The effects of ceftriaxone on sperm parameters, DNA damage and in vitro fertilization in mice

Seidabadi M., DVM[1], Najafi Gh., PhD[2], Hasanzadeh Sh., PhD[3]
1. Doctor of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Basic Science, Anatomy and Embryology section, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author), Tel:+98-44-33653271, g.najafi2006@yahoo.com
3. Associate Professor, Department of Basic Science, Histology Ward, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

ABSTRACT
Background and Aim: Ceftriaxone is a cephalosporin derivative used in the treatment of respiratory infections and meningitis. The main purpose of this study was to evaluate ceftriaxone effects on sperm quantity, quality, damages and *in vitro* fertilization (IVF) in adult mice.
Material and Methods: 40 adult male mice were randomly divided into 3 groups as following: control group received intraperitoneal normal saline every day; experimental groups 1 and 2 received 20 mg/kg/day and 50 mg/kg/day of ceftriaxone respectively through intraperitoneal route. Samples were obtained one week and 45 days after treatment Half of the animals in the test groups were analyzed after one week and the other half after 45 days. The sperm parameters including, sperm count, sperm viability, percentages of immature sperms, DNA damages, status of acrosomal enzymes, percentages of zygotes, two cell embryos and blastocysts were evaluated. Data were analyzed by repeated measure test. $P<0.05$ was considered significant.
Results: Ceftriaxone caused a significant reduction ($P<0.05$) in the total number of the sperms, percentage of viable sperms, increased number of immature sperms and sperms with DNA damage. Use of ceftriaxone in the test groups led to decreased population of zygotes, two cell embryos, blastocysts and increased percentage of arrested embryos compared to the control group.
Conclusion: Ceftriaxone decreased sperm fertility potential by affecting the quality and quantity of sperms in mice.
Keywords: Ceftriaxone, Sperm parametrs, DNA damage, In vitro fertilization, mice.

Received: Jan 23, 2016 **Accepted:** Feb 7, 2017

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و دوم/ خرداد و تیر ۱۳۹۶/ ۶۳-۴۸

مطالعه اثرات سفتریاکسون بر پارامترهای اسپرم، آسیب DNA اسپرمی و توان باروری آزمایشگاهی (IVF) در موش سوری

مرتضی سیدآبادی[۱]، غلامرضا نجفی[۲]، شاپور حسن‌زاده[۳]

۱. دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. استادیار، گروه علوم پایه دامپزشکی، بخش آناتومی و جنین‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران،تلفن ثابت: ۰۴۴-۳۳۶۵۳۲۷۱

g.najafi2006@yahoo.com

۳. دانشیار، گروه علوم پایه دامپزشکی، بخش بافت‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

زمینه و هدف: سفتریاکسون یکی از مشتقات سفالوسپورین‌ها می‌باشد که در درمان عفونت‌های تنفسی و مننژیت مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف اصلی از این مطالعه، بررسی اثر سفتریاکسون بر کمیت، کیفیت، آسیب و توان باروری آزمایشگاهی و روند رشد جنین‌ها در موش سوری بالغ بود.

روش بررسی: ۴۰ قطعه موش سفید کوچک آزمایشگاهی به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه کنترل که روزانه سرم فیزیولوژی به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند، گروهای تیمار ۱ و ۲ که روزانه داروی سفتریاکسون را به ترتیب با دوز ۲۰ mg/kg و ۵۰ mg/kg از طریق تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. متعاقب ۷ و ۴۵ روز از شروع تیمار، نمونه‌برداری انجام شد. پارامترهای اسپرم شامل تعداد اسپرم‌ها، درصد اسپرم‌های زنده، درصد اسپرم‌های بالغ، آسیب به DNA اسپرم، وضعیت آنزیم‌های آکروزومی، درصد زیگوت، جنین‌های دوسلولی و بلاستوسیست‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها با روش آماری Repeated Measure آنالیز شدند و سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: داروی سفتریاکسون باعث کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) تعداد اسپرم‌ها، درصد اسپرم‌های زنده، افزایش درصد اسپرم‌های نابالغ و با DNA آسیب‌دیده در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل شد. سفتریاکسون در هر دو دوز مصرف شده باعث کاهش درصد زیگوت، جنین‌های دو سلولی، بلاستوسیست در مقایسه با گروه کنترل و افزایش درصد جنین‌های متوقف شده، گردید.

نتیجه‌گیری: سفتریاکسون با اثر بر فاکتورهای کیفی و کمی اسپرم، باعث کاهش توان باروری اسپرم در موش سوری می‌گردد.

کلید واژه‌ها: سفتریاکسون، پارامترهای اسپرم، آسیب DNA، لقاح داخل آزمایشگاهی، موش سوری

وصول مقاله :۹۴/۱۱/۳ اصلاحیه نهایی:۹۵/۱۱/۹ پذیرش:۹۵/۱۱/۱۸

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

مقدمه

به علت استفاده زیاد از آنتی‌بیوتیک‌ها، مطالعه اثرات سوء آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد. استفاده بی‌رویه از آنتی بیوتیک‌ها علاوه بر ایجاد مقاومت باکتری‌ها، اثرات زیانباری نیز بر سایر ارگان‌های بدن می‌گذارد. در حال حاضر یکی از این موارد، کاهش توان باروری در پی استفاده از آن‌ها است (۱). آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، کلروکوین، اریترومایسین و کوتریموکسازول اثرات غیر قابل برگشتی بر اسپرم داشته و باعث کاهش حرکت و توانایی حیات اسپرم در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) می‌شوند (۲).

سفتریاکسون آنتی‌بیوتیکی وسیع‌الطیف از نسل سوم خانواده سفالوسپورین‌ها بوده که در مقابله با انواع باکتری‌ها و برای درمان عفونت‌های تنفسی، دستگاه ادراری مثل سوزاک، استخوان‌ها و مفاصل، پوست و مننژیت در انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد. این آنتی‌بیوتیک با اختلال در سنتز دیواره سلولی از طریق ممانعت از سنتز پپتیدوگلیکان‌ها، سبب تخریب باکتری‌ها می‌گردد. سفتریاکسون با فرمول $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ و وزن مولکولی ۵۵۴/۵۸ گرم بر مول برای تجویز داخل وریدی و داخل عضلانی در درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده می‌شود (۳).

فناوری تولید جنین در شرایط آزمایشگاهی به ما اجازه تولید تعداد انبوه جنین در مراحل تکاملی گوناگون را می‌دهد و از اینرو بسیار مورد استقبال دانشمندان علوم زیستی، تولیدمثلی و بیوتکنولوژی قرار گرفته است (۴)، این روش امکان بررسی اثرات سوء داروها را در شرایط آزمایشگاهی امکان-پذیر و تسهیل نموده است. کاهش کیفیت اسپرم نیز اغلب وابسته به فاکتورهای محیطی است. مواد شیمیایی و داروهایی که به طور نادرست مصرف می‌شوند، از جمله این عوامل محیطی محسوب می‌گردند (۵). همچنین در مطالعاتی توقف تقسیم اسپرماتوگونی‌ها و اسپرماتوسیت‌های اولیه، تحت تاثیر آنتی‌بیوتیک‌ها نشان داده شده است (۶).

سفالوسپورین‌ها با اینکه ممکن است مقاومت دارویی شدیدی را در فرد ایجاد ننمایند، اما ریسک ایجاد اثرات جانبی در آن‌ها بالاست (۸ و ۷). مطالعاتی مبنی بر اینکه سفالوسپورین‌ها اثرات توکسیک بر بافت بیضه و کاهش تولید اسپرم در رت‌ها اعمال می‌نمایند، وجود دارد (۹). این آنتی‌بیوتیک‌ها بیشترین اثرات تخریبی را بر تقسیم میتوز و میوز سلول‌های اسپرماتوگونی دارند. آن‌ها سبب کاهش سنتز پروتئین در هسته اسپرماتوگونی‌ها و اسپرماتوسیت‌های اولیه شده، در نتیجه سبب کاهش متابولیسم گلوکز در سلول‌های سری اسپرماتوژنز می‌گردند (۳). همچنین دوز درمانی سفالوسپورین‌ها ممکن است تحرک (۱۰) و درصد اسپرم‌های زنده (۱۱) را تحت تاثیر قرار داده و باعث کاهش توان باروری شوند. نمونه‌ای از آن‌ها باعث واکوئله شدن سلول‌های اسپرماتوگونی، ادم در فضای بین لوله‌ها، وجود اسپرماتوزوآ نابالغ در اکثریت لوله‌های سمنی‌فر در رت‌های آلبینو می‌گردد (۱۲).

