

## Protective Effect of L-Carnitine on the Sperm Parameters of Adult Mice Treated with Ciprofloxacin

Kiani M<sup>\*1</sup>, Parto P<sup>2</sup>

1. Department of Biology ,School of sciences, Razi University,Kermanshah, Iran

2. Department of Biology, Prince George s Community College, Largo, MD, USA

\*Corresponding author. Tel: +989389737501, Fax: +98833427545, E-mail: minakiani335@gmail.com

Received: Apr 19, 2017 Accepted: Aug 21, 2017

### ABSTRACT

**Background & objectives:** The present study examined the gonadotoxic effects of ciprofloxacin antibiotics and protective effects of L-carnitine.

**Methods:** In this study, 20 NMRI mice were divided into four groups: control, ciprofloxacin, L-carnitine, L-carnitine-ciprofloxacin (each group included 5 animals). The control group received normal saline, the treatment group 1 received 12.5 mg/kg ciprofloxacin, the treatment group 2 received 100 mg/kg L- carnitine and the treatment group 3 received 100 mg/kg L- carnitine and 12.5 mg / kg ciprofloxacin simultaneously. All animals were treated by intraperitoneal administration for 15 days. Testis and epididymis were collected to evaluate sperm parameters (sperm count, motility, morphology and viability).

**Results:** In the ciprofloxacin group, a significant decrease in sperm count, sperm viability, sperm motility, progressive sperm motility and normal sperm as well as a significant increase in rotating sperm motility, sperm without movement, head and tail abnormalities were observed ( $p \leq 0.05$ ). A significant increase in sperm count, sperm survival, motility and progressive sperm motility, normal sperm and a significant decrease in rotating sperm motility, sperm without movement and head abnormalities in the L-carnitine-ciprofloxacin group were observed ( $p \leq 0.05$ ); however, the reduction in tail abnormalities of sperm was not significant.

**Conclusion:** L-carnitine improves sperm parameters in the adult mice treated with ciprofloxacin.

**Keywords:** L- Carnitine; Ciprofloxacin; Sperm Parameters; Mice.

# اثر حفاظتی ال- کارنیتین روی پارامترهای اسپرم در موش‌های تحت درمان با سیپروفلوکساسین

مینا کیانی<sup>۱\*</sup>، پریا پرتو<sup>۲</sup>

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه جامع پرنس جورج، بخش آناتومی، ایالات متحده آمریکا

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۸۱۳۳۴۲۳۳۶۰ فاکس: ۰۸۱۳۳۴۲۳۳۶۰ ایمیل: minakiani335@gmail.com

## چکیده

**زمینه و هدف:** مطالعه حاضر به بررسی اثرات گونادوتوکسیسیتهی ایجاد شده بوسیله آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و اثرات حفاظتی ال- کارنیتین پرداخته است.

**روش کار:** در این مطالعه ۲۰ عدد موش سفید نژاد NMRI به چهار گروه کنترل، سیپروفلوکساسین، ال-کارنیتین، ال-کارنیتین-سیپروفلوکساسین، (هر گروه شامل ۵ حیوان) تقسیم گردید. گروه کنترل نرمال سالیین دریافت کردند، گروه تیمار ۱: ۱۲/۵ mg/kg سیپروفلوکساسین، گروه تیمار ۲: ۱۰۰ mg/kg ال-کارنیتین، گروه تیمار ۳: ۱۰۰ mg/kg ال-کارنیتین همراه با ۱۲/۵ mg/kg سیپروفلوکساسین، دریافت کردند. همه حیوانات بصورت درون صفاقی و برای ۱۵ روز تیمار شدند. بیضه و اپیدیدیم به منظور بررسی پارامترهای اسپرم (تعداد، تحرک، مورفولوژی و قدرت زنده ماندن اسپرم) جمع‌آوری شدند.

**یافته‌ها:** در گروه سیپروفلوکساسین کاهش معنی‌دار تعداد اسپرم، قدرت زنده ماندن اسپرم، درصد تحرک، حرکت پیش‌رونده اسپرم، اسپرم نرمال و همچنین افزایش معنی‌دار حرکت چرخشی، اسپرم بدون حرکت، ناهنجاری سر و دم مشاهده شد ( $p \leq 0/05$ ). افزایش معنی‌دار تعداد اسپرم، قدرت زنده ماندن اسپرم، درصد تحرک و حرکت پیش‌رونده اسپرم، اسپرم نرمال و همچنین کاهش معنی‌دار میزان حرکت چرخشی، اسپرم بدون حرکت، ناهنجاری سر در گروه ال-کارنیتین-سیپروفلوکساسین مشاهده شد ( $p \leq 0/05$ )، اما کاهش ناهنجاری دم اسپرم معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری:** ال-کارنیتین، باعث بهبود پارامترهای اسپرم در موش‌های بالغ تحت درمان با سیپروفلوکساسین می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** ال-کارنیتین، سیپروفلوکساسین، پارامترهای اسپرم، موش

دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۳۰ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۳۰

## مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات عدیده جوامع بشری است که در این میان عوامل متعددی با تأثیر بر اسپرماتوژنز، کاهش کیفیت و میزان تولید اسپرم نقش بسزایی دارند. داروهای مورد استفاده در شیمی درمانی، گنادوتوکسین‌ها و برخی عوامل محیطی می‌توانند اثرات زیان‌باری بر اسپرماتوژنز و ساخته شدن اسپرم طبیعی داشته باشند [۱]. آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان گروهی از عفونت‌ها، سرطان و بیماری‌های

