

# اثر فلوکساتین بر روی اسپریماتوژنز و خودتکثیری سلول‌های پایه اسپریماتوگونی در موش‌های صحرایی بالغ

نویسندگان: هانیه اکبری، شاپور حسن‌زاده، علی شالیزار جلالی\*، حسن ملکی نژاد

گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

E-mail: a.shalizar@urmia.ac.ir

\*نویسنده مسئول: علی شالیزار جلالی

### چکیده

مقدمه و هدف: کاربرد فلوکساتین به عنوان یک داروی مهارکننده انتخابی بازجذب سروتونین (SSRI) با عوارض جانبی ناخواسته‌ای مانند اختلالات تولیدمثلی همراه است. مطالعه حاضر در راستای ارزیابی اثرات فلوکساتین بر روی اسپریماتوژنز موش صحرایی و نیز خودتکثیری سلول‌های پایه اسپریماتوگونی به واسطه بررسی بیان گیرنده آلفا-۱ خانواده فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از سلول کلیال (GFR $\alpha$ 1) در سطح mRNA در بافت بیضه طرح‌ریزی گردید.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به صورت تصادفی به گروه‌های تجربی و شاهد تقسیم شدند. گروه تجربی به دو زیرگروه که روزانه ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فلوکساتین را به مدت ۴۸ روز دریافت می‌کردند، تقسیم گردید. نمونه‌های بافت بیضه ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار برداشت شدند و ارزیابی‌های بافت‌شناسی و رونویسی معکوس واکنش زنجیره‌ای پلیمرانز به ترتیب به منظور ارزیابی اسپریماتوژنز و میزان بیان GFR $\alpha$ 1 در سطح mRNA انجام پذیرفتند.

نتایج: تجویز فلوکساتین به صورت وابسته به دُز موجب توقف بلوغ اسپریمها شد که این امر با کاهش‌های قابل‌ملاحظه شاخص‌های اسپریماتوژنیک مشخص گردید. همچنین، تجویز فلوکساتین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش مشهودی را در بیان GFR $\alpha$ 1 در سطح mRNA در بافت بیضه در پی داشت.

نتیجه‌گیری: چنین به نظر می‌رسد که سمیت‌های تولیدمثلی ناشی از فلوکساتین به واسطه ایجاد اختلال در روند خودتکثیری سلول‌های پایه اسپریماتوگونی روی می‌دهند که یافته‌های حاضر لزوم پژوهش‌های بیشتر پیرامون مکانیسم‌های دقیق اختلالات اسپریماتوژنیک ناشی از داروهای ضد افسردگی SSRI را برجسته می‌سازند.

واژگان کلیدی: فلوکساتین، خودتکثیری، سلول‌های پایه اسپریماتوگونی، اسپریماتوژنز، موش صحرایی، GFR $\alpha$ 1

دوماهنامه علمی-پژوهشی  
دانشگاه شاهد  
سال بیست‌ونهم-شماره ۱۳۲  
دی ۱۳۹۶

دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۶  
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۶/۰۹/۲۲  
پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۲۹