بر مبنای مطالعات پیشین سفتریاکسون باعث افزایش فعالیت آنزیم هیالورونیداز شده است که این عمل به نوبه خود باعث تراوش آنزیم فوق‌الذکر از سلول‌ها در بافت بیضه و در نهایت آسیب به اسپرم می‌گردد (۱۳). در مطالعه‌ای دیگر مشخص شده است که سفتریاکسون باعث افزایش رادیکال-های آزاد می‌گردد که این خود می‌تواند باعث پراکسیداسیون چربی و آسیب به غشای سلول و در نهایت آسیب به سلول‌ها شود (۱۴). مطالعات حاکی از تراکم عروق خونی و ادم در بافت بینابینی بیضه، بی نظمی سلول-های جنسی در لوله‌های سمنی‌فر و چین خوردگی در غشای پایه برخی از لوله‌ها در رت‌های تیمار شده با سفتریاکسون‌ها هستند. کاهش معنی‌دار در تعداد و تحرک اسپرم رت‌های تحت تیمار با سفالوسپورین‌ها نیز، دیده شده است (۱۵).

با وجود گزارشات متفاوتی که در مورد بررسی اثر سوء آنتی‌بیوتیک‌ها بر دستگاه تولیدمثلی وجود دارد، همچنان خلاء هایی در مطالعات مذکور دیده می‌شوند. داروی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

سفتریاکسون یکی از آنتی‌بیوتیک‌ها ی پرمصرف و تا حدودی مخاطره‌آمیز می‌باشد که می‌تواند کیفیت و کمیت اسپرم‌ها را تحت تاثیر قرار دهد، بر این اساس در این مطالعه اثرات سفتریاکسون بر کیفیت، آسیب DNA و توان باروری آزمایشگاهی اسپرم در موش سوری بررسی شده است.

روش بررسی

حیوانات مورد مطالعه:

این مطالعه از نوع تجربی بوده و تعداد ۴۰ قطعه موش سوری نر بالغ (گونه Bulb/c) با وزن ۱/۱ ± ۲۳ گرم استفاده شد. موش‌ها در شرایط استاندارد با دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۲-۵۵% و با سیکل نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری شدند (۱۷ و۱۶). آب و غذا به صورت آزاد در اختیار موش‌ها گذاشته شد. داروی سفتریاکسون (Ceftriaxone, Hospira Inc. 275 North field Drive, lake Forest, Illinois- USA) تهیه شده و مورد استفاده قرار گرفت.

سپس موش‌ها به طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند:

۱ -گروه کنترل (C): در این گروه به موش‌ها سرم فیزیولوژی استریل از طریق داخل صفاقی (IP=Intra Peritoneal) تزریق شد. تعداد موش‌های این گروه ۱۰ عدد بود. نمونه برداری از گروه کنترل در روز ۷ و در روز ۴۵ انجام گرفت.

۲ -گروه آزمایشی ۱ (IP-1): در این گروه موش‌ها روزانه داروی سفتریاکسون را با دوز ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم (داخل صفاقی) دریافت کردند. تعداد موش‌های این گروه ۱۵ عدد بود. نمونه‌برداری در روزهای ۷ (IP-1-7) و ۴۵ (IP1-45) انجام گرفت.

۳ -گروه آزمایشی ۲ (IP-2): در این گروه موش‌ها روزانه داروی سفتریاکسون را با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم (داخل صفاقی) دریافت کردند. تعداد موش‌های این گروه ۱۵ عدد بود. نمونه‌برداری در روزهای ۷ (IP2-7) و ۴۵ (IP2-45) انجام گرفت.

لازم به ذکر است مقدار سفتریاکسون موثر (LD50) در موش سوری بر اساس بروشور شرکت تولید کننده، برابر با ۲۲۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن می‌باشد (Hospira Co-USA).

تهیه و شمارش اسپرم‌ها

پس از بیهوش کردن موش‌ها توسط کتامین، موش‌ها توسط جابجایی مهره‌های گردنی آسان‌کشی شدند. ناحیه شکم باز شده و دم اپیدیدیم از بیضه جدا شده و درون اپندورف حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشت Human Tubal HTF Fluid, (Sigma, USA) حاوی ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلبومین سرم گاوی (BSA=Bovine Serum Albumin, Sigma, USA) در داخل انکوباتور CO_2 ٪ با درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه گذاشته شدند تا اسپرم‌ها وارد محیط کشت شوند. از اسپرم-های به دست آمده رقت ۱ به ۲۰ (۵ میکرولیتر اسپرم موجود در محیط کشت با ۹۵ میکرولیتر رقیق کننده) تهیه شده و با استفاده از لام هموسیتومتر تعداد اسپرم‌ها در گروه‌های مختلف در هر میلی‌لیتر از محیط کشت به دست آمد (۱۹ و ۱۸).

بررسی درصد اسپرم‌های زنده (Sperm viability)

برای تعیین درصد اسپرم‌های زنده از رنگ‌آمیزی ائوزین نگروزین استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از اسپرم موردنظر روی لامی تمیز با ۲۰ میکرولیتر از محلول رنگی ائوزین مخلوط گشته و پس از گذشت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه، ۲۰ میکرولیتر محلول رنگی نگروزین به آن افزوده شد. پس از تهیه گسترش و خشک شدن، لام‌ها توسط میکروسکوپ نوری جهت تعیین درصد اسپرم‌های زنده و مرده بررسی شدند (۲۰).

بررسی درصد اسپرم‌ها با DNA آسیب دیده:

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

برای این منظور از رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج (Acridine Orange) استفاده شد. این رنگ‌آمیزی جهت تفریق DNA سالم از DNA تخریب شده تک - رشته‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. بعد از رنگ‌آمیزی در زیر میکروسکوپ اسپرم‌ها با DNA سالم به رنگ سبز دیده می‌شوند، در حالیکه انواع آسیب دیده به رنگ نارنجی مشاهده می‌گردند (۲۱). پس از تهیه اسمیر از اسپرم‌ها، نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت توسط محلول کارنوی فیکس شدند. سپس لام‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در جریان هوا قرار گرفتند. رنگ آکریدین اورنج تازه تهیه شده در بافر سیترات فسفات (۰/۱۹ میلی‌گرم پودر آکریدین اورنج در ۱۰۰ میلی - لیتر بافر سیترات فسفات) برای رنگ‌آمیزی استفاده شد. پس از ۱۰ دقیقه، لام‌ها با میکروسکوپ فلورسنت و فیلتر ۴۶۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفتند (۲۴ ۲۲).

بررسی وضعیت بلوغ اسپرم

برای این منظور از رنگ‌آمیری آنیلین بلو استفاده شد. از اسپرم‌های موجود در محیط کشت گسترش تهیه شده و پس از خشک شدن در جریان هوا، نمونه‌ها توسط فیکساتور گلوتارآلدئید ٪ به مدت ۳۰ دقیقه فیکس شدند. اسمیرها توسط محلول رنگی آنیلین بلو ٪ (به همراه استیک اسید ٪ (pH = ۳/۵)) به مدت ۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. درصد اسپرم‌های بالغ با سر بی‌رنگ و اسپرم‌های نابالغ با سر آبی رنگ با استفاده از میکروسکوپ نوری (X ۱۰۰) به دست آمدند (۲۲).

رنگ‌آمیزی پاپانیکلوا (Papanicolaou) برای بررسی آکروزوم

پس از ثبوت لام‌ها، نمونه‌ها در الکل‌های ۹۵، ۸۰، ۷۰ و ۵۰ و سپس در آب مقطر قرار داده شده، به مدت ۲ تا ۳ دقیقه با محلول هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. پس از شستشو با آب مقطر، لام‌ها در هیدروکلریک اسید ۲۵/٪ و آب مقطر (۲ بار) غوطه‌ور گشتند. پس از شستشو، نمونه‌ها از الکل‌های ۵۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۵ عبور داده شده و به مدت ۲ دقیقه در محلول OG6 رنگ‌آمیزی شده و از سه ظرف الکل ۵٪ عبور داده شدند. در نهایت رنگ‌آمیزی با محلول EA50 به مدت ۲ دقیقه انجام شد. پس از عبور از سه ظرف الکل ۵٪، دو ظرف الکل ۰۰٪ و چهار ظرف زایلن، نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند (۲۵ و ۲۶).

