بررسی اثرات هیستوپاتولوژیکی سیپروفلوکساسین بر بافت بیضهٔ موش صحرایی از لحاظ میکروسکوپ الکترونی.

دکترآرش خاکی*- دکترایرج سهرابی حقدوست**- دکترمعرفت غفاری نوین***- دکتر پرویزبزی****- دکتر افشین زاهدی*****- دکتر یدا..آذرمی******

*استادیار بخش پاتولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

**استاد بخش پاتولوژی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

***دانشیار پژوهشکده ابن سینا، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

****استادیار بخش آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

*****مربی بخش پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت

****** مربی بخش فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

تاریخ دریافت مقاله: ۸٤/٦/٥

تاریخ پذیرش: ۸٤/۸/۲٤

چکیده

مقدمه: سیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin) از آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون است که طیف اثر وسیع خود را بر باکتری‌ها با مکانیسم مهار آنزیم gyrase-DNA باکتری،اعمال نموده و از رونوشت برداری و تکثیر باکتری جلوگیری می کند. این دارو کاربرد وسیعی در کنترل بیماری‌های مختلف عفونی ، عفونت‌های ناشی از میکروب‌های گرم منفی، مخصوصاً دردستگاه ادراری- تناسلی انسان و حیوانات دارد و در درمان این عفونت‌ها نیز بسیار موثر است به طوری که در ۱۰۰ کشور دنیا کاربرد درمانی دارد.

هدف: مطالعه آثار هیستوپاتولوژی سیپروفلوکساسین در بافت بیضه موش صحرائی.

مواد و روش‌ها: ۲۰سر 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 ٦۰ روز از غذا و آب در شرایط استاندارد استفاده کردند و در گروه آزمایش موش‌ها دوز درمانی سیپروفلوکساسین را به میزان ۱۲/٥mg/kg به مدت ٦۰ روز به صورت محلول در آب آشامیدنی دریافت کردند. در روز شصتم، نمونه‌برداری از بافت بیضه برای بررسی هیستوپاتولوژیکی زیر بیهوشی انجام شد.

نتایج: نتایج بررسی با میکروسکوپ الکترونی نشان دهنده آن بود که بافت بیضه موش‌های گروه مطالعه نسبت به کنترل، تغییرهایی مثل هتروکروماتین‌ترشدن هسته سلول‌های رده اسپرماتوگونی،اسپرماتوسیت(I)،سرتولی و سلول‌های مایوئید داشتند.همچنین غلاف رشته‌ای قسمت اصلی دم اسپرم‌ها در گروه مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل به طور نسبی تیره و ضخیم‌ترشده بودند. میتوکندری‌های سلول‌های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت گروه آزمایش واکوئولیزه شده بودند و این در حالی بود که در گروه کنترل هیچ تغییری دیده نمی‌شد.

نتیجه‌گیری : با توجه به ایجاد آسیب‌های مختلف در لوله‌های سمی‌نی فر، می‌توان نتیجه گرفت که سیپروفلوکساسین قادر است در موش‌های نر باعث ایجاد ناباروری شود پس احتمال آن وجود دارد که این دارو در انسان سبب کاهش میزان باروری بشود.

کلید واژه‌ها: اسپرماتوسیتوژنز/ بیضه/ سیپروفلوکساسین/ موش های صحرایی

مقدمه

بیماری‌های عفونی دستگاه ادراری یکی از مهمترین عوامل تهدید کننده زندگی در افراد بالغ به شمار می‌روند، حدود ۲۰ درصد زنان و۱٪ مردان جامعه در طول زندگی خود به یکی ازبیماری‌های دستگاه تناسلی- ادراری مبتلا می‌شوند (۱، ۲، ۳و۴). مهم‌ترین عوامل پاتوژن دراین دستگاه، Escherichia coli،به میزان ۹۵-۷۰٪ و staphylococcus saprophyiticus به میزان ٥٪ هستند(٥).از بیماری‌های ایجادکننده نارسائی در دستگاه ادراری می‌توان به Gonorrhea ،cystitis،Leptospirosis , pyelonephritis, و Nongonococcal urethritis (NGU)، Syphilis ، Lymphogramuloma venereum ، Chancriod(soft chancre) و Bacterial vaginosis اشاره کرد(٥و٦). برای

نویسنده مسئول: دکتر آرش خاکی؛ تبریز- دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