انگلی استفاده می‌شود. بنابراین درمان‌های ضد میکروبی پارامترهای مختلف اسپرم را در مدل‌های حیوانی و انسانی تحت تأثیر قرار می‌دهد [۲]. سیپروفلوکساسین<sup>۱</sup> (CPX) نسل جدیدی از آنتی‌بیوتیک‌های ضدباکتریایی است و متعلق به خانواده فلورکینولون است که طیف اثر وسیعی در کنترل بیماری‌های مختلف عفونی دارد و در بیش از ۱۰۰ کشور دنیا کاربرد دارد. این دارو هم به صورت

<sup>۱</sup> Ciprofloxacin

داخل وریدی و هم خوراکی تجویز می‌شود [۳]. نتایج حاصل از آزمایشات بالینی با سپیروفلوکسازین اثربخشی بالینی آن را تایید کرده اند، این آنتی بیوتیک که در درمان طیف گسترده ای از عفونت‌ها از جمله عفونت‌های داخل سلولی مثل لیستریامونوسایتوز<sup>۱</sup>، میکوباکتریوم توبرکولوزیس، استافیلوکوک اورئوس، هم چنین عفونت‌های باکتری‌های گرم منفی در دستگاه ادراری - تناسلی، پوست، عفونت‌های میکوپلاسمایی، کلامیدیایی، استرپتوکوکی، عفونت استخوان، دستگاه گوارش و دستگاه تنفس بکار می‌رود [۴، ۵]. با مکانیسم جلوگیری از عمل آنزیم DNA gyrase یا توپوایزومراز و با ممانعت از باز شدن رشته‌های DNA<sup>۲</sup>، از تکثیر باکتری جلوگیری می‌کند [۶، ۷]. این دارو ناهنجاری‌هایی در دستگاه ماهیچه ای - حرکتی افراد نابالغ (کودکان)، تورم مفصل و ناهنجاری در راه رفتن را سبب می‌شود هم چنین آثار سوء بر سیستم عصبی مرکزی دارد که به دنبال آن سردرد، سرگیجه اتفاق می‌افتد. هم چنین ممکن است این آنتی بیوتیک سبب ایجاد قند خون شود همچنین این آنتی بیوتیک می‌تواند زمینه ساز افزایش قند خون شود [۸]. با توجه به گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO)، حدود یک سوم مردم کره زمین از ابتلای به بیماری‌های عفونی مانند سل، بروسلوز و بیماری‌های آمیزشی مزمن ناحیه ادراری تناسلی رنج می‌برند و نیاز به مصرف دراز مدت آنتی بیوتیک گاهی تا حدود ۴۰ تا ۶۰ روز دارند. طول این دوره درمانی با مدت اسپرماتوژنز در انسان (۶۴±۸) [۹، ۱۰] و در موش صحرایی (۴۸±۵) و در موش سوری بالغ (۳۵±۱) [۱۱، ۱۲] مطابقت دارد. این دارو به صورت معناداری هم به عملکرد و هم به ساختار بیضه آسیب می‌زند [۱۳، ۱۴]. سپیروفلوکسازین می‌تواند به مایع منی حمل شود و به طور مستقیم اسپرماتوژنز را تحت تاثیر قرار دهد و باعث تغییرات فیزیولوژیکی، ژنتیکی و

متابولیکی آن شود و هرچه غلظت سپیروفلوکسازین بیشتر باشد مقدار بیشتری در بافت پروستات و مایع منی دیده می‌شود [۱۵]. مطالعه بافتی بیضه موش صحرایی نر تحت درمان با CPX توسط میکروسکوپ نوری، فاصله میان لوله‌های سیمنی فرس، پرخونی عروق سیاهرگی، افزایش قطر عروق سیاهرگی، مرگ سلول‌های رده اسپرماتوسیت اولیه را نشان می‌دهد [۱۶]. ال - کارنیتین از مشتقات اسید آمینه لیزین و متیونین و ماده ای غذایی است که در گوشت و لبنیات یافت می‌شود. این ماده اولین بار در سال ۱۹۰۵ از گوشت گاو جدا شد. ال - کارنیتین آزاد برای بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب با زنجیره بلند در میتوکندری ضروری است [۱۹-۱۷]. تقریباً از اوایل دهه ۹۰ تحقیقات متعدد در مورد تاثیر ال - کارنیتین بر ناباروری با علت ناشناخته (ایدیوپاتیک) مردان انجام شده است. در سال‌های اخیر از ال - کارنیتین و مشتقات آن (استیل ال - کارنیتین، پروپیونیل ال - کارنیتین و...) به منظور درمان ناباروری در مردان استفاده شده است [۲۱، ۲۰]. ال - کارنیتین با تأمین انرژی مورد نیاز اسپرم، تاثیر مثبت بر روند تحرک و بلوغ اسپرم، نقش اساسی در متابولیسم اسپرم ایفا می‌کند [۲۲]. در مطالعه ژاوو<sup>۳</sup> و همکاران، در کشور چین، ال - کارنیتین و استیل ال - کارنیتین در بهبود میزان حاملگی و ویژگی‌های حرکتی اسپرم موثر بوده است [۲۳]. در ارتباط با استفاده توأم سپیروفلوکسازین و ال - کارنیتین و اثر آن روی پارامترهای اسپرم گزارشی در دسترس نیست. لذا با توجه به اثرات مخرب سپیروفلوکسازین بر روی سیستم تولید مثلی نر [۱۴، ۱۳] و وسعت پراکندگی تجویز این دارو از یک سو و خاصیت آنتی اکسیدانته قوی و مکمل انرژی بودن ال - کارنیتین از سوی دیگر مطالعه حاضر به ارزیابی اثرات محافظتی احتمالی ال - کارنیتین، بر روی پارامترهای حیاتی اسپرم در

<sup>3</sup> Zhoux<sup>1</sup> Listeria Monositogenesis<sup>2</sup> DNA- Supercoiling

موش‌های تحت درمان با داروی سیپروفلوکساسین پرداخته است.

