

## بررسی اثرات سیتوتوکسیک داروی سیپروفلوکساسین در بافت بیضه موش صحرایی

دکتر آرش خاکی\*، مهناز حیدری\*\*، دکتر معرفت غفاری نوین\*\*\*، دکتر امیرافشین خاکی\*\*\*\*، دکتر فرزاد رجایی\*\*\*\*\*

دریافت: ۸۵/۲/۵، پذیرش: ۸۵/۸/۱

### چکیده:

**مقدمه و هدف:** داروی سیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin) یکی از آنتی بیوتیک‌های خانواده فلورکینولون می‌باشد که طیف اثر وسیعی در کنترل بیماری‌های مختلف عفونی و عفونتهای ناشی از میکروبهای گرم منفی دارد و در بیش از ۱۰۰ کشور دنیا کاربرد درمانی دارد. هدف از این مطالعه تعیین اثرات هیستوپاتولوژیک و سیتوتوکسیک داروی سیپروفلوکساسین در بافت بیضه موش صحرایی می‌باشد.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار جهت مدل آزمایشگاهی به دو گروه کنترل (n=۱۰) و آزمایش (n=۱۰) تقسیم شدند. در گروه کنترل موش‌ها به مدت ۶۰ روز از غذا و آب در شرایط استاندارد استفاده کردند و در گروه آزمایش موش‌ها دوز درمانی داروی سیپروفلوکساسین را به میزان ۱۲/۵mg/kg به مدت ۶۰ روز از طریق محلول در آب آشامیدنی دریافت کردند. در روز شصت به منظور مطالعات هیستوپاتولوژیکی و سیتوتوکسیک، پس از نمونه برداری بافت بیضه به آزمایشگاه پاتولوژی ارجاع داده شد.

**نتایج:** مطالعه بافت بیضه برای پی بردن به میزان اثرات سیتوتوکسیک دارو نشاندهنده افزایش میزان جذب نوری بعد از گذشت ۵ روز پس از کشت در گروه تحت مطالعه بود که به میزان (کنترل=۹۲/۸±۱/۵ و تحت مطالعه=۶۵±۰/۰۵) در گروه تحت مطالعه نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود. همچنین مطالعه با میکروسکوپ‌های نوری نشان دهنده مرگ سلولهای رده اسپرماتوسیت اولیه به همراه افزایش قطر هسته<sup>۱</sup> این سلولها در گروه تحت مطالعه در مقایسه با گروه کنترل بود و اختلاف آن به میزان (P<۰/۰۱) معنی‌دار بود.

**نتیجه نهایی:** با توجه به تغییرات به وجود آمده در این مطالعه احتمال آن می‌رود که این دارو با اثرات سیتوتوکسیک که بر سلولهای رده اسپرماتوسیت اولیه میگذارد سبب افزایش مرگ سلولی این رده از سلولها گشته و در نتیجه با اثراتی که بر پارامترهای سلامتی اسپرم خواهد گذاشت، سبب کاهش میزان باروری در انسان گردد.

: بیضه / سیپروفلوکساسین / سیتوتوکسیک / موش

### مقدمه:

مذکر جامعه در طول زندگی خود به یکی از بیماری‌های دستگاه تناسلی، ادراری مبتلا می‌شوند (۱-۳). مهمترین عوامل پاتوژن در این دستگاه اشرشیاکولای، به میزان ۹۵-۷۰٪ و استافیلوکوکوس ساپروفیتوکوس به میزان ۵٪ می‌باشند (۵،۴). از بیماری‌هایی که سبب ایجاد نارسایی در

آنتی بیوتیک‌ها جهت درمان بیماری‌های عفونی کاربرد مهمی دارند. بیماری‌های عفونی دستگاه ادراری یکی از مهمترین عوامل تهدید کننده زندگی افراد بالغ به شمار می‌رود، در حدود ۲۰ درصد از افراد مونث و ۱٪ از افراد

\* استادیار بخش پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز (dr.khaki@iaut.ac.ir)

\*\* پژوهشیار گروه غدد تولید مثل و جنین شناسی پژوهشکده ابن سینا

\*\*\* استادیار گروه غدد تولید مثل و جنین شناسی پژوهشکده ابن سینا

\*\*\*\* استادیار گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

\*\*\*\*\* استادیار گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

پس از تجویز ۸ روزه در ۷۵٪ بیماران رخ داده است (۱). همچنین تجویز ۱۵ روزه داروهای افلوکساسین و فلوکساسین در موشهای صحرایی که به مدت متوالی نشان دهنده کاهش میزان لاکتات دهیدروژناز (LDH-X) بیضه و کاهش اسید فسفاتاز و کاهش تعداد و تحرک اسپرمها بوده است. تحقیقات گذشته مشخص کرده است که سیپروفلوکساسین از طریق فعال کردن کاسپاز ۳ سبب مرگ برنامه ریزی شده سلول (آپوپتوزیس) می شود (۲۲-۱۹، ۱۰).