## مقدمه

فلوکساتین یکی از مهارکننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین (SSRIs) است و به عنوان یک ترکیب ضدافسردگی موجب مهار پیش‌سیناپسی سروتونین در مغز می‌گردد (۱). گزارش‌ها پیشین نشان داده است که مصرف این دارو با اختلالات تولیدمثلی و کاهش میزان باروری همراه بوده است (۲). همچنین، بر اساس بررسی‌های صورت گرفته احتمال ابتلا به بیماری‌های قلبی مادرزادی و نیز تولد نوزادان زودرس و با وزن کم متعاقب مصرف SSRIs افزایش می‌یابد (۳، ۴). در این راستا، مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که فلوکساتین دارای اثرات کشندگی بر روی اسپرم است و موجبات کاهش تعداد و میزان تحرک اسپرم و افزایش میزان اسپرم‌های غیرطبیعی را فراهم می‌آورد (۵، ۶). به علاوه، نقش فلوکساتین در کاهش وزن اندام‌های جنسی و سطح تستوسترون در موش‌های صحرایی نیز به تائید رسیده است (۷). فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از سلول گلیال (GDNF) که عضوی از ابرخانواده  $TGF-\beta$  است، تحت کنترل FSH توسط سلول‌های سرتولی تولید می‌گردد و به واسطه گیرنده  $GFR\alpha1$  در بقاء و خودتکثیری سلول‌های پایه اسپرماتوگونی نقش ایفاء می‌کند (۸، ۹). در واقع GDNF به عنوان تنظیم‌کننده کلیدی روند خودتکثیری سلول‌های پایه اسپرماتوگونی جهت فعالیت به  $GFR\alpha1$  که گیرنده‌ای بر روی سطح اسپرماتوگونی‌های  $A_{pr}$ ،  $A_s$  و  $A_{al}$  است، به شدت وابسته است (۱۰). از این‌روی، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات فلوکساتین بر روی روند اسپرماتوژنز و نیز خودتکثیری سلول‌های پایه اسپرماتوگونی به واسطه بررسی بیان گیرنده  $GFR\alpha1$  در سطح mRNA در بافت بیضه در موش‌های صحرایی طرح‌ریزی گردید، چراکه آشکار شدن روند هم‌ایستایی اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز در بافت بیضه متعاقب تجویز فلوکساتین می‌تواند در پی‌ریزی راهکارهای نوین درمانی در راستای کاهش عوارض نامطلوب تولیدمثلی مصرف فلوکساتین مورد استفاده قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه تعداد ۱۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین سنی شش تا نه هفته و میانگین وزنی  $20 \pm 200$  گرم به صورت تصادفی به سه گروه پنج‌تایی به شرح زیر تقسیم شدند و تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $50 \pm 10\%$  نگهداری شدند. تمام حیوانات در شرایط تغذیه‌ای یکسان با ذرت، گندم و پلت به نسبت‌های برابر تغذیه و امکان دسترسی آزاد به آب نیز برای تمام آن‌ها وجود داشت. حیوانات گروه آزمایش یک و دو به ترتیب روزانه ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فلوکساتین را به صورت محلول در آب مقطر از طریق خوراکی برای مدت ۴۸ روز دریافت کردند (۱۱). حیوانات گروه شاهد نیز روزانه دو میلی‌لیتر آب مقطر را به صورت خوراکی دریافت نمودند. ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، متعاقب آسان‌کشی و کالبدگشایی حیوانات، یکی از بیضه‌ها برای ارزیابی‌های بافت‌شناسی و دیگری برای بررسی‌های مولکولی برداشته شد. به منظور انجام مطالعات بافت‌شناسی، نمونه‌های بافتی بیضه پس از ثبوت و بعد از طی مراحل پاساژ بافتی با استفاده از پارافین مذاب قالب‌گیری شدند. سپس، با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار، برش‌هایی به ضخامت ۶ میکرومتر از قالب‌های پارافینی تهیه گردید و در نهایت، روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین جهت رنگ‌آمیزی نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در این راستا، جهت ارزیابی کیفیت لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه از روش جانسن استفاده شد (۱۲). برای این منظور، از مقطع عرضی ۱۰۰ لوله اسپرم‌ساز در هر حیوان استفاده شد و براساس الگوی زیر به هر مقطع عرضی لوله اسپرم‌ساز نمرات یک تا ۱۰ تعلق گرفت. ۱۰: اسپرماتوژنز کامل، تعداد زیادی سر اسپرم که در حاشیه حفره میانی گرد و منظم قرار دارند، ۹: تعداد زیادی اسپرم وجود دارد ولی حفره میانی گرد و منظم دیده نمی‌شود، ۸: تعداد اسپرم خیلی کم است،

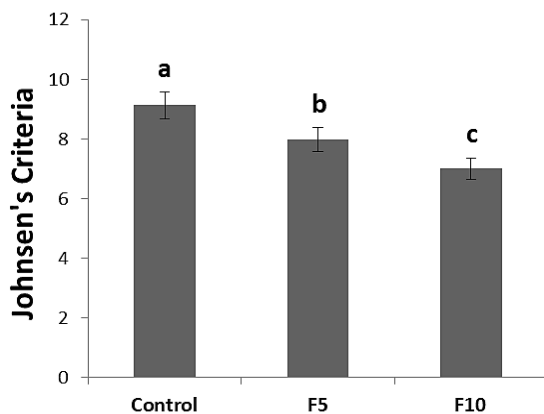
می‌باشند.

