

The Effects of Ceftriaxone on Histology, Histomorphometry, and Histochemistry of Testis and Sperm Characteristics in Mice

Shapour Hasanzadeh^{1*}, Gholamreza Najafi², Hamid Reza Pirdehghan³, Farzaneh Bonyadi¹

¹Department of Basic Veterinary Sciences, Histology & Embryology Section, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

²Department of Basic Veterinary Sciences, Anatomy Section, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

³Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

***Corresponding Author:**
Shapoor Hasanzadeh,
Department of Basic Veterinary Sciences, Histology & Embryology Section, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Email:
s.hasanzadeh@urmia.ac.ir

Received: 7 Oct, 2015

Accepted: 6 Nov, 2015

Abstract

Background and Objectives: Ceftriaxone is a third-generation cephalosporin antibiotic, which has a broad-spectrum activity against bacteria. Recently, its adverse effects on the reproductive system, was revealed. The aim of this study was to investigate the adverse effects of ceftriaxone on testicular tissue in adult male mice.

Methods: A total of 40 adult male mice were randomly divided into 5 groups: Control group received normal saline; the first and second experimental groups, respectively, received ceftriaxone at doses of 20 and 50mg/kg bw for 7 days; and the third and fourth groups, respectively, received 20 and 50mg/kg bw of the drug for 45 days. After preparation of tissue sections, routine and specific staining was performed, and histological, histomorphometric, and histochemical studies were carried out. The data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's test. Significance level was considered as $p < 0.05$.

Results: The histological evaluations in experimental groups showed changes as atrophy of some seminiferous tubules, decrease in the spermatogenesis and sertoli as well as disruption and disintegration. Morphometric studies showed significant decreases ($p < 0.05$) in the mean diameter of seminiferous tubules, testicular capsule, thickness of epithelium of seminiferous tubules, distribution of leydig cells and lymphocytes, and insignificant increase ($p > 0.05$) in the interstitial tissue thickness in all the experimental groups compared to the control group. In the experimental groups, Sudan Black and alkaline phosphatase reactions were intense, while PAS reaction was weak.

Conclusion: Ceftriaxone damages testicular structure, which includes loss of balance of the spermatogenic cell population and decrease in the spermatogenesis and spermiogenesis processes.

Keywords: Ceftriaxone; Testis; Spermatogenesis; Histology; Histochemistry.

تأثیر سفتریاکسون بر هیستولوژی، هیستومورفومتری، هیستوشیمی بافت بیضه و خصوصیات اسپرم در موش سوری

شاپور حسن زاده^{۱*}، غلامرضا نجفی^۲، حمیدرضا پیردهقان^۳، فرزانه بنیادی^۱

چکیده

زمینه و هدف: سفتریاکسون آنتی‌بیوتیکی از نسل سوم خانواده سفالوسپورین‌ها بوده و اثر وسیع‌الطیفی بر باکتری‌ها دارد. اخیراً نیز اثرات سوء آن بر سیستم تولیدمثلی مطرح شده است. این مطالعه با هدف اصلی بررسی اثرات نامطلوب سفتریاکسون بر بافت بیضه در موش سوری بالغ انجام شد.

روش بررسی: ۴۰ قطعه موش سوری نر بالغ به‌طور تصادفی در پنج گروه دسته‌بندی شدند: گروه کنترل که سرم فیزیولوژی دریافت کردند؛ گروه‌های آزمایشی اول و دوم داروی سفتریاکسون را به ترتیب با دوزهای ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۷ روز و گروه‌های سوم و چهارم این دارو را در دوزهای ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۴۵ روز دریافت کردند. پس از تهیه مقاطع بافتی، رنگ‌آمیزی‌های معمولی و اختصاصی اعمال شد و مطالعات بافت‌شناسی، هیستومورفومتری و هیستوشیمی انجام گرفت. داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: بررسی‌های بافتی در گروه‌های آزمایشی، تغییرات را به‌صورت تحلیل بعضی از لوله‌های اسپرم‌ساز، کاهش سلول‌های سری اسپرماتوژنز و سرتولی، همچنین به‌هم‌ریختگی و عدم انسجام نشان داد. مطالعات مورفومتریکی، کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) در میانگین قطر لوله‌های سمنی‌فر، کپسول بیضه، ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های سمنی‌فر، پراکندگی سلول‌های لیدیک و لمفوسیت‌ها و افزایش غیرمعنی‌داری ($p > 0.05$) در ضخامت بافت بینابینی نسبت به گروه کنترل نشان داد. در گروه‌های آزمایشی واکنش‌های سودان بلاک و آلکالین فسفاتاز، شدید؛ درحالی‌که واکنش پاس (PAS)، ضعیف بود.

نتیجه‌گیری: سفتریاکسون سبب اختلال در ساختار بافت بیضه می‌شود که این اختلال شامل از بین رفتن توازن جمعیت سلول‌های سری اسپرماتوژنز، کاهش روند اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: سفتریاکسون؛ بیضه؛ اسپرماتوژنز؛ بافت‌شناسی؛ هیستوشیمی.

^۱گروه علوم پایه دامپزشکی، بخش بافت‌شناسی و جنین‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۲گروه علوم پایه دامپزشکی، بخش آناتومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۳دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

شاپور حسن‌زاده، گروه علوم پایه دامپزشکی، بخش بافت‌شناسی و جنین‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
s.hasanzadeh@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۱۶

تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۱۶

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Hasanzadeh Sh, Najafi GhR, Pirdehghan HR, Bonyadi F. The effects of ceftriaxone on histology, histomorphometry, and histochemistry of testis and sperm characteristics in mice. Qom Univ Med Sci J 2016;10(6):1-12. [Full Text in Persian]