از آنجاییکه تاکنون مطالعات در زمینه اثرات احتمالی این دارو بر روی بافت بیضه انجام نگرفته است و با توجه به این که مرگ سیتوتوکسیک از انواع مرگ سلولی میباشد، در مطالعه حاضر به تعیین اثرات احتمالی این دارو از لحاظ مرگ سیتوتوکسیک پرداخته ایم.

### روش کار:

جهت این مطالعه تجربی مورد - شاهدهی از ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar) که از مرکز انیستیتو پاستور ایران خریداری شده بود، استفاده گردید. رت‌ها در حدود ۸ هفته سن داشتند و وزنشان در حدود  $25.0 \pm 1.0$  g بود. در طول زمان مطالعه، رت‌ها به مدت ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی قرار گرفتند (۹ صبح تا ۹ شب) دمای اتاق نگهداری (۲۳/۹-۲۵/۳) درجه سانتی‌گراد بود و درصد رطوبت اتاق ۵۵-۶۰٪ اندازه‌گیری شده بود. ۲۰ سر رت به دو گروه کنترل ( $n=10$ ) و تحت مطالعه ( $n=10$ ) تقسیم شدند و گروه تحت مطالعه از غذا به همراه دوز درمانی داروی سیپروفلوکساسین (آریا-ایران) به میزان  $12/5$  mg/kg استفاده نمودند (۲۰). 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 (۶). روش جراحی جهت برداشت نمونه: در روز شصت ام، از پنتوباریتورال ( $40$  mg/kg) جهت بیهوشی از طریق تزریق داخل صفاقی استفاده شده و سپس ناحیه صفاقی از ناحیه شکاف عرضی شکمی باز شد. سپس بیضه‌ها در هر دو گروه کنترل و تحت مطالعه از بدن خارج شدند. در انتهای این مطالعه حیوانات بر طبق قانون حمایت از حیوانات (۲۳) و در طول مدت ۲ ساعت (۹-۱۱ صبح) توسط  $CO_2$  کشته شدند.

دستگاه ادراری می‌شوند می‌توان به پیلونفریت، لپتوزپیروزیس، سیستیت، سوزاک، بیماری سیفلیس، لنفوگرانولماو عفونتهای ناحیه واژن بامنشاء باکتریایی اشاره کرد (۵،۶). جهت درمان این بیماری‌ها از آنتی بیوتیک‌ها، از جمله آنتی بیوتیک‌های موجود در خانواده فلوروکینولون‌ها مثل سیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin) استفاده می‌شود این دارو با مکانیسم جلوگیری از عملکرد DNA-gyrase (توپوایزومراز) و با ممانعت از باز شدن رشته‌های DNA (DNA-Supercoiling)، از تکثیر باکتری جلوگیری می‌کند. همچنین این دارو در درمان عفونت‌های داخل سلولی مثل: لیستریومونوسایتوز، میکوباکتریوم توبرکلوزیس، استافیلوکوک آرئوس (۷-۱۰) و عفونت‌های حاصله از باکتری‌های گرم منفی در دستگاه ادراری تناسلی، عفونت‌های حاصله توسط میکوپلاسماها، کلامیدیاها، استرپتوکوک‌ها (۱۱-۱۴) بسیار موثر است. این دارو ناهنجاریهایی در سیستم عضلانی - حرکتی در افراد نابالغ (کودکان)، تورم مفاصل، و ناهنجاری در راه رفتن را سبب می‌شود. همچنین اثرات روی دستگاه اعصاب مرکزی، CNS که در ۹-۱٪ بیماران گزارش شده است (۴،۱۵). با توجه به گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO)، حدود یک سوم از مردم کره زمین از بیماریهای عفونی رنج می‌برند و این افراد دسته‌ای از مبتلایان به بیماریهای سل و بروسلوز و بیماری‌های مقاربتی عفونی مرز ناحیه ادراری تناسلی، هستند که جهت درمان، نیاز به مصرف دراز مدت آنتی‌بیوتیک‌ها دارند که گاهی در حدود ۴۰ تا ۶۰ روز این تجویز دارو ادامه دارد و با توجه به طول دوره درمانی با طول دوره اسپرماتوژنز که در انسان  $64 \pm 8$  روز (۱۶،۱۷) و در موش صحرایی  $48 \pm 5$  روز می‌باشد (۱۸،۱۹) مطابقت می‌کند مصرف این دارو ممکن است دارای اثراتی سوء در بافت بیضه باشد. با توجه به مطالعات انجام شده در مورد اثرات آنتی بیوتیک‌ها، بر فرایند اسپرماتوژنز مشخص شده است که داروهای ایزونیازید، اکسی تتراسایکلین، استرپتومایسین و تایمیکوزین اثری بر روی تحرک اسپرم ندارند (۱۵) ولی آنتی بیوتیک‌های آموکسیسیلین، اریترومایسین و کوتریموکسازول همگی سبب کاهش درصد قابلیت زیست اسپرم‌ها می‌شوند (۱۶،۱۸) در برخی از تحقیقات که در مورد درمان التهاب اپیدیدیم با داکسیسیلین انجام شده است، وقوع حالت الیگواسپرمی (oligoasthenospermia)