روش رونویسی معکوس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (RT-PCR) جهت بررسی میزان بیان  $GFR\alpha1$  در سطح mRNA با استفاده از کیت اختصاصی جداسازی RNA به روش ستونی (SinaClon, Tehran, Iran) مورد استفاده قرار گرفت. متعاقب تزریق به ژل الکتروفورز، تراکم باندها توسط نرم افزار آنالیز ژل (ATP, Tehran, Iran) مورد ارزیابی قرار گرفتند. پرایمرهای مورد استفاده نیز به شرح زیر می‌باشند:

#### Reverse

5'-GGGTCAGATACATCCACACCG-3'

5'-GTAGTTGGGAGTCATGACTGTGCCAATC-3'



شکل ۱. مقایسه کیفیت لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه بر اساس شاخص جانسن در گروه‌های مختلف آزمایشی حروف نامشابه نشان‌گر تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  می‌باشند.

Control: گروه شاهد، F5: گروه دریافت‌کننده فلوکساتین به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، F10: گروه دریافت‌کننده فلوکساتین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم.

ارزیابی میزان بیان  $GFR\alpha1$  در سطح mRNA در این پژوهش نشان داد که تجویز فلوکساتین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنادار بیان  $GFR\alpha1$  نسبت به گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده فلوکساتین به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌گردد (شکل ۲ و ۳).

۷: اسپرم دیده نمی‌شود ولی تعداد زیادی اسپرماتید گرد دیده می‌شود، ۶: تعداد کمی اسپرماتید گرد دیده می‌شود، ۵: هیچ اسپرم و اسپرماتید گردی دیده نمی‌شود ولی تعداد زیادی اسپرماتوسیت اولیه دیده می‌شود، ۴: تعداد خیلی کمی اسپرماتوسیت اولیه دیده می‌شود، ۳: هیچ اسپرماتوسیت اولیه‌ای دیده نمی‌شود و فقط اسپرماتوگونی دیده می‌شود، ۲: هیچ سلول زایایی وجود ندارد و فقط سلول سرتولی دیده می‌شود و ۱: نه سلول زایا و نه سلول سرتولی دیده می‌شود و لوله‌ها آتروفیک

#### Forward

5'-ATGAAGTTATGGGATGTCGTGGCT-3'

5'-GCACAGCTACGGGATGCTCTTCTG-3'

GDNF  
GFR $\alpha1$

#### ارزیابی‌های آماری

نتایج بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شدند و با توجه به کمی و پیوسته بودن داده‌ها، تعداد گروه‌های مستقل مورد ارزیابی و نیز متعاقب اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها، نتایج این مطالعه با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۸ مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند. جهت مقایسه بین گروه‌ها آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن تست‌های مقایسه‌ای چندگانه توکی مورد استفاده قرار گرفت. مقدار  $P < 0.05$  برای تعیین سطح معنی‌داری بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

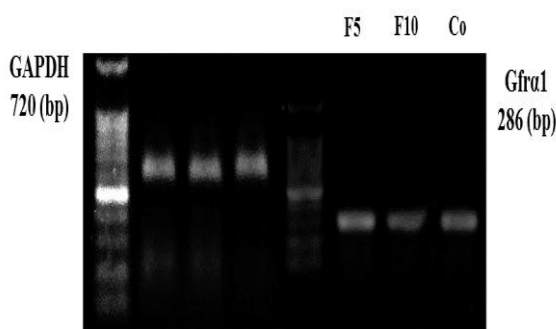
#### نتایج

ارزیابی‌های بافت‌شناسی این مطالعه آشکار ساخت که میزان کیفیت لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه در موش‌های صحرایی تحت درمان با فلوکساتین به صورت وابسته به دُز به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت که این امر با کاهش مشهود شاخص جانسن همراه بود (شکل ۱). همان‌گونه که در شکل شماره ۱ نیز قابل مشاهده می‌باشد، فلوکساتین به صورت وابسته به دُز موجب کاهش میزان سلول‌های اسپرم و همچنین بروز اختلال در روند تمایز و بلوغ این سلول‌ها گردیده است.