مقدمه

به دلیل استفاده زیاد از آنتی‌بیوتیک‌ها، مطالعه اثرات سوء آنها ضروری به نظر می‌رسد. استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها علاوه بر ایجاد مقاومت باکتریایی، اثرات زیانباری نیز بر سایر اعضای بدن در پی دارد. آنتی‌بیوتیک‌ها جزء عوامل محیطی و استرسی بوده که اثرات آنها بر باروری کمتر مورد توجه قرار گرفته است، این درحالی است که گزارشهایی در مورد اثرات سوء برخی از آنها بر باروری جنس نر ارائه شده است (۱). به‌طور کلی آنتی‌بیوتیک‌های تأثیرگذار بر باروری جنس نر که تاکنون ثابت شده‌اند شامل: آمینوگلیکوزیدها، مونوسایکلین‌ها و سولفوسالازین‌ها می‌باشند. کاهش توان باروری جنس نر و ماده نیز می‌تواند به‌عنوان یکی از اثرات جانبی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح گردد. براساس گزارشهای دو دهه گذشته، کاهش چشمگیری در کیفیت اسپرم انسان مشاهده شده است (۲). کاهش کیفیت اسپرم اغلب وابسته به عوامل محیطی است. مواد شیمیایی و داروهایی که به‌طور نادرست مصرف می‌شوند، از جمله این عوامل محسوب می‌شوند (۳). آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، اریترومايسين و کوتریموکسازول؛ اثرات منفی غیرقابل‌برگشتی بر اسپرم داشته و باعث کاهش حرکت و توانایی حیات اسپرم در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) می‌شوند (۴). سفتریاکسون، آنتی‌بیوتیکی وسیع‌الطیف از نسل سوم خانواده سفالوسپورین‌ها بوده که در حال حاضر برای مقابله با باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و درمان عفونت‌های تنفسی، دستگاه ادراری مثل سوزاک، استخوان و مفصل، پوست و مننژیت در انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد. سفتریاکسون (با فرمول $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ و وزن مولکولی ۵۵۴/۵۸ گرم برمول) برای تجویز داخل وریدی و داخل عضلانی در درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده می‌شود. این آنتی‌بیوتیک با اختلال در سنتز دیواره سلولی از طریق ممانعت از تولید پپتید و گلیکان، سبب تخریب باکتری می‌شود (۵). گزارشهایی در مورد واکنش‌های دارویی جانبی در استفاده همزمان سفتریاکسون داخل وریدی و کلسیم در نوزادان و کودکان موجود است. همچنین گزارشی مبنی بر عوارض استفاده از سفتریاکسون در دوزهای بالاتر از دوز توصیه‌شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا، از طریق تزریق داخل وریدی با فشار بالا وجود دارد (۶).

تحقیقات نشان داده‌اند در پی تجویز سفتریاکسون، سنگ‌های صفراوی تشکیل می‌شوند. این عمل متعاقب متصل شدن نمک‌های کلسیم با سفتریاکسون (به‌خصوص در دوزهای بالاتر از ۲ گرم)، هنگام آزاد شدن صفرا انجام می‌گیرد (۷). از دیگر اثرات نامطلوب سفتریاکسون می‌توان به تشکیل سنگ‌های ادراری با کلسیم آزاد ادرار (۸)، هپاتیت ناشی از سفتریاکسون (۹) و هیپوپروترومبینمی (Hypoprothrombinemia) حاصل از مصرف سفتریاکسون اشاره کرد (۱۰). همچنین نشان داده شده است سفتریاکسون هیچ اثر مخربی بر آنزیم هیالورونید موجود در کیسه آکروزومی ندارد، ولی با این حال باعث اختلال اسپرم در طی ۲۸۸ ساعت در قوچ نر می‌شود (۱۱). گزارش دیگری نیز وجود دارد که نشان می‌دهد تزریق داروی سفتریاکسون بر موش‌های آلبینوی نر باعث کاهش وزن بیضه، اپیدیدیم و اندام‌های ضمیمه جنسی، همچنین کاهش تعداد، تحرک اسپرم‌ها و افزایش اسپرم‌های غیرطبیعی می‌گردد (۱۲).

براساس این گزارشها، سفتریاکسون دارای اثرات سوء بسیاری می‌باشد، ولی تحقیقات در این مورد ناکافی بوده و از طرفی دیگر، این دارو در حال حاضر در چرخه کاربردی است، به‌طوری‌که در کشور ایران پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها، جزء پرمصرف‌ترین آنتی‌بیوتیک‌ها هستند. تاکنون مطالعه‌ای در جهت بررسی اثرات سفتریاکسون بر ساختار بافت بیضه موش سوری در جنس نر صورت نگرفته است. از این‌رو در این مطالعه اثر سفتریاکسون بر تغییرات بافت‌شناسی و هیستوشیمیایی بیضه در موش سوری بررسی گردید.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از تعداد ۴۰ قطعه موش سوری (Bulb/c) با وزن $23 \pm 1/1$ گرم استفاده شد. موش‌ها در قفس‌های مخصوص و در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 22 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت ۵۲٪) نگهداری شدند. تمامی حیوانات در شرایط تغذیه‌ای یکسان با گندم، پلت مخصوص موش سوری و آب شیر معمولی تغذیه شدند.

داروی سفتریاکسون (Hospira Inc. 275 North field Drive, lake Forest, Illinois- USA) تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

متعاقب یک‌هفته سازگاری با شرایط محیط و پس از توزین، موش‌های سوری به‌صورت تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل (C): حیوانات این گروه به‌عنوان شاهد، سرم فیزیولوژی را به‌صورت تزریق داخل صفاقی (IP= IntraPeritoneal) دریافت کردند.

۲- گروه آزمایشی ۱ (T1): حیوانات این گروه سفتریاکسون (به میزان ۲۰ میلی گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی به مدت ۷ روز دریافت کردند.

۳- گروه آزمایشی ۲ (T2): به حیوانات این گروه سفتریاکسون (به میزان ۵۰ میلی گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی به مدت ۷ روز داده شد.

۴- گروه آزمایشی ۳ (T3): حیوانات این گروه سفتریاکسون را (به میزان ۲۰ میلی گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی به مدت ۴۵ روز دریافت کردند.

۵- گروه آزمایشی ۴ (T4): به حیوانات این گروه سفتریاکسون (به میزان ۵۰ میلی گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی به مدت ۴۵ روز داده شد.

موازين اخلاقی در طول به‌کارگیری حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

الزام به ذکر است مقدار سفتریاکسون مؤثر (LD50) در موش سوری براساس بروشور شرکت تولیدکننده، برابر با ۲۲۰۰ میلی گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن بوده است (HospiraCo-USA).

پس از آسان‌کشی حیوانات، سریعاً ناحیه شکم آنها باز و بیضه‌ها به‌طور کامل برداشته شدند. نمونه‌های تهیه‌شده بلافاصله در داخل ماده ثابت‌کننده فرمالین بافری ۱۰٪ به مدت یک‌هفته تثبیت شدند. تمامی نمونه‌ها پس از اصلاح، تحت روند تهیه مقاطع بافتی قرار گرفتند. پس از برش‌های ممتد ۷ میکرومتری، با روش هماتوکسیلین - ائوزین، رنگ‌آمیزی و به‌وسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. بدین منظور، پس از تهیه مقاطع بافتی، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، ضخامت کپسول بیضه (Thickness of Capsule)، ضخامت اپی‌تلیوم در لوله‌های

اسپرم‌ساز (Thickness of epithelium) و ضخامت بافت بینابینی بیضه (Thickness of interstitial tissue) با استفاده از عدسی چشمی مدرج در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری شد. برای شمارش تعداد سلول‌های لیدیک و لمفوسیت‌ها نیز از عدسی مشبک استفاده گردید.

