

مطالعه تأثیر استفاده طولانی مدت کتوکونا زول بر اسپر ماتوژنز و بافت بیضه در موش سوری

فرهاد عظیمی دباغ^{۱*}، فرزاد میر رضوی^۲، علیرضا باباپور^۳

(۱) گروه بهداشت و بیماریهای طيور، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، تهران- ایران

(۲) فارغ التحصیل دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز- ایران

(۳) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، تهران- ایران

(دریافت مقاله: ۲۵ دی ماه ۱۳۹۱، پذیرش نهایی: ۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۲)

چکیده

زمینه مطالعه: کتوکونا زول داروی ضد قارچ وسیع الطیف با کاربرد وسیع در درمان بیماریهای قارچی می باشد. مطالعات نشان داده اند که این دارو روی تولید هورمون های استروئیدی از جمله گلوکوکورتیکوئیدها و هورمونهای جنسی اثر مہاری دارد. **هدف:** هدف از این مطالعه تعیین اثر تجویز مزمن کتوکونا زول بر روی شاخص های اسپر ماتوژنز در بافت بیضه موش سوری نرمی باشد. **روش کار:** در این تحقیق ۵۰ سر موش سوری نر نژاد NMRI با وزن ۳۰-۲۵ گرام شرایط نگهداری و تغذیه ای یکسانی داشته اند در ۵ گروه آتایی تقسیم شدند. موش های سوری دوز کتوکونا زول (۵۰ mg/kg) را روزانه به مدت ۱۵ روز، ۲ و ۳ ماه از راه خوراکی دریافت کردند. به طوری که یک گروه کنترل (نرمال سالین) و ۴ گروه دریافت کننده کتوکونا زول بودند. بعد از گذشت زمان های ذکر شده نمونه بافت بیضه اخذ گردید و پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ آمیزی هماتوکسیلین آئوزین، از لحاظ شاخص های اسپر ماتوژنز (ضریب تمایز لوله ای TDI، ضریب اسپر میوژنز SI و ضریب باز سازی RI) مطالعه شد. جهت آنالیز داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست های مقایسه چند گانه توکی استفاده شد، مقدار ($p < 0.05$) برای تعیین سطح معنی دار بودن بین گروه ها در نظر گرفته شد. **نتایج:** نتایج نشان داد که SI و RI در روز پانزدهم و TDI، SI و RI در ماه های اول دوم و سوم بعد از تجویز دارو در مقایسه با گروه نرمال کاهش معنی دار ($p < 0.05$) داشت. **نتیجه گیری نهایی:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تجویز مزمن کتوکونا زول باعث کاهش اسپر ماتوژنز و شاخص های آن در بافت بیضه موش سوری می شود. این کاهش در مقدار TDI، SI و RI احتمالاً از طریق کاهش غلظت سرمی تستسترون می باشد. اثر این دارو در روند اسپر ماتوژنز و ناباروری انسان نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

واژه های کلیدی: کتوکونا زول، موش سوری، ضرایب اسپر ماتوژنز

مقدمه

کتوکونا زول داروی ضد قارچ وسیع الطیف با کاربرد وسیع در درمان بیماریهای قارچی می باشد (۵). مطالعات نشان داده اند که این دارو بر هورمونهای استروئیدی از جمله گلوکوکورتیکوئیدها و هورمون های جنسی اثر مہاری دارد، همچنین مصرف کتوکونا زول باعث کاهش مقدار تستسترون در خون و تغییرات بافتی مختلف در بافت بیضه حیوانات آزمایشگاهی می شود (۲۲). بیضه ها به عنوان یک زوج غده تولید کننده سلول های زایای نر در داخل اسکروتوم قرار می گیرند (۶). بخش درون ریز بواسطه ترشح هورمون هایی نظیر تستوسترون، استروژن، اینهیبین توسط سلول های لیدیک و سرتولی مشخص می شود و بخش برون ریز لوله های سمینیفر هستند که اسپر ماتوژن را تولید و آزاد می کنند (۱۶). در هر لوبول بیضوی یک تا چهار لوله منی ساز قرار گرفته و در اپی تلایوم لوله های منی ساز دو نوع سلول مشاهده می شود (۴). که یکی از سلول ها سرتولی و دیگری سلول های رده اسپر ماتوژنز می باشد. گامت های در حال رشد در فرورفتگی های موجود در دیواره جانبی و رأسی سلول های سرتولی قرار می گیرند و با به طور کامل توسط این سلول ها محصور می شوند (۲۵).