حاوی سلول اضافه شد به منظور جذب رنگ توسط لیزوزومهای غشا سیتوپلاسمی سلول رنگ نوترال رد به مدت ۳ ساعت در مجاورت سلولها انکوبه شد در مرحله فیکس سلولی مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محلول فیکساتیو کلراید کلسیم و فرمالدئید به منظور شستشو و فیکساتیو سلولها به هر حفره اضافه و خارج نموده و آنگاه ۲۰۰ میکرولیتر محلول لیز کننده اتانل و اسید استیک به هر حفره اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گردید. سپس محلول داخل حفرات به منظور استخراج کامل رنگ از سلولها به شدت پیتاژ نموده تا مایع رنگی ایجاد شده و سپس توسط دستگاه الیزا- ریدر (Elizareader) در طول موج ۵۴۰ نانومتر میزان شدت رنگ ارزیابی شد (۲۴).

روش بررسی لوله های سیمینی فراز لحاظ score های (مراحل) مختلف: جهت بررسی و ارزیابی لوله های سیمینی فراز لحاظ score های (مراحل) مختلف از متد (De Kretser) استفاده گردید که بدین منظور مقاطع میکروسکوپی با ضخامت (۵μ) تهیه گردید و سپس با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) این مقاطع رنگ آمیزی شدند، سپس به ازای مقاطع میکروسکوپی تهیه شده از بافت بیضه هر سرموش صحرائی، در هر دو گروه کنترل و آزمایش، ۱۰ عدد لوله سیمینی فر به صورت تصادفی انتخاب گردید و با بزرگنمایی ۶۴۰ برابر لوله های سیمینی فر بر طبق متد (De Kretser) ارزیابی شدند، با توجه به اینکه بر طبق این متد ارزیابی لوله های سیمینی فردر ۱۰ مرحله (scores) انجام میگرد و مرحله اول (SC<sub>1</sub>) مربوط به آتروفی (از بین رفتن سلولهای جنسی زایا) لوله های سیمینی فرو مرحله دهم (SC<sub>10</sub>) مربوط به لوله های سیمینی فر سالم میباشد و از آنجایی که این دو مرحله حساسیت متناسب با نوع روش مطالعه ما دارد لذا جهت ارزیابی لوله های سیمینی فر مطالعه بر روی مراحل اول و دهم انتخاب گشتند و با روش آنالیز آماری F-Test، نتایج حاصله، آنالیز گردید (۲۵).

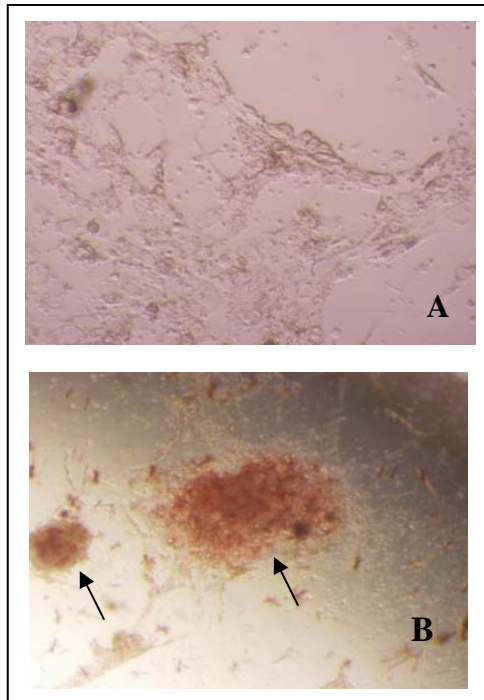
### نتایج:

نتایج مطالعات میکروسکوپ نوری در موشهای صحرائی گروه تحت مطالعه نشاندهنده ایجاد فاصله میان لوله های سیمینی فر، پر خونی عروق سیاهرگی، افزایش قطر عروق سیاهرگی، مرگ سلولهای رده اسپرما توستیت اولیه در گروه تحت مطالعه در مقایسه با گروه کنترل است (شکل ۱ و ۲).