برای ارزیابی اسپرماتوژنز در لوله‌های منی‌ساز، پارامترهای ضریب تمایز لوله‌ای (Tubular Differentiation Index, TDI) ضریب اسپرمیوژنز (Spermiogenesis Index, SPI) و ضریب جایگزینی مجدد اسپرماتوگونی‌های فعال (Repopulation Index, RI)

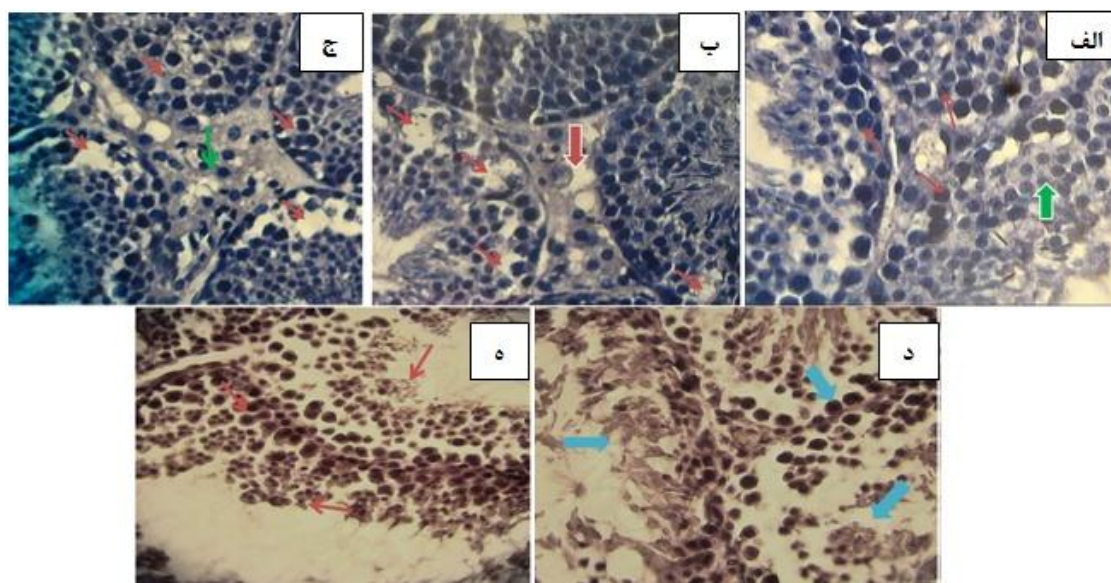
و اندیکس سلول‌های سرتولی (SI= Sertoli Index) محاسبه شدند. مطالعات هیستوشیمی (شامل روش‌های سودان بلاک) برای ارزیابی چربی‌ها و آلکالین فسفاتاز جهت ارزیابی فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بافت بیضه گروه‌های کنترل و آزمایشی به‌کار برده شد. گلیکوژن و مواد حاوی کربوهیدرات نیز از طریق روش پاس (Periodic Acid Schiff, PAS) بررسی گردید.

داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶، روش آماری واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

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) انجام گرفت.

یافته‌ها

مشاهدات بافت‌شناسی نشان دادند در گروه‌های آزمایشی، کاهش در جمعیت سلول‌های سری اسپرماتوژنز و سرتولی، همچنین عدم انسجام آنها در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد. در گروه‌های آزمایشی، نظم هندسی لوله‌های سمنی فر به‌هم خورده و یک نوع روی هم‌خوابیدگی در لوله‌ها دیده شد. در برخی گروه‌های آزمایشی لوله‌های خالی از هر نوع سلول، به‌خصوص سلول‌های سری اسپرماتوژنز مشاهده گردید. در بافت بینابینی نیز تغییراتی همچون ادم، به‌هم‌ریختگی تجمعات لنفاوی و پراکنده شدن گروه‌های سلول‌های لیدیک دیده شد (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱: مقایسه مقاطع لوله‌های منی‌ساز مربوط به گروه‌های مختلف.

الف) گروه کنترل: بافت بینابینی طبیعی در بین لوله‌های منی‌ساز و ضخامت مناسب اپی‌تلیوم زایگر لوله‌های سمنی فر دیده می‌شود. فلش سبز رنگ تعدادی از سلول‌های اسپرماتید سالم و فلش قرمز رنگ سلول‌های اسپرماتوسیت نوع یک سالم را نشان می‌دهند.

ب) گروه آزمایشی ۱: حفره‌های وسیع در بین سلول‌های زایگر لوله‌های اسپرم‌ساز به وسیله فلش قرمز رنگ نشان داده شده است.

ج) گروه آزمایشی ۲، حفره‌های وسیع در بین لایه‌های سلول‌های زایگر لوله‌های اسپرم‌ساز به وسیله فلش قرمز رنگ، همچنین حفره‌های وسیع موجود در سلول‌های لیدیک به وسیله فلش سبز رنگ نشان داده شده است.

د) گروه آزمایشی ۳: عدم انسجام سلول‌های زایگر در سه لوله سمنی فر کنار هم با فلش‌های آبی رنگ مشخص شده است.

ه) گروه آزمایشی ۴: فلش‌های قرمز رنگ، عدم انسجام سلول‌های زایگر لوله‌های اسپرم‌ساز را نشان می‌دهند. (رنگ آمیزی هماتوکیلین - انوزین، بزرگنمایی $\times 400$)

این پارامتر در گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد. همچنین تمامی گروه‌های آزمایشی، کاهش معنی‌داری در توزیع سلول‌های لیدیک نسبت به گروه کنترل نشان دادند. بین دو گروه آزمایشی T1 و T2 نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت. گروه‌های آزمایشی T1 و T2، کاهش معنی‌داری در توزیع لمفوسیت‌ها نسبت به گروه کنترل نشان دادند. در مقایسه بین گروه‌ها، تنها گروه T3 دارای اختلاف معنی‌دار با سایر گروه‌ها بود (جدول شماره ۱).

گروه‌های آزمایشی T1، T2 و T3، کاهش معنی‌داری در قطر لوله اسپرم‌ساز نسبت به گروه کنترل نشان دادند. ضخامت کپسول بیضه در گروه‌های آزمایشی T1، T2 و T3، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. براساس این آنالیز، کاهش در ضخامت کپسول گروه‌های T1، T2 و T3 و افزایش در ضخامت کپسول T4 دیده شد. ضخامت اپی‌تلیوم، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های T1، T2 و گروه کنترل نشان داد. با این حال در تمامی گروه‌های آزمایشی کاهش در ضخامت اپی‌تلیوم مشاهده گردید. آنالیزهای آماری در مورد ضخامت بافت بینابینی بیضه نشان دادند

