

دارای رتبه علمی - پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

اثر سیپروفلوکسازین بر تغییرات هورمون های جنسی واسپرماتوسیت ها درموش صحرایی

آرش خاکی

دانشیار پاتولوژی، گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه
آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

نویسنده مسئول: آرش خاکی

پست الکترونیکی: arashkhaki@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۴۳۱۳۸۳۹۹

آدرس: دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی

تبریز، ایران

دریافت: ۹۲/۴/۲۸

ویرایش پایانی: ۹۲/۶/۲۹

پذیرش: ۹۲/۷/۱

چکیده

زمینه و هدف: داروی سیپروفلوکسازین از دسته آنتی بیوتیک های خانواده فلوروکینولون می باشد که بر روی بیماری های حاصل از باکتری های گرم منفی بسیار موثر عمل می کند. هدف از انجام این تحقیق پی بردن به اثرات داروی سیپروفلوکسازین در طول دوره اسپرماتوژنز است.

روش بررسی: تعداد ۲۰ سررت نر نژاد ویستار به دو گروه (n=۱۰) شاهد و (n=۱۰) تحت مطالعه تقسیم شدند. گروه تحت مطالعه از دز درمانی داروی سیپروفلوکسازین به میزان ۱۲/۵mg/kg در طول دوره اسپرماتوژنز به صورت محلول در آب آشامیدنی استفاده کردند. در روز بیست و هشتم از ناحیه دم ایدیدم، اسپرم ها جمع آوری شد و جهت آنالیز به آزمایشگاه ارجاع داده شد.

یافته ها: طبق مشاهدات در زیر میکروسکوپ نوری و آنالیز انجام شده آماری، بیشتر لوله های سیمنی فر در گروه شاهد سالم بودند و در مرحله Sc8-9 قرار داشتند. از سوی دیگر در بیشتر لوله های سیمنی فر موجود در گروه تحت مطالعه از بین رفتن سلول های سرتولی و عدم وجود سلول های جنسی مشهود بود. در بعضی مناطق فقط لایه بازال لوله های سیمنی فر باقی مانده بود و این لوله ها در مرحله اول یا Sc3-5 قرار داشتند.

نتیجه گیری: در گروه تحت مطالعه در مقایسه با گروه شاهد تعداد اسپرم ها، تحرک اسپرم ها و درصد قابلیت زیست آنها، میزان هورمون های LH و FSH کاهش معنی دار یافته است ($p < 0/05$) داروی سیپروفلوکسازین دارای اثرات مخرب بر روی متغیرهای مربوطه به اسپرم در دوره کوتاه ۲۸ روزه بود.

واژه های کلیدی: اسپرم، سیپروفلوکسازین، هورمون های جنسی

آدرس مقاله:

خاکی آ " اثر سیپروفلوکسازین بر تغییرات هورمون های جنسی واسپرماتوسیت ها درموش صحرایی " مجله علوم آزمایشگاهی، تابستان

۱۳۹۳، دوره هشتم (شماره ۲): ۸-۱۳

اسپرماتوژنز در انسان که در حدود ۶۴ روز (۷) و در موش رت در حدود ۵۰ روز می‌باشد (۹،۸) مطابقت می‌کند، بنابراین در این بررسی به اثرات احتمالی این دارو بر روی میزان ناباروری در افراد مذکر پرداخته شد.