بررسی توان باروری آزمایشگاهی (IVF)

برای به دست آوردن تخمک جهت انجام توان باروری آزمایشگاهی، موش‌های ماده بالغ آماده تحریک تخمک- گذاری شدند. به ازای هر موش نر، ۳ موش ماده در نظر گرفته شد. تحریک تخمک‌گذاری با استفاده از تزریق ۱۰ واحد هورمون PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin, Folligon Co, Netherlands) و ۴۸ ساعت بعد آن، با تزریق ۱۰ واحد هورمون HCG (Human Chorionic Gonadotropin, Folligon Co, Netherlands) به حجم ۰/۱ میلی‌لیتر به روش داخل صفاقی صورت گرفت. روز پیش از لقاح، محیط کشت‌های لازم آماده شدند و جهت به تعادل رسیدن ۱۲ ساعت قبل از لقاح در انکوباتور با ترکیب گازی ٪ CO_2 و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. دیش‌های لقاح محتوی محیط کشت HTF (Human Tubal Fluid, Sigma, USA) که با ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلبومین سرم گاوی BSA (Sigma, USA) ترکیب شده بود، قطره- گذاری شدند. یک قطره ۵۰۰ میکرولیتری در هر دیش برای لقاح و چندین قطره ۱۰۰ میکرولیتری برای شست‌وشو و کشت در دیش‌های استریل گذاشته و روی سطح آن‌ها با روغن معدنی (Mineral oil, Sigma, USA) پوشانده شد. ۱۰ تا ۱۲ ساعت پس از تزریق هورمون HCG، موش- های ماده آسان‌کشی شدند. پس از قرار گرفتن لوله‌های رحمی در محیط کشت ۳۷ درجه، با استفاده از تکنیک دیسکت (Dissecting) تخمک‌ها (تصویر ۱) از آمپول

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

اوویداکت خارج شده و به قطرات حاوی محیط کشت HTF (به همراه ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر BSA) منتقل شدند.

سپس از آن اسپرم‌های ظرفیت یافته، به تعداد یک میلیون به ازای هر میلی‌لیتر محیط کشت به قطرات لقاح اضافه شدند. حدود ۴ الی ۶ ساعت بعد، عمل لقاح با مشاهده دو پیش هسته نر و ماده انجام شد. زیگوت‌های به دست آمده بعد از شست و شو در داخل قطرات ۱۰۰ میکرولیتری در زیر روغن معدنی به مدت ۱۲۰ ساعت (۵ روز) کشت داده شدند (۲۷). ۲۴ ساعت پس از کشت تعداد جنین‌های دو سلولی و ۱۲۰ ساعت بعد از کشت تعداد بلاستوسیست‌ها و جنین‌های متوقف شده در هر گروه در زیر میکروسکوپ معکوس مورد بررسی قرار گرفت. جنین‌هایی که درصد بالایی از لیز شدگی و فراگمانته شدن را نشان دادند، به عنوان تیپ I تعریف شدند. جنین‌هایی که در آن‌ها لیز شدن و فراگمانته شدن در حد متوسطی بود، به عنوان تیپ II در نظر گرفته شدند. در نهایت جنین‌هایی که دارای حداقل لیز شدگی و فراگمانتاسیون بودند، به عنوان تیپ III در نظر گرفته شدند(۲۹ و۲۸).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS و نسخه ۲۰ (IBM CO. USA) و به روش آماری Repeated Measure مورد آنالیز آماری قرار گرفت. سطح معنی - داری p<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

اصول اخلاقی

تمامی مراحل این تحقیق تحت نظارت کمیته حمایت از حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی ارومیه و با کسب مجوز از کمیته اخلاقی دانشگاه ارومیه به شماره ۳/۱۸۹/پ انجام شده است.

یافته‌ها

شمارش تعداد اسپرم:

تعداد اسپرم‌ها در تمامی گروه‌های دریافت کننده سفتریاکسون نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان دادند (p<۰/۰۵). تعداد اسپرم‌ها در گروه IP1-45 اختلاف معنی‌داری با گروه IP2-45 داشت (p<۰/۰۵). این حالت نشانگر این است که با افزایش دوز مصرفی سفتریاکسون، تعداد اسپرم‌ها کاهش نشان می‌دهد. گروه‌های IP2-7 و IP1-7 دارای اختلاف معنی‌دار با هم نبودند(p>۰/۰۵). گروه IP2-45 کاهش معنی‌داری (p<۰/۰۵) نسبت به تمامی گروه‌های IP1-45، IP2-7 و IP1-7 نشان داد. بیشترین کاهش به ترتیب مربوط به گروه-های IP2-45، IP1-45، IP2-7 و IP1-7 بود (جدول۱ و نمودار۱،a). در نتیجه افزایش دوز مصرفی سفتریاکسون و افزایش طول زمان تاثیر دارو، بر کاهش تعداد اسپرم‌ها موثر بوده است.

قابلیت زنده ماندن اسپرم (Sperm viability):

درصد اسپرم‌های زنده در تمامی گروه‌های دریافت کننده سفتریاکسون، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل داشته است (p<۰/۰۵). تمامی گروه‌های آزمایشی (IP2-45، IP1-45، IP2-7 و IP1-7) دارای اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) نسبت به همدیگر بودند. کمترین درصد اسپرم-های زنده به ترتیب مربوط به گروه‌های IP2-45، IP1-45، IP2-7 و IP1-7 بودند (جدول۱، و نمودار۱،b و تصویر ۲، الف). بنابراین هم با افزایش دوز مصرفی سفتریاکسون و هم با گذر زمان، درصد اسپرم‌های زنده کاهش یافته است.

درصد اسپرم‌هایی با DNA آسیب دیده:

افزایش درصد اسپرم‌هایی با DNA آسیب دیده در گروه-های دریافت کننده سفتریاکسون نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. تمامی گروه‌های آزمایشی به غیر از IP1-7 (p>۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) را نسبت به گروه کنترل نشان دادند. تمامی گروه‌های IP1-7، IP2-7 و IP1-45 اختلاف معنی داری (p<۰/۰۵) را نسبت به همدیگر نشان دادند ولی هیچ اختلاف معنی‌داری بین IP1-

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

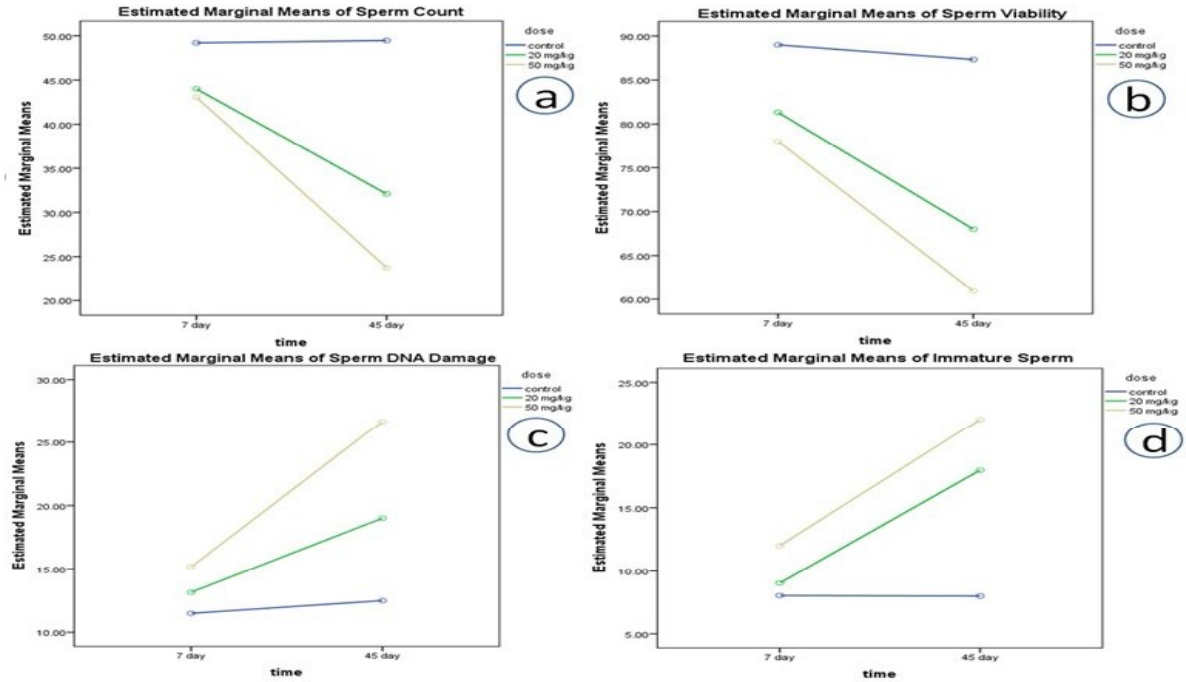
45 و IP2-45 دیده نشد(p>۰/۰۵). بیشترین آسیب DNA مربوط به گروه IP2-45 بود (جدول۱، نمودار۱،c و تصویر ۲، ب). این می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که هر دو عامل دوز مصرفی و گذشت زمان، بر میزان آسیب DNA اسپرم‌ها موثر است.