جدول شماره ۱. پارامترهای مورفومتريک در بافت بیضه

پارامترها	گروه‌ها	کنترل (C)	گروه ۱ (T1)	گروه ۲ (T2)	گروه ۳ (T3)	گروه ۴ (T4)
قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (مول بر متر)		$167/20 \pm 4/180^a$	$143/79 \pm 10/836^b$	$143/79 \pm 3/013^b$	$148/39 \pm 10/507^b$	$156/54 \pm 3/077^b$
ضخامت کپسول بیضه (مول بر متر)		$23/82 \pm 0/724^a$	$15/04 \pm 1/446^b$	$14/21 \pm 1/670^b$	$12/95 \pm 1/107^b$	$20/81 \pm 1/187^a$
ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز (مول بر متر)		$58/52 \pm 2/090^a$	$47/65 \pm 1/449^b$	$43/05 \pm 2/925^b$	$41/38 \pm 3/619^b$	$48/90 \pm 4/403^b$
ضخامت بافت بینابینی بیضه (مول بر متر)		$35/52 \pm 1/507^a$	$47/66 \pm 1/449^b$	$43/05 \pm 2/925^b$	$41/38 \pm 3/619^b$	$48/90 \pm 4/403^b$
تعداد سلول‌های لیدیک (میلی متر مربع)		$79/66 \pm 2/603^a$	$58/00 \pm 1/154^b$	$66/00 \pm 1/154^c$	$62/66 \pm 1/763^c$	$62/00 \pm 1/154^c$
تعداد لمفوسیت‌ها (میلی متر مربع)		$150/00 \pm 5/773^a$	$77/33 \pm 2/666^b$	$82/66 \pm 2/666^b$	$89/33 \pm 2/403^c$	$73/00 \pm 2/309^b$

* در هر ردیف علائم غیرمتشابه، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) است. داده‌ها براساس $\text{Mean} \pm \text{SE}$ می‌باشد.

بنابراین، کاهش در SPI در تمامی گروه‌های آزمایشی دیده شد. بررسی RI، تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) بین گروه کنترل و گروه‌های T1، T2 و T3 نشان نداد، درحالی‌که گروه آزمایشی T4 دارای اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل و هر سه گروه آزمایشی T1، T2 و T3 بود. در نتیجه، RI تنها در گروه آزمایشی T4 منفی بود. بررسی‌های آماری در رابطه با SI نشان داد تمامی گروه‌های آزمایشی (T1، T2، T3 و T4)، دارای اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل هستند. همچنین تمامی گروه‌های آزمایشی، کاهش در SI نشان دادند، درحالی‌که بین گروه‌های آزمایشی، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول شماره ۲).

ضریب تمایز لوله‌ای (TDI) در لوله‌های اسپرم‌ساز در تمامی گروه‌های آزمون نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). گروه آزمایشی T1 با تمامی گروه‌ها به غیر از گروه T3، اختلاف معنی‌داری داشت. گروه آزمایشی T4 نیز به‌استثنای گروه T3 با بقیه گروه‌ها، اختلاف معنی‌داری نشان داد. گروه‌های آزمایشی T1 و T2، کاهش شدید و گروه‌های T3 و T4، افزایش ناچیزی را در TDI نشان دادند. مطالعه درصد اسپرمیوژن (SPI)، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و تمامی گروه‌های آزمایشی بود؛ درحالی‌که بین هیچ‌کدام از گروه‌های آزمایشی، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

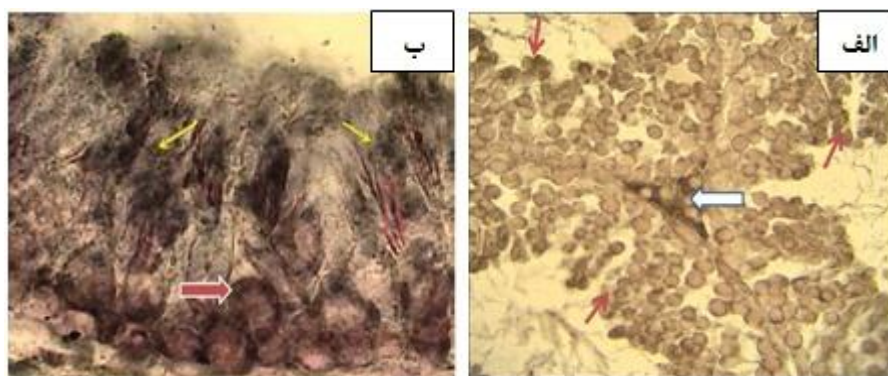
جدول شماره ۲: ارزیابی اسپرماتوژن در گروه کنترل و گروه‌های آزمایشی

پارامترها	گروه‌ها	کنترل (C)	گروه ۱ (T1)	گروه ۲ (T2)	گروه ۳ (T3)	گروه ۴ (T4)
ضریب تمایز لوله‌ای (TDI)		۹۴/۲۳±۰/۸۷۴ ^a	۵۹/۰۰±۱/۷۳۲ ^b	۵۱/۰۰±۲/۰۸۱ ^c	۶۲/۰۰±۱/۱۵۴ ^b	۶۸/۰۰±۱/۷۳۲ ^d
ضریب اسپرمیوژن (SPI)		۹۸/۵۲±۰/۴۰۸ ^a	۸۳/۲۰±۱/۸۹۰ ^b	۷۶/۳۷±۱/۲۰۱ ^b	۷۶/۳۷±۰/۵۷۸ ^b	۷۶/۶۶±۲/۴۰۳ ^b
ضریب جایگزینی مجدد اسپرماتوگونی‌های فعال (RI)		۶/۹۰±۰/۳۹۸ ^a	۶/۵۷±۰/۲۳۲ ^a	۸/۱۱±۰/۳۰۸ ^a	۶/۵۰±۰/۲۸۸ ^a	۴/۲۷±۰/۴۹۴ ^b
اندیکس سلول‌های سرتولی (SI)		۱۸/۴۲±۰/۵۴۶ ^a	۱۶/۵۸±۰/۳۱۶ ^b	۱۸/۱۶±۰/۷۲۰ ^b	۱۶/۵۲±۰/۳۳۲ ^b	۱۵/۷۴±۰/۶۴۰ ^b

*در هر ردیف علائم غیرمتشابه، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است. داده‌ها بر اساس $\text{Mean} \pm \text{SE}$ می‌باشد.

نشان داد (شکل شماره ۲).

رنگ‌آمیزی سودان بلاک تجمع چربی و سلول‌های سودان بلاک مثبت را در سلول‌های قاعده‌ای و سلول‌های نزدیک به حفره

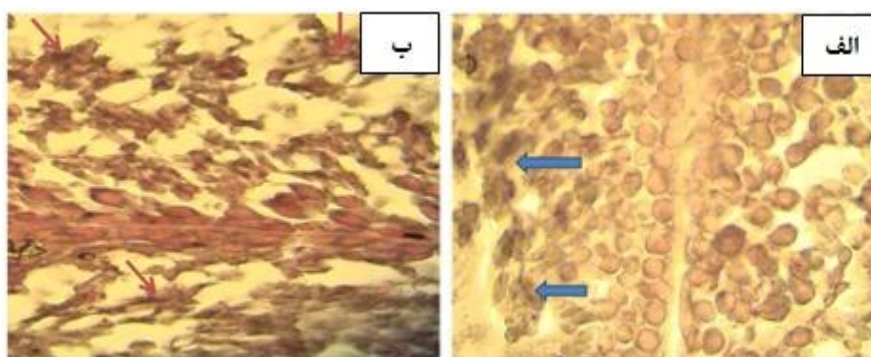


شکل شماره ۲: مقاطع بافتی نواحی سودان بلاک مثبت.

