مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی بیست و دوم، شماره‌ی ۵، صفحه‌های ۳۹۵ ـ ۳۸۲ (آذر ـ دی ۱۳۹۹)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر سولپیراید بر بیان ژن پروتئین ترانسلوکاتور و شاخص‌های ریخت‌شناسی بافتی در بیضه‌ی موش‌های صحرائی تحت اثر استرس فیزیکی یا روانی

حسینعلی محمودی، دکتر فرین بابائی بالدرلو

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، دکتر فرین بابائی بالدرلو؛ e-mail:f.babaei@urmia.ac.ir

چکیده

مقدمه: مطالعات پیشین به خوبی نشان داده‌اند که اعمال استرس یا مصرف داروی آنتی‌سایکوتیک سولپیراید باعث اختلال در سیستم تولیدمثلی می‌شود. پروتئین ترانسلوکاتور (**TSPO**) در غشای میتوکندریائی بافت‌های استرئیدوژنز؛ نظیر گنادها، با انتقال کلسترول به داخل میتوکندری در تنظیم تولید هورمون‌های استروئیدی دخالت دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر استرس و سولپیراید بر تغییرات بیان ژن **TSPO** و بافت‌شناسی بیضه در موش هایی صحرایی بود. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۴۲ سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار، بطور تصادفی به دو گروه دریافت‌کننده‌ی سالین و سولپیراید (۴-میلی‌گرم بر کیلوگرم درون‌صفاقی) تقسیم شدند. هر گروه نیز به سه زیرگروه شاهد، استرس روانی و استرس فیزیکی تقسیم‌بندی شدند. استرس فیزیکی (جریان الکتریکی ۰/۵-هرتز، ۲-میلی‌آمپر، ۴۸-ولت) یا روانی (مشاهده‌ی موش‌های تحت استرس فیزیکی) بمدت ۱۴ روز بوسیله جعبه ارتباطی القا گردید. در پایان دوره تیمار؛ بیان نسبی ژن **TSPO**در بیضه با روش **Real-Time Quantitative Reverse Transcription PCR**، شاخص‌های ریخت‌شناسی بافتی بیضه با تهیه‌ی مقاطع میکروسکوپی و غلظت تستوسترون سرم به روش رادیوایمونواسی بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از روش **ANOVA** یکطرفه و آزمون توکی، به کمک نرم‌افزار **SPSS**استفاده شد. **یافته‌ها:** استرس موجب آسیب بافت بیضه، کاهش معنی‌دار بیان **TSPO** (فیزیکی **P=۰/۰۳۴**، روانی **P=۰/۰۳۹**) و تستوسترون (فیزیکی **P=۰/۰۰۴**، روانی **P=۰/۰۱۹**) در مقایسه با گروه کنترل گردید. تجویز سولپیراید علاوه بر کاهش شدید تعداد سلول‌های زایا، باعث تخریب و عدم انسجام اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز و افزایش فضای بینابینی بافت بیضه و کاهش هر چه بیشتر**TSPO** و تستوسترون نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی سالین گردید. **نتیجه‌گیری:** استرس فیزیکی و روانی هر دو منجربه آسیب در بیضه و کاهش بیان **TSPO** و غلظت سرمی تستوسترون گردید. تجویز سولپیراید عمدتاً آثار سوء ناشی از استرس بر سیستم تولیدمثل را افزایش داد که حاکی از عارضه جانبی مصرف این دارو بود.

واژگان کلیدی: سولپیراید، TSPO، استرس، بیضه، تستوسترون

دریافت مقاله: ۹۹/۶/۱۵ـ دریافت اصلاحیه: ۱۴۰۰/۱/۱۵ ـ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۲/۲۲

مقدمه

استرس مجموعه واکنش‌هایی است که در پاسخ به محرک‌های فیزیکی، روانی و یا هر عاملی که باعث برهم خوردن تعادل درونی بدن (هومئوستاز) شود بوجود می‌آید.[۱] استرس در کنار تمام اثراتی که بر اندام‌ها و بافت‌های مختلف بدن دارد بطور ویژه باعث ایجاد آسیب‌های جدی در سیستم تولیدمثلی و ناباروری می‌گردد.[۲،۳] الگوهای استرس را می‌توان به دو دسته اصلی استرس فیزیکی و استرس روانی تقسیم کرد؛[۴،۵] عوامل استرس‌زا سبب فعال‌سازی محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال-(HPA[i]) می‌شوند که به نوبه

i- Hypothalamo-Pituitary- Adrenal

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

خود منجر به سرکوب فعالیت محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد-(HPG[i]) می‌گردد.[۶] امروزه برای کنترل عوارض روانی و افسردگی ناشی از استرس[۵] از داروهای آنتی‌سایکوتیک مختلف استفاده می‌شود. برخی از این داروها با مکانیسم کنترل ترشح میانجی عصبی دوپامین اعمال اثر می‌نمایند که یکی از آن‌ها سولپیراید، آنتاگونیست گیرنده D2 دوپامین می‌باشد.[۷]

دوپامین از میانجی‌های عصبی مهم، از اسید آمینه تیروزین ساخته می‌شود.[۸] پنج زیرگروه گیرنده‌های دوپامین از D_1 تا D_5 وجود دارد.[۹] بعضی از داروهای آنتی‌سایکوتیک غیرکلاسیک نظیر مشتقات بنزآمیدها (سولپیراید، آمی‌سولپیراید و متاکلوپرامایید) گیرنده‌های دوپامین را مهار می‌کنند و باعث از بین رفتن سیستم کنترلی بر روی سلول های لاکتوتروف و ترشح پرولاکتین و در نتیجه ایجاد هیپرپرولاکتینمی می‌شوند.[۱۰] پرولاکتین ترشح ضربانی هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH[ii]) را از هیپوتالاموس مهار می‌کند و مستقیماً از عمل هیپوفیزی هورمون‌های محرک فولیکول (FSH[iii]) و هورمون لوتئینی(LH[iv]) روی گنادها جلوگیری می‌نماید؛ به این ترتیب باعث ایجاد هیپوگنادیسم ثانویه و کاهش ترشح تستوسترون می‌شود. هم‌چنین این عوامل باعث کاهش تحرک و کیفیت اسپرم و اختلالات باروری می‌گردند.[۱۱] سولپیراید، دارای فعالیت ضدافسردگی و ضد اضطرابی[۷] است و از نظر بالینی بعنوان دارویی برای درمان اسکیزوفرنی و سایر اختلالات روانی مانند توهم به وفور مورد استفاده قرار می‌گیرد.[۱۲] مصرف سولپیراید با القای هیپرپرولاکتینمی و مهار محور HPG می‌تواند به کاهش غلظت تستوسترون و اختلالات باروری منجر شود.[۱۳]

یکی از مهم‌ترین فاکتورهای درگیر در تولید و ترشح تستوسترون در بیضه، پروتئینی موسوم به گیرنده بنزودیازپینی محیطی‌یا پروتئین ترانسلوکاتور (TSPO) می‌باشد.[۱۴] TSPO، پروتئین ۱۸ کیلودالتونی، یکی از پروتئین‌های محافظت شده‌ی غشای خارجی میتوکندری می‌باشد که در عملکردهای متعدد سلول و بافت، اعم از بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی، تنفس، تکثیر و تمایز سلول و آپوپتوز نقش دارد.[۱۴،۱۵] این پروتئین برای جابجایی کلسترول و تنظیم ساخت استروئیدها مورد نیاز است.[۱۴] هورمون‌های LH و FSH در کنترل بیان پروتئین ترانسلوکاتور نقش دارند و هر عاملی که بر میزان تولید و ترشح هورمون‌هایLH و FSH تأثیر داشته باشد؛ احتمالاً به واسطه تأثیر بر بیان TSPO، بر عملکرد استروئیدوژنز گنادها نیز اثر می‌گذارد.[۱۶] با توجه به اثرات سوء استرس بر سیستم تولیدمثل و از سوی دیگر اثرات مخرب تولیدمثلی سولپیراید، که می‌تواند بعنوان داروی آنتی‌سایکوتیک همراه با استرس تجویز شود، بر آن شدیم تا تغییرات احتمالی بیان ژن کلیدیTSPOو تغییرات ریخت‌شناسی بافتی در بیضه را به دنبال اعمال استرس و یا مصرف داروی سولپیراید مورد بررسی قرار دهیم. پیش از این مطالعه‌ای در این خصوص انجام نشده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این مطالعه تجربی، از ۴۲ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین سنی ۴/۵ ماه و در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده گردید. موش‌ها در خانه حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه تحت شرایط استاندارد؛ ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۲۰ تا ۳۰ درصد، در قفس‌های مخصوص پرورش موش نگه‌داری شدند. حیوانات به صورت آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. تمام حیوانات طبق دستورالعمل نگه‌داری و کار با حیوانات، مصوب کمیته اخلاقی، نگه‌داری شدند (کد کمیته اخلاق دانشگاه ارومیه: IR-UU-AEC-385/DA3/).

قبل از شروع آزمایش، موش‌ها به مدت ۱۴ روز در مرکز پرورش و نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی در کنار هم و به صورت گروه‌بندی شده قرار داده شدند تا با شرایط محیط سازش پیدا کنند و تنش محیطی بر نتیجه آزمایش‌ها تاثیر خاصی نداشته باشد. موش‌های صحرائی نر بطور تصادفی ساده به دو گروه دریافت‌کننده‌ی سالین و سولپیراید (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم درون‌صفاقی) تقسیم شدند (n=۲۱)؛ هر گروه به سه زیرگروه کنترل، استرس روانی و استرس فیزیکی تقسیم‌بندی شدند (n=۷). غلظت سولپیراید (سیگما، امریکا) بر مبنای مطالعات پیشین انتخاب گردید.[۱۷] اعمال

i- Hypothalamo-Pituitary- Gonad
ii- Gonadotropin Releasing Hormone
iii- Folicul Stimulating Hormone
iv -Luteinizing Hormone

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

استرس نیز بر اساس مطالعه آتاکا[i] و همکاران انجام شد[۱۸] که که در ذیل شرح داده شده است.