## روش کار

### حیوانات مورد آزمایش

در این مطالعه از ۲۰ موش بالغ نر ۸-۶ هفته‌ای، نژاد NMRI استفاده شد. (بر اساس مطالعه خاکی و همکاران) [۱۶]. حیوانات از خانه حیوانات بخش تکوین وبافت شناسی دانشکده علوم دانشگاه رازی تهیه شد و به منظور تطابق با محیط ۲ هفته در قفسهای خود با دسترسی آزادانه به آب و غذا و شرایط محیطی استاندارد نگهداری شدند. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی حمایت از حیوانات (SPCA)<sup>۲</sup> که در سال ۲۰۰۶ در آمریکا تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه رازی به تصویب رسیده انجام شد.

### داروها و مواد شیمیایی

در این مطالعه ۱۲/۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم سیپروفلوکساسین (شرکت سامی ساز - ایران) و مقدار ۱۰۰ mg/kg ال-کارنیتین (شرکت سامی ساز - ایران) جهت تیمار موش‌ها و از PBS<sup>۱</sup> بعنوان حلال برای داروها استفاده گردید. دوز بکار رفته برای سیپروفلوکساسین و ال-کارنیتین بر اساس مطالعات قبلی بوده است [۲۲، ۱۶].

### گروه‌های مورد مطالعه

در این مطالعه حیوانات به صورت تصادفی (بر اساس شماره دهی به موش‌های داخل هر قفسه)، به چهار گروه کنترل، سیپروفلوکساسین، ال-کارنیتین، ال-کارنیتین - سیپروفلوکساسین، (هر گروه شامل ۵ حیوان) تقسیم شدند. حیوانات گروه کنترل فقط نرمال سالیان دریافت کردند و گروه سیپروفلوکساسین، داروی سیپروفلوکساسین با دوز ۱۲/۵ میلی‌گرم به صورت محلول در یک میلی‌لیتر

PBS، گروه ال-کارنیتین نیز داروی ال-کارنیتین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم و به صورت محلول در یک میلی‌لیتر PBS، گروه ترکیبی، داروی ال-کارنیتین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به همراه داروی سیپروفلوکساسین با دوز ۱۲/۵ میلی‌گرم؛ که هر دو دارو در یک میلی‌لیتر PBS حل شده بودند دریافت کردند. تیمار حیوانات بصورت درون صفاقی و به مدت ۱۵ روز (یک مرتبه در روز) انجام گردید. مدت زمان تیمار بر اساس مطالعه عبدالله و همکاران در سال ۲۰۰۰، انجام گرفت [۱۳].

### روش مطالعه

یک روز پس از اتمام درمان تمام حیوانات کشته شدند و نمونه بیضه آنها خارج گردید. سپس دم اپیدیم جدا گردید و داخل ۱ میلی‌لیتر محیط کشت T<sub>6</sub> قرار داده شد و با روش غیرتهاجمی اسپرم‌ها خارج شدند و به منظور ایجاد ظرفیت یابی لازم در اسپرم، محیط به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بدین ترتیب سوسپانسیون اسپرمی تهیه شد. آنالیز اسپرم بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) و به صورت زیر انجام گرفت. برای بررسی تعداد اسپرم از لام هموسایتومتر استفاده شد. فقط اسپرم‌هایی که دارای سر، ناحیه میانی و دم بودند با استفاده از بزرگنمایی ۴۰× میکروسکوپ نوری شمارش شدند. شمارش برای هر نمونه دوبار انجام گرفت و میانگین آن اعلام شد. نتایج به صورت تعداد اسپرم در یک میلی‌لیتر مایع منی بیان شد [۲۴]. برای ارزیابی میزان زنده ماندن اسپرم‌ها، ۵-۶ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپرم روی لام گذاشته شد، سپس با یک قطره کوچک از تریپان بلو مخلوط شد. بلافاصله لامل گذاری انجام گرفت و با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰× درصد اسپرم‌های زنده و مرده تعیین شدند به طوری که درصد اسپرم‌های زنده از تقسیم تعداد سلول‌های رنگ نگرفته بر کل سلول‌ها ضربدر ۱۰۰ محاسبه شد [۲۵]. برای بدست آوردن درصد تحرک

<sup>1</sup> Phosphate-Buffered Saline

<sup>2</sup> Society for the Prevention of Cruelty to Animals (SPCA)