ارزیابی اسپرم‌های نابالغ:

بیشترین درصد اسپرم‌های نابالغ در گروه IP2-45 مشاهده گردید (تصویر ۲، ج). تمامی گروه‌های آزمایشی به غیر از گروه IP1-7 (p>۰/۰۵) افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) از درصد اسپرم‌های نابالغ را نسبت به گروه کنترل نشان دادند. گروه‌های آزمایشی IP2-45 و IP1-45 اختلاف معنی-داری (p<۰/۰۵) را نسبت به همدیگر نشان دادند. بین گروه‌های IP1-7 و IP2-7 هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید(p=۰/۳۴۰) (نمودار۱،d). درصد اسپرم‌های نابالغ در گروه IP2-45 افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) را نسبت به IP2-7 نشان داد. همچنین این اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین گروه‌های IP1-45 و IP1-7 دیده شد (جدول۱ و نمودار۱،d). در نتیجه با گذر زمان و افزایش دوز مصرفی سفتریاکسون، افزایش در درصد اسپرم‌های نابالغ مشاهده گردید.

بررسی آکروزوم:

در هیچ‌کدام از گروه‌های آزمایشی تغییرات خاصی در آکروزوم اسپرم‌ها مشاهده نگردید (تصویر ۲، د).



نمودار ۱ : میانگین تعداد اسپرمها(a)، درصداسپرمهای زنده (b)، درصد اسپرمها با DNA آسیب دیده (c) و درصد اسپرمهای نابالغ (d) در گروه کنترل وگروههای مختلف آزمایشی در طول زمان .

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

تصویر ۱. تعدادی اووسیت به همراه توده کومولوسی اطراف آن‌ها دیده می‌شود (بزرگ‌نمایی X ۷۰، میکروسکوپ معکوس).

جدول ۱. مقایسه میانگین تعداد اسپرم ها، درصد اسپرم های زنده، درصد اسپرم ها با DNA آسیب دیده و درصد اسپرم ها با هسته نا بالغ در گروههای مختلف مورد مطالعه. داده‌ها بر اساس Mean ± SE بیان شده‌اند (p<۰/۰۵).

	کنترل روز ۷	کنترل روز۴۵	IP1-7	IP2-7	IP1-45	IP2-45
تعداد اسپرم ها(بر حسب میلیون بر میلی لیتر)	۴۹/۲۰ ± ۰/۴۳ [a]	۴۹/۴۶ ± ۰/۲۶ [a]	۴۴/۰۱ ± ۱/۱۶ [b]	۴۳/۰۶ ± ۱/۷۰ [bc]	۳۲/۰۹ ± ۲/۰۷ [d]	۲۳/۷۶ ± ۱/۴۸ [e]
درصد اسپرم های زنده	۸۹/۰۰ ± ۰/۵۵ [a]	۸۷/۳۳ ± ۱/۳۵ [a]	۸۱/۳۳ ± ۰/۹۲ [b]	۷۸/۰۱ ± ۰/۵۰ [c]	۶۸/۰۱ ± ۱/۶۲ [d]	۶۰/۹۳ ± ۱/۰۷ [e]
درصد اسپرم ها با DNA آسیب دیده	۱۱/۵۰ ± ۰/۳۴ [a]	۱۲/۵۰ ± ۰/۴۰ [a]	۱۳/۱۶ ± ۰/۴۰ [a]	۱۵/۱۶ ± ۰/۳۵ [b]	۱۹/۰۱ ± ۰/۸۶ [c]	۲۶/۶۶ ± ۱/۶۹ [cd]
درصد اسپرم ها با هسته نابالغ	۸/۰۳ ± ۰/۵۵ [a]	۸/۰۰ ± ۰/۵۱ [a]	۹/۰۳ ± ۰/۸۶ [a]	۱۲/۰۰ ± ۱/۲۷ [ab]	۱۷/۹۶ ± ۰/۸۳ [c]	۲۲/۰۳ ± ۰/۴۸ [d]

* در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) است.

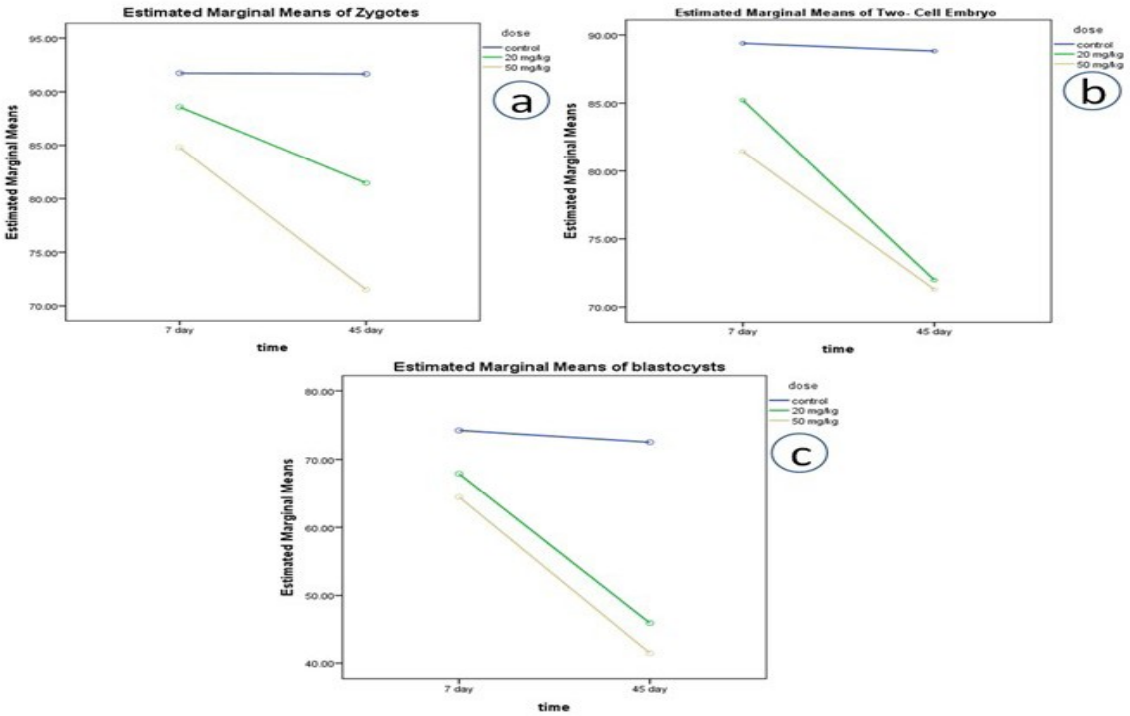
بررسی توان باروری آزمایشگاهی:

درصد زیگوت، جنین‌های دو سلولی و بلاستوسیست‌ها کاهشی را در گروه‌های دریافت کننده سفتریاکسون نشان می‌دهند. این کاهش وابسته به دوز بوده، به طوریکه بیشترین کاهش در گروه IP2-45 دیده شد. هر دوی گروه‌های IP1-45 و IP2-45 کاهشی معنی‌داری (p<۰/۰۵) را نسبت به گروه کنترل نشان دادند. در حالیکه گروه‌های آزمایشی IP1-45 و IP2-45 نسبت به کنترل هیچ اختلاف معنی‌داری(p>۰/۰۵) نشان ندادند. رشد جنین‌ها نیز با افزایش دوز دارو متوقف شده است. کیفیت جنین‌ها در اثر تزریق سفتریاکسون پایین آمده است، به طوریکه که تعداد جنین‌های تیپ I در گروه‌های تحت تاثیر با سفتریاکسون، افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) را نسبت به گروه کنترل داشته است. به طوریکه گروه‌های IP1-45 و IP2-45 اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) را نسبت به گروه کنترل و گروه‌های IP1-7 و IP2-7 نشان دادند، در حالیکه هیچ اختلاف معنی‌داری بین IP1-7 و IP2-7 با گروه کنترل مشاهده نشد(p>۰/۰۵). تعداد جنین‌های تیپ II نیز تحت تاثیر سفتریاکسون افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) را نسبت به گروه کنترل داشته است. گروه‌های IP1-45 و IP2-45 اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) را نسبت به گروه کنترل و گروه‌های IP1-7 و IP2-7 نشان دادند، در حالیکه هیچ اختلاف معنی‌داری بین IP1-7 و IP2-7 با گروه کنترل مشاهده نشد(p>۰/۰۵). تعداد جنین‌های تیپ III تحت تاثیر سفتریاکسون کاهشی را نسبت به گروه کنترل نشان دادند، اما هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی و

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

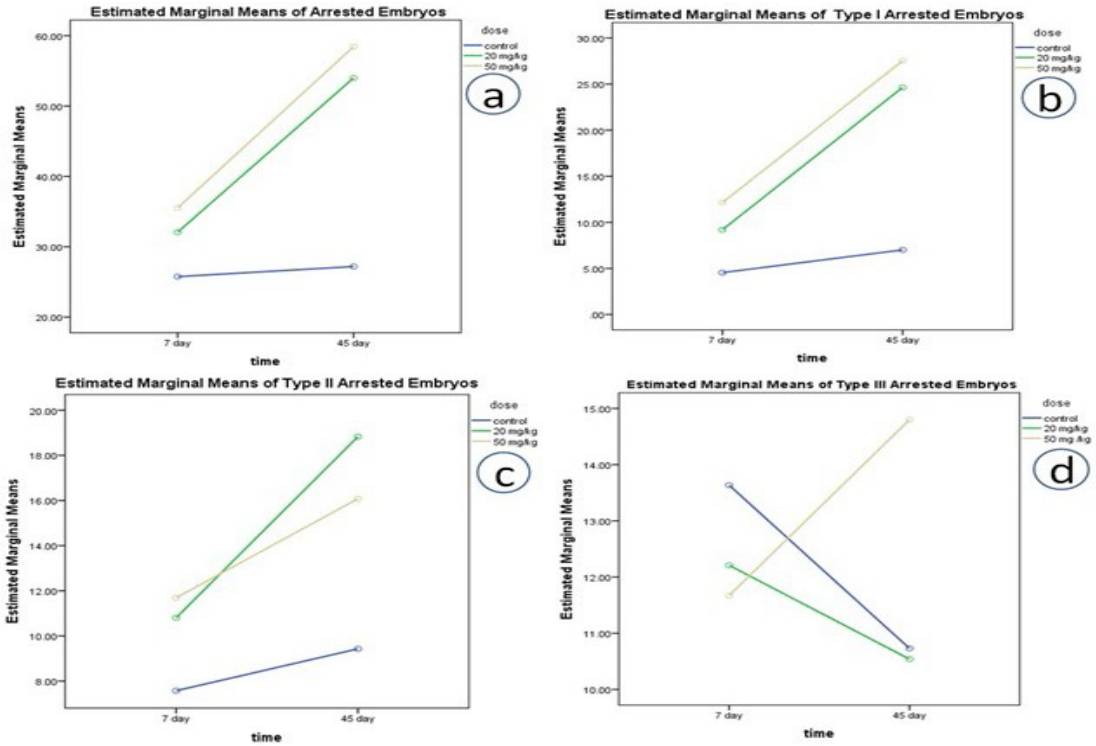
گروه کنترل دیده نشد(p>۰/۰۵). در مقایسه بین گروه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید(p>۰/۰۵) (جدول ۲ نمودارهای ۲ و۳، تصاویر ۵-۳).



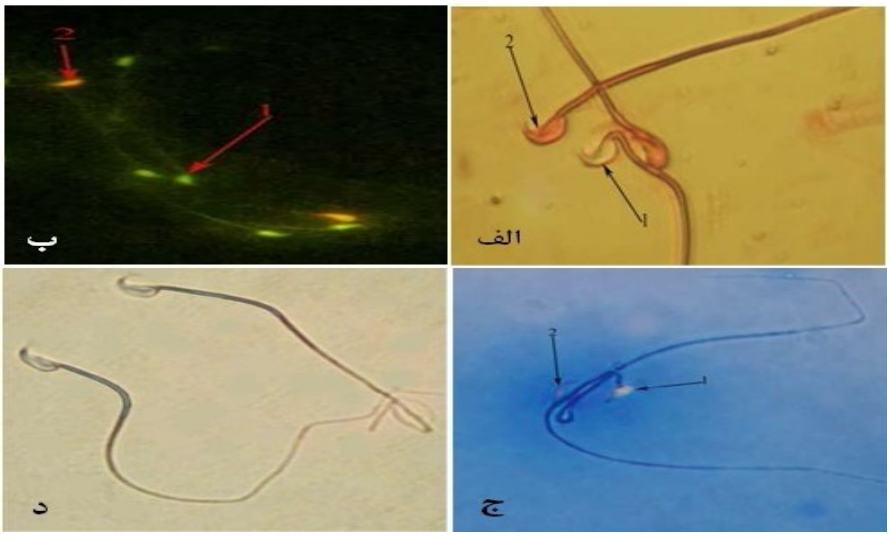
نمودار۲: میانگین درصد لقاح(a)، درصد جنین های دو سلولی (b) وبلاستوسیستها(c) در گروه کنترل و گروههای مختلف آزمایشی در طول زمان.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]



نمودار۳: میانگین جنین‌های متوقف شده(a)، جنین‌های نوع ۱ (b)، جنین‌های نوع ۲(c) و جنین‌های نوع ۳ (d) در گروه کنترل وگروههای مختلف آزمایشی در طول زمان.

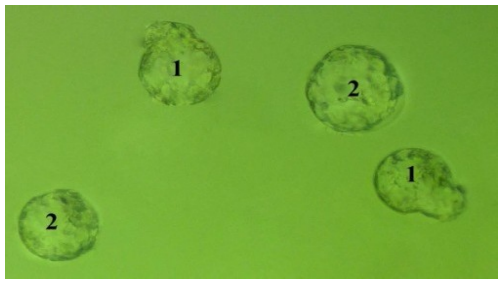


تصویر ۲. الف) پیکان شماره ۱ اسپرم زنده و پیکان شماره ۲ اسپرم مرده را نشان می‌دهد که ائوزین به درون سیتوپلاسم نفوذ کرده است. (رنگ‌آمیزی ائوزین نگروزین، بزرگ‌نمایی X ۱۰۰۰، میکروسکوپ نوری)، ب) پیکان ۱ اسپرم‌های سالم و پیکان ۲ اسپرم‌های با DNA آسیب دیده را نشان می‌دهند (رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج، بزرگ-

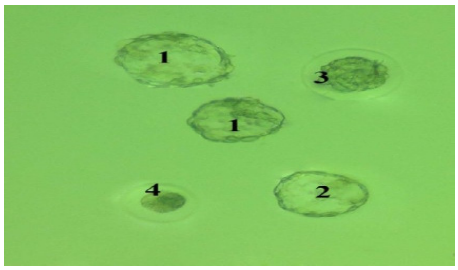
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

نمایی X ۴۰۰، میکروسکوپ فلورسنت)، ج) پیکان ۱ اسپرم با هسته نابالغ و پیکان ۲ اسپرم با هسته بالغ را نشان می‌دهند (رنگ‌آمیزی آنیلین بلو، بزرگ‌نمایی X ۴۰۰، میکروسکوپ نوری)، د) تغییراتی در اسپرم‌های مورد تیمار مشاهده نمی‌گردد (رنگ‌آمیزی پاپانیکولا، بزرگ‌نمایی X ۱۰۰۰، میکروسکوپ نوری).