الف) گروه کنترل: دانه‌های سیاه ریز مربوط به چربی‌ها که در رده‌های سلولی نزدیک حفره لوله قرار دارند، دیده می‌شوند. فلش سفید سلول‌های سودان بلاک مثبت و فلش‌های قرمز سلول‌های آلکالین فسفاتاز مثبت را نشان می‌دهد (رنگ‌آمیزی سودان بلاک، بزرگنمایی $\times 400$). ب) گروه آزمایشی ۲: دانه‌های سیاه مربوط به چربی در سلول‌های قاعده‌ای و سلول‌های نزدیک حفره لوله دیده می‌شوند. فلش‌های زرد رنگ سلول‌های اسپرماتید سودان بلاک مثبت و فلش قرمز رنگ سلول‌های اسپرماتوسیت نوع یک سودان بلاک مثبت را نشان می‌دهد (رنگ‌آمیزی سودان بلاک، بزرگنمایی $\times 1000$).

اسپرماتوژن، دانه‌های ریز قهوه‌ای به‌وضوح مشاهده گردید (شکل شماره ۳).

در واکنش آلکالین فسفاتاز مربوط به گروه‌های آزمایشی، در سلول‌های قاعده‌ای و نزدیک به حفره سلول‌های سری



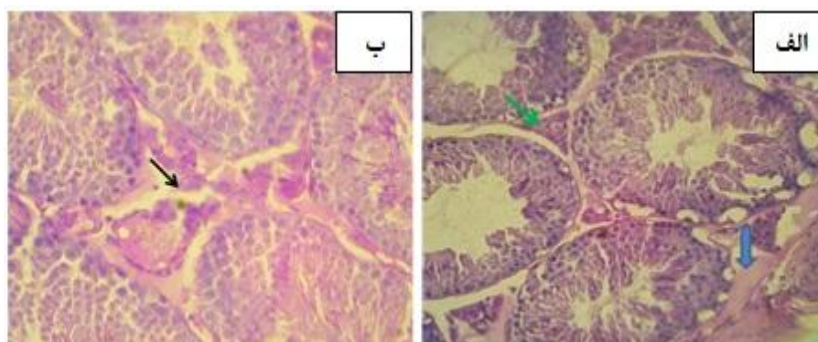
شکل شماره ۳: مقاطع بافتی نواحی دارای آنزیم آلکالین فسفاتاز.

الف) گروه کنترل: سلول‌های آلکالین فسفات مثبت در نزدیکی حفره لوله با فلش آبی رنگ نشان داده شده است. (رنگ آمیزی آلکالین فسفاتاز، بزرگنمایی $400\times$)

ب) گروه آزمایشی ۲: در بخش قاعده‌ای و نزدیک حفره لوله سمنی فر، دانه‌های آلکالین فسفاتاز مثبت با فلش قرمز رنگ مشاهده می‌شوند. (رنگ آمیزی آلکالین فسفاتاز، بزرگنمایی $1000\times$)

همچنین ادم در بافت بینابینی لوله‌ها و عدم انسجام در سلول‌های لیدیک مشاهده گردید (شکل شماره ۴).

مشاهدات شیمی بافت در رنگ آمیزی پاس، حاکی از به هم خوردگی محدودی در انسجام سلول‌های زایگر لوله‌های مختلف سمنی فر بود.



شکل شماره ۴: مقاطع بافتی واکنش PAS.

الف) گروه کنترل: فلش آبی رنگ بافت بینابینی و فلش سبز، رنگ سلول‌های لیدیک را نشان می‌دهند. (رنگ آمیزی PAS، بزرگنمایی $400\times$)

ب) گروه آزمایشی ۴: ادم در بافت بینابینی و عدم انسجام در سلول‌های لیدیک دیده می‌شود. (رنگ آمیزی PAS، بزرگنمایی $100\times$)

اسپرم در رت‌ها اعمال می‌کنند، وجود دارد (۱۸).

بحث

این آنتی‌بیوتیک‌ها دارای زنجیره متیل‌تری‌تترازول (Methylthiotetrazol, MTT) هستند که باعث آتروفی بیضه در رت‌های نابالغ می‌شود و زمانی که زنجیره MTT را از دست می‌دهند، دیگر این اثر را ندارد. سفونیسید (Cefonicid) که نوعی سفالوسپورین بوده و دارای یک زنجیره MTT تغییر یافته است، هیچ اثر سوئی بر سیستم تناسلی نر در رت‌های بالغ، جوان و نابالغ ندارد (۱۹). مطالعه‌ای نشان داده است تزریق سفوتتان (Cefotetan) در رت‌های جوان منجر به کاهش وزن بیضه، افزایش اسپرم‌های غیرطبیعی، آتروفی اپی‌تلیوم زایگر لوله‌های اسپرم‌ساز، آتروفی اپیدیدیم و کاهش در تعداد اسپرمانوزوآ می‌شود.

سفتریاکسون، آنتی‌بیوتیک مربوط به خانواده سفالوسپورین‌ها می‌باشد که علیه بروسلایلیس (۱۳) و استرپتوکوکوس فکالیز (۱۴) مؤثر است و در طب انسانی نیز از آن برای درمان عفونت‌های تنفسی و مجاری ادراری استفاده می‌شود. این آنتی‌بیوتیک مانند سایر سفالوسپورین‌ها با اختلال در سنتز دیواره سلولی از طریق ممانعت از سنتز پپتید و گلیکان، سبب تخریب باکتری می‌شود (۱۵). سفالوسپورین‌ها با اینکه ممکن است مقاومت دارویی شدیدی را در فرد ایجاد نکنند، اما ریسک ایجاد اثرات جانبی در آنها بالا می‌باشد (۱۶، ۱۷). مطالعاتی مبنی بر اینکه سفالوسپورین‌ها اثرات توکسیک را بر بافت بیضه و کاهش تولید

درحالی که سفپریوم (Cefperiome)، هیچ تأثیری بر تکامل بافت تناسلی نر ندارد (۲۰). آنتی‌بیوتیک‌هایی که دارای زنجیره ان-متیل - تترازینول هستند، باعث دژنراسیون بافت بیضه می‌شوند (۲۱). طبق مطالعات انجام‌شده، بیشینه غلظت پلاسمایی سفتریاکسون (که به مدت ۶۰ روز و دوز روزانه ۲۵ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم و به‌صورت داخل عضلانی تزریق شده است) در روز چهاردهم می‌باشد (۲۲)، در صورتی که بررسی‌های چرخه فارماکولوژیکی این دارو، بیشترین اثر بیولوژیکی آن را بر بافت بیضه، در روز هفتم نشان داده است. در مطالعه‌ای دیگر، تراکم عروق خونی و ادم در بافت بینابینی بیضه، بی‌نظمی سلول‌های جنسی در لوله‌های سمنی‌فر و چین‌خوردگی در غشای پایه برخی از لوله‌ها در رت‌های تیمار شده با سفوتاکسیم مشاهده گردید (۲۳).

