

## 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  $0.14 \text{ mg}$  (۱۴ میکروگرم بر حسب هر گرم وزن بدن  $14 \text{ mg/gr.B.Wg}$ ) و  $0.2 \text{ mg}$  (۲۰ میکروگرم بر حسب هر گرم وزن بدن  $20 \text{ mg/gr.B.Wg}$ ) 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 رینگرو الکل تزریق گردید. دو گروه شاهد موجود در آزمایشها هیچگونه

اختلافی با یکدیگر نشان ندادند بعبارتی در این سطح الکل هیچگونه آسیب بافتی یا عدم تحملی را در حیوان بوجود نمی‌آورد. دوره آزمایش ۶ هفته با دوبار تزریق در هفته بود. بنابر این مقدار کل ماده‌ای که هر وزغ تجربی پس از پایان مدت آزمایش دریافت می‌کرد به ترتیب ۸ میلی‌گرم ( $8 \text{ mg total}$ ) و  $1/5$  میلی‌گرم بود ( $1/5 \text{ mg total}$ ) 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 کل، ضخامت جدازه و قطر لومن در اویداکت می‌شود و همچنین سلولهای اپیتلیومی مخاط اویداکت رشد کرده و سلولهای مزکدار و ترشچی 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

در حیواناتی که اواریکتومی شده‌اند آتروفیه شدن اوبداکت دیده می‌شود در حالیکه استروژن آگزوزن باعث ترمیم اوبداکت می‌شود. فعالیت‌های ترشحي در غده‌های داخلی اوبداکت در طی تخمک‌گذاری موجب تشکیل لایه‌های ژله‌ای دور تخمک می‌شود (Redshaw, 1972). وجود این لایه‌های ژله‌ای علاوه بر نقش حفاظتی و تغذیه‌ای جنین برای انجام لقاح موفق ضروری می‌باشد بطوریکه در *Bufo Japonicus* چهار لایه ژله‌ای تشخیص داده شده‌اند که با برداشتن حتی ۲ لایه آن لقاح به سختی صورت می‌گیرد. عمل این لایه‌های ژله‌ای نگاهداشتن تعداد زیادی اسپرم به دور تخمک می‌باشد که موجب بالا رفتن ظرفیت واکنش‌های آکروزومی اسپرم با تخمک می‌شود. وجود یونهای  $Ca^{2+}$  و  $Mg^{2+}$  در ساختمان ژله‌ای 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 می‌گشت که بتواند بدین منظور از آنها استفاده نماید. توجه به ترکیبات ضد استروژن حاصل نیاز روز افزون به مواد ضد باروری بوده است و هم‌اکنون از این داروها برای جلوگیری از اوولاسیون استفاده می‌شود. اما در بعضی موارد از جمله در مورد انسان با کمال تعجب مشاهده شده است که آنها باعث القاء تخمک‌گذاری می‌گردند. 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 سری‌های تری فنیل اتیلن که در مهره‌داران پست و عالی استفاده می‌گردد، کلومیفن و تاموکسیفن سترات می‌باشد. اثرات آنتی استروژنی بر روی ماهیها، دوزیستان، خزندگان و پرندگان نیز مطالعه و مشخص شده که نتایج مشابه پستانداران بدست می‌آید و آنها قابلیت باز دارندگی استروژنی را در سطح بافتهای حساس دارا می‌باشند. (Rastogi, 1975) این داروها بهترین مواد برای

اوبداکت می‌شوند در حالیکه در دوز ۱/۵ میلی‌گرم اثرات آنتی استروژنی داشته و موجب کاهش رشد و نمو اوبداکت می‌شوند.

#### مقدمه:

سالیان متمادی است که مطالعات مربوط به چگونگی فعالیت سیستم تولید مثلی و تأثیرات محیط به این سیستم در موجودات زنده بخصوص مهره‌داران آغاز گردیده است. مسائل گوناگونی در زمینه مذکور وجود داشته است. در این میان دوزیستان همواره به عنوان یک مدل آزمایشگاهی مطرح بوده‌اند بر حسب تنوع دوزیستان رفتار تولید مثلی آنها نیز متنوع می‌باشد اگر چه در اصل الگوی کنترل رفتاری یکسانی دارند. در این موجودات نیز مانند سایر مهره‌داران بدیده تولید مثل تحت کنترل عوامل داخلی اعم از سیستم هورمونی و یا سیستم عصبی می‌باشد که شرایط محیطی مانند روستنایی و حرارت و رطوبت هوا از طریق کمپلکس غده پینه‌آل 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 می‌کنند (Rastogi, 1975).