القای استرس فیزیکی و روانی

برای القای استرس فیزیکی و روانی از یک جعبه شفاف به نام جعبه ارتباطی(communication box) استفاده شد.[۱۸] این جعبه شامل ۹ خانه مربعی شکل به ابعاد ۱۵ در ۱۵ سانتی‌متر می‌باشد که بصورت شطرنجی پنج خانه آن قابلیت هدایت جریان الکتریکی با جریان ۲ میلی آمپر و ولتاژ ٤٨ ولت و فرکانس ۰/۵ هرتز می‌باشد و چهار خانه آن فاقد قابلیت هدایت جریان الکتریکی بوده و کاملاً عایق بودند.

حیوانات روزانه به مدت ٦٠ دقیقه (در هر دقیقه دو بار به مدت ده ثانیه) در معرض جریان الکتریسیته قرار گرفتند. القای استرس فیزیکی و روانی روزانه بین ساعات ۹ الی ۱۳ به مدت ١٤ روز انجام شد. استرس فیزیکی در موش‌ها با برقراری جریان الکتریسیته و برق‌گرفتگی و لرزش مستقیم القا می‌شد؛ موش‌های گروه استرس فیزیکی با ایجاد سر و صدا و متصاعد شدن بوی بدن در زمان برق گرفتگی، سبب ایجاد استرس (استرس روانی) در موش‌های موجود در ٤ خانه عایق می‌شدند. از آنجا که این ٤ موش در خانه‌های عایق جریان الکتریسیته قرار داشتند و فقط شاهد موش‌های در معرض استرس فیزیکی بودند، در گروه استرس روانی جای گرفتند.[۱۸]

پس از ١٤ روز تیمار، موش‌ها با اتر بیهوش و سپس تشریح شدند. بعد از جداکردن بافت همبندی اطراف، بیضه چپ همه موش‌ها جهت ارزیابی بیان نسبی ژن TSPO به ازت مایع و سپس به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. بیضه راست همه موش‌ها نیز، جهت بررسی‌های بافت‌شناسی با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، پس ازخارج کردن از بدنبه محلول فرم آلدهید ۱۰٪ منتقل شد. خون‌گیری بطن قلبی نیز هم‌زمان با استخراج بیضه انجام گردید. نمونه‌های خونی بعد قرار گرفتن در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه و لخته شدن، به دستگاه سانتریفیوژ منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه با RCF ۱۱۰۰ سانتریفیوژ شدند. سرم حاصل در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش تستوسترون نگه‌داری شد.

سنجش بیان ژن با روش Real-Time (qRT-PCR) Quantitative Reverse Transcription PCR

برای انجام qRT-PCR به ترتیب سه عمل استخراج RNA، سنتز cDNA و PCR انجام شد.

استخراج RNA تام به کمک کیت ستونی استخراج RNA (شرکت دنا زیست آسیا، ایران)، طبق دستورالعمل کیت انجام گردید. بطور خلاصه؛۱۰۰ میلی‌گرم از بافت بیضه در داخل ازت مایع، که باعث انجماد شدید بافت می‌شود، لیز گردید. به هر نمونه یک میلی‌لیتر محلول DR1 اضافه شد و پس از ۵ دقیقه ورتکس و انکوباسیون، به مدت ۱۰ دقیقه با RCF۱۷۷۰۰سانتیفوژ شد. پس از انتقال مایع رویی به میکروتیوپ جدید،۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم افزوده و مراحل دمائی و ورتکس طی گردید. نمونه‌های به دست آمده با RCF ۱۷۷۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. فاز بالایی به میکروتیوپ جدید منتقل و ۳۰۰ میکرولیتر اتانول به آن افزوده شد و پس از مخلوط کردن به ستون استخراج RNA انتقال داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱ دقیقه با RCF۱۲۳ سانتریفیوژ شدند. مایع حذف گردید و به مواد باقیمانده ۷۰۰ میکرولیتر محلول DR2 افزوده شد. پس از طی دو مرحله دیگر سانتریفیوژ مواد باقیمانده، ۱۰۰ میکرولیتر محلول DR3 به مواد اضافه و مجددا سانتریفیوژ گردید. کیفیت و خلوص RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ بررسی شد. RNA تام به مقادیر کمتر تقسیم و تا زمان سنتز cDNA در فریزر نگه‌داری گردید.

سنتز cDNA با استفاده از کیت پارس توس ساخت کشور ایران و طبق دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. به هر میکروتیوب، زیرهودلامینار، به ترتیب به مقدار ۲ میکرولیتر RNA تام، ۱ میکرولیتر رندوم هگزامر و ۷ میکرولیتر آب مقطر افزوده شد. محلول حاصل ابتدا به مدت پنج دقیقه در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و پس از سرد شدن Rtprimer 2x اضافه گردید و به ترتیب ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ٦٠ دقیقه در دمای ٤٧ درجه سانتی‌گراد و در آخر ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بدین‌ترتیب cDNA سنتز و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام PCR نگه‌داری شد.

برای انجام RT-PCR از میکروتیوب‌های مخصوص RT-PCR، آماده مصرف micro ti- ABI استفاده شد. در زیر هود لامینار، به هر یک از میکروتیوب‌های ذکر شده به مقدار ۱۰ میکرولیتر مستر میکس سایبرگرین، ۰/٤ میکرولیتر رنگ

i-Ataka

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

زمینه Rox، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت، ۱ میکرولیتر cDNA و ۷/٦ میکرولیتر آب مقطر افزوده شد. حجم واکنش Real time PCR، ۲۰ میکرولیتر بود. پس از انجام مراحل فوق میکروتیوب‌ها در دستگاه Step one Real time PCR-ABI ٤٨ تایی (ABI، امریکا) قرار گرفت و برنامه دمائی مطابق جدول شماره یک برای ژن‌هایTSPO و GAPDH تعریف و انجام شد. توالی‌های اولیگونوکلئوتیدی ویژه که بعنوان پرایمرهایTSPO و GAPDH استفاده شدند و محصولات حاصل از تشدید ژنی به شرح جدول شماره دو بود.[۱۹،۲۰]

جدول ۱- سیکل دمائیq-RT-PCR

مدت زمان (ثانیه)	دما (درجه سانتی‌گراد)		تعداد سیکل
۳۰۰ (واسرشت اولیه)	۹٤		۱
۳۰ (واسرشت در ابتدای هر سیکل)	۹٤		۳۵
۳۰ (اتصال پرایمرها)	۵۸	TSPO	
	۵۹	GAPDH	
۳۰ (گسترش در پایان هر سیکل)	۷۲		
٤۲۰ (گسترش نهائی)	۷۲		۱

جدول ۲- مشخصات پرایمرهای استفاده شده

پرایمر	توالی (از چپ به راست در جهت ´۵ به ´۳)	طول قطعه ژنی حاصل (bp)	مرجع انتخاب پرایمر
TSPO	(F): AGAGCTGGGAGGTTTCACA (R): CCAGGCCAGGTAAGGATACA	۲۲۳	۱۹
GAPDH	(F): AAGAAGGTCGTCAAGCAGGCATC (R): CGAAGGTGGAAGAGTGGGAGTTG	۱۱۲	۱۸

(F): Forward; (R): Reverse

داده‌های بدست آمده از Real time، در فرمول زیر قرار داده شد و در نهایت میزان بیان نسبی ژن‌ها در هر گروه با مقیاس "مرتبه‌ی تغییر"[i] بدست آمد. ابتدا میانگین ct ژن تک تک گروه‌ها بدست آورده شد، سپس با فرمول زیر، مقدار Δct محاسبه شد. در اینجا Δct_1 مربوط به گروه‌های قبل از تیمار و مربوط به گروه‌های بعد تیمار می‌باشد. در انتها از (گروه کنترل)، میانگین گرفته و مقدار تک تک از مقدار کم می‌شود و مقدار ΔΔct به دست می‌آید. نهایتاً برای بدست آوردن میزان نهائی بیان ژن، عدد ۲ به توان منفیΔΔct می‌رسد.

$$\Delta ct_1 = ct - ct_{H\cdot K}$$
$$\Delta ct_2 = ct - ct_{H\cdot K}$$
$$\Delta\Delta ct = \Delta ct_1 - \Delta ct_2$$

میزان بیان ژن $= 2^{-\Delta\Delta ct}$

ارزیابی ریخت‌شناسی بافتی بیضه

مقاطع میکروسکوپی بافت بیضه پس از انجام مراحل پاساژ بافتی و برش‌گیری تهیه و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی گردید. پس از انجام مطالعات کیفی بر روی مقاطع بافتی، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، ارتفاع اپی‌تلیوم زایا و ضخامت کپسول بیضه، تعداد سلول‌های لیدیگ، تعداد سلول‌های سرتولی، ضرایب اسپرمیوژنز و تمایز لوله‌ای در مقاطع بافتی مورد بررسی قرار گرفت.

i-Fold change

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز: لوله‌های اسپرم‌ساز در هر برش عرضی به صورت تصادفی انتخاب و قطر کوچک و قطر بزرگ لوله‌ها با استفاده از عدسی مدرج چشمی اندازه‌گیری شد. عدسی مدرج، به ۱۰ واحد کوچک تقسیم می‌شود که هر یک از این واحدها خود به ۱۰ واحد کوچکتر تقسیم می‌گردند. پس از اندازه‌گیری، عدد حاصل در ضریب مخصوص که برای هر عدسی شیئی متفاوت است، ضرب شد و اندازه‌ی نهایی بر حسب میکرومتر با استفاده از فرمول مقابل محاسبه گردید (بزرگ‌نمائی ۴۰×): میانگین قطر لوله= مجذور (قطر کوچک* قطر بزرگ*ضریب عدسی).