در مطالعه حاضر اگرچه در گروه‌های تحت درمان با سفتریاکسون، کاهش معنی‌داری در قطر لوله‌های اسپرم‌ساز مشاهده شد، اما ضخامت بافت بینابینی در این گروه‌ها افزایش نشان داد که می‌تواند مربوط به ایجاد ادم قابل توجه و یا کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز باشد. خیز بافتی در اثر افزایش نفوذپذیری عروق خونی پدید می‌آید. براساس گزارشها، ماست‌سل‌ها در این پدیده دخالت دارند (۲۴). به‌هم خوردن تنظیم جریان خون و نفوذپذیری عروقی خونی به دلیل به‌هم خوردن تعادل جمعیتی این سلول‌ها در پی مصرف داروی مذکور، محتمل به‌نظر می‌رسد. همچنین ارتباط بین افزایش تعداد ماست‌سل‌های بیضه‌ای با ناباروری در مطالعه‌ای دیگر گزارش شده است (۲۵). از وظایف مهم سلول‌های سرتولی می‌توان به حفظ یک‌پارچگی سلول‌های رده اسپرماتوژنز، بلوغ سلول‌های جنسی و کمک به اسپرماتوژنز اشاره کرد. همچنین این سلول‌ها پروتئین‌هایی را تولید می‌کنند که تنظیم هورمون‌های هیپوفیزی و از این‌رو فعالیت میتوزی سلول‌های اسپرماتوگونی را برعهده دارند (۲۶). سلول‌های سرتولی در اتصال سلول‌های ژرمینال به‌همدیگر و کنترل فرآیند اسپرماتوژنز در بافت بیضه دخالت دارند (۲۷-۲۹). آنتی‌بیوتیکی از نوع آنتراسایکلین مانند دوکسوروبیسین (Doxorubicin)، باوجود داشتن اثرات درمانی علیه بسیاری از سرطان‌ها، دارای اثرات جانبی مضر بر روی دستگاه تناسلی نر نیز می‌باشد.

این اثرات جانبی می‌توانند به دلیل گرایش آن برای تولید رادیکال‌های آزاد باشد. در مطالعه‌ای استفاده از این آنتی‌بیوتیک، افزایشی را در تعداد اسپرم‌های مرده و غیرعادی، بدون تغییر مهم در تحرک اسپرم نشان داد (۳۰). همچنین استفاده از آنتی‌بیوتیک دوکسوروبیسین باعث نابودی سلول‌های جنسی طی اسپرماتوژنز و کاهش شدید در ضریب تمایز لوله‌ای (TDI) می‌شود، و به دلیل نابودی سلول‌های جنسی، ضریب اسپرمیوژنز (SPI) نیز به‌طور وسیعی کاهش می‌یابد (۳۱). بررسی‌های بافت‌شناسی در مطالعه حاضر نشان داد تعداد سلول‌های سرتولی در بافت بیضه گروه‌های آزمایشی در سطح معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌یابد، این درحالی است که موش‌های گروه آزمایش در سطح قابل توجهی دچار از هم گسیختگی سلول‌های ژرمینال شده‌اند. بنابراین، کاهش نمایه تمایز لوله‌ای (TDI) و جایگزینی سلول‌های اسپرماتوگونی (RI) در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل قابل توجه است.

ارتباط عملکردی بسیاری بین سلول‌های لیدیک، سرتولی و درنهایت، بین سلول‌های سرتولی و سلول‌های زایگر وجود دارد. سلول‌های لیدیک، فعالیت‌های فیزیولوژیکی سلول‌های سرتولی را از طریق سنتز تستوسترون کنترل می‌کنند (۳۲، ۳۳). هورمون تستوسترون با اثر مستقیم بر روی سلول‌های سرتولی، ترشح مایع لوله‌ای و پروتئین‌های متعددی نظیر فاکتورهای رشد و ترانسفرین، نقش ویژه‌ای را در تغذیه سلول‌های جنسی در حال تقسیم و در نهایت، تولید اسپرم برعهده دارد (۳۴). در این مطالعه سلول‌های لیدیک در گروه‌های آزمایشی پس از تجویز سفتریاکسون، به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد و در پی آن سلول‌های سرتولی در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، لذا می‌توان نتیجه گرفت کاهش جمعیت و یا اختلال کارکردی سلول‌های لیدیک در پی تجویز سفتریاکسون منجر به کاهش سطح سرمی تستوسترون شده و کاهش تستوسترون نیز منجر به کاهش سلول‌های سرتولی و متعاقباً عدم یک‌پارچگی اپی‌تلیوم زایگر می‌شود.

برمبنای مطالعات پیشین، سفتریاکسون باعث کاهش معنی‌داری در غلظت اسپرم و حجم منی در قوچ می‌شود (۱۵). این اثر سفتریاکسون در کاهش اسپرم را به‌علت اثر ممانعت‌کنندگی آن از

تقسیم میوز و میتوز در سلول‌های سری اسپرماتوژنز می‌دانند (۵). همچنین تجویز سفتریاکسون باعث افزایش فعالیت آنزیم هیالورونیداز در اسپرم‌های تازه تشکیل شده می‌شود که در پی این عمل در بافت بیضه و سلول‌های سری اسپرماتوژنز، آسیب به وجود می‌آید (۱۵). کاهش معنی‌دار در تعداد و تحرک اسپرم رت‌های تحت تیمار با سفوتاکسیم که خود یکی از سفالوسپورین‌ها می‌باشد نیز دیده شده است (۲۳)، این یافته با نتایج Diab و Fahmy که نشان دادند با مصرف سفوتاکسیم تعداد اسپرم‌های دارای ناهنجاری در حالت وابسته به دوز بیشتر می‌شود، همخوانی دارد (۳۵). بلوغ اسپرماتید و اسپرمیوژنز، وابسته به سلول‌های سرتولی بوده و از طرفی نیز اتصال بین سلول‌های اسپرماتید گرد به سلول‌های سرتولی، وابسته به تستوسترون می‌باشد (۳۶). بنابراین، کاهش تستوسترون و ریزش سلول‌های جنسی نابالغ و نیز آسیب سلول‌های سرتولی باعث اختلال در روند اسپرمیوژنز می‌شود، در نتیجه کاهش معنی‌داری در نمایه اسپرمیوژنز در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل به وجود می‌آید که چنین نتایجی در این مطالعه نیز دیده شد. در مقابل، مطالعه‌ای نشان داد ترکیب استفاده شده از سفتریاکسون - وانکومايسين در موش آلبینو در گنادهای جنسی هر دو جنس نر و ماده در دوز ثابت، هیچ اثر سمی برجای نمی‌گذارد (۳۷).