تصویر ۳. گروه کنترل. تعدادی جنین در مرحله بلاستوسیست (۱) و تعدادی جنین در حال هچ شدن در روز ۵ بعد از لقاح دیده می‌شود (بزرگ‌نمایی X ۲۰۰، میکروسکوپ معکوس).



تصویر ۴. گروه آزمایشی IP1-45. تعدادی جنین در مرحله بلاستوسیست (۱) و تعدادی جنین هچ شده (۲) در روز ۵ بعد از لقاح دیده می‌شود (بزرگ‌نمایی X ۲۰۰، میکروسکوپ معکوس).

تصویر ۵. گروه آزمایشی IP2-45. تعداد یک جنین در مرحله بلاستوسیست (۱) و تعدادی اووسیت بارور نشده (۲) در روز ۵ بعد از لقاح دیده می‌شود (بزرگ‌نمایی X ۲۰۰، میکروسکوپ معکوس).

جدول ۲. مقایسه میانگین پارامترهای مختلف مطرح در بررسی توان باروری آزمایشگاهی. داده‌ها بر اساس Mean ± SE بیان شده‌اند (p<۰/۰۵).

	کنترل روز ۷	کنترل روز ۴۵	IP1-7	IP2-7	IP1-45	IP2-45
زیگوت	۹۲/۱۶ ± ۱/۵۳ a	۹۱/۶۶ ± ۱/۵۷ a	۸۸/۵۸ ± ۳/۶۱ a	۸۴/۷۹ ± ۱/۴۴ a	۸۱/۴۷ ± ۱/۵۴ a	۷۱/۵۲ ± ۴/۱۸ b
جنین دو سلولی	۸۹/۵۹ ± ۰/۸۹ a	۸۸/۸۲ ± ۱/۲۹ a	۸۵/۲۲ ± ۱/۲۹ a	۸۱/۴۵ ± ۳/۴۷ a	۷۱/۹۸ ± ۳/۳۵ b	۷۱/۲۹ ± ۲/۰۸ b
بلاستوسیست	۷۴/۴۹ ± ۰/۹۱ a	۷۲/۷۹ ± ۰/۶۱ a	۶۷/۹۱ ± ۲/۸۷ a	۶۴/۴۷ ± ۳/۷۰ a	۴۵/۹۷ ± ۴/۹۸ b	۴۱/۵۵ ± ۴/۸۸ b
متوقف شده	۲۵/۵۰ ± ۰/۹۰ a	۲۷/۱۹ ± ۰/۶۱ a	۳۲/۰۷ ± ۲/۸۷ a	۳۵/۵۲ ± ۳/۷۰ a	۵۳/۹۹ ± ۴/۹۵ b	۵۸/۴۴ ± ۴/۸۸ b
تیپ I	۵/۵۳ ± ۱/۳۱ a	۷/۰۱ ± ۰/۹۳ a	۹/۱۹ ± ۱/۰۵ a	۱۲/۱۴ ± ۱/۴۰ a	۲۴/۶۴ ± ۴/۳۴ b	۲۷/۵۳ ± ۳/۶۴ b
تیپ II	۸/۳۸ ± ۱/۱۹ a	۹/۴۳ ± ۰/۵۳ a	۱۰/۶۵ ± ۲/۶۹ a	۱۱/۶۹ ± ۱/۹۸ a	۱۸/۸۳ ± ۳/۴۴ b	۱۶/۰۸ ± ۱/۵۴ b
تیپ III	۱۱/۵۹ ± ۲/۲۲ a	۱۰/۷۳ ± ۱/۵۹ a	۱۲/۲۱ ± ۱/۷۱ a	۱۱/۶۷ ± ۱/۱۳ a	۱۰/۵۴ ± ۲/۸۶ a	۱۴/۸۰ ± ۱/۵۹ a

* در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) است.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

بحث

در حدود ۵۰% زوج‌های جوان دچار ناباروری هستند. ۵۰% عوامل ناباروری مربوط به مردان بوده و این عارضه به علت اختلال و ناهنجاری‌های تولید مایع سمینال است (۳۰). عوامل مختلفی در ایجاد این اختلالات دخیل هستند که بیشتر آن‌ها بر کیفیت اسپرم تاثیرگذار می‌باشند (۳۱). از جمله آن‌ها فاکتورهای محیطی مثل مواد دارویی و شیمیایی می‌باشند که مورد استفاده انسان قرار می‌گیرند (۳۲). اثر بسیاری از مواد از جمله الکل، نیکوتین و داروهایی همچون سیپرومترین و کولشی‌سین فوکسیم و دیلتیازیم بر بافت بیضه، اسپرم و روند اسپرماتوژنز مشخص شده است که این مواد باعث تغییرات پاتولوژیک در بافت بیضه شده و اختلال در روند اسپرماتوژنز به وجود می آورند، همچنین باعث کاهش طول عمر، حرکت و تعداد اسپرم‌ها می‌شوند که این اختلالات می‌توانند منجر به کاهش باروری گردند (۳۳). برخی داروها از جمله سیپرومترین (۳۴) و دیلتیازیم (۳۵) که در انسان مورد استفاده قرار می-گیرند، می‌توانند باعث ایجاد یکسری تغییرات پاتولوژیک در بافت بیضه از جمله آتروفی و ادم گردند. مشخص شده است که داروی سیکلوسپورین A در رت‌ها باعث کاهش قابل توجهی در تعداد اسپرم‌ها و تحرک آن‌ها می‌شود (۳۶). سفتریاکسون آنتی‌بیوتیکی از خانواده سفالوسپورین‌ها می - باشد که در برابر *بروسلا ملیتنیس* (۳۷) و *استرپتوکوکوس فکالیس* (۳۸) موثر می‌باشد و از آن برای درمان عفونت‌های تنفسی و سوزاک در انسان استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که سفتریاکسون باعث کاهش معنی‌داری در غلظت اسپرم و حجم منی در قوچ نر می‌شود (۱۳). اثر سفتریاکسون بر کاهش اسپرم را به علت ممانعت‌کنندگی آن از تقسیم میتوز و میوز در سلول‌های زایگر لوله‌های منی‌ساز می‌دانند. تحقیقات نشان داده که استفاده از آنتی بیوتیک هایی نظیر جنتامایسین سولفات و سفتریاکسون باعث پیکنوزه شدن هسته و کاریولیز در سلول ها ی رده اسپرماتوژنز در بافت بیضه رت های نر بالغ می گردند. همچنین مشخص شده است که این آنتی بیوتیک ها، باعث کاهش در سنتز پروتئین ها در هسته سلول های اسپرماتوگونی و سلول های اسپرماتوسیت می گردند و متعاقب آن کاهش ثانویه در متابولیسم گلوکز در رده سلول های اسپرماتوسیت اتفاق می افتد(۳). گزارش شده که استفاده از سفتریاکسون در رت های نر باعث کاهش وزن بیضه و اپیدیدیم، کاهش تعداد و تحرک اسپرم ها و افزایش اسپرم های غیر طبیعی می گردد(۳۹). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که تزریق سفتریاکسون در موش سوری باعث کاهش تعداد و تحرک اسپرم‌ها می‌شود که با گزارشات پیشین همسویی دارد.

نشان داده شده است که قدرت زیست‌پذیری اسپرم در رنگ‌آمیزی ائوزین- نگروزین به دلیل آسیب در غشای پلاسمایی اسپرم‌های مرده رنگ ائوزین را جذب کرده و به رنگ قرمز در می‌آیند (۴۰). در مطالعه حاضر درصد اسپرم - های مرده به مرور زمان و وابسته به دوز مصرفی سفتریاکسون افزایش نشان داد.

یکی از علل ناباروری مردان علاوه بر کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی، آسیب به DNA آن می‌باشد. تست‌های متعددی بر مبنای عملکرد فیزیولوژی و مولکولی اسپرم در روند لقاح معرفی شده‌اند که از جمله توانایی اتصال اسپرم به لایه شفاف اطراف تخمک در اولین مرحله لقاح، قدرت نفوذ شیمیایی اسپرم و به عبارتی توانایی انجام واکنش آکروزومی (AR=Acrosome reaction)، ارزیابی وضعیت DNA و کروماتین اسپرم را می‌توان نام برد. در تحقیقات متعددی ارتباط این عوامل با میزان لقاح و توان باروری اسپرم به اثبات رسیده است (۴۱). عملکرد مناسب اسپرم در ارتباط مستقیم با وضعیت کروماتین آن می‌باشد (۴۲).