اندازه‌گیری ارتفاع اپی‌تلیوم زایا و ضخامت کپسول بیضه: ارتفاع اپیتلیوم زایا در لوله‌های اسپرم‌ساز و ضخامت کپسول بیضه با استفاده از خط‌کش اکولری (گراتیکول) اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میکرومتر و با اعمال ضریب عدسی شیئی (۴۰×) محاسبه گردید.[۲۱]

تعیین ضریب اسپرمیوژنز[i] (SPI): برای این منظور لوله‌های اسپرم‌سازی که در داخل لومن خود دارای اسپرماتوزوآ بودند به عنوان لوله‌هایی با اندیس اسپرمیوژنز مثبت و آن دسته از لوله‌هایی را که دارای لومن خالی از اسپرماتوزوآ بودند به عنوان لوله‌هایی با اندیس منفی در نظر گرفته شدند. به منظور تعیین ضریب اسپرمیوژنز، از هر مقطع بافتی ۱۰۰ لوله اسپرم‌ساز به صورت تصادفی با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ بررسی شدند و نتایج به صورت درصد لوله‌های با اندیس اسپرمیوژنز مثبت گزارش شد.[۲۲]

تعیین ضریب تمایز لوله‌ای[ii] (TDI): بدین منظور، ۱۰۰ لوله اسپرم‌ساز به ازای هر مقطع بافت بیضه در گروه‌های آزمایشی به صورت تصادفی با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ بررسی شد و درصد لوله‌های اسپرم‌سازی که بیشتر از سه رده سلول‌های اسپرماتوژنز تمایز یافته از سلول‌های اسپرماتوگونی نوع A داشتند، محاسبه گردید.[۲۳]

سنجش غلظت تستوسترون

سرم‌های جمع‌آوری شده پس از خروج از دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و دفریز شدن جهت سنجش سطوح تستوسترون مورد استفاده قرار گرفت. غلظت تستوسترون سرم با استفاده از کیت سنجش تستوسترون انسانی RIA KIT (I-125) (#RK-61M، شرکت Institute of Isotopes، مجارستان) با حساسیت ۰/۱۸ نانومول بر لیتر معادل ۰/۰۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر[۲۴] و روش رادیو ایمونواسی طبق دستورالعمل کیت (ضریب تغییرات درون سنجش و برون سنجش به ترتیب ۵/۴ ٪ و ۶/۳ ٪) اندازه‌گیری شد.

محاسبات آماری

مقایسه تمامی داده‌ها در بین گروه‌ها توسط نرم‌افزار SPSS (Version 19.00)، آزمون ANOVA یک طرفه و پس‌آزمون توکی صورت پذیرفت. تمامی داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان گردید و مقدار $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

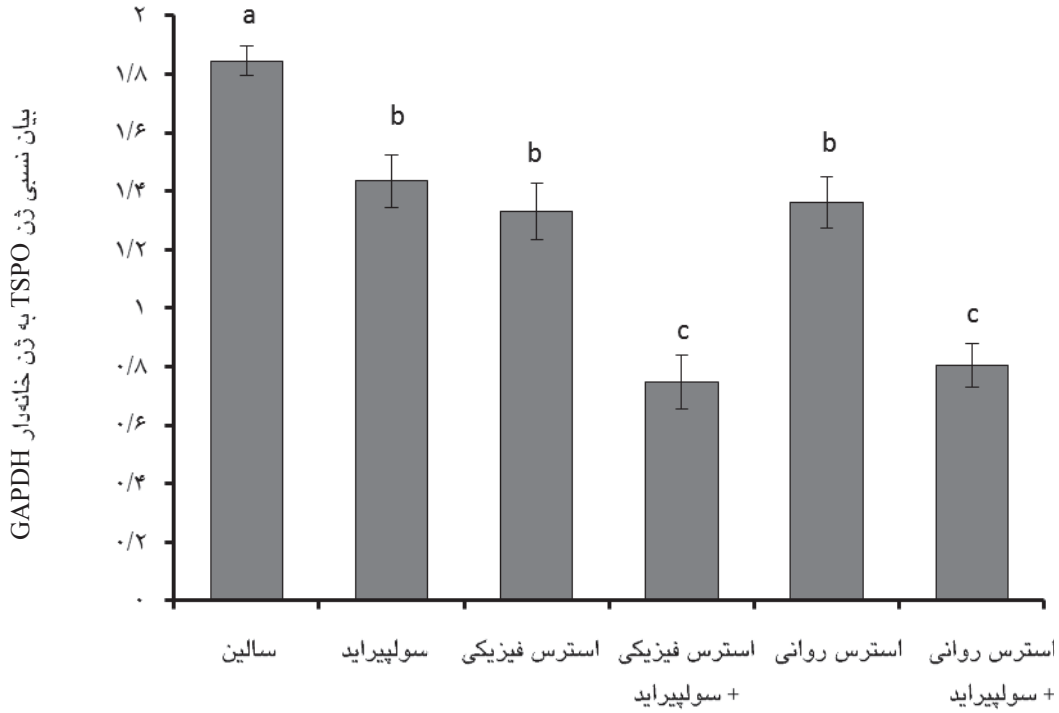
یافته‌ها

طبق نمودار شماره یک، اعمال هر دو نوع استرس فیزیکی (p=۰/۰۳۴) یا روانی (p=۰/۰۳۹) بطور معنی‌دار بیان ژن TSPO را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. تجویز سولپیراید به موش‌های سالم به طور معنی‌دار (p=۰/۰۴۱) باعث کاهش بیان ژن TSPO در مقایسه با گروه کنترل گردید. هم‌چنین تیمار گروه‌های تحت استرس فیزیکی یا روانی با سولپیراید به طور معنی‌دار در مقایسه با گروه‌های تحت استرس فیزیکی (p=۰/۰۲۶) یا روانی (p=۰/۰۳۰) دریافت‌کننده‌ی سالین باعث کاهش بیان ژن TSPO شد. هیچ تفاوت معنی‌داری در شاخص مورد بررسی بین گروه‌های استرس فیزیکی و روانی مشاهده نشد (p=۰/۸۷۵) (نمودار ۱).

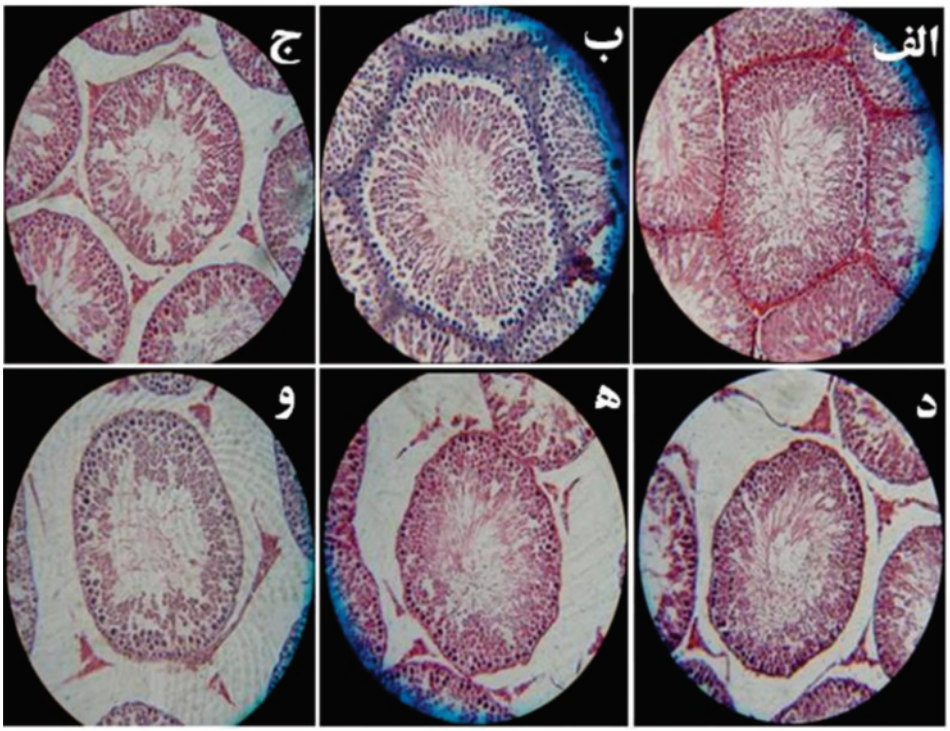
مطابق شکل شماره یک، لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه کنترل سالین به صورت فشرده و منظم در کنار هم قرار گرفته‌اند و در داخل لوله‌ها، سلول‌های اسپرماتوژنیک به صورت طبیعی مشاهده می‌شوند و ضریب تمایز لوله‌ای (TDI) و ضریب اسپرمیوژنز (SPI) در اکثر لوله‌ها مثبت می‌باشد. اما بررسی بافت بیضه گروه‌هایی که سولپیراید دریافت کرده بودند و هم‌چنین گروه‌هایی که در معرض استرس بوده‌اند، نشان داد که لومن مرکزی در اغلب لوله‌ها، نامتقارن، اغلب خالی و فاقد سلول بالغ می‌باشند که حاکی از اختلال در فرایند اسپرماتوژنز می‌باشد. در گروه‌های استرس فیزیکی و روانی دریافت‌کننده‌ی سالین یا سولپیراید، اکثر لوله‌های اسپرم‌ساز دارای حالت TDI منفی بوده و کاهش چشمگیری در تعداد لایه‌های سلولی اسپرم‌ساز مشاهده شد. هم‌چنین تخریب، عدم انسجام و بهم‌ریختگی اپی‌تلیوم و افزایش بافت بینابینی نیز مشاهده گردید (شکل ۱).

i-Spermiation Index (SPI)
ii-Tubule Differentiation Index (TDI)

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]



نمودار ۱- مقایسه میزان بیان نسبی ژن TSPO در بافت بیضه گروه‌های مختلف آزمایشی. گروه‌هایی که هیچ حرف مشابهی نگرفته‌اند دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند ($p<0/05$) و گروه‌هایی که حتی یک حرف مشابه با هم گرفته‌اند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند ($p>0/05$). داده‌ها بصورت Mean ±SEM گزارش شده‌اند.



