

بررسی اثر کلروکین بر سیکل استروس و هورمونهای محرک فولیکولی و جسم زرد در موشهای صحرایی ماده

چکیده

در این پژوهش به بررسی اثر کلروکین بر سیکل استروس و غلظت هورمونهای محرک فولیکولی (Follicle Stimulating Hormon) و محرک جسم زرد (luteinizing Hormon) سرم پرداخته شده است. به این منظور موشهای صحرایی ماده بالغ که حداقل دارای سه سیکل استروس منظم بودند به سه گروه شامل یک گروه شاهد و دو گروه تجربی تقسیم شدند گروه شاهد سرم فیزیولوژیک را بصورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه دوم مقدار ۲۵ mg/Kg کلروکین به مدت سه روز و گروه سوم ۳۰ mg/Kg کلروکین به مدت ده روز بصورت داخل صفاقی دریافت نمودند. بعد از کشتن موشها خون آنها بطور جداگانه جمع‌آوری و پس از جداکردن سرم، غلظت FSH و LH را به روش رادیوایمونواسی (RIA) اندازه گیری شد.

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که تزریق کلروکین به میزان ۲۵ mg/Kg به مدت سه روز تأثیری بر مراحل سیکل استروس و مدت آن ندارد و در مقایسه با گروه شاهد غلظت FSH و LH سرم نیز تغییر نمی‌یابد. در حالیکه تجویز همین ماده به مقدار ۳۰ mg/Kg به مدت ده روز سبب دی استروس پایدار در ۶۲٪ از موشها ($P < 0.05$) و نامنظم شدن سیکل استروس در ۳۲٪ از موشها می‌گردد و همچنین غلظت LH نیز کاهش می‌یابد. این پژوهش نشان داد که کلروکین می‌تواند با مداخله در سیستم هیپوتالاموس - هیپوفیز - تخمدان سبب اختلال در تولید مثل گردد.

*دکتر حمیدرضا صادقی پوررودسری I

لطف ا... دینی II

دکتر حوری سپهری III

۲-سیکل استروس

کلید واژه ها: ۱-کلروکین

۳-هورمون محرک فولیکولی (FSH) ۴-هورمون محرک جسم زرد (LH)

مقدمه

همچنین از ابعاد اقتصادی، اجتماعی و بویژه سیاسی مشکلاتی را برای بشر ایجاد نموده است. بر طبق برآورد سازمان جهانی بهداشت سالانه حدود ۴۰۰ الی ۵۰۰ میلیون نفر مبتلا و ۳ - ۲ میلیون نفر از این بیماری تلف می‌شوند (۱). کلروکین یکی از داروهای مصرفی در درمان

سالهاست کلروکین که از ترکیبات چهار آمینوکلینولین می‌باشد برای پیشگیری و درمان بیماری مالاریا استفاده می‌شود (۱). این بیماری از قدیم الایام یکی از مشکلات و معضلات بهداشتی جامعه بشری و از موانع بسیار مهم در دستیابی به تندرستی انسانها محسوب می‌شده،

این مقاله خلاصه ای از پایان‌نامه کارشناسی ارشد لطف... دینی به راهنمایی دکتر حمیدرضا صادقی پور رودسری در سال ۱۳۷۵ می‌باشد.

I) دانشیار فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، گروه فیزیولوژی (مؤلف مسئول) می‌باشد و در دوران حاملگی به

II) کارشناس ارشد فیزیولوژی

III) استادیار فیزیولوژی دانشکده علوم دانشگاه تهران

عنوان پروفیلاکسی مصرف می‌شود و به علت دارا بودن خاصیت ضد التهابی در درمان بیماری‌های پوستی، روماتوئیدی و اختلالات بافت‌های همبند نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). در موارد اخیر لازم است مقدار و زمان مصرف دارو بیشتر از آنچه که در درمان مالاریا می‌باشد (۲۵ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن در مدت سه روز) مورد استفاده قرار گیرد لذا لازم است اثرات جانبی احتمالی آن بررسی گردد.

کلروکین پس از مصرف خوراکی به سرعت و تقریباً به طور کامل جذب می‌شود و در مدت ۲ ساعت به حداکثر غلظت سرمی خود می‌رسد حدود نیمی از این دارو بوسیله کلیه‌ها دفع می‌گردد. ضمناً در شیر مادر نیز ترشح می‌شود. گرچه سالها از مصرف این داروها می‌گذرد ولی در چند سال اخیر به بعضی از اثرات سمی این دارو بر روی سلول‌های رنگی شبکیه چشم پی برده اند (۳).