به منظور بررسی تغییرات اندامک‌های سیتوپلاسمی سلول‌های بیضه (مثل سلول‌های سری اسپرماتوژنز) و رابطه بین این تغییرات آسیبی، از روش‌های هیستوشیمیایی PAS، سودان بلاک و آلکالین فسفاتاز استفاده شد. نتایج این بررسی، تغییرات مشخصی را در ذخایر بیوشیمیایی سلول‌های بافت بیضه موش‌های سوری دریافت‌کننده سفتریاکسون نشان داد. در این بررسی میزان کربوهیدرات داخل سیتوپلاسمی در رده اسپرماتوژنز نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. نتایج حاصل از بررسی هیستوشیمیایی، به منظور ردیابی لیپیدها در بافت بیضه نشان داد در پی تزریق سفتریاکسون در موش‌های سوری بالغ، میزان تجمع چربی در سلول‌های رده اسپرماتوژنز و سلول‌های سوماتیک لوله‌های اسپرم‌ساز (سلول‌های سرتولی) افزایش می‌یابد. در مطالعه‌ای دیگر، تأثیر سفتیوفور (Ceftiofur) در رت‌های آلبینو؛ واکوئله شدن سلول‌های اسپرماتوگون، ادم در فضای بین لوله‌ها،

وجود اسپرماتوزوآ نابالغ در اکثریت لوله‌های سمنی فر را نشان داد (۳۸). اختلال در متابولیسم گلوکز نیز می‌تواند یکی از دلایل تجمع چربی‌ها در بافت بیضه باشد؛ زیرا گلوکز منبع اصلی تأمین انرژی برای سلول‌های رده اسپرماتوژنز به حساب می‌آید و اختلال در نقل و انتقال متابولیسم آن نیز موجب می‌گردد سلول‌ها از منابع دیگری جهت تأمین انرژی استفاده کنند (۳۹). همچنین گزارشی نشان داد تغییر در اندازه و مقدار ذرات چربی در مقطع عرضی لوله‌های منی‌ساز با میزان تخریب سلول‌های جنسی و تجمع چربی مصرف‌نشده برای بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی در ارتباط است (۴۰). از آنجا که تغییرات دژنراتیو در بافت بیضه موجب کاهش مصرف گلوکز و باعث تجمع آن می‌گردد (۴۱)، لذا ممکن است سفتریاکسون با آسیب به انتقال‌دهنده‌ها موجب اختلال در انتقال گلوکز شده که در نهایت، منجر به واکنش مثبت در برابر رنگ‌آمیزی PAS و تجمع گلوکز در سلول‌ها می‌شود. نتایج مطالعات محققین نشان داده است چربی‌ها نقش مهمی در فرآیند اسپرماتوژنز دارند (۴۲). در بافت بیضه موش‌های صحرایی نیز میزان چربی‌های موجود در سلول‌های سرتولی، ارتباط تنگاتنگی با چرخه اسپرماتوژنز دارند و نشان‌دهنده این است که فعالیت‌های متابولیکی هماهنگ این سلول‌ها با چرخه اسپرماتوژنز برای حفظ فرآیند تکثیر و بلوغ سلول‌های جنسی، لازم و ضروری است (۴۳). نتایج حاصل از مطالعه چربی‌ها در این تحقیق، نشان‌دهنده انباشت آنها در پی استفاده از سفتریاکسون در سلول‌های لیدیک، همچنین در سلول‌های سری اسپرماتوزنر بود. به دلیل ارتباط بین دژنراسیون سلول‌های زایگر بیضه و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بیضه رت‌های دارای عارضه واریکوسل، مشخص شده است فعالیت این آنزیم با دژنراسیون سلول‌های زایگر بیضه افزایش می‌یابد (۴۴). از این رو وجود آلکالین فسفاتاز در سلول‌های گروه‌های آزمایشی، قابل توجیه است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد سفتریاکسون سبب اختلال در عملکرد و ساختار بافت بیضه می‌شود. این اختلال از طریق عدم انسجام سلول‌های زایگر، سلول‌های سری اسپرماتوژنز و سلول‌های سرتولی ایجاد شده و باعث کاهش در روند اسپرماتوژنز و

تشکر و قدردانی

این تحقیق با کمک مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه (کد پایان‌نامه: ۱۲۳۳) و با مساعدت‌های ریاست و معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه انجام گرفته است که بدین وسیله از آنها تقدیر می‌شود. از اعضای آزمایشگاه‌های بافت‌شناسی و جنین‌شناسی دانشکده نیز به خاطر مساعدت‌های تکنیکی تقدیر و تشکر می‌گردد.

اسپرمیوژنز می‌شود. بنابراین، در استفاده از داروی مذکور برای درمان بیماری‌ها و عفونت‌ها، جانب احتیاط باید رعایت گردد که البته دوز مصرفی، بسیار تعیین‌کننده است. مطالعه درخصوص مکانیسم‌های اثر این دارو بر بافت بیضه نیز نیاز به مطالعات بیشتری دارد که امید است در پژوهش‌های آتی مورد توجه قرار گیرند.

References:

- Toovey S, Hudson E, Hendry WF, Levi AJ. Sulphasalazine and male infertility: reversibility and possible mechanism. *Gut* 1981;22(6):445-51.
- Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Shakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ* 1992;305(6854):609-13.
- 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, Norway, Estonia and Finland. *Hum Reprod* 2002;17(8):2199-208.
- 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(7):1878-86.
- Timmermans LM. Modifications in spermatogenesis following antibiotic therapy. *Acta Urol Belg* 1989;57(1):35-46.
- Eljaja L, Ole JB, Honore PH, Bjarke A. Effects of the excitatory amino acid transporter subtype 2 (EAAT-2) inducer ceftriaxone on different pain modalities in rat. *Scand J Pain* 2011;2(3):132-6.
- Shiffman ML, Keith FB, Moore EW. Pathogenesis of ceftriaxone-associated biliary sludge. In vitro studies of calcium-ceftriaxone binding and solubility. *Gastroenterol* 1990;99(6):1772-8.
- Chutipongtanate S, Thongbooknerd V. Ceftriaxone crystallization and its potential role in kidney stone formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;406(3):396-402.
- Peker E, Cagan E, Dogan M. Ceftriaxone-induced toxic hepatitis. *World J Gastroenterol* 2009;15(21):2669-71.
- Dabadie H, Brossard G, Raptopoulou F, Paccalin J. Probable role of ceftriaxone in the induction of hypoprothrombinemia. *Therapie* 1986;41(5):404-8.
- Tanyildizi S, Türk G. The effects of diminazene aceturate and ceftriaxone on ram sperm. *Theriogenol* 2004;15;61(3):529-35.
- Mahmoud NA, El-Sawy ASF, El-Ashmawy IM. Effects of ceftriaxone on reproductive and biochemical aspects of male rats. *Alexandria J Vet Sci* 2011;33(1):43-50.
- Varon E, Cohen R, Bouhanna CA, Canet J, Janaud JC, Geslin P. Brucellosis in a 3-month-old infant. *Arch Fr de Pediatr* 1990;47(8):587-90.
- 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 faecalis*. *J Clin Microbiol* 1984;20(3):561-7.