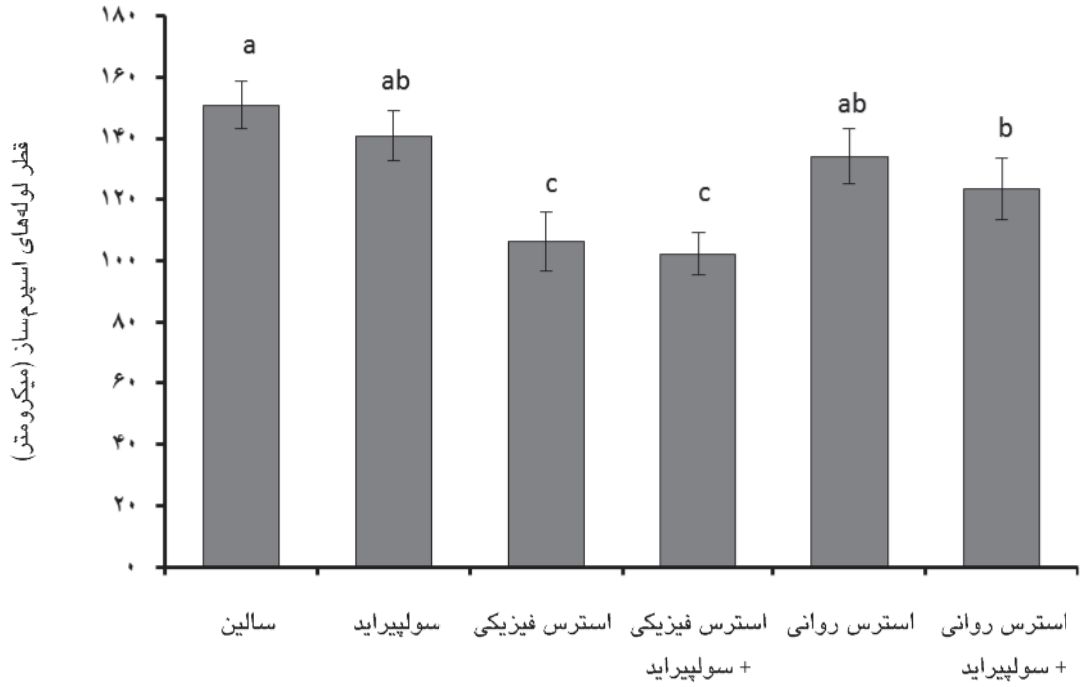
شکل۱- برش عرضی از بافت بیضه با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین با بزرگ‌نمایی ۴۰۰× در گروه‌های کنترل (سالین) (الف)، استرس روانی (ب)، استرس فیزیکی (ج)، سولپیراید (د)، استرس روانی دریافت‌کننده‌ی سولپیراید (ه) استرس فیزیکی دریافت‌کننده‌ی سولپیراید (و). در گروه کنترل لوله‌های اسپرم‌ساز با انسجام بیشتر و SPI و TDI مثبت مشاهده شد. در گروه‌های استرس فیزیکی و روانی دریافت‌کننده‌ی سالین یا سولپیراید بافت بینابینی و لوله‌های اسپرم‌ساز مشاهده شد.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

قطر لوله‌های اسپرم‌ساز

طبق نمودار شماره دو، اعمال هر دو نوع استرس فیزیکی یا روانی سبب کاهش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در مقایسه با گروه کنترل گردید؛ با این وجود فقط استرس فیزیکی در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نشان داد (p=۰/۰۴۲) و گروه استرس روانی تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل نداشت (p=۰/۳۵٤). تجویز سولپیراید به موش‌های سالم باعث کاهش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در مقایسه با گروه کنترل گردید اما این کاهش معنی‌دار نبود (p=۰/٦۷۲). هم‌چنین تیمار گروه‌های تحت استرس فیزیکی یا روانی با سولپیراید به طور غیرمعنی‌دار به ترتیب در مقایسه با گروه‌های تحت استرس فیزیکی (p=۰/۸۸۱) یا روانی (p=۰/٦۳۵) دریافت‌کننده‌ی سالین باعث کاهش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز شد. بین گروه‌های استرس فیزیکی و روانی تفاوت معنی‌دار در شاخص مورد بررسی وجود داشت (p=۰/۰۳۹) به طوری که استرس فیزیکی بیشتر از استرس روانی سبب کاهش معنی‌دار قطر لوله‌های اسپرم‌ساز گردید (نمودار ۲).



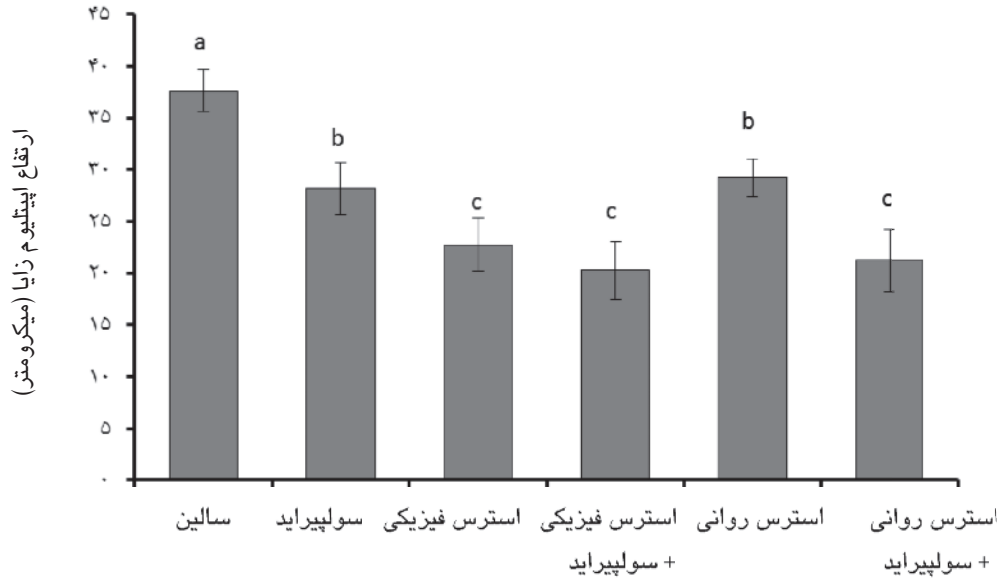
نمودار ۲- مقایسه قطر لوله‌های اسپرم‌ساز درگروه‌های مختلف آزمایشی. گروه‌هایی که هیچ حرف مشابهی نگرفته‌اند دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند (p<۰/۰۵) و گروه‌هایی که حتی یک حرف مشابه با هم گرفته‌اند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند (p>۰/۰۵). داده‌ها بصورت Mean ±SEM گزارش شده‌اند.

ارتفاع اپیتلیوم زایا

طبق نمودار شماره سه، اعمال هر دو نوع استرس فیزیکی (p=۰/۰۰۹) یا روانی (p=۰/۰۲۹) سبب کاهش معنی‌دار ارتفاع اپیتلیوم زایا در مقایسه با گروه کنترل گردید. تجویز سولپیراید نیز به موش‌های سالم باعث کاهش ارتفاع اپیتلیوم زایا در مقایسه با گروه کنترل گردید (p=۰/۰۱۵). هم‌چنین تیمار گروه‌های تحت استرس فیزیکی یا روانی با سولپیراید به ترتیب در مقایسه با گروه‌های تحت استرس فیزیکی (p=۰/۰۷۳) یا روانی (p=۰/۰٤۷) دریافت کننده‌ی سالین باعث کاهش ارتفاع اپیتلیوم زایا شد؛ با این وجود این مقدار کاهش فقط بین گروه‌های استرس روانی دریافت‌کننده‌ی سالین و سولپیراید معنی‌دار بود (p=۰/۰٤۷). بین گروه‌های استرس فیزیکی و روانی تفاوت معنی‌دار در شاخص مورد بررسی مشاهده شد (p=۰/۰۵۰) به طوری که استرس فیزیکی بیشتر از استرس روانی سبب کاهش معنی‌دار ارتفاع اپیتلیوم زایا گردید (نمودار ۳).