کلروکین آنتاگونیست کلسیم می‌باشد (۴). این کاتیون دو ظرفیتی به علت فعال کردن آنزیم‌های تنظیم کننده کالمدولین و ایجاد تغییرات در متابولیسم فسفولیپیدها (منجر به آزاد شدن هورمون‌های استروئیدی از تخمدانها می‌گردد (۶ و ۵)). ولی تا کنون پژوهشی که اثرات مصرف این دارو را در سنتز و یا آزادسازی هورمون‌های گونادوتروپ و به دنبال آن اثر بر فعالیت‌های جنسی مورد بررسی قرار دهد مشاهده نشده است. بنابراین پژوهش فوق که اثر کلروکین را بر سیکل استروس و میزان هورمون‌های گونادوتروپ (LH و FSH) در موش‌های صحرایی ماده معلوم می‌کند می‌تواند اثرات مصرف این دارو را در سیستم تولید مثل جنس ماده مشخص نماید.

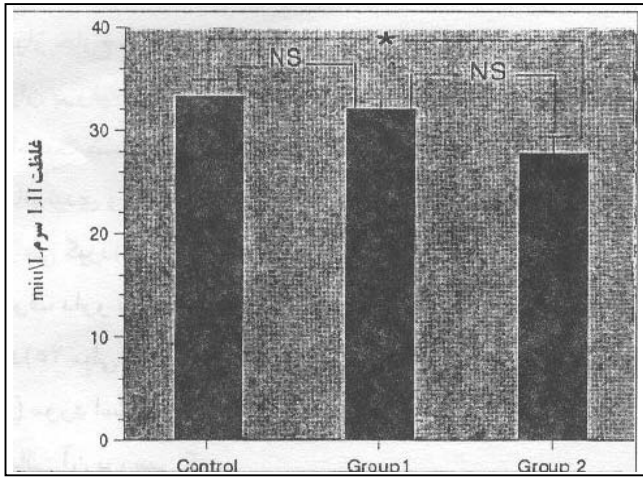
روش بررسی

موش‌های صحرایی ماده از نژاد Ratus - Ratus با وزن حدود ۲۲۰ گرم و سن ۱۰ تا ۱۲ هفته تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای 25 ± 2 درجه سانتی گراد به مدت دو هفته نگهداری شدند تا به محیط جدید عادت نمایند. آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار گرفت و همه روزه حدود ساعت ۸ صبح اسمیر واژن تهیه می‌شد تا

مراحل مختلف سیکل استروس آنها بررسی گردد (۷). جهت انجام این مطالعه تنها موش‌های انتخاب شدند که دارای سه دوره متوالی سیکل استروس منظم بودند. موش‌ها به یک گروه شاهد و دو گروه مورد تجربی (هر گروه ده سر) تقسیم شدند. به موش‌های شاهد (گروه اول) معادل حجمی گروه تحت آزمایش سرم فیزیولوژی بصورت داخل صفاقی (IP) تزریق گردید. کلروکین فسفات مصرفی با نام تجاری "Resochin" محصول شرکت بایر بود و هر ویال ۵ میلی لیتری آن محتوی ۱۵۰ میلی گرم کلروکین بود. گروه دوم ۲۵ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به مدت سه روز و گروه سوم مقدار ۳۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ده روز کلروکین فسفات داخل صفاقی دریافت نمودند. بعد از انجام تزریقات و کشتن موش‌ها خون آنها جمع آوری گردید و بعد از جدا کردن سرم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد جهت اندازه گیری هورمون‌ها نگهداری شدند. اندازه گیری هورمون‌ها با کیت‌های اختصاصی و به روش رادیوایمونواسی (Radioimmunoassay) انجام گردید. محاسبات آماری و تعیین اختلالات معنی دار بین گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل ($Mean \pm SEM$) بوسیله رایانه و نرم افزار SPSS صورت گرفت و جهت آزمون فرضیه‌ها ملاک‌های X2 و T-test و روش ANOVA مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها:

- ۱- تزریق کلروکین به مقدار ۲۵mg/Kg به مدت سه روز تأثیری بر روی غلظت FSH و LH و سیکل استروس نداشت (نمودار ۱ و جدول شماره ۱).
- ۲- تزریق کلروکین به مقدار ۳۰mg/Kg به مدت ده روز منجر به کاهش غلظت LH، دی استروس پایدار در ۶۲٪ از موش‌ها و ایجاد سیکل نامنظم در ۳۲ درصد از موش‌ها گردید. اما غلظت FSH با این دوز هم تغییری نکرد (نمودار ۱ و جدول شماره ۱).