در این کار تحقیقاتی از وزغ گونه *Bufo viridis* که بومی ایران می‌باشد استفاده گردیده است. خانواده *Bufoviridis* خانواده‌های از وزغها (Toads) می‌باشند که در مناطق مختلف جغرافیایی بخصوص مناطق حاره و گرمسیر یافت می‌شوند. محدوده زیستی آنها متغیر بوده و در ارتفاعات و یا در ازاضی هم سطح دریا زندگی می‌کنند. این جانوران با دارا بودن غدد پاراتوئید در طرفین سر، فقدان بادکش در نوک انگشتان، بهن بودن زواید عرضی مهره‌های خاجی (sacral) فقدان دندان در آرواره‌ها و عدم وجود پیش جناغ از سایر دوزیستان مجزا شده‌اند. گونه *Bufo viridis* یا وزغ سبزیکی از معمول‌ترین وزغهای ایران است (بلوچ، کمی حاج قلی، ۱۳۷۰).

در اوبداکت این حیوان سیکل سالانه‌ای دیده می‌شود، به این صورت که پس از تخمک‌گذاری وزن اوبداکت ناگهان کاهش می‌یابد و به آرامی در طی فصول بعدی افزایش می‌یابد.

آنتی استروژن عمل می‌کند (Iela, 1975). در دوز آنتی استروژنی تاموکسیفن، و سیپرترون استات (آنتی آندروژن) اثرات خود را در این حیوان بصورت مهارکننده‌های رقابتی در سطح رسپتورهای استروئیدی در اندامهای هدف مانند اوبدکت 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 هیپرتروفی اوبدکت می‌شود و اوبدکت 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 دیوارهٔ 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 دیوارهٔ 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. وزغهای 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 فومول شیمیایی آن  $C_{26}H_{28}Cl.No.C_8H_8O_7$  اتان آمین ۲-۴ | ۲ کلروا، ۲-دی فنیل اتینیل 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. فومول شیمیایی تاموکسیفن سیترات  $C_{26}H_{29}.NO.C_6H_8O_7$  (Z) -۲ (-۴) -۱، ۲-دی فنیل 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 گونهٔ حیوان، نوع ارگان گیرنده، تاموکسیفن می‌تواند اثرات آگونیستی و یا آنتاگونیستی با استروژن داشته باشد. (Patterson, 1981).

اثرات آنتاگونیستی آن در سطح هیپوتالاموس و غدهٔ 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 اوبدکت نقش متوقف کنندهٔ اثرات تستوسترون و  $17\beta$  - 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 میلی‌گرم) گنادوتروپین‌ها افزایش و تحت اثر دوز (۳-۴ میلی‌گرم) 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 وجود 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 دوزستان به تنهایی در مورد داروی کلومیفن و یا به همراه الکل اتیلیک (به نسبت ۱<sup>cc</sup> الکل در مقابل ۱۰<sup>cc</sup> محلول) در مورد داروی تاموکسیفن استفاده شد. بعنوان محلول شاهد نیز برای تزریق به گروه کنترل از رینگر دوزستان استفاده شد.

محلول‌های تزریقی در دو دوز مختلف برای هر دو دارو تهیه می‌شد دوز اول ۰/۷ میلی‌گرم و یا به عبارتی ۱۴ میکروگرم به ازاء هر گرم وزن بدن (۱۴mg/gr.B.wg) و دوز دوم ۰/۱ میلی‌گرم و یا ۲ میکروگرم به ازاء هر گرم وزن بدن (۲mg/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 دریافت کننده داروها با دوز ۰/۷ میلی‌گرم پس از طی دوره آزمایش مقدار کل دوز دریافتی هر وزغ ۸ میلی‌گرم (۸mg total dose/Bufo) و در مورد گروه دریافت کننده ۰/۱ میلی‌گرم، ۱/۵ میلی‌گرم (۱۰mg (to) ۱/۵totaldose/Bufo) 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 فیکالتیو 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 هماتوکسیلین و انوزین 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 و اریانس یک عاملی با تکرار صورت گرفته و به کمک کامپیوتر مقدار (p.Value) محاسبه شد، مقدار p بدست آمده اگر کمتر از ۰/۰۵ باشد اختلاف معنادار و در غیر این بصورت 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 دریافت کننده رینگر دوزیست و گروه دریافت کننده الکل اتیلیک به همراه الکل) هیچگونه اختلاف معنی داری 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 ۱۰۰ گرم وزن بدن محاسبه شد (۱۰۰ × وزن اویداکت / وزن بدن). نتایج نشان می‌دهد که  $p=0.000$  کلومیفن و تاموکسیفن در دوز ۸ میلی‌گرم موجب افزایش وزن اویداکت نسبت به شاهد شده در حالی که دوز ۱/۵ میلی‌گرم موجب کاهش وزن اویداکت شده است (جدول 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