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

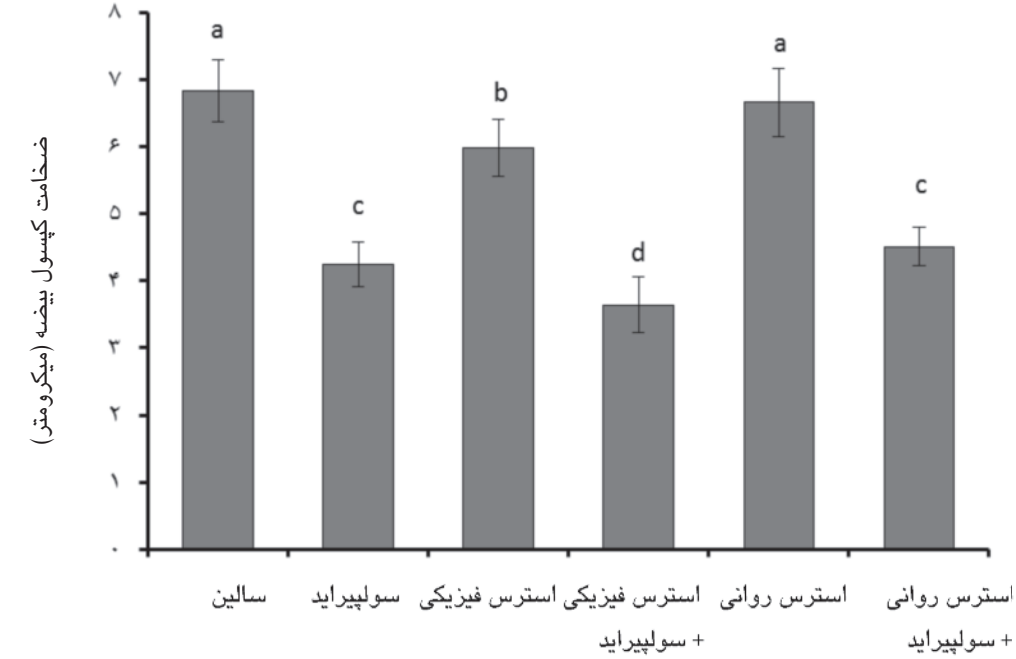
[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]



نمودار ۳- مقایسه ارتفاع اپیتلیوم زایا درگروه‌های مختلف آزمایشی. گروه‌هایی که هیچ حرف مشابهی نگرفته‌اند دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند ($p<0/05$) و گروه‌هایی که حتییک حرف مشابه با هم گرفته‌اند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند ($p>0/05$). داده‌ها بصورت Mean ±SEM گزارش شده‌اند.

ضخامت کپسول بیضه

طبق نمودار شماره چهار، اعمال هر دو نوع استرس فیزیکی یا روانی سبب کاهش ضخامت کپسول بیضه در مقایسه با گروه کنترل گردید؛ اما این کاهش فقط در گروه استرس فیزیکی تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل داشت ($p=0/045$) و گروه استرس روانی با گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نداشت ($p=0/072$). تجویز سولپیراید به موش‌های سالم باعث کاهش معنی‌دار ضخامت کپسول بیضه در مقایسه با گروه کنترل گردید ($p=0/007$). هم‌چنین تیمار گروه‌های تحت استرس فیزیکی یا روانی با سولپیراید باعث کاهش معنی‌دار ضخامت کپسول بیضه به ترتیب در مقایسه با گروه‌های تحت استرس فیزیکی ($p=0/009$) یا روانی ($p=0/008$) دریافت‌کننده‌ی سالین شد. بین گروه‌های استرس فیزیکی و روانی تفاوت معنی‌دار در ضخامت کپسول بیضه مشاهده شد ($p=0/046$) به طوری که استرس فیزیکی بیشتر از استرس روانی سبب کاهش معنی‌دار ضخامت کپسول بیضه گردید (نمودار ٤).



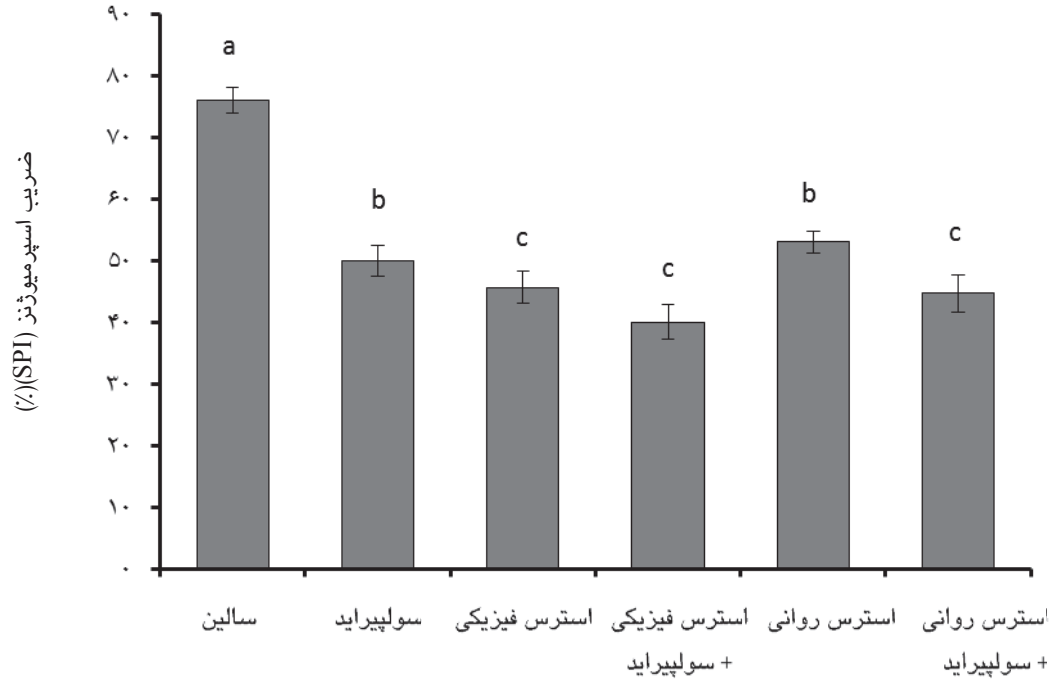
نمودار ۴- مقایسه ضخامت کپسول بیضه درگروه‌های مختلف آزمایشی. گروه‌هائی که هیچ حرف مشابهی نگرفته‌اند دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند ($p<0/05$) و گروه‌هائی که حتی یک حرف مشابه با هم گرفته‌اند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند ($p>0/05$). داده‌ها بصورت Mean ±SEM گزارش شده‌اند.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

ضریب اسپرمیوژنز (SPI)

طبق نمودار شماره پنج، اعمال هر دو نوع استرس فیزیکی (p=۰/۰۳۷) یا روانی (p=۰/۰٤٦) سبب کاهش معنی‌دار ضریب اسپرمیوژنز در مقایسه با گروه کنترل گردید. تجویز سولپیراید نیز به موش‌های سالم باعث کاهش معنی‌دار ضریب اسپرمیوژنز در مقایسه با گروه کنترل گردید (p=۰/۰٤۱). هم‌چنین تیمار گروه‌های تحت استرس فیزیکی یا روانی با سولپیراید باعث کاهش ضریب اسپرمیوژنز به ترتیب در مقایسه با گروه‌های تحت استرس فیزیکی یا روانی دریافت‌کننده‌ی سالین شد؛ با این وجود این کاهش فقط بین گروه‌های استرس روانی معنی‌دار بود (p=۰/۰۵۰) و تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های استرس فیزیکی وجو نداشت (p=۰/۱۲۷). بین گروه‌های استرس فیزیکی و روانی تفاوت معنی‌دار در ضریب اسپرمیوژنز مشاهده شد (p=۰/۰۳۸) به طوری که استرس فیزیکی بیشتر از استرس روانی سبب کاهش معنی‌دار ضریب اسپرمیوژنز گردید (نمودار ۵).



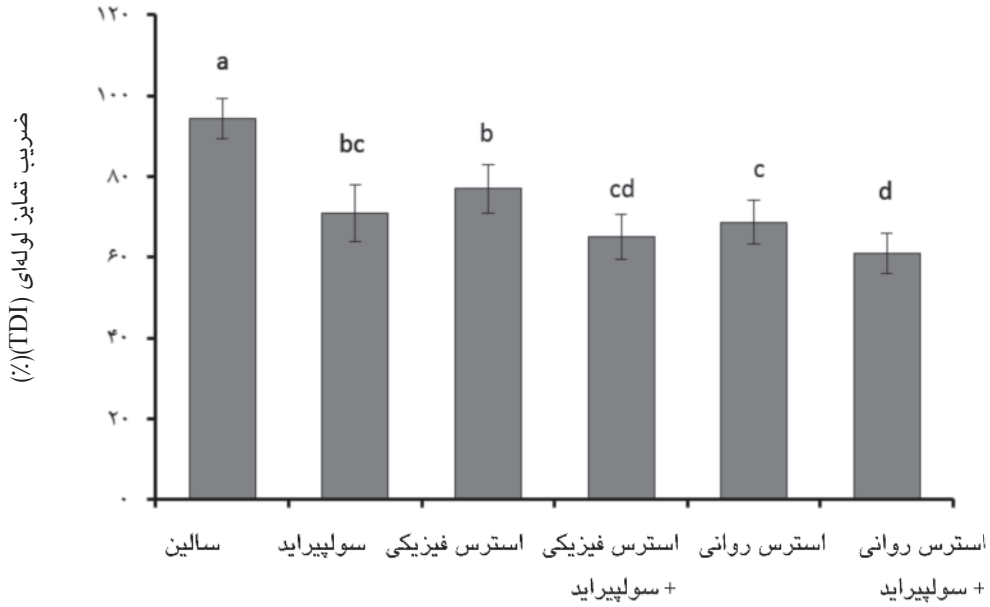
نمودار ۵- مقایسه ضریب اسپرمیوژنز درگروه‌های مختلف آزمایشی. گروه‌هایی که هیچ حرف مشابهی نگرفته‌اند دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند (p<۰/۰۵) و گروه‌هایی که حتی یک حرف مشابه با هم گرفته‌اند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند (p>۰/۰۵). داده‌ها بصورت Mean ±SEM گزارش شده‌اند.