روش بررسی

در این تحقیق از ۲۰ سررت نر با سن ۸ هفته و با نژاد ویستار و با وزن حدود ۲۵۰ گرم که از مرکز انیستیتو پاستور ایران خریداری شده، استفاده گردید. رت‌ها به مدت ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی قرار گرفتند. دمای اطاق نگهداری ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود و درصد رطوبت اطاق ۵۷ درصد اندازه‌گیری شد. ۲۰ سررت به دو گروه (n=۱۰) شاهد و (n=۱۰) مورد مطالعه تقسیم شدند گروه تحت مطالعه از غذا به همراه دوز درمانی داروی سیپروفلوکسازین (آریا - ایران) به میزان ۱۲/۵ mg/kg استفاده نمودند. طریقه استفاده از دارو به طور محلول در آب آشامیدنی به صورت روزانه به مدت ۶۰ روز بود و جهت اطمینان از مصرف دارو هر روز آب آشامیدنی آب خوری‌های رت‌ها در گروه تحت مطالعه تعویض می‌شد. در روز بیست و هشتم، از ناحیه دم آنها ۵ میلی لیتر خون جهت آزمایش هورمون‌ها جمع‌آوری شد. بیضه‌های رت‌های هر دو گروه شاهد و تحت مطالعه پس از بیهوشی در شرایط استریل از بدن خارج و در داخل محیط کشت RPMI-1640 بدون سرم شست‌شو داده شد تا از نظر خون و بافت‌های چربی‌عاری شوند. اپیدیدیم در داخل محیط کشت به قطعات کوچک خرد شد و در پلیت ۲۴ حفره‌ای که حاوی ۰/۵ میلی لیتر از محیط کشت حاوی سرم آلبومین گاوی ۴ میلی گرم بر میلی لیتر قرار داده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. سپس بافت‌های قطعه‌قطعه شده از محیط کشت خارج و سوسپانسیون اسپرم بدست آمده داخل انکوباتور قرار گرفت. از سوسپانسیون حاوی اسپرم رقت ۱:۱۰۰ تهیه و سپس یک قطره از نمونه رقیق شده را بر روی لام میکروسکوپی قرار داده و اسپرم‌ها از نظر تعداد، شکل ظاهری، درصد تحرک مورد بررسی قرار گرفتند. برای

بیماری‌های عفونی دستگاه ادراری-تناسلی به عنوان یکی از مهمترین عوامل تهدیدکننده زندگی افراد بالغ به شمار می‌رود. مهمترین عوامل بیماری‌زا در این دستگاه اشرشیاکولی (۷۰-۹۵٪) و استافیلوکوک‌ها (۵٪) می‌باشند (۱). در حدود ۲۰ درصد از افراد مونث و یک درصد از افراد مذکر جامعه در طول زندگی خود به یکی از بیماری‌های دستگاه تناسلی، ادراری مبتلا می‌شوند (۲). با توجه به گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO)، حدود یک سوم از مردم کره زمین از بیماری‌های عفونی رنج می‌برند و مبتلایان به بیماری‌های عفونی برای درمان خود از داروهای آنتی‌بیوتیک استفاده می‌کنند. جهت درمان این بیماری‌ها از آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها مثل سیپروفلوکسازین استفاده می‌شود. این دارو با مکانیسم جلوگیری از عملکرد DNA-gyrase (توپوایزومراز) و با جلوگیری از باز شدن رشته‌های (DNA-Supercoiling) DNA، از تکثیر باکتری جلوگیری می‌کند. همچنین این دارو در درمان عفونت‌های داخل سلولی مانند: استافیلوکوک اورئوس، مایکوباکتریوم توبرکولزیس موثر است (۳). آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون اثرات خوبی را در درمان عفونت‌های حاصله از باکتری‌های گرم منفی در دستگاه ادراری تناسلی، از خود نشان داده‌اند (۴). از سوی دیگر این دارو بر روی عفونت‌های حاصله توسط مایکوپلازماها، کلامیدیاها، استرپتوکوک‌ها نیز بسیار موثر است. این دارو سبب ناهنجاری‌هایی در سیستم عضلانی - حرکتی در کودکان، تورم مفصل و ناهنجاری در راه رفتن می‌شود. همچنین اثرات روی دستگاه اعصاب مرکزی (CNS) در ۹-۱ درصد بیماران گزارش شده است (۵). در بسیاری از این بیماری‌های عفونی به ویژه بیماری‌های مقاربتی و بیماری‌های عفونی ناحیه تناسلی و بیماری‌های مثل، سل، بروسلاز جهت درمان، نیاز به مصرف دراز مدت از آنتی‌بیوتیک دارند که گاهی تا حدود ۴۰-۶۰ روز این تجویز دارو ادامه دارد (۶). چون مدت زمان تجویز این دارو در بیماری‌های مزمن در حدود ۶۰ روز است و این دوره درمانی با طول دوره

در هر دو گروه شاهد و مورد (۱۰) طبق جدول ارزیابی مراحل مختلف لوله های سیمینفر مورد مطالعه قرار گرفتند. هورمون های جنسی با استفاده از کیت (بیوسورس، بلژیک) و به روش رادیو ایمنو اسی سنجش شدند.