تحقیقات نشان داده‌اند که داروی سیکلوسپورین باعث افزایش DNA تک‌رشته‌ای، DNA آسیب دیده، کاهش تعداد اسپرم‌ها و درصد اسپرم‌های زنده می‌گردد. این دارو روند بلوغ اسپرم‌ها را نیز تحت تاثیر قرار داده، جایگزینی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

پروتئین‌های هیستون با پروتامین را دچار مشکل کرده و در نتیجه درصد اسپرم‌های نابالغ افزایش پیدا می‌کند (۴۳).
تعداد زیادی مولکول‌های لیزین در ساختار پروتئین هیستون وجود دارند که این اسیدهای آمینه با رنگ‌هایی مثل آنیلین بلو واکنش نشان داده و آبی رنگ می‌شوند. در نتیجه اسپرم‌هایی که در مرحله بلوغ (متراکم شدن) دارای هیستون اضافی در کروماتین خود باشند، با رنگ‌آمیزی آنیلین بلو رنگ شده و آبی رنگ دیده می شوند. آن‌ها در واقع اسپرم‌هایی هستند که در مرحله بلوغ دچار مشکل شده‌اند و تحت عنوان اسپرم های نابالغ در نظر گرفته می-شوند (۲۲). در این مطالعه مشخص گردید که داروی سفتریاکسون، درصد اسپرم‌های نابالغ و اسپرم‌ها با DNA آسیب‌دیده را افزایش می‌دهد. همچنین درصد بالایی از اسپرم‌های نابالغ در گروه‌های دریافت کننده دوز بالایی از سفتریاکسون دیده شد. در واقع باید گفت که آنتی‌بیوتیک مصرفی بر بلوغ و DNA اسپرم‌ها اثر سوء بارزی داشته است که با یافته‌های پیشین مطابقت دارند.
تحقیقات نشان داده است که فاکتور اسپرمی فعال کننده تخمک (SAOAFs=Sperm Associated Oocyte Activating Factors) در ارتباط با آکروزوم و غلاف خلف آکروزومی (تکای پری نوکلئار) اسپرم می‌باشد (۴۴). تصاویر میکروسکوپ الکترونی در اسپرم‌های دارای سر گرد نشان می‌دهند که احتمالا کاهش لقاح در این گونه نمونه‌ها به علت عدم وجود آکروزوم و مخصوصا غلاف خلف آکروزومی می‌باشد که در نهایت منجر به فعال نشدن تخمک می‌گردد (۴۵). به علاوه عدم موفقیت در لقاح را می‌توان به نقایص آکروزومی و محتویات آکروزینی آن نسبت داد. بنابراین این گونه اسپرم‌ها نه تنها قابلیت نفوذ به تخمک را ندارند، بلکه فاکتورهای فعال کننده تخمک در ارتباط با آکروزوم و غلاف خلف آکروزومی (تکای پری نوکلئار) آن‌ها ناقص است (۴۶).

آنزیم‌های آکروزومال به ویژه هیالورونیداز نقش مهمی در نفوذ اسپرم به توده کومولوسی و پرده شفاف احاطه کننده سلول تخمک دارند (۴۷). در طی سالیان گذشته مطالعات متعددی در زمینه فعالیت آکروزین و مورفولوژی اسپرم گزارش شده و مشخص گردیده است که بین مورفولوژی آکروزوم طبیعی (درصد اشکال طبیعی) با فعالیت آکروزین ارتباط وجود دارد (۴۸). برخی معتقدند که مورفولوژی آکروزوم اهمیت بیشتری نسبت به مورفولوژی سر اسپرم در لقاح آزمایشگاهی دارد (۴۹). در حالیکه عده‌ای معتقدند ارزیابی شاخص‌های آکروزومی نمی‌تواند به طور صحیح میزان لقاح را مشخص نماید (۵۰). در تحقیق حاضر در گروه‌های آزمایشی تغییر بارزی در آکروزوم و محتویات آکروزومی مشاهده نگردید.
تحقیقات نشان داده‌اند که اسپرم‌های نابالغ از لحاظ مورفولوژیکی دچار مشکل هستند و جنین‌های حاصل از آن ها علایمی مثل مرگ زودرس را بروز می‌دهند که این مسئله می‌تواند در ارتباط با آسیب به DNA اسپرم از جمله قطعه قطعه شدن آن باشد (۵۱). بنابراین در پی آسیب DNA اسپرم، درصد زنده‌مانی جنین‌ها نیز کاهش می‌یابد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که آسیب به DNA اسپرم باعث عدم توانایی بارورسازی تخمک توسط آن می‌گردد (۵۲). بر اساس نتایج ما در این مطالعه سفتریاکسون موجبات تخریب نسبی DNA اسپرم‌ها را فراهم نموده که این عمل بر درصد زیگوت‌ها و تقسیم جنین‌ها در مراحل مختلف دو سلولی و بلاستوسیست تأثیر نامطلوب می‌گذارد. درصد جنین‌های متوقف شده نیز افزایش می‌یابد. در پی آن نرخ باروری در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی کاهش نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

تزریق سفتریاکسون در موش سوری باعث کاهش تعداد اسپرمها، کاهش درصد اسپرم‌های زنده، کاهش میزان بلوغ اسپرم و افزایش آسیب به DNA اسپرم می گردد. این دارو

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]
[DOI: 10.22102/22.2.48]

با تحت تاثیر قرار دادن فاکتورهای کیفی و کمی اسپرم، باعث کاهش درصد لقاح اووسیت‌ها، درصد جنین‌های دو سلولی و بلاستوسیست‌ها و جنین با کیفیت پایین می شود. بنابراین، سفتریاکسون اثر بارزی در پایین آوردن توان باروری آزمایشگاهی موش سوری دارد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با کمک مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه و با مساعدت‌های ریاست و معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه انجام گرفته است که از آن‌ها تقدیر می‌گردد. از اعضای آزمایشگاه‌های بافت‌شناسی و جنین‌شناسی دانشکده نیز به خاطر مساعدت‌های تکنیکی تقدیر و تشکر می‌گردد.

Reference

1. Toovey S, Hudson E, Hendry WF, Levi AJ. Sulphasalazine and male infertility: reversibility and possible mechanism. Gut 1981; 22: 445-51.
2. Hargreaves C, Rogers S, Hills F, Rahman F, Howell R, Homa S. Effect of co-trimoxazole, erythromycin, amoxycillin, tetracycline and chloroquine on sperm function in vitro. Hum Reprod 1998; 13: 1878-86.
3. Timmermans LM. Modifications in spermatogenesis following antibiotic therapy. Acta Urol Blog 1989; 57: 35-46.
4. Ebert K, Schindlre M. Transgenic farm animals: progress report. Theriogenol 1993; 39: 121-35.
5. Jorgensen N, Carlsen E, Nermoen I, Punab M, Suominen J, Anderson AG, et al. East-west gradient in semen quality in the Nordic-Baltic area: a study of men from the general population in Denmark, Noaway, Estonia and Finland. Hum Reprod 2001; 17: 2199-208.
6. Dokov VK, Timmermans L. Arrest of spermatogenesis by various antibiotics: preliminary experimental results. Acta Urol Bleg 1970; 38: 277-87.
7. Yao Y, Zhou R, Wang Y. Fatal adverse effects of injected ceftriaxone sodium in China. Pharmacoepidemiol Drug Saf 2012; 21: 1197-201.
8. Romano A, Caubet JC. Antibiotic allergies in children and adults: from clinical symptoms to skin testing diagnosis. J Allergy Clin Immunol Pract 2014; 2: 3-12.
9. El-Homosany SR, El-Ashmawy IM, El-Sawy ASF. Remove from marked records adverse effects of cefotaxime on male rats. Alex J Vet Sci 2012; 35: 31-40.
10. Antohi E, Gales C, Nechifor M. Pharmacological agents that affect sperm motility. Rev Med Chir Soc Med Nat Lasi 2011; 115: 1183-8.
11. Khaki A, Ghafari M, Jabari H, Khaki A, Gharaghourlo S, Haidari M. Evaluation of aminoglycosides (gentamicin, neomycin, streptomycin) and fluoroquinolones (ofloxacin) antibiotics on spermatogenesis in rat. J Tabriz Univ Med Sci 2007; 28: 24-8. [In Persian]
12. Shaheen HM, Sawsan ME, Alkelch AM, Naima AA. Studies on some side effects of cephalosporins: Studying the teratogenic effects of ceftiofur sodium. 1st Sc Cong for Provincial Laboraties 2000; pp: 56-68.
13. Sadettin T, Gaffari T. The effects of diminazene aceturate and ceftriaxone on ram sperm. Theriogenol 2003; 61: 529-35.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