## یافته‌ها

داده‌های مربوط به تعداد اسپرم اپیدیدیم و قابلیت زنده ماندن اسپرم در گروه سیپروفلوکسین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $p \leq 0/05$ ). در گروه ال- کارنیتین- سیپروفلوکسین، افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم اپیدیدیم و قابلیت زنده ماندن اسپرم، در مقایسه با گروه سیپروفلوکسین مشاهده شد ( $p \leq 0/05$ ) (جدول ۱). کاهش معنی‌داری در میانگین درصد حرکت پیش رونده و درصد تحرک در گروه سیپروفلوکسین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ( $p \leq 0/05$ )، میزان درصد حرکت چرخشی و اسپرم بدون تحرک، افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p \leq 0/05$ ). در گروه ال- کارنیتین- سیپروفلوکسین، افزایش معنی‌داری، در میانگین درصد حرکت پیش رونده و درصد تحرک مشاهده شد ( $p \leq 0/05$ ). میزان درصد حرکت چرخشی و اسپرم بدون تحرک، نیز کاهش معنی‌داری نشان داد ( $p \leq 0/05$ ) (جدول ۲). بررسی‌های مورفولوژیک نشان داد (شکل ۱) میزان ناهنجاری در سر اسپرم، دم اسپرم در گروه سیپروفلوکسین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $p \leq 0/05$ )، همچنین درصد نرمال بودن اسپرم کاهش معنی‌داری نشان داد ( $p \leq 0/05$ ). در گروه ال- کارنیتین- سیپروفلوکسین، کاهش معنی‌داری در میزان ناهنجاری در سر اسپرم مشاهده شد ( $p \leq 0/05$ ). همچنین درصد نرمال بودن اسپرم افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $p \leq 0/05$ ). میزان ناهنجاری در دم اسپرم هم کاهش نشان داد اما این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۳).

۱۰ میدان میکروسکوپ با بزرگنمایی  $\times 10$  روی لام بررسی گردید و سپس میانگین کل اسپرم‌های متحرک در ۱۰ میدان میکروسکوپ بعنوان درصد تحرک بیان شد. اسپرم‌های متحرک به سه دسته Sluggish، Full و Low تقسیم شدند که اسپرم با حرکت Full دارای حرکت رو به جلو، اسپرم با حرکت Sluggish دارای حرکت چرخشی و اسپرم با حرکت Low (بدون تحرک) بود [۲۴]. بر اساس تقسیم‌بندی سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۲، حرکت Full یعنی پیش رونده افزایشی از نوع سریع، حرکت Sluggish، نوعی حرکت که در جا انجام می‌شود و Low یعنی اسپرم بدون حرکت. در این آزمون برای سنجش مورفولوژی اسپرم‌ها بعد از قرار دادن قطره‌ای از محیط کشت حاوی اسپرم بر روی لام با لام دیگر اسمیری از آن تهیه شد. سپس اسمیر در مخلوط اتر و الکل ۹۶ درصد (۱:۱) تثبیت شد. در مرحله بعد اسلایدها با رنگ آمیزی پاپانیکولا رنگ شدند. در این رنگ آمیزی هسته اسپرم به رنگ آبی، آکروزوم و دم اسپرم به رنگ صورتی و ناحیه پشتی اسپرم به رنگ آبی تیره در آمد. برای هر نمونه ۱۰۰ اسپرم با بزرگنمایی  $\times 100$  میکروسکوپ نوری بررسی شدند [۲۶]. جهت بررسی آماری نتایج از نرم افزار SPSS-21 استفاده گردید. به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج و مقایسه بین گروه‌ها به صورت جفت، از آزمون t استفاده شد. داده‌ها بصورت میانگین و انحراف معیار استاندارد ( $\text{means} \pm \text{SD}$ ) بیان گردید.  $p \leq 0/05$  مرز استنتاج آماری برای بررسی اختلاف معنی‌دار میانگین بین گروه‌های مورد مقایسه بود.

جدول ۱. مقایسه میانگین درصد تعداد اسپرم و درصد قابلیت زنده ماندن اسپرم در گروه‌های مختلف موش پس از تیمار با سیپروفلوکسین (۱۰۰mg/kg) وال- کارنیتین (۱۲/۵mg/kg).

گروه	کنترل	ال- کارنیتین	سیپروفلوکسین	سیپروفلوکسین - ال کارنیتین
تعداد اسپرم $\times 10^6$	$16/28 \pm 0/05$	$18/48 \pm 0/13$	$8/8 \pm 0/02^{ab}$	$19/28 \pm 0/16^c$
قابلیت زنده ماندن (%)	$77/9 \pm 0/57$	$80 \pm 0/57$	$49/88 \pm 0/28^{ab}$	$62/79 \pm 0/79^c$

ab: مقایسه سیپروفلوکسین با کنترل و ال- کارنیتین c: مقایسه سیپروفلوکسین - ال- کارنیتین با سیپروفلوکسین (مقادیر به صورت  $\text{means} \pm \text{SD}$  می‌باشد). T-Test, ( $P \leq 0/05$ )

جدول ۲. مقایسه میانگین درصد حرکت پیش رونده، حرکت چرخشی، اسپرم بدون تحرک، درصد تحرک، اسپرم در گروه‌های مختلف موش پس از تیمار با سیپروفلوکساسین (۱۲/۵mg/kg) وال- کارنیتین (۱۰۰mg/kg)