یافته ها

مشاهدات نشان داد که تعداد قدرت تحرک و قابلیت زیست اسپرم در گروه مصرف کننده دارو سیروفلوکسازین نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری دارد (جدول ۱). از لحاظ مورفولوژی اسپرم های غیر طبیعی مشاهده نشد. طبق مشاهدات میکروسکوپ نوری در گروه شاهد بیشتر لوله های سیمینفر موجود در شان های مختلف میکروسکوپیک مراحل مختلف اسپرماتوژنز را نشان میداند و توسط سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه پوشیده شده بودند. اما آنچه که مشهود بود اکثر لوله های موجود در گروه مصرف کننده دارو به میزان $(5/7 \pm 0/05)$ دچار هیواسپرماتوژنز و بلوغ سلول های اسپرماتوسیت اولیه بمیزان $(3/1 \pm 1/05)$ دچار توقف و پروسه اسپرماتوژنز بمیزان $(2/3 \pm 0/05)$ در لوله های سیمینفر دچار توقف شده بودند که تمامی این تغییرات نسبت به گروه شاهد بمیزان $(P < 0/05)$ معنی دار بود. هورمون های LH و FSH در گروه دریافت کننده دارو نسبت به گروه شاهد کاهش معنی دار نشان داد $(P < 0/05)$ (جدول ۱).

بررسی تحرک اسپرم، ۱۰ میکرولیتر اسپرم از آمپول وازودفران برداشته و در سرم فیزیولوژیک رقیق گردید. سپس یک قطره از نمونه رقیق شده اسپرم بر روی لام قرار گرفت و از لحاظ درصد تحرک و شکل ظاهری مورفولوژی در زیر میکروسکوپ در ۱۰ میدان بررسی شد. برای تشخیص مورفولوژی اسپرم طبیعی از غیر طبیعی از روش رنگ آمیزی پاپانیکلا استفاده شد. به منظور شمارش تعداد اسپرم یک قطره از نمونه رقیق شده روی لام نئوبار قرار داده و تعداد اسپرم ها محاسبه شده در 10^6 ضرب شد تا کل اسپرم بدست آید. برای ارزیابی قابلیت زیست اسپرم، پنجاه میکرولیتر از نمونه اسپرم با ۵۰ میکرولیتر از اتوزین-نیکروزین مخلوط و آنگاه با اتانل در هوا به مدت ۱۵ دقیقه خشک شد و سپس درصد قابلیت زیست آنها با میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت (۹). پس از فیکس کردن بافت بیضه در فرمالین بافر ده درصد و تهیه بلوک های پارافینه جهت تهیه مقاطع میکروسکوپی به اندازه پنج میکرومتر، رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین (H&E) جهت مطالعه در زیر میکروسکوپ نوری انجام شد. به این منظور تعداد ۱۰۰ لوله سیمنی فر به صورت تصادفی در گروه شاهد و ۱۰۰ لوله سیمنی فر به صورت تصادفی در گروه تحت مطالعه انتخاب شد (ده لوله سیمنی فر به ازای هر رت) مراحل Sc1, Sc2, Sc3, Sc4-5, Sc6-7, Sc8-9, Sc10

جدول ۱- نتایج آنالیز آماری بدست آمده از آنالیز اسپرم در گروه کنترل و آزمایش پس از مصرف ۲۸ روز از مصرف دارو

نتایج	تعداد کل اسپرم 10^6 rat	حرکت اسپرم 10^6 rat	درصد قابلیت زیست	LH ng/ml	FSH ng/ml
گروه کنترل	$70/32 \pm 0/05$ (%100)	$65/11 \pm 0/05$ (%100)	$87/55 \pm 0/05$ (%100)	$3/05 \pm 0/05$	$5/05 \pm 0/05$
گروه آزمایش	$45/12 \pm 0/05$ (%40)	$22/32 \pm 0/05$ (%32/2) *	$40/12 \pm 0/05$ (%52/2) *	$1/05 \pm 0/05$	$2/05 \pm 0/05$

بحث

ندارند، ولی آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین، اریترومایسین و کوتریموکسازول همگی سبب کاهش درصد قابلیت زیست اسپرم ها می شوند (۱۱). در برخی از تحقیقات که در مورد درمان التهاب اپیدیدیم با آنتی بیوتیک