ضریب تمایز لوله‌ای (TDI)

طبق نمودار شماره شش، اعمال هر دو نوع استرس فیزیکی (p=۰/۰۳۵) یا روانی (p=۰/۰۱۲) سبب کاهش معنی‌دار ضریب تمایز لوله‌ای در مقایسه با گروه کنترل گردید. تجویز سولپیراید نیز به موش‌های سالم باعث کاهش معنی‌دار ضریب تمایز لوله‌ای در مقایسه با گروه کنترل گردید (p=۰/۰۲۵). هم‌چنین تیمار گروه‌های تحت استرس فیزیکی یا روانی با سولپیراید باعث کاهش معنی‌دار ضریب تمایز لوله‌ای به ترتیب در مقایسه با گروه‌های تحت استرس فیزیکی (p=۰/۰۳٤) یا روانی (p=۰/۰٤۵) دریافت‌کننده‌ی سالین شد. بین گروه‌های استرس فیزیکی و روانی تفاوت معنی‌دار در ضریب تمایز لوله‌ای مشاهده شد (p=۰/۰۳٦) به طوری که استرس روانی بیشتر از استرس فیزیکی سبب کاهش معنی‌دار ضریب تمایز لوله‌ای گردید (نمودار ٦).

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

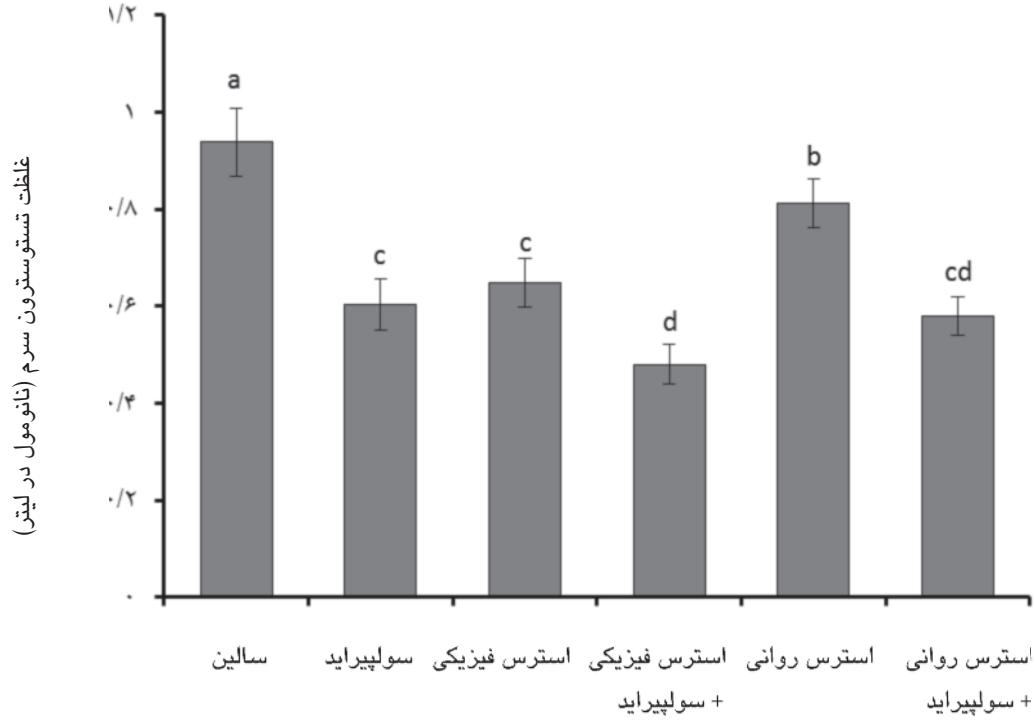
[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]



نمودار ۶- مقایسه ضریب تمایز لوله‌ای درگروه‌های مختلف آزمایشی. گروه‌هایی که هیچ حرف مشابهی نگرفته‌اند دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند (p<۰/۰۵) و گروه‌هایی که حتی یک حرف مشابه با هم گرفته‌اند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند (p>۰/۰۵). داده‌ها بصورت Mean ±SEM گزارش شده‌اند.

غلظت سرمی تستوسترون

طبق نمودار شماره هفت، اعمال هر دو نوع استرس فیزیکی (p=۰/۰۰٤) یا روانی (p=۰/۰۱۹) سبب کاهش معنی‌دار غلظت سرمی تستوسترون در مقایسه با گروه کنترل گردید. تجویز سولپیراید نیز به موش‌های سالم باعث کاهش معنی‌دار غلظت سرمی تستوسترون در مقایسه با گروه کنترل گردید (p=۰/۰۰۳). هم‌چنین تیمار گروه‌های تحت استرس فیزیکی یا روانی با سولپیراید باعث کاهش معنی‌دار غلظت سرمی تستوسترون به ترتیب در مقایسه با گروه‌های تحت استرس فیزیکی (p=۰/۰۳٦) یا روانی (p=۰/۰۱۳) دریافت‌کننده‌ی سالین شد. بین گروه‌های استرس فیزیکی و روانی تفاوت معنی‌دار در غلظت سرمی تستوسترون مشاهده شد (p=۰/۰۲۷) به طوری که استرس فیزیکی بیشتر از استرس روانی سبب کاهش تستوسترون گردید (نمودار ۷).



نمودار ۷- مقایسه غلظت سرمی تستوسترون در گروه‌های مختلف آزمایشی. گروه‌هائی که هیچ حرف مشابهی نگرفته‌اند دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند (p<۰/۰۵) و گروه‌هایی که حتی یک حرف مشابه با هم گرفته‌اند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند (p>۰/۰۵). داده‌ها بصورت Mean ±SEM گزارش شده‌اند.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

بحث

در این مطالعه اثر استرس روانی یا فیزیکی و تجویز داروی آنتی‌سایکوتیک سولپیراید به عنوان مهارکننده‌ی گیرنده D2 دوپامینی بر بیان ژن پروتئین ترانسلوکاتور (TSPO) و بر شاخص‌های ریخت‌شناسی بافتی در بیضه‌ی موش‌های صحرائی مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین غلظت سرمی تستوسترون بعنوان هورمون گنادی جنس نر که رابطه مستقیمی با میزان فعالیت پروتئین TSPO در بیضه دارد[۲۵] اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل نشان دادند که هر دو نوع استرس فیزیکی و روانی موجب کاهش چشمگیر بیان TSPO، آسیب به بافت بیضه، کاهش تعداد لایه‌های سلول‌های اسپرم‌ساز و کاهش سطوح سرمی تستوسترون در مقایسه با موش‌های کنترل شدند. تجویز سولپیراید به موش‌های سالم و تحت استرس علاوه بر کاهش شدید تعداد سلول‌های زایا، باعث تخریب هر چه بیشتر بافت بیضه و کاهش هر چه بیشتر TSPO و تستوسترون گردید.

پیش از این اثرات سوء استرس مزمن بر ساختار و عملکرد غدد جنسی موش‌های صحرائی نر نشان داده شده است.[۲۶] نیشیمورا و همکاران نشان دادند که استرس باعث اختلال در عملکرد سلول‌های اسپرماتوژنز و از بین رفتن لایه سلول‌های اسپرماتوژنیک در بیضه می‌شود.[۲۷] استرس بواسطه‌ی تحریک بیان ژن‌های آپوپتوتیک در بیضه منجر به آسیب سلول‌های این بافت و کاهش تولید و ترشح تستوسترون می‌شود.[۲۸] علاوه بر این، استرس مزمن باعث فعال شدن محور HPA و افزایش ترشح هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی می‌گردد؛ این هورمون‌ها نیز به نوبه خود سبب مهار فعالیت محور HPG و در نهایت منجر به کاهش تولید و ترشح تستوسترون و اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز می‌گردند.[۸،۲۶] علاوه بر این، گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی بر روی سلول‌های لیدیگ حضور دارند و تحت تأثیر مستقیم استرس دچار کاهش فعالیت و باعث کاهش ترشح تستوسترون می‌شوند.[۲۹] تستوسترون برای پیشبرد تکثیر سلول‌های جنسی و تولید اسپرم بالغ ضروری است.[۲۷] لذا استرس با اثر بر ترشح تستوسترون بر روند تولید اسپرم نیز مؤثر خواهد بود. همچنان‌که در مطالعه حاضر مشاهده شد مطابق با مطالعات پیشین اعمال استرس مزمن در موش‌های صحرائی علاوه بر تحلیل بافت بیضه و افزایش فضاهای میان‌بافتی، کاهش ضخامت کپسول بیضه و کاهش ارتفاع اپیتلیوم زایا در لوله‌های اسپرم‌ساز، از طریق کاهش ترشح تستوسترون تأثیر منفی بر تولید و تمایز اسپرم گذاشت.

علاوه بر این، در مطالعه حاضر اثر استرس فیزیکی و روانی بر میزان بیان TSPO مورد بررسی قرار گرفت. TSPO تقریبا در تمام بافت‌های بدن و به مقدار بیشتر در بافت‌های سنتزکننده‌ی استروئید مانند قشر آدرنال و گنادها بیان می‌شود.[۳۰] TSPO با میل ترکیبی بالا به کلسترول متصل می‌شود و ورود آن را به داخل میتوکندری میانجیگری می‌کند که مرحله کلیدی (محدود کننده‌ی سرعت) در تولید استروئیدها بشمار می‌رود.[۳۰] در مطالعه حاضر نشان داده شد که اعمال هر دو نوع استرس فیزیکی یا روانی سبب کاهش بیان ژن TSPO در بیضه گردید. پیش از این اثر استرس اعم از فیزیکی یا روانی بر بیان ژن TSPO مورد بررسی قرار نگرفته بود. TSPO به میزان قابل توجهی در قشر آدرنال بیان می‌شود.[۳۰] قشر آدرنال محل سنتز هورمون‌های استروئیدی گلوکوکورتیکوئیدها و مینرالوکورتیکوئیدها است که برای رشد پستانداران، پاسخ به استرس، عملکرد ایمنی و عملکرد مغز بسیار مهم است. افزایش TSPO رابطه مستقیمی با افزایش تولید و ترشح استروئیدهای آدرنالی دارد[۳۱،۳۲] و اختلال در بیان ژن TSPO باعث کاهش پاسخ قشر آدرنال به هورمون آدرنرژیک (ACTH) و کاهش ترشح کورتیکواستروئیدها می‌شود؛[۳۳،۳۴] بنابراین، احتمال می‌رود که افزایش ترشح کورتیکوستروئیدها در طی استرس فیزیکی یا روانی تأثیر فیدبک منفی بر میزان بیان TSPO داشته باشد. با این وجود، پی بردن به مکانیسم دقیق تاثیر استرس بر TSPO نیازمند طراحی مطالعات مبتنی بر بررسی اثرات تجویز کورتیکوستروئیدها بر بیان و فعالیت TSPO می‌باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که لیگاندهای داروئیTSPO قادر به فعال کردن سلول‌های لیدیگ برای تولید تستوسترون و سایر استروئیدها می‌باشند.[۳۱،۳۲]جهش در ژن TSPO در مدل موش آزمایشگاهی منجر به تجمع کلسترول استری در میتوکندری و سیتوزول و کاهش تولید تستوسترون پایه می‌شود.[۲۷] بنابراین ممکن است کاهش بیان TSPO به دنبال استرس، از دیگر دلایل کاهش سطح تستوسترون در موش‌های تحت استرس فیزیکی یا روانی باشد.