مراحل آماده سازی بافت جهت مطالعه با میکروسکوپ های نوری: نمونه های بافت بیضه در محلول فرمالین ۱۰٪ با فر تثبیت گردید و پس از تهیه مقاطع میکروسکوپی با ضخامت (۵μ) توسط میکروتوم از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) استفاده گردید و سپس جهت تهیه تصاویر میکروسکوپی از فیلم ASA 400 Kodak Ultra میکروسکوپ نوری مدل (Olympus/ 3H - Z) ساخت کشور ژاپن استفاده شد.

بررسی اثر سیتوتوکسیک دارو بر بافت بیضه: بیضه رت های تشریح شده را برداشته داخل محیط کشت RPMI بدون سرم گذاشته و بعد از برداشتن کپسول اطراف بیضه، لوله های سیمینی فر را باز نموده و با قیچی به قطعات بسیار ریز خرد شد و بافت های قطعه قطعه ۳-۴ بار شستشو داده تا کاملاً از اسپرم عاری شوند. آنگاه قطعات بافتی را داخل لوله فالكون انتقال داده و ۱۰ ml محیط (Hank's balance salt solution) HBSS و ۱ mg/ml کلاناز به آنها اضافه نمود و در داخل انکوباتور ۳۷°C به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده و در این مدت چند بار توسط همزن بافت ها را مخلوط نموده تا هضم آنزیمی و مکانیکی صورت گیرد و عمل هضم آنزیمی را با اضافه نمودن ۳۰ ml HBSS متوقف شود. به مدت ۱۰ دقیقه مجدداً انکوبه نموده تا قطعات بافتی ته نشین شوند و محیط روی را خارج و قطعات را به ۱ mm<sup>3</sup> برش داده شد و در مرحله بعدی از آنزیم تریپسین ۰/۲۵٪ استفاده شد و مجدداً ۳۰ دقیقه انکوبه شد. بعد از ۳۰ دقیقه مجدداً سانتریفوژ و بر روی رسوب سلولی محیط سرم دار اضافه شد و بعد از یکنواخت نمودن سلولها، حدود ۵۰۰ μl از سوپ سلولی و محیط را برداشته و داخل پلیت های ۲۴ تایی قرار گرفت. سپس پلیت ها را داخل انکوباتور CO<sub>2</sub> دار به مدت ۵ روز قرار داده شدند و سلولها کشت داده شدند. جهت ارزیابی سمیت سلولی دارو با استفاده از آزمون رنگ سنجی قرمز خنثی بدین طریق انجام گرفت، که ابتدا رقت ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر از محلول نوترال رد تهیه گردید و به مدت یک شب در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد و در روز بعد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفوژ شدند تا رسوب کریستالی از محیط رنگ خارج گردد. پس از سپری شدن یک هفته از کشت سلولها محیط کشت روی سلولها به آرامی خارج و حجم معینی از رنگ قرمز خنثی (Neutral red) ۲۰۰ میکرولیتر، به حفرات

۶۰ درصد از سطح پلیتها بصورت سلولهای تک لایه پر شده بود و این به نظر می‌رسید که رشد سلولهای که تحت درمان با سیپروفلوکساسین بودند دچار اختلالاتی از لحاظ رشدی شده‌اند (شکل ۳).



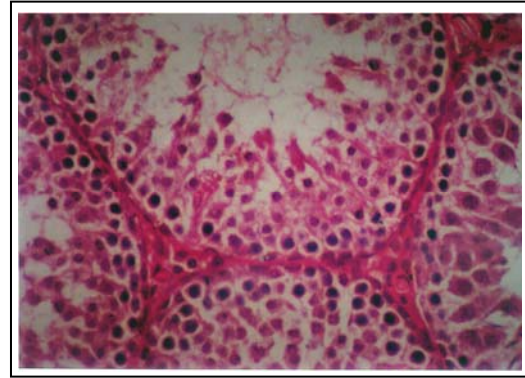
شکل ۳: میکرو گراف نوری از محیط کشت سلول جهت مطالعه اثرات سیتوتوکسیک داروی سیپروفلوکساسین به میزان ۱۲/۵ Mg/Kg در گروه تحت مطالعه (A) در مقایسه با اثرات سیتوتوکسیک بدون حضور دارو در محیط کشت سلول در گروه کنترل (B) بعد از گذشت پنج روز، به مناطقی که رشد سلولی در محیط کشت رخ داده است (پیکانها) دقت نمائید.

همچنین در بررسی نتایج لوله های سیمنی فراز لحاظ score های مختلف این لوله‌ها در score های مختلف قرار داشتند و نتایج حاصله نشان داد که لوله های سیمنی فر گروه تحت مطالعه به میزان  $3/17 \pm 4/4$  در مرحله اول (Sc1) و لوله‌های سیمنی فر حاضر در گروه کنترل به میزان  $2/01 \pm 8/4$  در مرحله ۱۰ (Sc10) قرار داشتند (جدول ۲).