آنتی بیوتیک ها نقش مهمی در درمان بیماری های عفونی دارند. در مطالعات انجام شده در مورد اثرات آنتی بیوتیک های اکسی تتراسایکلین، استریپتومایسین و ایزونیاژید مشخص شده است که این داروها اثری روی تحرک اسپرم

شده است بیانگر این است که در میان بیماران مبتلا به هیپواسپرماتوزنز یافته‌های هستیولوژیکی جدید و الگوها و علل مختلفی را وجود دارد. یکی از علت‌های اصلی هیپواسپرماتوزنز در بیماران فوق به دلیل توقف در رشد سلول‌های رده اسپرماتوگونی از طریق مرگ برنامه‌ریزی شده سلول بود (۱۳) برخی داروها همانند سایر ترکیبات شیمیایی از طریق فعال کردن آنزیم‌ها مانند کاسپازها از عوامل ایجاد کننده مرگ برنامه‌ریزی شده سلول هستند. (۱۴) این دارو از طریق فعال کردن کاسپاز ۳ سبب مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود و همچنین فعال شدن کاسپاز ۳ نقش مهمی در کاهش تعداد اسپرم، تحرک اسپرم، افزایش DNA قطعه‌قطعه شده در اسپرم و به وجود آمدن واریکوسل دارد (۱۵).

نتیجه‌گیری

سیروفلوکسازین سبب کاهش درصد بلوغ سلول‌های اسپرماتوگونی و سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه و عدم تشکیل اسپرماتوسیت‌ها، کاهش تعداد اسپرم‌ها، تحرک اسپرم‌ها، کاهش درصد قابلیت زیست اسپرم‌ها می‌گردد.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به جهت حمایت‌های علمی آنان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

داکسیسلیلین انجام شده است نشان دهنده وقوع حالت اولیگواسپرمی پس از تجویز ۸ روزه در ۷۵ درصد بیماران بوده است (۱۲). از سوی دیگر داروی جنتامایسین سبب کاهش تعداد اسپرم‌ها می‌شود. همچنین تحقیقات گذشته مربوط به داروهای سیروفلوکسازین و افلوکسازین در روی رت که به مدت ۱۵ روز متوالی در دزهای درمانی به صورت محلول در آب استفاده شده بودند نشان دهنده کاهش میزان LDH-X بیضه و اسید فسفاتاز اسپرم به همراه کاهش تعداد اسپرم و تحرک اسپرم بود (۱). با توجه به اینکه داروی سیروفلوکسازین از آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون می‌باشد و به صورت وسیع طیف در درمان بیماری‌های عفونی به کار می‌رود لذا در تحقیق حاضر به بررسی اثرات این دارو بر روی فرایند اسپرماتوزنز در بافت بیضه رت پرداخته شد که نتایج حاصل به طور معنی داری نشان دهنده کاهش معنی داری در متغیرهای سلامتی اسپرم مانند کاهش تعداد اسپرم، تحرک اسپرم و درصد قابلیت زیست اسپرم بود. از سوی دیگر مطالعه بر روی لوله‌های سیمنی‌فر در زیر میکروسکوپ نوری نشان دهنده آن بود که اکثر لوله‌های سیمنی‌فر موجود در گروه تحت مطالعه دچار آتروفی شده بودند و این در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی را نشان می‌داد. همچنین تحقیقات گذشته دانشمندان که روی بیوپسی‌های بافت بیضه انجام