هم‌چنین، نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که تجویز داروی سولپیراید به موش‌های سالم یا موش‌های

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

تحت استرس، علاوه بر اثرات سوء بر بافت بیضه، تأثیر منفی بر بیان TSPO در این بافت داشت و باعث کاهش هر چه بیشتر بیان این ژن در مقایسه با موش‌های کنترل گردید. طبق مطالعات انجام شده استرس می‌تواند سبب بروز عوارض متعدد روحی روانی اعم از افسردگی و اضطراب شود.[۵] داروهای ضد روان‌پریشی (آنتی‌سایکوتیک) که گیرنده‌های دوپامینی را هدف قرار می‌دهند، گزینه‌ای برای کنترل عوارض ناشی از استرس می‌باشد.[۹،۳۳] پیش از این نشان داده شده است که داروهای ضد روان‌پریشی مسدودکننده گیرنده D2 به دلیل القای هایپرپرولاکتینمی منجر به اختلال در عملکرد جنسی می‌شوند.[۲۶] پرولاکتین با مهار ترشح هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) باعث کاهش تولید و ترشح گنادوتروپین‌ها و تستوسترون و اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز می‌شود.[۲۶] بنابراین مصرف برخی آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی D2 دوپامین مانند سولپیراید با عوارض جانبی جنسی و اختلالات تولید مثلی همراه است؛ این داروها در مردان باعث اختلال در میل جنسی، اختلال در نعوظ و تأخیر در انزال می‌شوند.[۳۳،۳۴] سولپیراید از جمله داروهای ضد روان‌پریشی است که امروزه توسط اغلب بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی، افسردگی، اضطراب و زخم دوازدهه مورد استفاده قرار می‌گیرد.[۳۳،۳۴] سولپیراید با مهار گیرنده D2 دوپامینی در توبروانفاندیبولار اثر مهاری دوپامین بر ترشح پرولاکتین را از بین می‌برد.[۱۶] مصرف مداوم سولپیراید از طریق القای هیپرپرولاکتینمی منجر به هیپوگنادی، اختلالات تولیدمثلی و اختلالات اسپرمی می‌شود.[۱۶] از سوی دیگر مهار گیرنده‌های D2 دوپامینی باعث افزایش ترشح دوپامین و تشدید انتقال پیام مسیرهای دوپامینرژیک می‌شود.[۳۵] نشان داده شده است که افزایش غلظت دوپامین بصورت موضعی منجر به القای استرس اکسیداتیو می‌گردد.[۳۵] دوپامین بعلت داشتن گروه‌های هیدروکسیل، مستعد تولید ماده بسیار فعال دوپامین کینون می‌باشد که تولید رادیکال‌های فعال به روش آنزیمی و اتواکسیداسیونی را افزایش می‌دهد.[۳۵] نشان داده‌اند که تجویز سولپیراید با افزایش انتقال پیام مسیرهای دوپامینرژیک سبب کاهش محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز می‌گردد.[۱۶] لذا تجویز سیستمیک سولپیراید، مشابه آنچه که در مطالعه حاضر انجام شد، ممکن است در بافت‌هائی مانند مغز و بیضه که گیرنده‌ی D2 دوپامینی را دارند سبب تشدید انتقال پیام دوپامین و افزایش فرآیندهای اکسیداتیو و آسیب موضعی در آن بافت‌ها شود. با این وجود، مقدار طبیعی دوپامین برای فعالیت‌های طبیعی اندام‌های تولیدمثلی لازم و مفید می‌باشد.[۳۶] طبق مطالعات قبلی، گیرنده D2 دوپامین در مایع منی و اسپرم و در تخمدان حضور دارد.[۳۶] حضور گیرنده‌های D2 در سلول‌های جوانه‌زای نر حاکی از نقش‌های جدید و غیرمترقبه برای انتقال پیام دوپامین در فیزیولوژی بیضه و اسپرم است.[۳۶،۳۷] نشان داده شده است که دوپامین در غلظت‌های پائین از طریق فعال کردن گیرنده‌های D2 اثرات محافظتی بر روی اسپرم و پیشبرد لقاح دارد.[۳۷] در حالی که مسدود کردن گیرنده‌های D2 دوپامین، که به دنبال تجویز آنتاگونیست این گیرنده‌ها مانند سولپیراید اتفاق می‌افتد از طریق افزایش ترشح دوپامین باعث کاهش فسفوریلاسیون تیروزین و اختلالات اسپرمی و القای استرس اکسیداتیو می‌شود.[۳۸] در خصوص تأثیر دوپامین و نقش گیرنده‌های آن در سنتز یا فعالیت TSPO اطلاعاتی در دست نیست. در مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داده شد که مهار گیرنده‌های D2 دوپامینی توسط سولپیراید سبب کاهش بیان TSPO در موش‌های سالم و موش‌های تحت استرس گردید. گونگ و همکاران نشان داده‌اند که اماپونیل، لیگاند صناعی TSPO، بطور معنی‌داری از حذف شدن و مرگ نرون‌های دوپامینرژیک در موش‌های مبتلا به پارکینسون می‌کاهد.[۳۹] به این ترتیب که فعالیت پروتئین ترانسلوکاتور (TSPO) اولاً از طریق مهار پاسخ به پروتئین‌های آنفولد و ثانیا از طریق کاهش استرس سلولی و کاهش آپوپتوز سبب افزایش غلظت دوپامین می‌شود و از پیشرفت علائم پارکینسون جلوگیری می‌کند.[۳۹] بر اساس آن مطالعه، فعالیت طبیعی TSPO برای تداوم ترشح دوپامین از نرون‌های دوپامینرژیک مؤثر است[۳۹] اما تاکنون تأثیر تغییرات غلظت دوپامین مشابه حالتی که سولپیراید تجویز می‌شود بر میزان بیان یا فعالیت TSPO مورد بررسی قرار نگرفته است. در مطالعه حاضر برای اولین بار کاهش بیان TSPO بدنبال تجویز سولپیراید نشان داده شد که احتمال دارد ناشی از اثرات فیدبکی افزایش دوپامین به دنبال تجویز سولپیراید بر بیان ژن TSPO باشد. طراحی مطالعاتی که ارتباط دقیق بین سیستم دوپامینرژیک و TSPO را آشکار کند می‌تواند چشم‌انداز جدیدی در کنترل و درمان طیفی از بیماری‌های نوروانداوکرینولوژیک ایجاد نماید.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