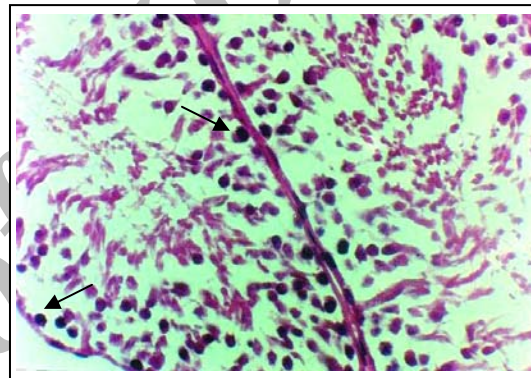
جدول ۲: آنالیز آماری توبولهای سیمنی فر در مرحله اول و دهم گروههای کنترل و تحت مطالعه

گروه تحت مطالعه	گروه کنترل	
مرحله اول	$0/2 \pm 4/22$	$4/4 \pm 3/17$
مرحله دهم	$8/4 \pm 2/01$	$1/17 \pm 2/5$

$P < 0/05$



شکل ۱: میکرو گراف نوری مقطعی از بافت بیضه در گروه کنترل. رنگ آمیزی H&E،  $640\times$ . اغلب توبولهای سیمنی فردر 8-10 Score قرار داشتند. به طبیعی بودن شکل توبولهای سیمنی فر دقت نمائید



شکل ۲: میکرو گراف نوری مقطعی از بافت بیضه در گروه تحت مطالعه. رنگ آمیزی H&E،  $640\times$ . از بین رفتن اپیتلیوم ژرمینال (مثلث) و نکروتیک شدن سلولهای اسپرماتوسیت اولیه (پیکانها) دقت نمائید

نتایج اثرات سیتوتوکسیک دارو در بافت بیضه نشان دهنده افزایش میزان جذب نوری (جدول ۱) بعد از گذشت ۵ روز از کشت در گروه کنترل نسبت به گروه تحت مطالعه بود، که اختلاف‌های بین گروه تست و کنترل به میزان  $(P < 0/05)$  از لحاظ آماری دارای تفاوت معنی داری بود.

جدول ۱: نتایج آماری حاصل از اثرات سیتوتوکسیک در آنالیز آماری داروی سیپروفلوکساسین به میزان ۱۲/۵ mg/kg بر روی بافت بیضه در گروه تحت مطالعه در مقایسه با گروه کنترل

OD $\pm$ SEM	
$92/8 \pm 1/5$	گروه کنترل ( $2 \times 10^5$ Cell/ml)
$65 \pm 6$	گروه تحت مطالعه ( $2 \times 10^5$ Cell/ml)

جذب نوری خوانده شده OD=

بدین ترتیب که در گروه کنترل بعد از گذشت پنج روز تمام سطح پلیتها بصورت سلولهای تک لایه پر شده بود در حالی که گروه تحت مطالعه بعد از گذشت پنج روز، حدود

بیماریهای عفونی مزمن بسیار موثر واقع شده است (۱۴، ۶-۴). تحقیقات گذشته مشخص کرده است که سیپروفلوکساسین از طریق فعال کردن کاسپاز ۳ سبب مرگ برنامه ریزی شده سلول (آپوپتوزیس) می شود (۲۲-۲۰، ۱۰) چون فعال کردن کاسپاز ۳ می تواند نقش مهمی در کاهش تعداد اسپرم، تحرک اسپرم و افزایش میزان DNA قطعه قطعه شده در اسپرم و بوجود آمدن واریکوسل داشته باشد (۲۲). در تأیید تحقیقات گذشته، نتایج جدید حاصله از اثرات این دارو بر روی بافت بیضه نشان داده است که قدرت تحرک اسپرم و تعداد اسپرم ها کاهش می یابد و غلاف رشته ای دم اسپرم ها ضخیم تر می گردند (۳۱، ۳۰) و پرخونی عروق سیاهرگی بهمراه افزایش قطر عروق سیاهرگی را به میزان چشمگیری در گروه تحت مطالعه سبب می گردد (۳۱). همچنین مطالعات با میکروسکوپ الکترونی نیز نشان دهنده آن است که این آنتی بیوتیک سبب واکنش شدن میتوکندریهای موجود در سلولهای رده سرتولی، اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه بهمراه افزایش میزان هتروکروماتین تر شدن هسته این سلول ها می گردد (۳۰). تحقیقات گذشته دانشمندان در مورد بیوپسی های انجام گرفته از بافت بیضه بیماران مبتلا به هیپواسپرماتوزن توانسته است یافته های هیستولوژیک جدید و الگوها و علل مختلفی را آشکار سازد که یکی از علت های اصلی هیپواسپرماتوزن در بیماران فوق بدلیل توقف رشد سلولهای اسپرماتوگونی به دلیل مرگ این سلولها بوده است (۳۳، ۳۲) و عموماً توازن تعداد سلولهای در حال مرگ و سلولهای در حال رشد توسط فرآیند مرگ برنامه ریزی شده سلول ثابت می ماند (۳۵، ۳۴). در مطالعه اخیر نتایج مطالعات میکروسکوپی نشان داد که هسته سلولهای اسپرماتوسیت اولیه در گروه تحت مطالعه نسبت به گروه کنترل هتروکروماتین شده بودند و شکل آنها از حالت گرد به حالت بیضوی تغییر کرده بود همچنین افزایش قطر هسته این سلولها در گروه تحت مطالعه در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود. سیتوپلاسم سلولهای اسپرماتوسیت اولیه ائوزینوفیلیک تر شده بود که این علایم نشان دهنده این بود که اکثر سلولهای رده اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه موجود در لوله های سیمنی فر دچار مرگ سلولی از نوع نکروز انقادی شده بودند. این نتایج یافته های قبلی محققین در مورد نقش سیپروفلوکساسین در فعال کردن