نمودار شماره ۱- تاثیر تزریق کلروکین در مدت زمان‌های مختلف بر غلظت LH سرم. گروه I: ۲۵ mg/kg به مدت ۲ روز. گروه II: ۳۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز. N.S=Non Significant

می شود و افزایش کلسیم داخل سلولی منجر به آزاد شدن LH و FSH از آنها می گردد. بنابراین یونهای کلسیم نقش پیامبر ثانوی را ایفا می کنند. بعضی از محققین بر این باورند که ترشح و آزاد شدن LH و FSH در شرایط مختلف متفاوت می باشد و گاهی افزایش ترشح FSH همراه با کاهش ترشح همزمان LH می باشد (۱۰). با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش احتمال می رود که شرایط آزادسازی این دو هورمون علیرغم اینکه تحت کنترل یک هورمون هستند، متفاوت باشد و لازم است بررسیهای بیشتری در این زمینه صورت گیرد. این پژوهش نشان داد که مصرف طولانی مدت کلروکین توسط خانمها می تواند سبب اختلال در سیکل قاعدگی و ایجاد عوارض در سیستم تولیدمثل آنها گردد. امید است در آینده با بررسیهای بیشتر بتوان به ابهامات موجود پایان بخشید.

منابع

۱- برنامه کشوری مبارزه با مالاریا در سال ۱۳۷۸ - وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی - اداره کل پیشگیری و مبارزه با بیماریها صفحه ۲ - ۱ .
 2- Cot - M; Le - Hesran - JY; Miallhes P; et al. Effect of chloroquine prophylaxis during pregnancy on maternal haematocrit; Ann-Trop-Med - parasitol . 1998, Jan;92(1):37-43.

سیکل نامنظم	دی استروس پایدار	LH	FSH	
-	-	۳۴/۹±۲/۰۶	۳۲۶ ± ۱۲/۹	شاهد
-	-	۳۳/۹۶±۲/۲۶	۳۳۳±۱۸/۸۷	I گروه
		N.S	N.S	
٪۳۲	٪۶۲	۲۷/۸±۱/۶۵	۳۲۱/۶±۹/۷۶	II گروه
		*	N.S	

جدول شماره یک: تأثیر کلروکین در غلظتهای ۲۰mg (گروه اول) و ۳۰mg (گروه دوم) به FSH و LH و سیکل استروس
 NS : Non Significant * P<0.05

بحث

بسیار اتفاق افتاده که کلروکین توسط روستائیان ساکن در مناطق گرمسیری بصورت غیر مجاز و طولانی مدت مصرف گردیده است. مصرف طولانی مدت این دارو برای درمان بیماریهای بافت همبند لازم و ضروری می باشد (۸). ضمناً چون حیوانات کوچک آزمایشگاهی نسبت به انسان داروها را به مقدار بیشتری دفع می کنند (۹). بنابراین تصمیم گرفته شد اثرات مصرف آنرا در مقادیر مختلف و دوره زمانی متفاوت مورد بررسی قرار گیرد. مطالعات قبلی نشان داد که مصرف بعضی داروها، از جمله فنوباربیتال سبب تأخیر بلوغ، اختلال در سیکل استروس و کاهش باروری می گردد که با کاهش غلظت LH و استروژن همراه می باشد (۹). این نتایج با یافته های مطالعه حاضر مطابقت داشته و نامنظم شدن سیکل استروس و دی استروس پایدار در ۹۴٪ از موشهائیکه غلظت LH آنها کمتر از گروه شاهد بود مشاهده گردید (۱۰). به نظر می رسد این وضعیت ناشی از اختلال در تنظیم محور هیپوتالاموس - هیپوفیز قدامی باشد. ضمناً مشخص گردیده است که کلروکین سبب افزایش اثرات سمی و تخریبی بعضی از مواد شیمیائی بر روی سلولهای لیدیک بیضه موشها که دارای گیرنده های LH هستند به میزان ۱۵ - ۱۰ برابر می گردد (۱۱).