در مجموع بر اساس مطالعه صورت گرفته می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اعمال استرس فیزیکی یا روانی باعث آسیب زدن به بافت بیضه و لوله‌های اسپرم‌ساز، کاهش بیان پروتئین انتقال‌دهنده‌ی کلسترول به میتوکندری (TSPO) در بیضه و کاهش تستوسترون گردید؛ استرس روانی تقریبا به همان اندازه استرس فیزیکی اثرات مخرب بر ساختار و عملکرد بیضه داشت. استفاده از سولپیراید به تنهائی یا هم‌زمان با استرس سبب افزایش هر چه بیشتر تخریب در بافت بیضه و کاهش هر چه بیشتر بیان TSPO و سطح سرمی تستوسترون گردید. بودجه محدود برای بررسی اثرات سایر آنتی‌دپرسانت‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامین، تعداد محدود موش‌های مورد بررسی در هر گروه و محدودیت تعداد مقالات پژوهشی پیشین در خصوص اثرات متقابل دوپامین و TSPO از جمله مهم‌ترین محدودیت‌های پژوهشی مطالعه حاضر بود. در ادامه این تحقیق، طراحی مطالعات مبتنی بر بررسی اثرات تجویز کورتیکوستروئیدها و سایر آنتاگونیست‌ها و آگونیست‌های دوپامین بر بیان و فعالیت TSPO پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری: این مطالعه از محل بودجه اختصاص یافته به پایان‌نامه کارشناسی ارشد آقای حسینعلی محمودی در دانشگاه ارومیه انجام گردید. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه جناب آقای دکتر بهرام دلیر نقده به خاطر همکاری در تهیه تجهیزات وتأمین بودجه مورد نیاز برای انجام تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Russell G, Lightman S. The human stress response. Nat Rev Endocrinol 2019; 15: 525-34.
2. Surwit RS, van Tilburg MA, Zucker N, McCaskill CC, Parekh P, Feinglos MN, et al. Stress management improves long-term glycemic control in type 2 diabetes. Diabetes Care 2002; 25: 30-4.
3. Irvine DS. Epidemiology and aetiology of male infertility. Hum Reprod 1998; 13: 33-44.
4. Bali A, Singh N, Jaggi AS. Investigations into mild electric foot shock stress-induced cognitive enhancement: possible role of angiotensin neuropeptides. J Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2013; 14: 197-203.
5. Li Y, Qin J, Yan J, Zhang N, Xu Y, Zhu Y, et al. Differences of physical vs. psychological stress: evidences from glucocorticoid receptor expression, hippocampal subfields injury, and behavioral abnormalities. Brain Imag Behav 2019; 13: 1780-8.
6. Rivier C, Rivest S. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. Biol Reprod 1991; 45: 523-32.
7. Kamkar M, Zare S, Babaei F. The Effect of Sulpiride and Food Restriction on Depression and Anxiety Control in Adult Male Rats. J Arak Uni Med Sci 2019; 22: 107-17. [Farsi] Available from: URL: http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-5556-en.html
8. Gelowitz DL, Kokkinidis L. Enhanced amygdala kindling after electrical stimulation of the ventral tegmental area: implications for fear and anxiety. J Neurosci 1999; 9: 41.
9. Beaulieu JM, Espinoza S, Gainetdinov RR. Dopamine receptors–IUPHAR review 13. Br J Pharmacol 2015; 172: 1-23.
10. Pandiyan N. Medical drugs impairing fertility. Reproductive Health and the Environment: New York: Springer; 2007. p. 187-205. Available from: URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/1-4020-4829-7_9
11. Halbreich U, Kinon B, Gilmore J, Kahn L. Elevated prolactin levels in patients with schizophrenia: mechanisms and related adverse effects. Psychoneuroendocrinol 2003; 28: 53-67.
12. Liu J, Cao W, Qiu H, Sun X, Yang X, Wang E. Determination of sulpiride by capillary electrophoresis with end-column electrogenerated chemiluminescence detection. Clin Chem 2002; 48: 1049-58.
13. Cookson J, Hodgson R, Wildgust HJ. Prolactin, hyperprolactinaemia and antipsychotic treatment: a review and lessons for treatment of early psychosis. J Psychopharmacol 2012; 26: 42-51.
14. Selvaraj V, Tu LN. Current status and future perspectives: TSPO in steroid neuroendocrinology. J Endocrinol 2016; 23: 30.
15. Vassilios Papadopoulos V, Fan J, Zirkin B. Translocator protein (18 kDa): an update on its function in steroidogenesis. J Neuroendocrinol 2018; 30(2): 10.
16. Khorasani A, Fartootzadeh R, Khazali H, Mahmoudi F. Effect of Orexin Infusion into Third ventricle on the Translocator protein (TSPO) Gene Experession in the Ovary of Pubertal Androgenized Female Rats. J Cell Tissue 2014; 5: 301-7. [Farsi] Available from: URL: https://www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=465644
17. Benelli A, DePol A, Poggioli R, Cavazzuti E, Arletti R, Bertolini A, et al. L-sulpiride, at antidepressant dosage, prevents conditioned- fear stress- induced gastric lesion in rats. Pharmacol Res 2000; 42: 157-60.
18. Ataka K, Nagaishi K, Asakawa A, Inui A, Fujimiya M. Alteration of antral and proximal colonic motility induced by chronic psychological stress involves central urocortin 3 and vasopressin in rats. Neuroregul Motil 2012; 15; 303: 519-28.
19. Salehi MS, Jafarzadeh Shirazi MR, Zamiri MJ, Pazhoohi F, Namavar MR, Niazi A, et al. Hypothalamic Expression of KiSS1 and RFamide-related Peptide-3 mRNAs during The Estrous Cycle of Rats. Int J Fertil Stril 2013; 6: 304-9.
20. Bar-Ami S, Bendel N, Leschiner S, Levin E, Veenman L, Gavish M. The effects of prostaglandin F2alpha treatment on peripheral-type benzodiazepine receptors in the ovary and uterus during pseudopregnancy of rats. Biochem Pharmacol 2006; 14; 71: 472-8.
21. Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, Zeller R. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. CSH Protoc 2008; 2008: 4986.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

22. Rezvanfar M A, Sadrkhanlou R A, Ahmadi A, Shojaei-Sadee H, Rezvanfar MA, et al. Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. Hum Exp Toxicol 2008; 27: 901-10.
23. Porter K L, Shetty G, Meistrich ML. Testicular edema is associated with spermatogonial arrest in irradiated rats. Endocrinol 2006; 147: 1297-305.
24. Azizi V, Oryan S, Khazali H, Hosseini A. The involvement of kisspeptin in centrally regulatory mechanism of neuropeptide Y on testosterone secretion in male Wistar rats. Physiol Pharmacol 2016; 20: 267-76.
25. Owen DR, Fan J, Campioli E, Venugopal S, Midzak A, Daly E, et al. TSPO mutations in rats and a human polymorphism impair the rate of steroid synthesis. Biochem J 2017; 474: 3985-99.
26. Zou P, Wang X, Yang W, Liu C, Chen Q, Yang H, et al. Mechanisms of Stress-Induced Spermatogenesis Impairment in Male Rats Following Unpredictable Chronic Mild Stress (uCMS). Int J Mol Sci 2019; 20: 4470.
27. Nishimura H, L'Hernault SW. Spermatogenesis. Current Biol 2017; 27: 988-94.
28. Guo Y, Sun J, Li T, Zhang Q, Bu S, Wang Q, et al. Melatonin ameliorates restraint stress-induced oxidative stress and apoptosis in testicular cells via NF-κB/iNOS and Nrf2/HO-1 signaling pathway. Sci Rep 2017; 7: 1-3.
29. Orr TE, Mann DR. Role of glucocorticoids in the stress-induced suppression of testicular steroidogenesis in adult male rats. Horm Behav 1992; 26: 350-63.
30. Batarseh A, Papadopoulos V. Regulation of translocator protein 18 kDa (TSPO) expression in health and disease states. Mol Cell Endocrinol 2010; 327: 1-12.
31. Chung JY, Chen H, Midzak A, Burnett AL, Papadopoulos V, Zirkin BR. Drug Ligand-Induced activation of Translocator Protein (TSPO) stimulates steroid production by aged Brown Norway rat leydig cells. Endocrinol 2013; 154: 2156-65.
32. Barron AM, Ji B , Kito S , Suhara T , Higuchi M. Steroidogenic abnormalities in translocator protein knockout mice and significance in the aging male. Biochem J 2018; 475: 75–85.
33. Beeder LA, Samplaski MK. Effect of antidepressant medications on semen parameters and male fertility. Int J Urol 2020; 27: 39-46.
34. Kato K. Response of patients in mixed state of anxiety and depression to low dose sulpiride. Igaku Kenkyu 1993; 63: 15-9.
35. Miyazaki I, Asanuma M. Dopaminergic neuron-specific oxidative stress caused by dopamine itself. Act Med Okayama 2008; 62: 141-50.
36. Rampino A, Marakhovskaia A, Soares-Silva T, Torretta S, Veneziani F, Beaulieu JM. Antipsychotic drug responsiveness and dopamine receptor signaling; old players and new prospects. Fronts Psychiatry 2019; 9: 702.
37. Otth C, Torres M, Ramírez A, Fernandez JC, Castro M, Rauch MC, et al. Novel identification of peripheral dopaminergic D2 receptor in male germ cells. J Cell Biochem 2007; 100: 141-50.
38. Jafarpour Fard M, Karami M, Jalali Nadoushan M. Interaction of sulpiride with morphine in induction of male rat infertility. J Basic Clin Pathophysiol 2019; 7: 6-11.
39. Gong J, Szego ÉM, Leonov A, Benito E, Becker S, Fischer A, et al. Translocator protein ligand protects against neurodegeneration in the MPTP mouse model of Parkinsonism. J Neurosci 2019; 39: 3752-69.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]

Original Article

Effect of Sulpiride on Translocator Protein (TSPO) Gene Expression and Histomorphometric Indices in the Testis of Rats under Physical or Psychological Stress

Mahmoodi H.A, Babaei-Balderlou F

Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, I.R.Iran

e-mail: f.babaei@urmia.ac.ir

Received: 05/09/2020 **Accepted**: 12/05/2021

Abstract

Introduction: It is well established that stress or the use of sulpiride, an antipsychotic, disrupts the reproductive system. Translocator protein (TSPO) in the mitochondrial membrane of steroidogenic tissues, such as gonads, is involved in the regulation of steroid hormone production by transporting cholesterol into the mitochondria. The present study aimed to investigate the effects of stress and sulpiride on changes in TSPO gene expression and testicular histology. Materials and Methods: In this experimental study, 42 adult male Wistar rats were randomly divided into two groups, receiving saline and sulpiride (4 mg/kg, intraperitoneally). Each group was divided into three subgroups: control, psychological stress, and physical stress. Physical stress (electricity current: -0.5 Hz, -2 mA, -48v) or psychological stress (observation of rats under physical stress) was induced using a communication box for 14 days. At the end of the treatment period, the relative expression of *TSPO* gene in the testis was assessed by real-time quantitative reverse transcription PCR (qRT-PCR) and measurement of testicular histomorphometric indices and serum testosterone concentration. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's test in SPSS. Results: Stress caused testicular tissue damage and significan decrease in the TSPO expression and testosterone, compared to the control group (physical stress P…., psycologic stress P…). Besides reducing the number of germ cells drastically, sulpiride administration led to the destruction and disruption of the epithelium of seminiferous tubules, increased interstitial space of the testicular tissue, and further reduction of TSPO and testosterone. Conclusion: Both physical and psychological stress led to testicular damage, besides decreasing the TSPO expression and serum testosterone concentration. Sulpiride administration mainly increased the adverse effects of stress on reproduction system, suggesting the side effects of this drug.

Keywords: Sulpiride, TSPO, Stress, Testis, Testosterone

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1399.22.5.4.9]