### بحث

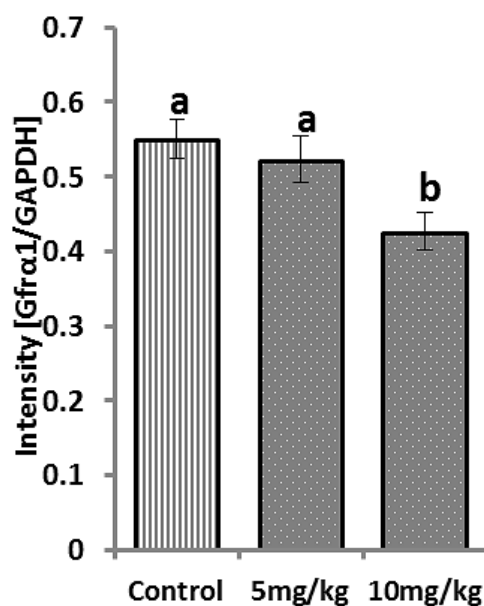
متعاقب بررسی‌های این پژوهش آشکار گشت که تجویز فلوکساتین به صورت وابسته به دُز موجبات توقف بلوغ اسپرم‌ها را فراهم می‌آورد. همچنین، تجویز فلوکساتین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در این مطالعه کاهش قابل توجهی را در میزان بیان  $GFR\alpha 1$  در سطح mRNA در بافت بیضه موش‌های صحرایی در پی داشت.

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که نزدیک به شش درصد افراد ۱۸ سال و بیشتر دوره‌ای از افسردگی را تجربه کرده‌اند (۱۳). متأسفانه مصرف فلوکساتین به عنوان یک داروی ضدافسردگی رایج با اثرات جانبی ناخواسته‌ای نظیر اختلالات تولیدمثلی همراه بوده است (۱۴، ۱۵). از سوی دیگر، ناباروری به عنوان یکی از مشکلات اساسی بین زوج‌ها، روابط فردی و اجتماعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و یکی از نگرانی‌های در حال افزایش جوامع پیشرفته است (۱۶). فلوکساتین که در گروه داروهای SSRIs قرار دارد، مانع جذب سروتونین از پایانه‌های عصبی می‌گردد. مطالعات پیشین در این زمینه نشان داده است که مصرف فلوکساتین علاوه بر ناهنجاری‌های تنفسی، عروقی، کبدی و اندوکراین، با اختلالات اسپرماتوژنیک نیز همراه است (۲، ۶، ۷). همچنین، گزارش‌ها قبلی نشان داده است که فلوکساتین به واسطه ایجاد اختلال در عملکرد دستگاه اندوکراین و کاهش سطح تستوسترون تغییرات ساختاری قابل توجهی را در بافت بیضه موجب می‌گردد که این امر با یافته‌های مطالعه حاضر نیز همخوانی دارد (۱۷). علاوه بر این، به نظر می‌رسد کاهش مشهود کیفیت لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه در موش‌های صحرایی متعاقب تجویز فلوکساتین در این مطالعه می‌تواند با توجه به نقش فلوکساتین در شکل‌گیری تنش اکسیداتیو در بافت بیضه و نیز تضعیف دستگاه دفاع آنتی‌اکسیداتیو (۱۸) و همچنین حساسیت بالای سلول‌های زایای بیضه به آسیب‌های ناشی از تنش‌های بیوشیمیایی به دلیل ساختار منحصر به فرد غشاء سلولی آن‌ها نیز



شکل ۲. بررسی بیان mRNA مربوط به  $Gfra1$  در بافت بیضه گروه‌های آزمایشی مختلف بر اساس دنسیتومتری بر روی اختصاصی GAPDH

CO: گروه شاهد، F5: گروه دریافت‌کننده فلوکساتین به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، F10: گروه دریافت‌کننده فلوکساتین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم.



شکل ۳. ارزیابی کمی بیان mRNA مربوط به  $Gfra1$  در بافت بیضه گروه‌های آزمایشی مختلف بر اساس دنسیتومتری بر روی اختصاصی GAPDH حروف نامشابه نشان‌گر تفاوت معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  می‌باشند.