گروه	کنترل	ال- کارنیتین	سیپروفلوکسین	سیپروفوکسین - ال کارنیتین
حرکت پیش رونده (%)	۵۴/۸۷ ± ۰/۶۹	۶۱/۱۳ ± ۰/۷۸ <sup>a</sup>	۲۲/۰۷ ± ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۳۶/۶۶ ± ۰/۱۷ <sup>c</sup>
حرکت چرخشی (%)	۱۷/۱۰ ± ۰/۰۷	۱۶/۰۹ ± ۰/۰۸	۲۵/۳۳ ± ۰/۱۹ <sup>ab</sup>	۱۶/۱۸ ± ۰/۲۱ <sup>c</sup>
بدون تحرک (%)	۲۴/۹۳ ± ۰/۱۴	۱۹/۲۳ ± ۰/۱۰ <sup>a</sup>	۴۸/۳ ± ۰/۸۱ <sup>ab</sup>	۴۳/۷ ± ۰/۶۵ <sup>c</sup>
درصد تحرک (%)	۷۲/۰۷ ± ۰/۷۸	۷۷/۲۲ ± ۰/۸۳ <sup>a</sup>	۴۷/۴ ± ۰/۳۵ <sup>ab</sup>	۵۱/۸۴ ± ۰/۵۳ <sup>c</sup>

a: مقایسه سیپروفلوکسین با کنترل، ab: مقایسه سیپروفلوکسین با کنترل و ال- کارنیتین، c: مقایسه سیپروفلوکسین - ال- کارنیتین با سیپروفلوکسین (مقادیر به صورت  $\text{means} \pm \text{SD}$  می‌باشد).

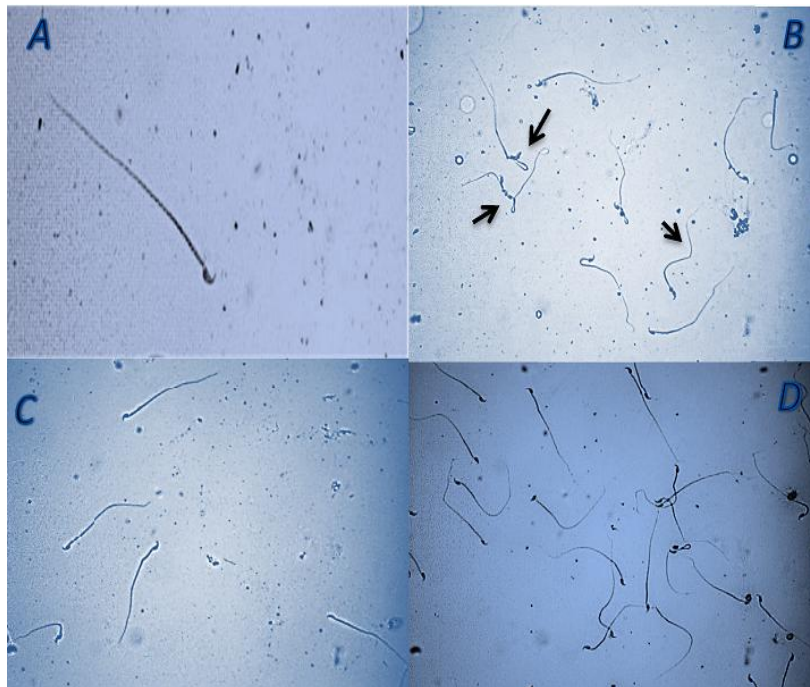
T-Test, ( $P \leq 0.05$ )

جدول ۳. مقایسه میانگین درصد سر ناهنجار، دم ناهنجار، نرمال بودن اسپرم در گروه‌های مختلف موش پس از تیمار با سیپروفلوکسین (۱۲/۵mg/kg) وال- کارنیتین (۱۰۰mg/kg)

گروه	کنترل	ال- کارنیتین	سیپروفلوکسین	سیپروفوکسین - ال کارنیتین
سر ناهنجار (%)	۲/۳ ± ۰/۰۷	۲/۱ ± ۰/۰۶	۶/۲ ± ۰/۱۲ <sup>ab</sup>	۱/۶ ± ۰/۰۴ <sup>c</sup>
دم ناهنجار (%)	۲۴/۳ ± ۰/۲۵	۱۹/۸ ± ۰/۱۷ <sup>a</sup>	۴۵/۴ ± ۰/۳۶ <sup>ab</sup>	۴۲/۳ ± ۰/۳۳ <sup>c</sup>
نرمال (%)	۶۸/۱۵ ± ۰/۸۶	۷۸/۱ ± ۰/۹۳ <sup>a</sup>	۴۸/۴ ± ۰/۲۵ <sup>ab</sup>	۵۶/۱ ± ۰/۲۷ <sup>c</sup>

a: مقایسه سیپروفلوکسین با کنترل، ab: مقایسه سیپروفلوکسین با کنترل و ال- کارنیتین، c: مقایسه سیپروفلوکسین - ال- کارنیتین با سیپروفلوکسین (مقادیر به صورت  $\text{means} \pm \text{SD}$  می‌باشد).

T-Test, ( $P \leq 0.05$ )



شکل ۱. مقطعی از اسپرم تهیه شده از محیط کشت اسپرم اپیدیدیم موش (رنگ آمیزی پاپانیکولا، بزرگنمایی  $\times 400$ ). (A) مورفولوژی نرمال اسپرم، (B) مورفولوژی اسپرم در گروه سیپروفلوکسین، ناهنجاری در سر، گردن و دم اسپرم (C) مورفولوژی اسپرم در گروه ال- کارنیتین، (D) مورفولوژی اسپرم در گروه سیپروفلوکسین - ال- کارنیتین. میزان ناهنجاری در سر و گردن اسپرم در مقایسه با گروه سیپروفلوکسین بهبود یافته، در مقابل ناهنجاری در دم اسپرم بهبودی قابل توجهی نشان نداده است.