اثر دارو بود. این بررسیها نشان می‌دهد که تاموکسیفن و کلومیفن در دوز ۸ میلی‌گرم موجب افزایش ارتفاع سلولهای اپیتلیومی مخاط می‌شود، سلولهای مزکدار (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 اوبدکت) 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 اوبدکت نیز کم شده است (تصویر ۸) (جداول ۳ الی ۸ هیستوگرام ۲ و ۳ و ۴).

#### بحث و تفسیر:

دستگاه تولید مثلی شامل اوبدکت و تخمدانها در دوزیستانی که فقط یک بار در سال تخم ریزی انجام می‌دهند از جمله یوفویریدیس دارای تغییرات فصلی می‌باشند. رشد اوبدکت 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 اوبدکت 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. اوبدکت 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 اوبدکت دخالت دارد از آنجائیکه پس از تخمک گذاری در وزغها اوبدکت تحلیل رفته و سپس شروع به ترمیم و ساخته شدن مجدد می‌کند در این مرحله به ترکیبات

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

Rastogi در سال ۱۹۷۵ نیز اثر آنتی استروژن (تاموکسیفن در دوز کم) و آنتی آندروژن (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

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

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

## REFERENCES:

- 1) Icela. 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 hatchings. *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. Endoer*.849,67-75
- 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, Gynee Invecl*, 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

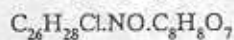
استروژنی دارای اثرات بازدارندگی در رشد اویداکت می باشد. همچنین او با بررسی اثرات تاموکسیفن (آنتی استروژن در دوز ۱ میلی گرم) و سیپرترون استات در قورباغه نر و ماده نشان داد که این مواد اثرات خود را بصورت مهار کننده های رقابتی در سطح رسپتورهای استروئیدی در اندامهای هدف مانند اویداکت و پینه شست اعمال می نمایند و در سطح غده هیپوفیز بطور غیر مستقیم از طریق هیپوتالاموس بر سلولهای باز و فیل اثر کرده و منجر به ترشح گناد و تروپین ها می گردد. (Rastogi, 1971).

تاموکسیفن بر روی تمساح Alligator موجب بلوکه کردن اثر استرادیول بر هیپرتروفی شدن اویداکت می شود و اویداکت تحلیل می رود و همچنین از سنتز و ترشح ویتلوژنین یا زرده توسط سلولهای کبیدی جلوگیری می کند. (Lance, 1991) مکانیسم عمل بازدارنده این ترکیبات در جلوگیری از رشد اویداکت بواسطه مهار رقابتی استروژن در سطوح رسپتورهای پروتئینی داخل سلولهاست که می تواند از ورود استروژن به داخل سلول جلوگیری کند و باعث سرعت بخشیدن به پاک سازی آن در سطح سلولهاست (Roy, 1992) در حقیقت کمپلکس گیرنده های پروتئینی داخل سلولی به همراه استروژن به جایگاه خاصی از رشته DNA متصل شده و موجب فعال شدن ژن معینی می گردد. و mRNA را سنتز و با فعال کردن سنتز پروتئین ها منجر به تغییرات داخل سلولی می شوند و آنتی استروژنها با رقابت با ترکیبات استروئیدی برای اتصال به گیرنده های پروتئینی داخل سلولی از اثرات آنها جلوگیری می کند. اختلاف پاسخ بافت های مختلف و گونه های مختلف موجودات به این داروها در حقیقت به گیرنده های سلولی آنها بستگی دارد. (Roy, 1992).