Control: گروه شاهد، ۵ mg/kg: گروه دریافت‌کننده فلوکساتین به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۱۰ mg/kg: گروه دریافت‌کننده فلوکساتین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

توجه گردد (۱۹).

فرآیند تکثیر سلول‌های پایه اسپرماتوگونی تمایز یافته می‌گردد (۲۵). از این روی، اختلالات مشاهده شده در فرآیند خودتکثیری سلول‌های پایه اسپرماتوگونی در این مطالعه می‌تواند با سطوح سرمی پایین تستوسترون ناشی از تجویز فلوکساتین مرتبط باشد.

از سوی دیگر، یافته‌های حاصل از ارزیابی‌های بافت‌شناختی در مطالعه حاضر نشان داد که تجویز فلوکساتین به صورت وابسته به دُز موجبات کاهش میزان سلول‌های اسپرم و همچنین بروز اختلال در روند تمایز و بلوغ این سلول‌ها را فراهم می‌آورد که این امر نقش بنیادی سلول سرتولی و ترشحات آن را در بقاء و خودتکثیری سلول‌های پایه اسپرماتوگونی و نیز تنظیم فرآیند اسپرماتوژنز آشکار می‌سازد (۲۶). همچنان که پژوهش‌های صورت گرفته در این زمینه نیز نشان داده است که پیوند سلول‌های سرتولی به داخل بیضه موش‌های جهش‌یافته دارای نقص سلول‌های سرتولی با ازسرگیری روند طبیعی اسپرماتوژنز همراه بوده است (۲۷) و همچنین ترکیب GDNF و Gfra1 بیشترین کارایی را جهت خودتکثیری سلول‌های پایه اسپرماتوگونی در شرایط آزمایشگاهی دارا است (۲۸).

با توجه به یافته‌های این پژوهش چنین برمی‌آید که فلوکساتین به صورت وابسته به دُز به واسطه ایجاد اختلال در روند بقاء و خودتکثیری سلول‌های پایه اسپرماتوگونی می‌تواند زمینه‌ساز آسیب‌های قابل توجه بیضه در موش‌های صحرایی گردد.

#### تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه ارومیه به شماره ۵۵۹-۲ د است که بدین وسیله صمیمانه از دانشگاه ارومیه به سبب تأمین مالی این مطالعه قدردانی می‌گردد.

GDNF فاکتور رشدی با ساختار پروتئینی است که به واسطه گیرنده خلال غشایی تیروزین کینازی به نام c-Ret یا به واسطه گیرنده Gfra1 عملکرد فیزیولوژیک خود را به انجام می‌رساند. محل اثر GDNF در حقیقت سلول‌های اسپرماتوگونی  $A_s$  و  $A_{pr}$  می‌باشد که به واسطه تحریک این فاکتور رشد، تقسیمات تمایزی خود را انجام می‌دهند. به این ترتیب که GDNF از طریق گیرنده خود بیان ژن‌های ویژه‌ای مانند p13K، AKT و MEK را تحریک می‌کند. در همین راستا، متعاقب بیان ژن‌های اخیر، ژن‌های ID4 و bcl6b بیان می‌شوند که فرآیند جایگزینی سلول‌های  $A_s$  و  $A_{pr}$  را هدایت می‌نمایند و بر این اساس، بقاء و خودتکثیری سلول‌های پایه اسپرماتوگونی در جریان روند اسپرماتوژنز تضمین می‌گردد (۲۲-۲۰). یافته‌های این بررسی نیز نشان داد که تجویز فلوکساتین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به واسطه کاهش میزان بیان Gfra1 در بافت بیضه موش‌های صحرایی می‌تواند موجبات اختلال در فرآیند خودتکثیری و تمایز سلول‌های پایه اسپرماتوگونی را فراهم آورد. همچنان که بررسی‌های اخیر بروز اختلال در عملکرد GDNF را از عوامل پی‌ریزی آسیب‌های بافت بیضه و کاهش باروری برمی‌شمارند (۲۳، ۲۴). در همین راستا، بررسی‌های صورت پذیرفته نیز نشان داده است که در موش‌هایی که متعاقب دستکاری ژنتیکی فاقد ژن GDNF می‌باشند، لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه از سلول‌های اسپرماتوگونی خالی می‌گردند و تنها سلول‌های سرتولی باقی می‌مانند (۲۲). علاوه بر این، پژوهش‌های اخیر بر نقش مستقیم دستگاه اندوکراین در تنظیم تکثیر سلول‌های اسپرماتوگونی صحنه می‌گذارند و به عنوان یافته‌ای نوین اعتقاد دارند که تستوسترون به واسطه تحریک ترشح GDNF توسط سلول‌های میوئید موجود در پیرامون لوله‌های اسپرم‌ساز سبب بهینه‌سازی