سلولهای هدف هورمون آزاد کننده گنادوتروپین ها (GnRH) در هیپوفیز قدامی، بازوفیلها هستند که حدود ده درصد از کل سلولهای هیپوفیز قدامی را تشکیل می دهند و سنتز و ترشح LH و FSH را به عهده دارند. GnRH با اتصال به رسپتورهای این سلولها سبب ورود مقادیر زیاد کلسیم خارج سلولی از طریق کانالهای ویژه به داخل سلولها

3- Toimela – T; Tahti –H; salmminen –L. Retinal pigment epithelium cell culture as a model of evaluation of the toxicity of tamoxifen and chloroquine. *Ophthalmic – Res* . 1995;27 suppl 1: 150-3.

4- Essien E.E. and Etter E.I. Effect of chloroquine and didesethyl on rabbit myocardium and mitochondria. *J. pharm . pharmacol*. 1986,38,543-546.

5- conn P.M. Rogers D.C. and sheffield T. inhibition of gonadotropin – releasing hormone – stimulated luteinizing hormone release by pimozide: *Endocrinology* 1981, 109,1122-1126.

6- Carnegie J.A. and Tsang , B.K. Calcium and the stimulation of ovarian steroidogenesis . *Bio, Reprod* . 1981, 24(1), 50.

۷- صادقی پور رودسری، حمیدرضا و کرد. علیرضا -

بررسی اثر هورمونهای جنسی آندروژن بر حساسیت به

درد. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران - سال ششم - بهار

۱۳۷۸ شماره ۱ صفحه ۲۵ - ۲۰ .

8- Rollo I.M. chloroquine. In the pharmacologic Basis of Therapeutics , 6th Edn , ed. By A.G. Gilman , L.S. Gilman , L.S. Goodman and A. Gilman 1980 PP . 1042 – 1046 MacMillan , New York.

9- Lullmann H. Lullman – Rauch Rand wassermann O; Drug induced phosphalipidosis crit . *Rev , Toxicol* .1957(4), 185-218.

10- Wildt L. Hausler A. Marshall G. et all. Frequency and amplitude of gonadotropin releasing hormone stimulation and gonadotropin in the rhesus monkey . *Endocrinology*, 1981,109, 376 – 385.

11- Marcil – j; Ravindranath – N; sairam – MR. Cytotoxic activity of lutropin – gelonin conjugate in mouse leydig tumor cells: potentiation of the hormonotoxin activity by different drugs. *Mol – cell – Endocrinol*. 1993 Mar; 92(1):83 – 90.

EVALUATION OF CHLOROQUINE ON OESTRUS CYCLE AND GONADOTROPINS FSH & LH IN FEMALE RATS

I *II* *III*
***H. R. Sadeghipour Roudsari, Ph.D L. Dinei, Msc H. Sepehri, Ph.D**

ABSTRACT

In this research effect of chloroquine on oestrus cycle,(Follicle Stimulating Hormone)FSH and (Luteinizing Hormone) LH has been evaluated. There were three groups. Group I (control rats) received an equal volume of physiological saline. Group II animals had chloroquine (25 mg/kg) administered intraperitoneally (I.P) for 3 days and group III animals received chloroquine 30 mg/kg for ten days. Oestrus cycle was monitored by daily saline vaginal lavage. All animals were sacrificed at the treatment. Trunk blood was collected in each group at the time of sacrifice, centrifuged and serum stored for subsequent radio immunoassay of luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH).

Results showed that administration of chloroquine (25 mg/kg) did not affect on oestrus cycle and gonadotropins, but 30 mg/kg chloroquine for ten days showed a persistent dioestrus in 62% of rats, lowered serum LH levels ($P<0.05$) while serum FSH was unaltered. This study support the notion that chloroquine had an adverse effect on hypothalamo-pituitary ovarian systems.

Key Words: **1) Chloroquine** **2) oestrus cycle** **3) Follicle stimulating hormone(FSH)**
4) Luteinizing hormone(LH)

This article is a summary of the thesis of M.S. of L.Dinci, under supervision of H.R. Sadeghipour Roudsari M.D. in 1375.

I) Associate professor of physiology. Department of physiology. Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran (*Corresponding author)

II) MS in physiology

III) Assistant professor of physiology. School of sciences, Tehran University, Tehran, Iran