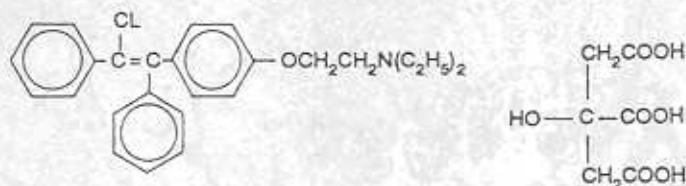
## منابع فارسی:

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

کلومیفن سیترات

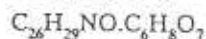


اتان‌آمین، ۲- [۴- (۲- کلرو- ۱- ۲- دی فنیل اتیل) فنوکسی] -N، N- دی اتیل -،  
۲ هیدروکسی - ۳، ۲، ۱- پروپان تری کربوکسیلات (۱:۱)

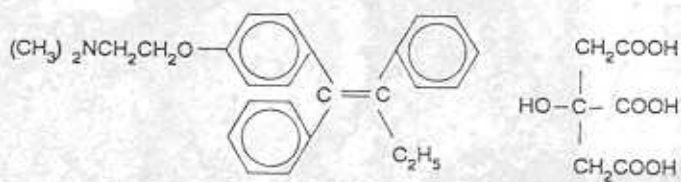


تصویر A: فرمول گسترده کلومیفن (وادمکوم ۲-ایران هورمون - شرکت ایران هورمون، ۱۳۷۲) این دارو از مشتقات فنانتروهاست و آنالوگ مصنوعی استروژن غیر استروئیدی کلروتیرانیزن می‌باشد و از نظر ساختمان شیمیایی مشابه استیل بسترول است.