در بررسی نتایج قطر هسته سلولهای اسپرماتوسیت اولیه در گروه تحت مطالعه نشان دهنده آن بود که قطر هسته این سلولها برابر با  $(0/14 \pm 0/44)$  و در گروه کنترل برابر با  $(0/95 \pm 0/16)$  بودند که این تغییرات نشان دهنده افزایش قطر هسته در سلولهای اسپرماتوسیت اولیه در گروه تحت مطالعه در مقایسه با گروه کنترل بود و اختلاف آن به میزان  $(P < 0/01)$  معنی دار بود.

### بحث:

روشن ساختن و بررسی علل و عوامل ایجادکننده ناباروری در مردان در یک جامعه کمک ارزنده ای به بیمارانی که از ناباروری رنج می برند خواهند نمود. میزان قدرت باروری مردان و فرآیند اسپرماتوزن به عوامل متعددی بستگی دارد یکی از این عوامل سالم ماندن سلولهای ژرمینال جنسی و تعادل مابین تعداد سلولهای زنده سالم جنسی و سلولهای مرده است که میتواند نقش بسزایی در دوره اسپرماتوزن و میزان تولید اسپرم داشته باشند. سلولهای ژرمینال جنسی بر اثر انواع مختلف مرگهای سلولی از تعدادشان کاسته می شود که از انواع مرگ سلولی میتوان به نکروز، آپوپتوزیس و مرگ سیتوتوکسیک اشاره کرد. آپوپتوزیس رویدادی است که با همکاری مولکولهای خارج سلولی و سیگنالهای درون سلولی که در ارتباط با همدیگر هستند رخ می دهد و سبب نجات سلولها و خودکشی خود به خود آنها می شود (۱۴). در سالهای اخیر تعدادی از مطالعاتی که در حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است توانسته است نقش عوامل شیمیائی، تشعشعات، عفونی، ویروسی، گرما، انجماد، آنتاگونیستهای هورمون GnRH و خارج ساختن غده هیپوفیز از بدن را در وقوع آپوپتوزیس و انواع مرگ سلولی در بافت بیضه نشان دهد (۲۸-۲۶، ۱۸). با توجه به گزارش سازمان بهداشت جهانی در عصر حاضر ۱/۳ مرد کره زمین از بیماریهای عفونی رنج می برند (۱۲) و جهت درمان خود از آنتی بیوتیکهای مختلف استفاده می کنند و در بسیاری از بیماریهای مقاربتی و عفونی مربوط به دستگاه ادراری تناسلی (۲۹) و بیماریهای مثل سل و بروسلوز که جهت درمان نیاز به مصرف دراز مدت آنتی بیوتیکها دارند که گاهی ۴۰ تا ۶۰ روز مدت درمان توسط این داروها ادامه می یابد و این طول درمان ۴۰ تا ۶۰ روزه با طول دوره اسپرماتوزن در انسان و رتبا مطابقت می کند (۱۹-۱۶). ناگفته نماند داروی سیپروفلوکساسین در درمان این