## بحث

این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظتی ال- کارنیتین بر تعداد و میزان تحرک و همچنین مورفولوژی اسپرم، در موش‌های تحت درمان با آنتی بیوتیک سیپروفلوکسازین طراحی گردید. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، مصرف سیپروفلوکسازین کاهش تعداد و قابلیت زنده ماندن اسپرم و همچنین قدرت حرکت اسپرم را به دنبال داشت. نتایج مطالعه با نتایج خاکی و همکاران همسو بود [۱۶]، همچنین دمیر<sup>۱</sup> و همکاران در مطالعه مشابهی نشان دادند مصرف ۱۰ روز سیپروفلوکسازین در رت‌ها سبب کاهش تعداد اسپرم و قدرت حرکت اسپرم می‌شود [۱۴]. در مطالعه دیگری مصرف ۲۵۰ میلی گرم سیپروفلوکسازین، برای مدت دو هفته، هیچ تاثیری بر کیفیت اسپرم نداشت [۲۷] بر اساس نتایج مطالعات قبلی سیپروفلوکسازین موجب افزایش مرگ سلولی در رده سلول‌های اسپرماتوگونی [۱۶] و نیز دژنره شدن سلول‌های سرتولی و لایدیگ [۲۸] می‌گردد و از طرفی سیپروفلوکسازین با کاهش میزان انتقال گلوکز یا متابولیسم در سلول‌های رده زایا (اسپرماتوسیت و اسپرماتوگونی) تغییراتی در منبع انرژی ایجاد می‌کند [۲۹] بنابراین این موضوع می‌تواند سبب اختلال در روند اسپرماتوژنز و کاهش تعداد اسپرم گردد. با توجه به اینکه سیپروفلوکسازین، از طریق تغییر میزان تستوسترون سرم اثرات خود را اعمال می‌کند و از طرفی سیپروفلوکسازین سطح هورمون تستوسترون و هورمون LH را کاهش می‌دهد [۲۹]، بنابراین احتمال می‌رود اثرات سوء سیپروفلوکسازین بر اسپرم هم بخاطر تاثیر آن در روند تولید هورمون‌های جنسی، هم به دلیل نقش سیپروفلوکسازین در افزایش سطح رادیکال‌های آزاد (ROS)<sup>۲</sup> و لیپید پراکسیداسیون و کاهش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی گلوتاتیون در بافت بیضه باشد

<sup>۱</sup> Demir<sup>۲</sup> Reactive Oxygen Species

[۳۱،۳۰]. در مطالعه ما بررسی مورفولوژی اسپرم‌ها نشان داد سیپروفلوکسازین باعث افزایش میزان ناهنجاری در اسپرم می‌شود، که در این میان بیشترین تاثیر را بر افزایش ناهنجاری در دم اسپرم داشت. مطالعات قبلی نشان می‌دهند که بین تولید ROS توسط اسپرماتوزوآ و درصد مورفولوژی طبیعی رابطه منفی وجود دارد و تولید ROS به طور معنی‌داری با افزایش درصد مورفولوژی غیرطبیعی افزایش می‌یابد [۳۴-۳۲].

ال- کارنیتین در گروه ترکیبی با سیپروفلوکسازین، با افزایش تعداد اسپرم، قابلیت زنده ماندن و قدرت حرکت اسپرم، کاهش ناشی از سیپروفلوکسازین را توانست جبران کند. در مطالعه علی آبادی و همکاران تاثیر ال کارنیتین و پنتوکسی فیلین بر میزان توزیع کربوهیدرات در غشا اسپرم بررسی شد. در این مطالعه میزان اسپرم‌های با حرکت پیش رونده در گروه ال کارنیتین نسبت به گروه کنترل افزایش داشت. همچنین در تعداد اسپرم‌های بدون حرکت در گروه دریافت کننده ال- کارنیتین، کاهش معنی‌دار و در حرکت غیرپیش رونده افزایش قابل توجهی دیده شد. در این تحقیق افزایش تعداد اسپرم با آکروزوم دست نخورده توسط ال- کارنیتین نیز گزارش شد [۳۵]. در مطالعه دیگری، ویتالی<sup>۳</sup> و همکاران نشان دادند تجویز ال- کارنیتین سبب افزایش تعداد و تحرک اسپرم می‌شود [۳۶] در مطالعه حاضر، ال- کارنیتین میزان ناهنجاری اسپرم را هم کاهش داد، هرچند تاثیر کم رنگ تری بر کاهش میزان ناهنجاری دم اسپرم نشان داد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج عبدالباست و همکاران همسو بود [۳۷]. ال- کارنیتین از طریق تحریک برداشت گلوکز توسط سلول‌های سرتولی [۳۸] و تامین انرژی مورد نیاز اسپرم بر روی تحریک بلوغ اسپرم بیضه تاثیر می‌گذارد [۳۹]، همچنین ال- کارنیتین با کاهش میزان فاگوسیتوز گامت‌ها، سبب افزایش تعداد اسپرم‌ها می‌شود [۲۰].

<sup>۳</sup> Vitali

استفاده توأم ال- کارنیتین با سیپروفلوکساسین، توانست اثرات مخرب آن را بر پارامترهای حیاتی اسپرم کاهش دهد و در صورت تجویز طولانی مدت این آنتی بیوتیک پیشنهاد می شود جهت کاهش دادن ناباروری احتمالی ناشی از کاهش تعداد اسپرم و سایر ویژگی های مربوط به اسپرم از ال- کارنیتین نیز به صورت همزمان استفاده شود. هر چند بررسی بیشتر برای تایید این امر در نمونه های انسانی نیاز است.