14. Chakraborty S, Dev Bhuti P, Supratim R, Chandana S, Kunal R. A study on ceftriaxone-induced lipid peroxidation using 4-hydroxy-2-nonenal as model marker. Acta Pol Pharm 2005; 62: 141-3.
15. El-Maddawy ZK, Bogzil AH. Adverse effects of cefotaxime sodium in comparison with ceftiofur sodium in male rats. Int J Pharm Life Sci 2015; 6: 4291-303.
16. Deb K, Reese J, Paria BC. Methodologies to study implantation in mice. Methods Mol Med 2006; 121:9-34.
17. Manami T, Toshitaka H, Ryuzo Y, Shobara H, Honolulu HI. Effects of light on development of mammalian zygotes.PNAS 2007; 104:14289–14293.
18. Selvakumar E, Prahalathan C, Sudharsan PT, Varalakshmi P. Chemoprotective effect of lipoic acid against cyclophosphamide-induced changes in the rat sperm. Toxicol 2006; 217: 71-8.
19. Zambrano E, Rodriguez-Gonzalez GL, Guzman C, Garcia-Becerra R, Boeck L, Menjivar M, et al. A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. J Physiol 2005; 563: 275-84.
20. Menkveld R, Wong WY, Lombard CJ, Wetzels AM, Thomas CM, Merkus HM, et al. Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and sub-fertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. Hum Reprod 2001; 16: 1165-71.
21. Najafi Gh, Hobenaghi R, Hoshyari A, Moghadaszadeh M, Ghorbanzadeh. The effect of atrazine on spermic parameters and fertility potential in mature rats. Arak Med Univ J 2013; 15: 85-94. [In Persian]
22. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Mardani M. Relation between different human sperm nuclear maturity tests and in vitro fertilization. J Assist Reprod Gen 2001; 18(4): 221-7.
23. Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, Mascha E, Abdel-Hafez MA, Thomas AJ, et al. Relationship between ROS reduction, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. Hum Reprod 2004; 19: 129-38.
24. Sadeghi MR, Hodjat M, Lakpour N, Arefi S, Amirjannati N, Modarresi T, et al. Effects of sperm chromatin integrity on fertilization rate and embryo quality following intracytoplasmic sperm injection. Avicenna J Med Biotechnol 2009; 1: 173-80.
25. Singh S, Sharma S, Manjula J, Chauhan R. Importance of papanicolaou staining for sperm morphologic analysis. Am J Clin Pathol 2011; 136: 247-51.
26. Nabi A, Khalili M, Halvaei I, Roodbari F. Prolonged incubation of processed human spermatozoa will increase DNA fragmentation. Andrologia 2014; 46: 374-9.
27. Gonz?lez R, Ruiz-Le?n Y, Gomendio M, Roldan ER. The effect of glucocorticoids on mouse oocyte in vitro maturation and subsequent fertilization and embryo development. Toxicol In vitro 2010; 24: 108-15.
28. Zahmatkesh E, Najafi GH, Nejati Vahid**.** protective effect of royal jelly on in vitro fertilization (ivf) in male mice treated with oxymetholone. Cell Journal (Yakhteh) 2015; 17: 569-5.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

29. Najafi GH, Farokhi F, Shalizar Jalali A, Akbarizadeh Z. Protection against cyclosporine-induced reprotoxicity by satureja khuzestanica essential oil in male rats. Int J Fertil Steril 2016; 9: 548-7.
30. Schmidt L, Münster K, Helm P. Infertility and the seeking of infertility treatment in a representative population. Br J Obstet Gynaecol 1995; 102: 978-84.
31. Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. Effect of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. Fertil Steril 2001: 75: 237-48.
32. Schlegel PN, Chang TS, Marshall FF. Antibiotics: Potential hazards to male fertility. Fertil Steril 1991; 55: 235-42.
33. El-Sokkary GH, Cuzzocrea S, Reiter RJ. Effect of chronic nicotine administration on the rat lung and liver: Beneficial role of melatonin. Toxicol 2007; 239: 60-7.
34. Yousef M, El-Demerdash F, Al-Salhen K. Protective role of isoflavones against the toxic effect of cypermethrin on semen quality and testosterone levels of rabbits. J Environ Sci Heal B 2003; 38: 463-78.
35. Wood BL, Doncel GF, Reddy PR, Sokal DC. Effect of diltiazem and methylene blue on human sperm motility, viability and cervical mucus penetration: potential use as vas irrigants at the time of vasectomy. Contraception 2003; 67: 241-5.
36. Hisatomi A, Fujihira S, Fujimoto Y, Fujii T, Mine Y, Ohara K. Effect of Prograf (FK506) on spermatogenesis in rats. Toxicol 1996; 109: 75-83.
37. Varon E, Cohen R, Bouhanna CA, Canet J, Janaud JC, Geslin P. Incidental detection of brucellosis in a 3-month-old infant. Presse Med 1990; 19: 14-62.
38. Sahm DF, Baker CN, Jones RN, Thornsberry C. Influence of growth medium on the in vitro activities of second and third generation cephalosporins against Streptococcus feacalis. J Clin Microb 1984; 20: 561-7.
39. Mahmoud NA, El-Sawy ASF, El-Ashmawy IM. Effects of ceftriaxone on reproductive and biochemical aspects of male rats. AJVS 2011; 33: 43-50.
40. Bakhtiari M, Sobhani A, Akbari M, Shabani A, Barbarestani M, Pasbakhsh P, et al. The effect of hyaluronan on morphology, motility and vitality of mouse sperm before cryopreservation and after the thawing. J Kermanshah Univ Med Sci 2008; 12: 221-33. [In Persian]
41. Sun JG, Jurisicova A, Casper RF. Detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in human sperm: correlation with fertilization in vitro. Biol Reprod 1997; 56: 602-7.
42. Spano M, Kolstad H, Larsen SB, Cordelli E, Leter G, Giwercman A, et al. The applicability of the flowcytometric sperm structure chromatin assay in epidemiological studies. Hum Reprod 1998; 13: 2495-505.
43. Akbarizadeh Z, Najafi Gh, Farokhi F. Effect of aquatic extract of Achillea millefolium on sperm and in vitro fertilization in adult rats treated with cyclosporine A. Zabol Univ Med Sci J 2012; 4: 9-18. [In Persian]
44. Dozortsev D, De Sutter P, Rybouchkin A, Dhont M. Timing of sperm and oocyte nuclear progression after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1995; 10: 3012-7.
45. Yamano S, Koji N, Toshihoro A. Fertilization failure and oocyte activation. J Med Inves 2000; 47: 1-8.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]

46. Tesarik J, Sousa M, Testart J. Human oocyte activation after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1994; 9: 511-8.
47. Meyers S, Rosenberger A. A plasma membrane-associated hyaluronidase is localized to the posterior acrosomal region of stallion sperm and is associated with spermatozoal function. Biol Reprod 1999; 61: 134-9.
48. Menkveld R, Rhemrev JP, Franken DR, Vermeiden JP. Acrosomal morphology as a novel criterion for male fertility diagnosis: relation with acrosin activity, morphology (strict criteria), and fertilization in vitro. Fertil Steril 1996; 65: 637-44.
49. El-Ghobashy AA, Christopher R. The human sperm head: A key for successful fertilization. J Androl 2003; 24: 232-8.
50. Soderlund B, Lundin K. Acrosome index is not an absolute predictor of the outcome following conventional in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. J Assist Reprod Genet 2001; 18: 483-9.
51. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. Hum Reprod 1999; 14: 1039-49.
52. Duru NK, Morshedi M, Oehninger S. Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. Fertil Steril 2000; 74: 1200-7.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.22102/22.2.48]