**منابع:**

- Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE. Principles and practice of Infectious diseases. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone, 1990: 203-205.
- Neu HC. Optimal characteristics of agents to treat uncomplicated Urinary tract infections. *J Infection* 1992; 20(Suppl 4): 266-71.
- Orenstein R, Wong ES. Urinary tract infections in adults. *J Am Fam Physician* 1999; 59: 1225-34, 1237.
- Jun YT, Kim HJ, Song MJ. In Vitro effects of ciprofloxacin and roxithromycin on apoptosis of jurkat T lymphocytes. *J Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003;47: 1161-1164.
- Reece RJ, Maxwell A. Probing the limits of the DNA breakage-reunion domain of the Escherichia coli DNA gyrase A protein. *J Biol Chem* 1991; 25: 3540-6.
- Giamarellos-Bourboulis EJ, Grecka P, Giamarellou H. Comparative in vitro activity of ciprofloxacin vs 8 antimicrobial agents against nosocomial multiresistant P. *J Aeruginosa Strains Drugs* 1995;49(Suppl 2):203-4.
- Ronald AR, Nicolle LE, Harding GK. Standards of therapy for urinary tract infections in adults. *J Infection* 1992; 20(Suppl 3): 75-80.
- Hooper DC, Wolfson JS, Ng EY. Mechanisms of action and resistance to ciprofloxacin. *Am J Med* 1987; 82(Suppl 4):12-20.
- Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute Bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *J Clin Infect Dis* 1999; 29:745-58.
- Naber KG, Landen H. Rapid resolution of symptoms with ciprofloxacin therapy in 3859 hospitalised patients with urinary tract infection. *Intern J Antimicrobial Agents* 2004;23: 35-40.
- Firsov AA, Vostrov SN, Shevchenko AA. A new approach to in vitro comparisons of antibiotics in dynamic models: equivalent area under the curve/MIC breakpoints and equivalent doses of trovafloxacin and ciprofloxacin against bacteria of similar susceptibilities. *J Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2841-7.
- Sissi C, Andreolli M, Cecchetti V. Mg(2+)-mediated binding of 6-substituted quinolones to DNA: relevance to biological activity. *J Bioorg Med Chem* 1998;6(Suppl 9): 1555-61.
- Andriole VT. Urinary tract infections in the 90s, pathogenesis and management. *J Infection* 1992; 20(Suppl 4):251-256.
- Christine N, Erik S, Christian B, et al. Cipro-

کاسپازها در القاء مرگ سلولی را تایید می نماید. شایان ذکر است که بررسی اثر سیتوتوکسیک دارو بر بافت بیضه نشان دهنده آن بود که میزان جذب نوری بعد از گذشت ۵ روز از کشت در گروه کنترل نسبت به گروه تحت مطالعه افزایش یافته بود که این تاییدکننده تاثیر سمیت این دارو در محیط کشت گروه تحت مطالعه بود. همچنین مطالعه لوله‌های سیمینی‌فراز جهت تقسیم بندی score ها نشان داد که این توپولها در score های مختلف قرار داشتند و لوله‌های سیمینی‌فر در گروه تحت مطالعه نسبت به گروه کنترل به صورت قابل ملاحظه‌ای دچار آتروفی توپولها شده بودند و در مرحله (Sc1) واقع شده بودند، که این خود بر طبق منابع قبلی (۲۶،۳۶،۳۷) دلیلی دیگر بر کاهش تعداد سلولهای جنسی زنده (اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتوگونی) و از بین رفتن و مرگ سلولهای جنسی (اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتوگونی) موجود در توپولهای بافت بیضه است.

**نتیجه نهایی:**

در نتیجه میتوان استدلال کرد که تجویز ۱۲/۵ mg/kg از دز درمانی داروی سیپروفلوکساسین به مدت ۶۰ روز در طول دوره اسپرماتوژنز می تواند سبب ایجاد تغییرات پاتولوژیک مثل آتروفی لوله های سیمینی فر و آسیبهای غیر قابل برگشت به سلولهای موجود در بافت بیضه و مرگ سلولهای اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه گردد و سیکل نرمال اسپرماتوژنز را مختل نموده و سبب ایجاد هیپواسپرماتوژنز و ناباروری در موشهای نر گردد. بر طبق مطالعه تحقیقات قبلی، در مقایسه اثرات این دارو در بافت بیضه با سایر آنتی بیوتیکهایی که در این زمینه مورد آزمایش واقع گردیده اند، میتوان نتیجه گرفت که این دارو می تواند برخلاف سایر آنتی بیوتیکها، بر روی تمام پارامترهای دخیل در اسپرماتوژنز موشهای نر اثر گذاشته و دارای اثرات سمیت بیشتری میباشد و از آنجا که تجویز داروی سیپروفلوکساسین می تواند اثرات مشابهی را احتمالاً در انسان ایجاد کند لذا پیشنهاد می گردد در تجویز داروی فوق احتیاط لازم به عمل آید.

**سپاسگزاری:**

از مساعدت پژوهشکده ابن سینا دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران و بخش آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز قدردانی میگردد.