E-mail:dr.khaki@iaut.ac.ir&arashkhaki@Canada.com

درمان این بیماری‌ها از آنتی بیوتیک‌ها، از جمله آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون‌ها مانندسیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin) استفاده می‌شود. این دارو با مکانیسم جلوگیری از عمل DNA-gyrase (توپوایزومراز) و با ممانعت از باز شدن رشته‌های (DNA -Supercoiling) DNA، از تکثیر باکتری جلوگیری می‌کند. همچنین این دارو در درمان عفونت‌های داخل سلولی مثل: Staphylococcus aureus, Mycobactrium Tuberculosis و Listeria monocytogenes,(۷، ۸، ۹، ۱۰و۱۱) و عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در دستگاه ادراری- تناسلی،عفونت‌های ناشی از مایکوپلاسماها، کلامیدیاها،استرپتوکوک‌ها (٤، ۱۲، ۱۳، ١٤، ۱۵و١٦) بسیار موثر است. این داروسبب بروز ناهنجاری‌هائی در دستگاه عضلانی ـ حرکتی افراد نابالغ(کودکان)، تورم مفصل، و اشکال در راه‌رفتن می‌شود. همچنین آثار آن بر روی دستگاه اعصاب مرکزی (CNS)، در ۹ـ۱٪ از بیماران گزارش شده است(۱۷و۱۸). به گزارش سازمان بهداشت جهـانی (WHO)، درحدود یک سوم مردم کره زمین از بیماری‌های عفونی مثل بیماری‌های آمیزشی و عفونت‌های ناحیه تناسلی و نیز سل و تب مالت رنج می‌برند که برای درمان، نیاز به مصرف دراز مدت آنتی‌بیوتیکی دارند به طوری که گاهی تا حدود ٦٠-٤٠ روز مصرف این داروها ادامه می‌یابد(٤و١٧). چون مدت تجویز این دارو در بیماری‌های مزمن درحدود ٦٠ روز است، این دوره درمانی با طول دوره اسپرماتوژنز در انسان (حدود روز)(۱۸و۱۹) و در موش صحرایی(حدود٥٢±٤٨ روز) (۲۰و۲۱) مطابقت می‌کند. بنابراین در این تحقیق ما به آثار احتمالی این دارو بر لوله‌های سمی‌نی‌فر و بررسی کیفیت اسپرم پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها

برای این تحقیق از ۲۰سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar) خریداری شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد. سن رت‌ها در حدود ۸ هفته و وزنشان در حدود ۲۵۰±۱۰g بود. در طول تحقیق، رت‌ها به مدت ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی قرار داده شدند.(۹ صبح تا ۹ شب) دمای اطاق نگهداری (۲۵/۳ ـ ۲۳/۹) درجه سانتی‌گراد و درصد رطوبت هوای اطاق ٦٠ـ٥٥٪ بود.۲۰ رت به دو گروه(n=۱۰) کنترل و (n=۱۰) مورد مطالعه تقسیم شدند. به گروه مطالعه غذا و سیپروفلوکساسین (آریاـ ایران) با دوز درمانی روزانه mg/kg ۱۲/۵(۳۲و۲۴) به صورت محلول در آب آشامیدنی به مدت ٦٠ روز تجویز شد و برای اطمینان از مصرف دارو، هر روز آب آشامیدنی آب خوری رت‌ها در گروه مطالعه تعویض می‌شد(۶).

روش جراحی برداشت نمونه:

در روز شصتم، برای بیهوشی از پنتوباربیتورال(٤٠mg/kg) با تزریق داخل صفاقی استفاده شد. سپس صفاق از ناحیه شکاف عرضی شکمی باز شد و بیضه‌ها در هر دو گروه کنترل و مورد مطالعه از بدن خارج شدند.در انتهای این تحقیق حیوانات بر طبق قانون حمایت از حیوانات (۲۴) در مدت ۲ ساعت(۱۱ـ۹ صبح) با CO2 کشته شدند.

مراحل آماده‌سازی بافت برای مطالعه با میکروسکوپ الکترونی:

نمونه‌ها در سطحی کاملاً تمیز و در پلیت محتوی محلول شستشو دهنده (بافر فسفات PH= ٧/٤) منتقل شدند. برای حذف لخته‌ها و دبریدهای بافتی چند بار عمل شستشو انجام می‌شد تا از حالت خون آلود و چسبیدن به لخته‌ها و دبریدها پاک شود. سپس نمونه‌ها به حداکثر قطعه‌هایی به قطر $۰/۵mm^3$ برش داده می‌شدند. نمونه‌ها پس از قرارگرفتن در محلول گلوتار آلدئید ۲/۵٪ به مدت ٦ ساعت در محلول با بافر فسفات ۰،۱M,(PH=7.4) شستشه سپس در محلول تترااکسیداسمیوم ۱٪ به مدت ۲ ساعت قرار داده شده و درادامه سه بار عمل شستشو با بافرفسفات۰،۱M,(PH =7.4) انجام شد سپس برای آب‌گیری از الکل (اتانل) با شیب غلظت صعودی استفاده شد و عمل جایگزینی با استفاده از پروپیلن اکساید (Propylene oxide) و قالب‌گیری نمونه‌ها با استفاده از رزین Epon 812 انجام شد. نمونه‌های تریم شده روی دستگاه اولترا میکروتوم(Ultra microtome)مدل Reichert