References

- Harding G, Nicolle L, Wenman W, Richards G, Louie T, Martel A, et al. *Randomised Comparison of oral ciprofloxacin vs. standard parenteral therapy in the treatment of complicated urinary tract infections*. *Drugs*. 1993; 45(3): 333-334.
- Hooper DC, Wolfson JS, Ng EY, Swartz, MN. *Mechanisms of action and resistance to ciprofloxacin*. *Am J Med*. 1987; 82(Suppl 4): 12-20.
- Seral C, Carryn S, Tulkens PM, Van Bambeke F. *Influence of P-glycoprotein and MRP efflux pump inhibitors on the intracellular activity of azithromycin and ciprofloxacin in macrophages infected by Listeria monocytogenes or Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003, 51(5): 1167-1173.
- Naber KG, Landen H. *Rapid resolution of symptoms with ciprofloxacin therapy in 3859 hospitalised patients with urinary tract infection*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2004; 23(Suppl 1): 35-40.
- Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE. *Principles and practice of Infectious diseases*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone. 1990; 203-205.
- Carryn S, Van Bambeke F, Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. *Comparative intracellular (THP-1 macrophage) and extracellular activities of beta-lactams, azithromycin, gentamicin, and fluoroquinolones against Listeria monocytogenes at clinically relevant concentrations*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002; 46(7): 2095-103.
- Clermont Y. *Kinetics of spermatogenesis in mammals; seminiferous epithelium cycles and spermatogonial renewal*. *Physiol Rev*. 1972; 52(1): 198-236.
- Boekelheide K, Lee J, Shipp EB, Richburg JH, Li G. *Expression of Fas system-related genes in the testis during development and After toxicant exposure*. *Toxicol Lett*. 1998; 102-103: 503-508.

9. Bustos-Obregon E, Rodriguez H. *Testicular x-ray irradiation in adult Mice as a model to study spermatogonial proliferation*. *Andrologia*. 1991; 23(6): 447-50.
10. Norra C, Skobel E, Breuer C, Haase G, Hanrath P, Hoff P. *Ciprofloxacin-induced acute psychosis in a patient with multidrug-resistant tuberculosis*. *J European Psychiatry*. 2003; 18(5): 262-263.
11. Hargreaves CA, Rogers S, Hills F, Rahman F, Howell RJ, Homa ST. *Effects of co-trimoxazole, erythromycin, amoxycillin, tetracycline and chloroquine on sperm function in vitro*. *J Hum Reprod*. 1998; 13(7): 1878-86.
12. Ghosh S, Dasgupta S. *Gentamicin induced inhibition of steroidogenic enzymes in rat testis*. *Indian J PhysiolPharmacol*. 1999; 43(2): 247-50.
13. Blanco-Rodriguez J, Martinez-Garcia C. *Spontaneous germ cell Death in the testis of the adult rat takes the form of apoptosis: Re-evaluation Of cell types that exhibit the ability to die during spermatogenesis*. *Cell Proliferation*. 1996; 29: 13-31.
14. Allard EK, Boekelheide K. *Fate of germ cells in 2, 5-hexandionene-induced testicular injury*. *J Toxicol Appl Pharmacol*. 1996; 137(2): 141-148.
15. Zhang, JH, Zhang Y, Herman B. *Caspases, apoptosis and aging*. *Ageing Res Rev*. 2003; 2(4): 357-66.

Effect of Ciprofloxacin on Sexual Hormones and Spermatocytes in Rat

Khaki, A. (PhD)

Associate Professor of Veterinary
Pathology, Department of Pathobiology
Tabriz Branch, Islamic Azad University,
Tabriz, Iran

Corresponding Author: Khaki, A.

Email: arashkhaki@iaut.ac.ir

Received: 19 Jul 2013
Revised: 20 Sep 2013
Accepted: 23 Sep 2013

Abstract

Background and Objectives: Ciprofloxacin is a synthetic antibacterial agent belonging to Fluoroquinolone drugs affecting effectively on gram-negative bacterial infectious. The aim of this study was to assess the effect of ciprofloxacin in the spermatogenesis period.

Material and Methods: The subjects were 20 male wistar rat randomly divided in to control (n=10) and experimental group (n=10), given 12.5mg/kg ciprofloxacin (soluble in drinking water) in spermatogenesis period. On the day of 28, the sperm was collected from cauda epididymis and sent for analysis.

Results: Based on light microscopic observation and statistical analysis, the majority of seminiferous tubules of control group were healthy, in Sc 8-9 stage. But in test group, sertoli cell degeneration and absence of sex cells were confirmed, and in some parts, just basal layer of seminiferous tubule was remained in Sc 3-5 stage.

Conclusion: Sex hormones (LH and FSH) and spermatogenesis (sperm count, motility and viability) were significantly decreased in test group compared to those of controls ($P<0.05$). Ciprofloxacin has some adverse effects on sperm related variables in 28 day period.

Keywords: Ciprofloxacin, Sperm, Sex Hormones