدم توانایی ترمیم در پوشش لوله ها سلولهای سرتولی مجاور نتوانسته اند فضای حاصل جدا شدن سلول را بپوشانند. نکتهٔ دیگری که در یافته‌ها به آن اشاره شد آتروفی تعدادی از لوله‌ها درگروه آزمایشی دوم و آتروفی به میزان بیشتر درگروه آزمایشی سوم بود. شاید بتوان گفت که رانی ـ تیدین با اختلال درمتابولیسم استروژن در کبد (۱۲) منجر به آتروفی لوله‌ها شده باشد. در مورداینکه آتروفی صورت گرفته چه مکانیسمی داشته به نظر می رسد افزایش حفرات و افزایش تدریجی حفرات در پوشش منجر به آتروفی لوله ها شده است. ایجاد حفرات را می توان به از دست رفتن اتصالات بین سلولهای سرتولی و یا مرگ آنها نسبت داد.شاید اختلال متابولیسم استروژن در کبد بواسطه رانی تیدین می تواند منجربه تغییراتی در نسبت هورمونهای استروئیدی گردد.

در تحقیق گیل که در کوتاه مدت (دو هفته) به موشهای سوری، رانی‌تیدین (بادوزهای۱۰ ، ۷۰ و ۱۰۰۰ mg/kg/day) خورانده بود ، تغییرات ساختاری چون شکاف در پوشش لوله‌ها وآتروفی لوله‌ها گزارش نشده است؛ ولی تحقیق حاضر نشان می دهد که مصرف طولانی مدت رانی‌تیدین در دوزهای ۷۰ و ۴۰۰ mg/kg/day منجر به آتروفی تعدادی از لوله‌های سمینی‌فر وایجاد شکاف و حفره هایی در پوشش لوله‌های سمینی فر می‌شود.

نتایج حاصله از مقایسه بین میانگین قطر لوله سمینی فر در گروههای کنترل و آزمایشی نشان می دهد که از لحاظ آماری و با $p<۰/۰۵$ تفاوت معنی داری بین قطر لوله سمینی فر درگروه کنترل وگروههای آزمایشی گیرنده دارو وجود ندارد و دوزهای متفاوت رانی تیدین تاثیری بر قطر لوله های سمینی فر نداشته است. در مورد بررسی کمی ارتفاع یا ضخامت پوشش لوله سمینی فر می بینیم در گروههای آزمایش ۲و۳که به ترتیب ۷۰و ۴۰۰ mg/kg/day رانی تیدین دریافت کرده اند، کاهش ارتفاع در مقایسه با گروه کنترل دیده می شود؛ ولی ارتفاع پوشش در گروه کنترل و گروه ۱ آزمایشی (۱۰mg/kg/day) تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند. کاهش ضخامت پوشش لوله سمینی فر را در گروههای ۲ و ۳ آزمایش می توان به از دست رفتن اتصال سلولهای پوشش لوله و ایجاد حفره در پوشش لوله ها و سپس افزایش تدریجی حفرات و در نهایت به آتروفی لوله های سمینی فر نسبت داد.

نتیجه گیری

- رانی‌تیدین در دزهای متفاوت حتی دوز بالا تأثیرقابل ملاحظه ای بر غشاء پایه لوله‌های سیمینی‌فر بیضه ندارد.
- رانی‌تیدین در هیچ دوزی حتی دوز بالا باعث افزایش کلاژن بافت همبندی اطراف لوله‌های سمینی‌فر نمی‌شود.
- رانی‌تیدین در دوز ۷۰ و ۴۰۰ mg/kg/day در مصرف دراز مدت موجب آتروفی بعضی از لوله‌ها و ایجاد شکافهای بزرگی در پوشش بعضی از لوله های سمینی‌فر می‌گردد.
- رانی تیدین در دوز های متفاوت تأثیری بر قطرلوله های سمینی فر نداشته؛ ولی در دوزهای بالا (۷۰ و ۴۰۰ mg/kg/day) موجب کاهش ارتفاع پوشش لوله های سمینی فر می شود.

پیشنهاد می گردد تعداد سلولهای زاینده پوشش لوله سمینی فر و سلولهای سرتولی با روش کمی مورد بررسی قرار گیرد.

References

1. Rossing M, Scholes D, Cushing-Haugen KL, Voigt LF. Cimetidine use and risk of prostate and breast cancer. Cancer epidemiol Biomarker prev, 2000; 9 (3): 319 – 23
2. Garcia L, Harshel J. Risk of gynecomastia associated with cimetidine, omeprazole and other antiulcer drugs. BMJ 1994; 808: 503-6
3. Vial T, Goubier C, Bergert A, Cabrera F, Evroux J, Descotes J. Side effects of ranitidine. Drug safety, 1991; G (2): 94 – 117
4. Gill M, Sareen ML, Sanyal SN. Effects of H2 – receptor antagonists, cimetidine and ranitidine on reproductive function in male mice. Indian Journal of experimental Biology 1991; 29: 900-906
5. Wang C. Ranitidine doesn't effect gonadal function in man. British Journal of clinical pharmacology 1989; 22: 346-350
6. Bera F, Jonville-Bera AP, Doustin P, Autret E. Impotence and gynecomastia secondary to hyperprolactinemia induced by ranitidine. Therapie, 1994; 49(4): 361-2
7. Biagi P, Milan G. Dysfunction of the hypothalamo-hypophysial- gonadal axis induced by histamin H2 antagonist. Minerva Med,1985; 70 (12): 579-86
8. Smith RN, And Elsdon W. Alleged impotence with ranitidine. Lancet 1983; 2: 798
9. Tossi S, Cagnolim A. Painful gynecomastia with ranitidine. Lancet 1983; 2:16
10. Viana L. Probable cause of impotence due to ranitidine. Lancet , 1983; 2: 635
11. Bi agi P, Galli M, Brettoni A, Rizzo AA, Massafra C. H2 histamine antagonists and hypothalamo-hypophysial- gonadal axis. Quad Sclavo Diagn, 1983; l 19 (3): 313-21
12. Souza MA. Ranitidine and hepatic injury. Annals internal medicine, 1986; 105: 140
13. Meisami E, Najafi A, Timiras PS. Enhancement of seminiferous tubular growth in testes of rat. Cell tissue res , 1994; 275: 503 - 511
14. Kiernan JA. Theory and practice of Histological and Histochemical Methods.Third edition.BUTTERWORTH CO.1999; 35: 229
15. Limanowski A, Miskowiak B, Otulakowski B, Partyka M. Morphometric study on the testes of rats. Andrologia, 1999; 31: 225-231
16. Neves E, Garcia H, Franca L.Comparative testis morphometry,seminiferous epithelial cycle in donkey and mule. Biology of Reproduction, 2002; 67: 247-255
17. Franca L, Godinho C.Testis morphometry, seminiferous epithelial cycle in domestic cat.Biology of Reproduction, 2003; 68: 1554-1561
18. Carlos A. Mandarim-de-Lacerda. Stereological tools in biomedical research.Acad. Bras. Ciênc, 2003;75(4):413