### منابع

- Balon R. SSRI-associated sexual dysfunction. *The American Journal of Psychiatry* 2006; 163: 1504-9.
- Hajizadeh Z, Soleimani Mehranjani M, Najafi G, Shariatzadeh SMA, Shalizar Jalali A. Black grape seed extract modulates fluoxetine-induced oxidative stress and cytotoxicity in the mouse testis. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 11(2): e27512.
- Grigoriadis S, VonderPorten EH, Mamisashvili L, Roerecke M, Rehm J, Dennis CL, et al. Antidepressant exposure during pregnancy and congenital malformations: is there an association? A systematic review and meta-analysis of the best evidence. *Journal of Clinical Psychiatry* 2013; 74: e293–e308.
- Huybrechts KF, Sanghani RS, Avorn J, Urato AC. Preterm birth and antidepressant medication use during pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 2014; 9: e92778.
- Kumar VS, Sharma VL, Tiwari P, Singh D, Maikhuri JP, Gupta G, et al. 2006. The spermicidal and antitrichomonas activities of SSRI antidepressants. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 2006; 16: 2509-12.
- Alzahrani HA. Sister chromatid exchanges and sperm abnormalities produced by antidepressant drug fluoxetine in mouse treated in vivo. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2012; 16: 2154-61.
- Bataineh HN, Daradka T. Effects of long-term use of fluoxetine on fertility parameters in adult male rats. *Neuro Endocrinology Letters* 2007; 28: 321–5.
- Ferguson L, How JJ, Agoulnik AL. The fate of spermatogonial stem cells in the cryptorchid testes of RXFP2 deficient mice. *PLoS ONE* 2013; 8: e77351.
- Hofmann MC. GDNF signaling pathways within the mammalian spermatogonial stem cell niche. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2008; 288: 95-103.
- Meng X, Lindahl M, Hyvönen ME, Parvinen M, de Rooij DG, Hess MW, et al. Regulation of cell fate decision of undifferentiated spermatogonia by GDNF. *Science* 2000; 287(5457): 1489-93.
- Pawluski JL, van Donkelaar E, Abrams Z, Houbart V, Fillet M, Steinbusch HW, et al. Fluoxetine dose and administration method differentially affect hippocampal plasticity in adult female rats. *Neural Plasticity* 2014; 2014: 123026.
- Johnsen SG. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970; 1: 2-25.
- Pilania M, Bairwa M, Kumar N, Khanna P, Kurana H. Elderly depression in India: An emerging public health challenge. *Australasian Medical Journal* 2013; 6(3):107–11.
- Muller JC, Imazaki PH, Boareto AC, Lourenco EL, Golin M, Vechi MF, et al. In vivo and in vitro estrogenic activity of the antidepressant fluoxetine. *Reproductive Toxicology* 2012; 34(1): 80–5.
- Silva J, Lins A, Amorim J, Pinto CF, Deiró TBJ, Oliveira JRM, et al. Neonatal administration of fluoxetine decreased final sertoli cell number in Wistar rats. *International Journal of Morphology* 2008; 26(1): 51-62.
- Sciarra J. Infertility: an international problem. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 1994; 46(2): 155-63.
- Safarinejad MR. Evaluation of endocrine profile and hypothalamic-pituitary-testis axis in selective serotonin reuptake inhibitor-induced male sexual dysfunction. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 2008; 28(4): 418-23.
- Sakr SA, Mahran HA, El-Deeb MM. Ameliorative effect of curcumin on fluoxetine-induced reproductive toxicity and oxidative stress in male albino rats. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science* 2013; 2(1): 29-35.
- Kasahara E, Sato EF, Miyoshi M, Konaka R, Hiramoto K, Sasaki J, et al. Role of oxidative stress in germ cell apoptosis induced by di(2-ethylhexyl)phthalate. *Biochemical Journal* 2002; 365(Pt 3): 849–56.
- Oatley JM, Avarbock MR, Brinster RL. Glial cell line-derived neurotrophic factor regulation of genes essential for self-renewal of mouse spermatogonial stem cells is dependent on Src family kinase signaling. *Journal of Biological Chemistry* 2007; 282(35): 25842–51.
- Lee J, Kanatsu-Shinohara M, Inoue K, Ogonuki N, Miki H, Toyokuni S, et al. Akt mediates self-renewal division of mouse spermatogonial stem cells. *Development* 2007; 134(10): 1853-9.
- Sariola H, Saarma M. Functions and signaling pathways for GDNF. *Journal of Cell Science* 2003; 116: 3855-62.
- Mohammadi F, Jalali AS, Najafi G, Behfar M. Stereological, morphometric and morphological analyses of bilateral epididymal lipectomy induced changes in mouse testicular histoarchitecture. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences* 2017; 20(4): 141-6.
- Nooraei A, Jalali AS, Razi M, Behfar M. Bilateral epididymal lipectomy disturbs mouse germline maintenance. *Journal of Reproduction and Infertility* 2017; 18: 212-3.
- Chen LY, Willis WD, Eddy EM. Targeting the Gdnf Gene in peritubular myoid cells disrupts undifferentiated spermatogonial cell development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2016; 113(7): 1829-34.
- Phillips BT, Gassei K, Orwig KE. Spermatogonial stem cell regulation and spermatogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 2010; 365(1546): 1663-78.
- Kanatsu-Shinohara M, Miki H, Inoue K, Ogonuki N, Toyokuni S, Ogura A, et al. Germline niche transplantation restores fertility in infertile mice. *Human Reproduction* 2005; 20(9): 2376-82.
- Kubota H, Avarbock MR, Brinster RL. Culture conditions and single growth factors affect fate determination of mouse spermatogonial stem cells. *Biology of Reproduction* 2004; 71(3): 722-31.