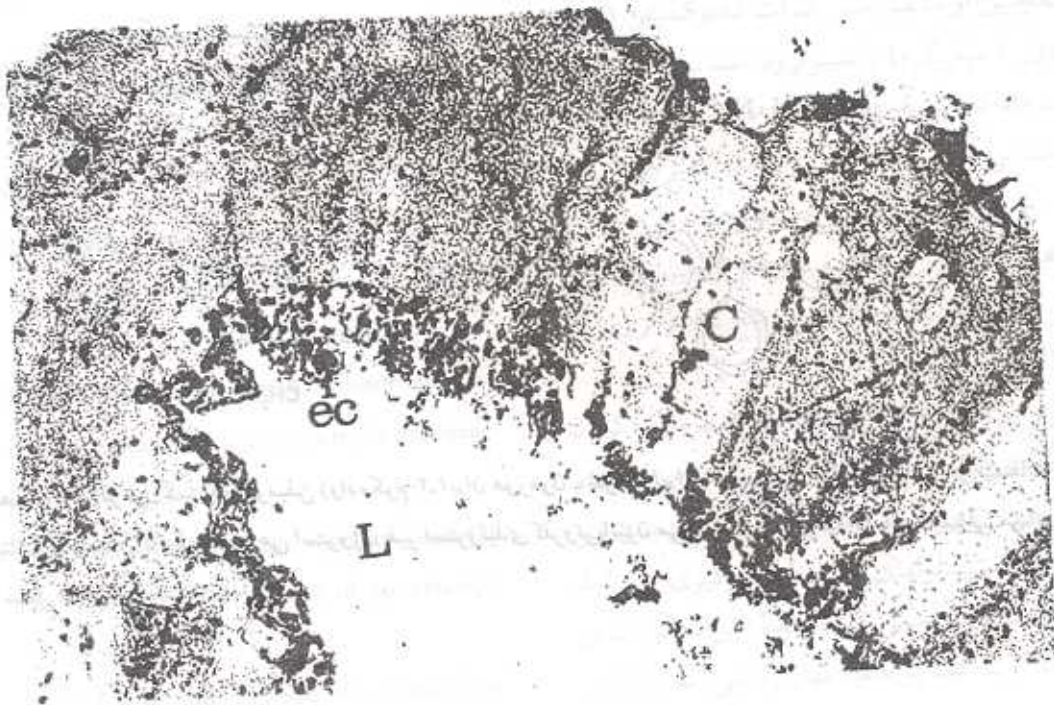
تاموکسیفن سیترات



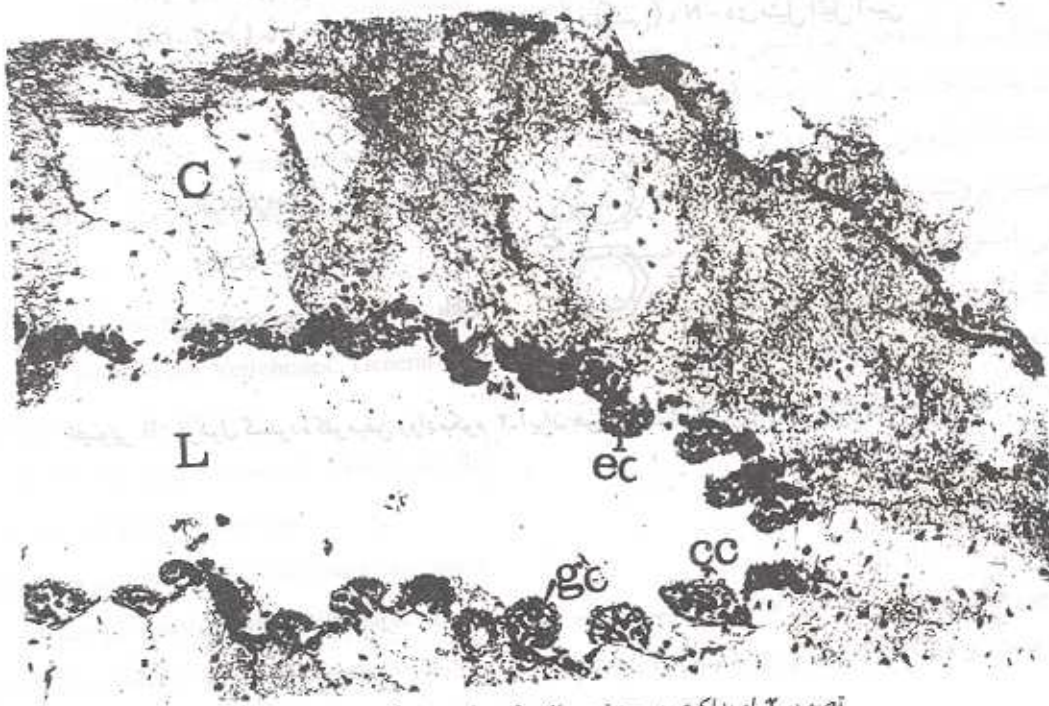
(Z) - ۲- (۴- (۱- دی فنیل بوت - ۱- انیل) فنوکسی) ، -N- دی متیل اتیل آمین  
منوسیترات.



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

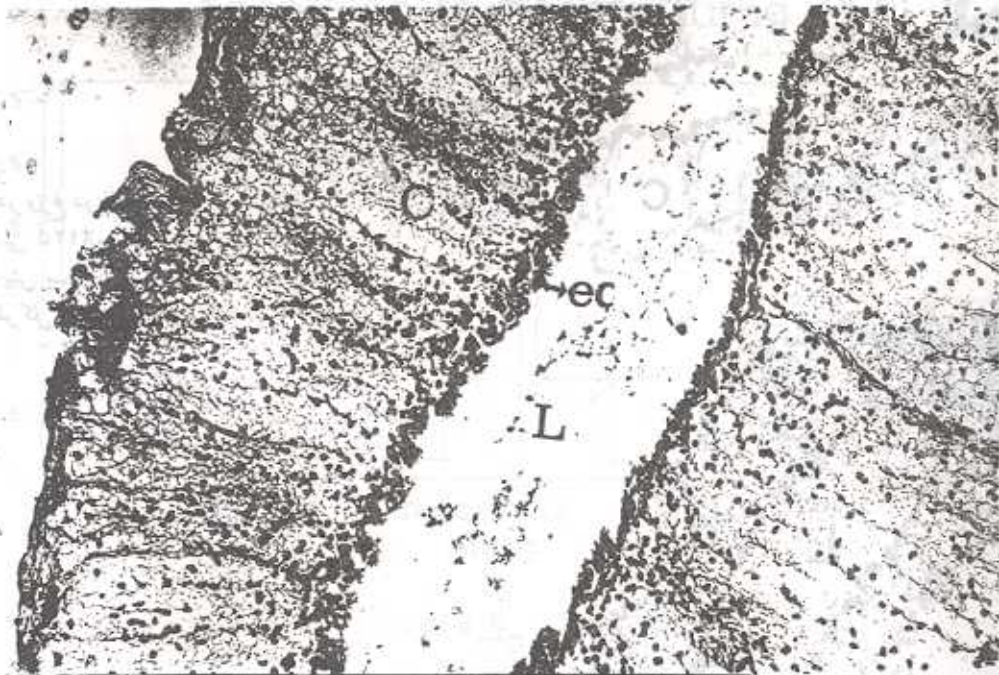


تصویر ۱: اویداکت دروزغ ماده دریافت کننده ۸ میلی گرم کلومیفن. بزرگنمایی ۵۰۰x سلولهای اپیتلیالی (ec) بزرگ و کاملاً مشخص می باشد و لومن (L) بزرگ بوده و آستر مخاط (C) رشد یافته است.