- floxacin-induced acute psychosis in a patient with multidrug-resistant tuberculosis. *J Eur Psychiat* 2003; 18: 262–263.
15. Abbitt B, Berndtson WE, Seidel GE. Effect of dihydrostreptomycin or oxytetracycline on reproductive capacity of bulls. *Am J Vet Res* 1984;45(11):2243-6.
  16. Hargreaves CA, Rogers S, Hills F. Effects of co-trimoxazole, erythromycin, amoxicillin, tetracycline and chloroquine on sperm function in vitro. *J Hum Reprod* 1998;13(7): 1878-86.
  17. Abd-Allah AR, Aly HA, Moustafa AM. Adverse testicular effects of some quinolone members in rats. *J Pharmacol Res* 2000; 41(2): 211-9.
  18. Bustos-Obregon E, Rodriguez H. Testicular x-ray irradiation in adult Mice as a model to study spermatogonial proliferation. *J Andrologia* 1991; 23: 447–50.
  19. Kerr JB, Maddocks S, Sharpe RM. Testosterone and FSH have independent, synergistic and stage-dependent effects upon spermatogenesis in the rat testis. *J Cell and Tissue Research* 1992; 268:179–189.
  20. Shinoda K, Mitsumori K, Yasuhara K. Doxorubicin induces male germ cell apoptosis in rats. *J Arch Toxicol* 1999 ; 73 (Suppl4-5):274-81.
  21. Suschek CV, Krischel V, Bruch-Gerharz D. Nitric oxide fully protects against UVA-induced apoptosis in tight correlation with Bcl-2 up-regulation. *J Biol Chem* 1999; 5: 6130-7.
  22. Zhang J, Zhang Y, Herman B. Caspases apoptosis and aging. *J Ageing Res Rev* 2003; 2(Suppl 4): 357-66.
  23. Babich H, Borenfreund E. Application of the neutral red cytotoxicity assay to in vitro. *Toxicology* 1991;18: 129-144.
  24. National Institutes of Health. The principles of laboratory animal care. National Institutes of Health publication, 1985: 86-23.
  25. De Kretser DM, Holstein AF. Testicular biopsy and abnormal germ cells. In Hafez, E.S.E.(Ed) *The human semen and fertility regulation in men*. St.Louis: Mosby 1976: 332–343
  26. Dutta HM, Misquitta D, Khan S. The Effects of Endosulfan on the Testes of Bluegill Fish, *Lepomis macrochirus*: A Histopathological Study. *J Arch Environ Contam Toxicol* 2006;16: Epub ahead of print.
  ۲۷. رجایی فرزاد، سلیمانی راد جعفر، نیک نفس بهروز، غفاری معرفت. اثرات انجماد شیشه ای بر میزان آپوپتوز در بلاستوسیست موش. فصلنامه پزشکی باروری و ناباروری، سال پنجم، شماره ۲، زمستان ۱۳۸۲: ۶۲-۵۵.
  28. Rajaei F, Otoi T. Analysis of DNA fragmentation of porcine embryos exposed to cryoprotectants. *Reprod Dom Anim* 2005; 40: 1-4.
  29. Raz R, Naber KG, Raizenberg C. Ciprofloxacin 250 mg twice daily versus ofloxacin 200 mg twice daily in the treatment of complicated urinary tract infections in women. *Eur J Microbiol Infect Dis* 2000; 158: 327–331.
  ۳۰. خاکی آرش، سهرابی حقدوست ایرج، غفاری نوین معرفت، بزی پرویز، زاهدی افشین، آذرمی یدا... بررسی اثرات هیستوپاتولوژیکی سیپروفلوکزازین بر بافت بیضه موش صحرائی از لحاظ میکروسکوپ الکترونی. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان، سال چهاردهم، شماره ۵۶، ۱۳۸۴: ۶۱-۷۰.
  ۳۱. خاکی آرش، سهرابی حقدوست ایرج، غفاری نوین معرفت، بزی پرویز، حیدری مهناز، آذرمی یدا... بررسی اثرات داروی Ciprofloxacin بر میزان اسپرماتوژنزدردت. مجله پزشکی طب جنوب، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، سال هشتم، شماره ۲، ۱۳۸۴: ۲۱-۳۰.
  32. Judas L, Bentzen SM, Hansen PV. Proliferative response Of mouse spermatogonial stem cells after irradiation. A quantitative Model analysis of experimental data. *J Cell Prolif* 1996;29:73–87.
  33. Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals; seminiferous epithelium cycles and spermatogonial renewal. *J Physiol Rev* 1972; 52:198-236.
  34. Raff MC. Social controls on cell survival and cell death *Nature*. 1992; 356:397–400.
  35. Nakagawa S, Nakamura N, Fujioka M. Spermatogenic cell apoptosis induced by mitomycin C in the mouse testis. *J Toxicol Appl Pharmacol* 1997;147(Suppl 2): 204-13.
  36. Xia C, Xia Z. Nuclear volume estimation using different sampling, measurement and calculation methods. *J Anal Quant Cytol Histol* 2000; 22(3):258-62.
  37. Simorangkir DR, Wreford NG, De Kretser DM. Impaired germ cell development in the testes of immature rats with neonatal hypothyroidism. *J Androl* 1997;18(2):186-93.