Daneshvar  
Medicine

*Scientific-Research  
Journal of Shahed  
University  
25th Year, No.132  
December- January  
2017-2018*

Received: 28/10/2017

Last revised: 13/12/2017

Accepted: 20/12/2017

## The effect of fluoxetine on spermatogenesis and spermatogonial stem cells self-renewal in adult male rats

Haniyeh Akbari, Shapour Hasanzadeh, Ali Shalizar Jalali\*, Hassan Malekinejad

Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

\* Corresponding author e-mail: a.shalizar@urmia.ac.ir

### Abstract

**Background and Objective:** Fluoxetine (FLX) application as a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) drug that accompanies side effects including reproductive dysfunctions. The current study was designed to explore the effects of FLX on rat spermatogenesis as well as spermatogonial stem cells self-renewal through evaluation of glial cell line-derived neurotrophic factor family receptor alpha-1 (GFR $\alpha$ 1) expression at mRNA level in testicular tissue.

**Materials and Methods:** Adult male Wistar rats were randomly allocated into experimental and control groups. The experimental group was subdivided into two groups which received 5 mg/kg/day and 10 mg/kg/day of FLX orally for 48 days. Testicular tissue samples were collected 24 hours after the last treatment and histological assessments and reverse transcription polymerase chain reaction were done to analyze spermatogenesis and mRNA expression of GFR $\alpha$ 1, respectively.

**Results:** Treatment with FLX caused spermatozoa maturation arrest in a dose-dependent manner as was evident by significant decreases in spermatogenic indices. Moreover, FLX administration at a dose of 10 mg/kg/day resulted in significant reduction in mRNA expression of GFR $\alpha$ 1 in testicular tissue.

**Conclusion:** These findings suggest that FLX induces male reproductive toxicities via disruption of spermatogonial stem cells self-renewal, bringing about the necessity of more researches about the precise mechanisms of SSRI antidepressants-induced spermatogenic failures.

**Keywords:** Fluoxetine, Self-renewal, Spermatogonial Stem Cells, Spermatogenesis, Rat, GFR $\alpha$ 1