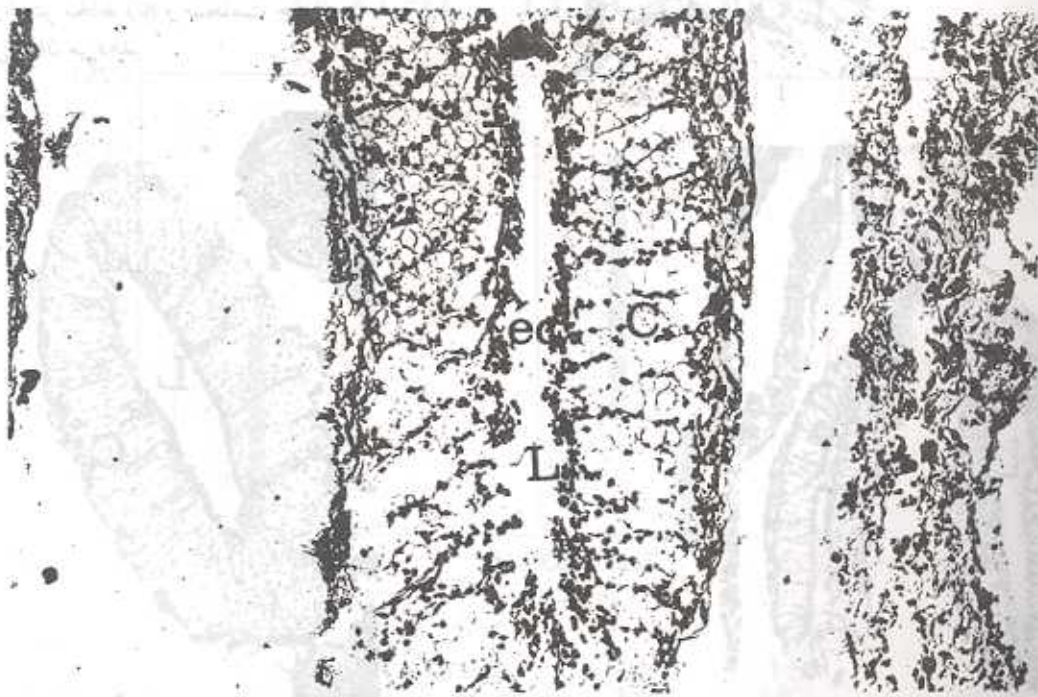
تصویر ۲: اویداکت دروزغ دریافت کننده ۸ میلی گرم تاموکسیفن. بزرگنمایی ۵۰۰x سلولهای اپیتلیالی (ec) بزرگتر و کاملاً مشخص می باشد و لومن (L) بزرگ بوده و آستر مخاط (C) رشد یافته است. سلولهای ترشحی غده‌ای (gc) و سلولهای مؤکدار (cc) واضح هستند.





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 در یافت کننده ۱/۵ میلی‌گرم 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 قطر لومن (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  $\times 125$  قطر لومن (L) افزایش یافته و آستر مخاط (C) و ضخامت جداره و قطر کل افزایش نشان می‌دهد.