### تشکر و قدردانی

نتایج این تحقیق بر مبنای بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد مینا کیانی دانشجوی بافت و جنین شناسی دانشگاه رازی کرمانشاه، با شماره ثبت ۲۳۱۸۰۰۶ در دانشکده علوم دانشگاه رازی کرمانشاه است. بدین وسیله از پرسنل آزمایشگاه بخش تکوین که در اجرای این تحقیق محققین را یاری نمودند قدردانی می گردد.

### تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

ال- کارنیتین از طریق سازوکارهای زیر باعث بهبود کیفیت اسپرم می شود. (۱) ال- کارنیتین به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانسی، از DNA و غشای اسپرم در مقابل رادیکال های آزاد و پدیده استرس اکسیداتیو حفاظت می کند [۴۰]. (۲) بر متابولیسم اسیدهای چرب با زنجیره بلند میتوکندری های دم اسپرم تاثیر می گذارد. ال- کارنیتین بعنوان کوفاکتور استیل کوآنزیم A، باعث تسهیل متابولیسم لیپیدها شده و در نتیجه باعث تولید انرژی [۴۱] در جهت تحرک اسپرم می شود. (۳) بیشترین غلظت ال- کارنیتین در اپیدیدیم است [۴۲] و از سوی دیگر اپیدیدیم جایگاه ذخیره و بلوغ اسپرم ها و محل به دست آوردن تحرک مناسب است. در خاتمه باید خاطر نشان کرد، عدم مطابقت احتمالی برخی یافته های این مطالعه با سایر مطالعات احتمالاً به دلیل تجویز سطوح مختلف سیپروفلوکساسین و ال- کارنیتین، طریقه مصرف، نوع حیوان مدل آزمایشگاهی و مدت زمان اعمال تیمارها باشد.

### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد داروی سیپروفلوکساسین اثرات مخرب بر پارامترهای حیاتی اسپرم دارد.

### References

- 1- Amann RP, Berndtson WE. Assessment of procedures for screening agents for effects on male reproduction: effects of dibromochloropropane (DBCP) on the rat. *Fundam Appl Toxicol*. 1986 Aug;7(2):244-55.
- 2- Wallach EE, Schlegel PN, Chang TS, Marshall FF. Antibiotics: Potential hazards to male fertility. *Fertil Steril*. 1991 Feb ;55(2):235-42.
- 3- Wolfson JS, Hooper DC. fluoroquinolone antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 1989 Oct;2(4):378-424.
- 4- Hooper DC, Wolfson JS, Ng EY, Swartz MN. Mechanisms of action and resistance to ciprofloxacin. *Am J Med*. 1987 Apr ;82(4A):12-20.
- 5- Naber KG, Landen H. Rapid resolution of symptoms with ciprofloxacin therapy in 3859 hospitalised patients with urinary tract infection. *Int J Antimicrob Agents*. 2004 Mar;23 Suppl 1:S35-40.
- 6- Bredberg AN, Brant MA, Jaszyk MA. Ciprofloxacin-induced inhibition of topoisomerase II in human lymphoblastoid cells. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991 Mar; 35(3): 448-450.
- 7- Curry PT, Kropko ML, Garvin JR, Fiedler RD, Theiss JC. In vitro induction of micronuclei and chromosome aberrations by quinolones: Possible mechanisms. *Mutat Res*. 1996 Jun ;352(1-2):143-50.
- 8- Norra C, Skobel E, Breuer C, Haase G, Hanrath P, Hoff P. Ciprofloxacin-induced acute psychosis in a patient with multidrug-resistant tuberculosis. *Eur psychiatry*. 2003 Aug ;18(5):262-3.