15. Sadettin T, Gaffari T. The effects of diminazene aceturate and ceftriaxone on ram sperm. *Theriogenol* 2003;61(2-3):529-35.
16. Yao Y, Zhou R, Wang Y. Fatal adverse effects of injected ceftriaxone sodium in China. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2012;21(11):1197-201.
17. Romano A, Caubet JC. Antibiotic allergies in children and adults: from clinical symptoms to skin testing diagnosis. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2014;2(1):3-12.
18. El-Homosany SR, El-Ashmawy IM, El-Sawy ASF. Adverse effects of cefotaxime on male rats. *Alexandria J Vet Sci* 2012;35(1):31-40.
19. Manson JM, Zolna LE, Kang YJ, Johnson CM. Effects of cefonicid and other cephalosporin antibiotics on male sexual development in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31(7):991-7.
20. Akaike M, Inazu M, Ohno H, Takayama K, Omosu M, Kobayashi T. Effects of ceftiofur sodium on male sexual development in rats. *J Toxicol Sci* 1990;15(3):109-27.
21. Comerreski CR, Bregman CL, Buroker RA. Testicular toxicity of N-methyltetrazaolethiol cephalosporin analogs in the juvenile rat. *Fundam Appl Toxicol* 1987;8(2):209-80.
22. Datta BK, Mandal TK, Chakraborty A. Residual effect of ceftriaxone in black Bengal goats after long term intramuscular administration. *Int J Pharm Biol Sci* 2011;2(4):297-307.
23. 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(3):4291-303.
24. Jones DT, Taylor WR, Thornton JM. A mutation data matrix for transmembrane proteins. *FEBS Lett* 1994;339(3):269-75.
25. Roaiah MMF, Khatab H, Mostafa T. Mast cells in testicular biopsies of azoospermic men. *J Andrologia* 2007;39(5):185-9.
26. Johnson L, Thompson Jr D, Varner DD. Role of sertoli cell number and function on regulation of spermatogenesis. *Anim Reprod Sci* 2008;105(1-2):23-51.
27. Rossi GL, Aeschlimann CA. Morphometric studies of pituitary glands and testes in rats with streptozotocin-induced. *Androl* 1982;14(6):532-42.
28. Razi M, Sadrkhanlou RA, Malekinejad H, Sarafzadeh A. The varicocele time-dependently affects the DNA integrity of sperm cell: evidence for lower in vitro fertilization rate in varicocele-positive rats. *Int J Fertil Steril* 2011;5(3):174-85.
29. Razi M, Malekinejad H, Sadrkhanlou RA, Sarafzadeh Rezaei F. Histological impact of long time varicocele-induction on right and left testes in rat (Evidence for the Reduction of sperm Quality and Mating Abilities). *Vet Res Forum* 2011;2(3):189-201.
30. Badkoobeh P, Parivar K, Kalantar SM, Hosseini SD, Salabat A. Effect of nano-zinc oxide on doxorubicin-induced oxidative stress and sperm disorders in adult male Wistar rats. *Iran J Reprod Med* 2013;11(5):355-64.
31. Shalazar Jalali A, Hasanzadeh Sh. Crataegus monogyna fruit aqueous extract as a protective agent against doxorubicin-induced reproductive toxicity in male rats. *Avicenna J Phytomed* 2013;3(2):159-70.
32. Sarkar R, Mohanakumar KP, Choowdhury D. Effect of an organophosphate pesticide, quinalphos, on the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in adult male rats. *J Reprod Fertil* 2000;118(1):29-38.
33. Shan LX, Zhu LJ, Bardin CW, Hady M. Quantitative analysis of androgen receptor messenger ribonucleic acid in developing leydig cells and Sertoli cells by in situ hybridization. *Androl* 1995;136(9):3856-62.

34. Hosseini SE, Bastampoor F, Sadeghi H. Effect of Hydro-Alcoholic extract of parsley (*Petroselinum Crispum*) leaf on the testicle tissue and sexual dynastic cells of adult male rats. *J Babol Univ Med Sci* 2014;16(9):36-42. [Full Text in Persian]
35. Fahmy MA, Diab KAE. In vivo genotoxicity studies of cefotaxime. *Cytologia Tokyo* 2010;74(4):417-25.
36. Sanberg PR, Cameron DF, Borlongan CV. Sertoli cell as transplantation facilitator for cell transplantation. US Patent No. 6,649,160. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office; 2003.
37. Chaudhary M, Shrivastava S, Sehgal R. Subchronic toxicity study of fixed dose combination of ceftriaxone-vancomycin in swiss albino mice. *J Drug Vaccine Saf* 2007.
38. Shaheen HM, Sawsan ME, Alkelch AM, Naima AA. Studies on some side effects of cephalosporins: Studying the teratogenic effects of ceftiofur sodium. 1st Sciences Congress for Provincial Laboratories; 2000. p. 56-68.
39. Farooqui SM, Al-Beghdadi F, ODonnel JM, Stout R. Degenerative changes in spermatogonia are associated with loss of glucose transporter (Glut 3) in abdominal testis of surgically induced unilateral cryptorchidism in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;236(2):407-12.
40. Qin DN, Lung MA. Studies on the relationship between testicular capsule and sperm transport in the rat testis. *Asian J Androl* 2000;2(3):191-8.
41. Lear L, Nation RL, Stupans I. Effects of cyclophosphamide and adriamycin on rat hepatic microsomal glucuronidation and lipid peroxidation. *Biochem Pharm* 1992;44(4):747-53.
42. George J, Ambadkar D. Histochemical demonstration of lipid and lipase activity in rat testis. *J Histochem Cytochem* 1963;11(3):420-5.
43. Kerr JR, Mayberry RA, Irby DC. Morphometric studies on lipid inclusions in Sertoli cells during the spermatogenic cycle in the rat. *Cell Tissue Res* 1984;236(3):699-709.
44. Bakhtiary Z, Shahrooz R, Ahmadi A, Soltanilinejad F. Protective effects of crocin on testes of adult cyclophosphamide treated mice. *Yasuj Univ Med Sci J* 2013;19(84):12-23. [Full Text in Persian]