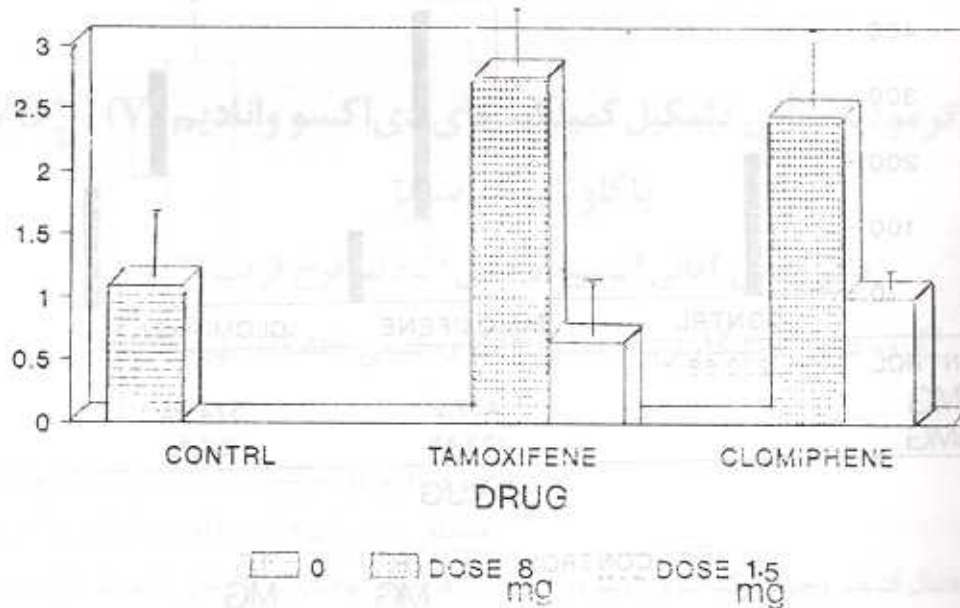


تصویر ۸: اویداکت در وزغ دریافت کننده  $1/5$  mg کلومیفن با بزرگنمایی  $\times 125$  قطر اویداکت و لومن (L) و آستر مخاط (C) در مقایسه با شاهد کاهش یافته است.



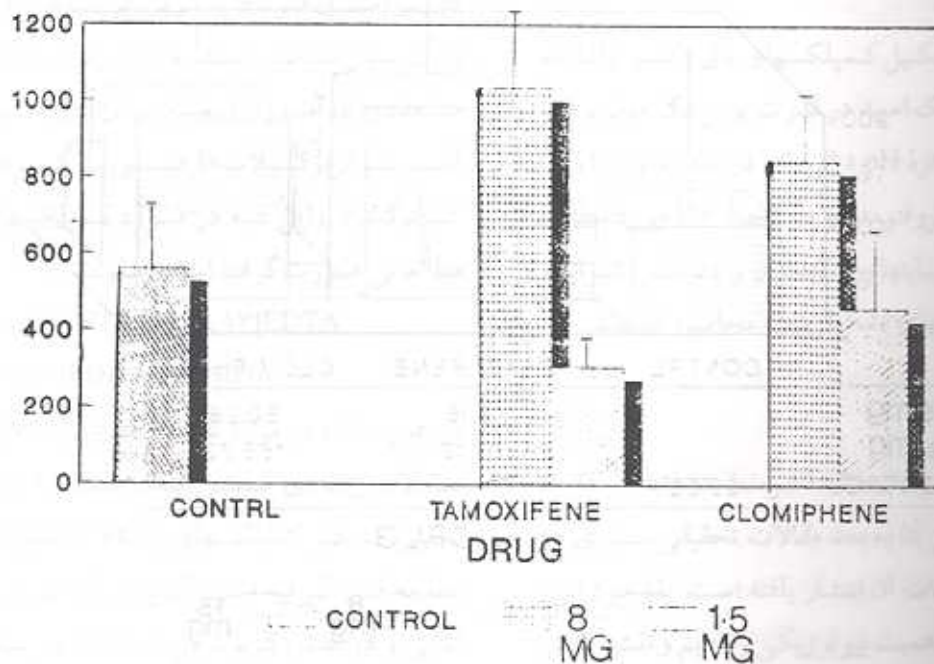
تصویر ۷: اویداکت در وزغ شاهد بزرگنمایی  $\times 125$  به بزرگنمایی قطر لومن (L) و آستر مخاط (C) نسبت به گروههای تجربی توجه شود.