- 9- Junqueira LC, Carneiro J, Long j A. Basic Histology ,5<sup>th</sup> ed. New York: Appleton, 1986;468-484.
- 10-Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology, 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia ; WB Saunders. 2006 ;487-509.
- 11-Bustos-Obregón E, Rodriguez H. Testicular x-ray irradiation in adult mice as a model to study spermatogonial proliferation. *Andrologia*. 1991 Nov ;23 (6):447-50
- 12-Rooij DG, Russell LD. All you wanted to know about spermatogonia but were afraid to ask. *J Androl*. 2000 Nov ;21 (6):776-98.
- 13-Abd-Allah AR, Aly HA, Moustafa AM, Abdel-Aziz AA, Hamada FM. Adverse testicular effects of some quinolone members in rats. *Pharmacol Res*. 2000 Feb;41 (2):211-9.
- 14-Demir A, Turker P, Onol FF, Sirvanci S, Findik A, Tarcan T. Effect of experimentally epididymo-orchitis and ciprofloxacin treatment on rat induced *Escherichia coli* spermatogenesis. *Int J Urol*. 2007 Mar;14 (3):268-72.
- 15-Grabe M, Forsgren A, Bjork T. Concentrations of ciprofloxacin in serum and prostatic tissue in patients undergoing transurethral resection. *Eur J Clin Microbiol*. 1986 Apr; 5 (2):211-2.
- 16-Khaki A, Heidari M, Ghaffari M, Khaki AA. Adverse effects of ciprofloxacin on testis apoptosis and sperm parameters in rats. *Iran J Reprod Med*. 2008 Apr; 6 (2): 71-76.
- 17-Dudek D, Zieba A, Siwek M, Wrobel A. Selective serotonin reuptake inhibitors- current knowledge. *Psychiatr Pol*. 2004 May-Jun;38 (3):507-24.
- 18-Kamo T, Horikawa N, Tsuruta Y, Miyasita M , Hatakeyama H , Maebashi Y. Efficacy and pharmacokinetics of fluvoxamine maleate in patients with mild depression undergoing hemodialysis. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2004 Apr;58 (2):133-7.
- 19-Bell S, Shipman M, Bystritsky A, Haifley T. Fluoxetine treatment and testosterone levels. *Anna Clin Psychiatry*. 2006 Jan-Mar;18 (1):19-22.
- 20-Lenzi A, Lombardo F, Sqro P, Salacone P, Caponecchia L, Dondero F, et al. Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double- blind crossover trial. *Fertil Steril*. 2003Feb; 79 (2): 292-300.
- 21-Lenzi A, Sqro P, Salacone P, Paoli D, Gilio B, Lombardo F, et al. A placebo-controlled double-blind randomized trial of the use of combined l-carnitine and l-acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. *Fertil Steril*. 2004 Jun;81 (6):1578-84.
- 22-Amendola R, Coredelli E, Mauro F, Spano M. Effects of L-acetylcarnitine (LAG) on the post-injury recovery of mouse spermatogenesis monitored by flow cytometry. 2. Recovery after hyperthermic treatment. *Andrologia*. 1991 Mar ;23 (2):135-40.
- 23-Zhang JH, Zhang Y, Herman B. Caspases apoptosis and aging. *Ageing Res Rev*. 2003 Oct;2 (4):357-66.
- 24-Nance DM, Bhargava M, Myatt GA. Further evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control of the ovary. *Brain Res Bull*.13. 1984 Nov;13 (5):651-5.
- 25-Rashidi I, Movahedin M, Tiraihi T. The effects of pentoxifylline on mouse epididymal sperm parameters, fertilization and cleavage rates after short time preservation. *Int J Reprod Biomed*. 2012 Jul ;2 (2):51-7.
- 26-Mahdion H, Mohammadi G, Gooraninejad S , Khadjeh Gh. Determination of relationship between motility rate and vital staining with reaction of frozen-thawed bull sperm to hypoosmotic swelling test. *Iranian veterinary journal*. 2013 Autumn; 9 (3): 104-132.
- 27-Merino G, Carranza-Lira S. Infection and male infertility: effect of different antibiotic regimens on semen quality. *Arch Androl*. 1995 Nov-Dec;35 (3):209-12..
- 28-Sarkar R, Mohanakumar KP, Chowdhury M. Effects of an organophosphate pesticide, quinalphos, on the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in adult male rats. *J Reprod Fertil*. 2000 Jan;118 (1):29-38.
- 29-Zobeiri F, Sadrkhanlou RA, Salami S, Mardani K. Long term effect of ciprofloxacin on testicular tissue: evidence for biochemical and histochemical changes. *Int J Fertil Steril*. 2013Jan ; 6 (4): 294-303.
- 30-Nashwa A, Kawkab AA, Mouneir SM. The protective effect of Ginger and N- Acetyl Cysteine on Ciprofloxacin-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. *Am J Sci*. 2011 ; 7 (7): 741-75.
- 31-Arunanbalahan C, Balamurugan K, Vanithakumari G. Studies on the effect on Ciprofloxacin on the biochemical parameters in the testis of albino rats. *IJCST*.2015 Apr; 3 (4): 01-06.

- 32-O WS, Chen H , Chow PH. genital tract antioxidant enzymes-their ability to preserve sperm DNA integrity. *Mol Cell Endocrinol*. 2006 Jan, 250 (1-2):80-83.
- 33-Ford WC. Regulation of sperm function by reactive oxygen species, *Hum Reprod Update*. 2004 Sep-Oct;10 (5):387-99.
- 34-Keshtgar S, Fanaei H, Bahmanpour S, Azad F, Ghannadi A, Kazeroni M. In vitro effects of  $\alpha$ -tocopherol on teratozoospermic semen samples. *Andrologia*. 2012 May ;44 (s1):721-7.
- 35- Aliabadi E, Karimi F, Talaei-Khozani T. Effects of L-Carnitine and Pentoxifylline on Carbohydrate Distribution of Mouse Testicular Sperm Membrane. *Iran J Med Sci*. 2013 Jun; 38 (2): 107–115.
- 36-Vitali G, Parente R, Melotti C. Carnitine supplementation in human idiopathic asthenospermia: clinical results. *Drugs Exp Clin Res*. 1995;21 (4):157-9.
- 37- El-baset SA, El-Wahab SM, Mansour AM, Mohamed EA. Light and electron microscopic study of the effect of L-carnitine on the sperm morphology among sub fertile men. *Middle East Fertil Soc J*. 2010 Apr ;15 (2):95-105.
- 38- Palmero S, Bottazzi C, Costa M, Leone M, Fugassa E. Metabolic effects of L- carnitine on prepubertal rat sertoli cells. *Horm Metab Res*. 2000 Mar;32 (3):87-90.
- 39- Matalliotakis I, Koumantaki Y, Evageliou A, Matalliotakis G, Goumenou A, Koumantaki E. L-carnitine levels in the seminal plasma of fertile and infertile men: correlation with sperm quality. *Int J Fertil Womens Med*. 2000 May-Jun;45 (3):236-40.
- 40- Kerner J , Hoppel C. Generic disorders of carnitine metabolism and their nutritional management. *Annu Rev Nutr*. 1998 Jul;18 (1):179-206.
- 41-Bremer J. Carnitine-metabolism and functions. *Physiol Rev*. 1983 Oct;63 (4):1420-80.
- 42-Rab T, Diedrich K, Strowitzki T. Manual on assisted reproduction, 2<sup>nd</sup> ed. Berlin Heidel Berg: Springer-Verlag, 2000: 255- 258.