## OVIDUCT WEIGHT according to dose & drug



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

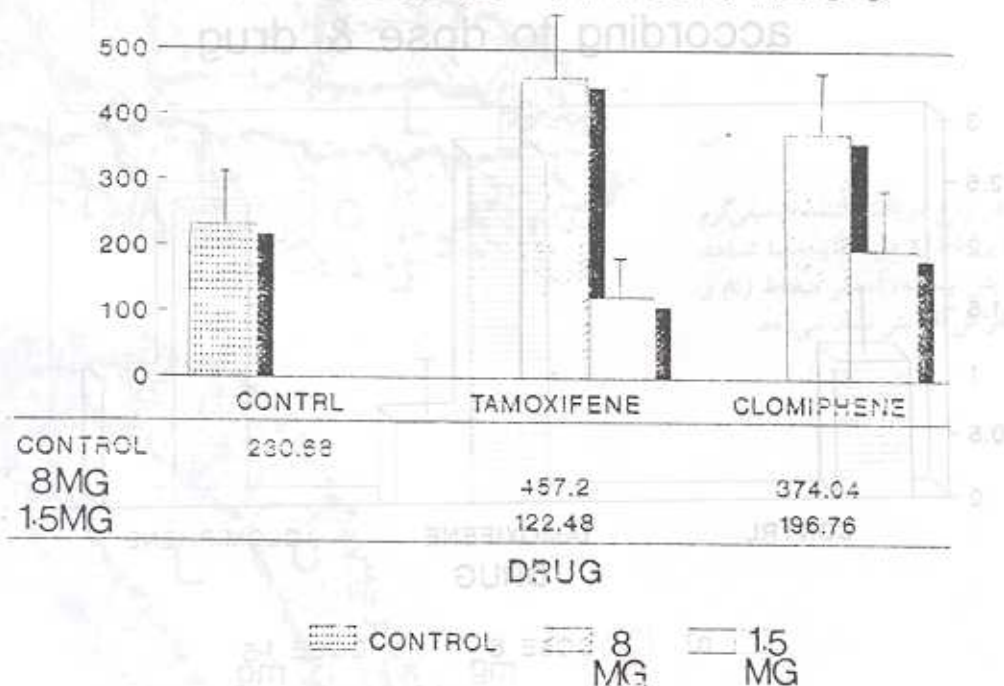
## TOTAL THICKNESS



هیستوگرام ۲: ضخامت کل اویداکت را در گروههای شاهد و گروههای دریافت کننده تاموکسیفن و کلومیفن نشان می دهد که دیده می شود تاموکسیفن و کلومیفن در دوز ۸ میلی گرم باعث افزایش و در دوز ۱/۵ میلی گرم باعث کاهش ضخامت شده است.

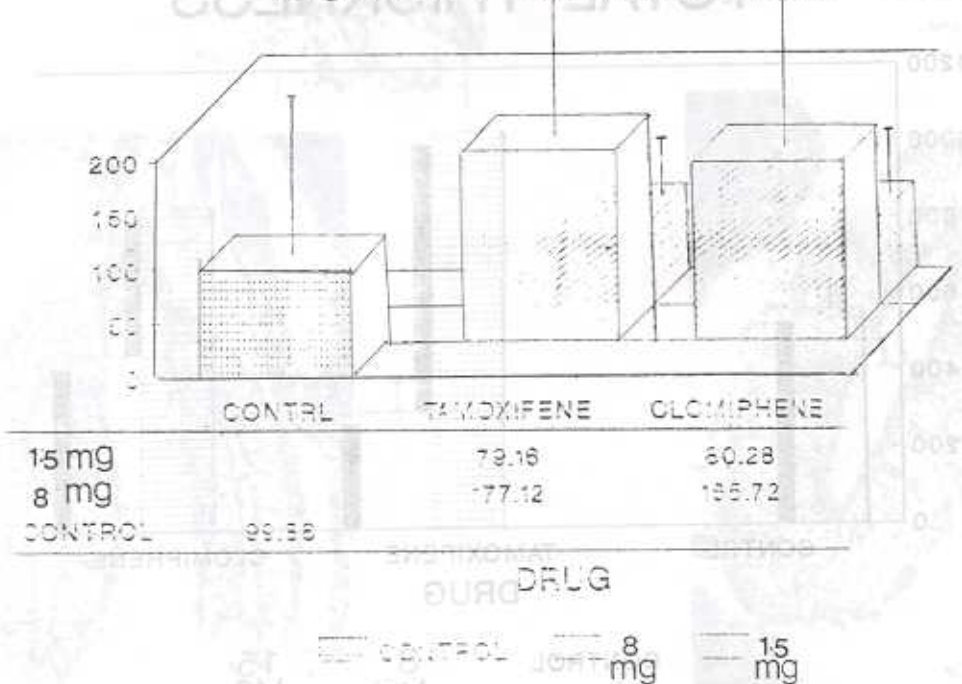
ن با  
در

## PARIETAL THICKNESS



هیستوگرام ۳ ضخامت جداره اویداکت را در گروههای شاهد و دریافت کننده تاموکسیفن و کلومیفن نشان می دهد تاموکسیفن و کلومیفن در دوز ۸ میلی گرم باعث افزایش و در دوز ۱/۵ میلی گرم باعث کاهش ضخامت جداره اویداکت شده است.

## LUMEN DIAMETER



هیستوگرام ۴ قطر لومن یا حفرة اویداکت را در شاهد و تیمار نشان می دهد قطر لومن در گروههای دریافت کننده تاموکسیفن و کلومیفن در دوز ۸ میلی گرم افزایش و در دوز ۱/۵ میلی گرم نسبت به شاهد کاهش نشان می دهد.