سلول های جنسی به صورت اپی تلایوم مطبق در چهار تاهشت لایه در کنار یکدیگر قرار گرفته و ضخامت لوله منی ساز را می پوشانند و این سلول ها به تدریج از قاعده لوله ها به طرف حفره میانی تمایز یافته و تکثیر آنها باعث رانده شدن سلول ها به حفره داخلی لوله می شوند (۱۱). مراحل مختلف فرایند تمایز سلول های زایا در لوله های منی ساز اصطلاحاً اسپر ماتوژنز نامیده می شود. در طی این فرایند سلول های اسپر ماتوگونی، پس از طی تقسیمات و تغییرات لازم سرانجام به اسپر ماتوژن تبدیل می شوند (۲۳). سیکل اسپر ماتوژنز خود شامل سه مرحله تقسیم میتوز یا اسپر ماتوسیتوژنز، تقسیم میوز و اسپر میوژن یا متامورفوز می باشد. در طی مرحله اسپر ماتوسیتوژنز، سلول های اسپر ماتوگونی مکرراً تقسیم میتوز انجام داده و سرانجام به سلول های اسپر ماتوسیت اولیه تبدیل می شوند. اسپر ماتوسیت های اولیه بزرگترین سلول تناسلی موجود در لوله منی ساز بوده و قسمت میانی اپی تلایوم را اشغال می کنند و علامت مشخصه آنها وجود کروموزم های پیچ خورده در هسته آنهاست (۲۱). از تقسیم اول میوز، سلول های کوچکتری به نام اسپر ماتوسیت ثانویه حاصل می شود. در پایان تقسیم دوم میوز، اسپر ماتوسیت ثانویه به دو سلول کوچکتر به نام اسپر ماتید تبدیل می شود. در اسپر ماتیدها هسته ها حاوی نواحی کروماتینی تیره هستند. اسپر ماتیدها طی روند پیچیده به نام اسپر میوژنز،



قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. در داخل لوله‌های منی ساز تجمع اسپرم‌ها دیده می‌شود (تصویر ۳).

۳- **نتایج مطالعه بافت شناسی بیضه در روز سی ام پس از تجویز دارو:** مطالعه بافت شناسی بیضه در روز سی پس از تجویز دارو نشان داد که کاهش محسوس در قطر لوله‌های منی ساز ایجاد گردید و از تعداد سلول‌های زایا بخصوص سلول‌های اسپرماتید کاسته می‌شود. در داخل تعداد محدودی از لوله‌های منی ساز اسپرم‌ها دیده می‌شوند. بافت همبند بینابینی رفته رفته توسعه می‌یابد، ولی کپسول همبندی بیضه تغییر چندانی نیافته است. افزایش مقاطع عروق خونی در مقایسه با گروه کنترل محسوس است (تصویر ۴).

۴- **نتایج مطالعه بافت بیضه در روز شصت ام پس از تجویز دارو:** مطالعه بافت بیضه در روز شصت پس از تجویز کتوکنازول نشان داد که کپسول بیضه افزایش ضخامت اندکی داشته است. قطر لوله‌های منی ساز بطور چشم‌گیری کاهش پیدا کرده و فضای بین لوله‌ها (بافت بینابینی) از وسعت زیادی برخوردار است. در لوله‌های منی سازی تلوم‌های دیگر ضخامت بسیار کمی داشته و در برخی لوله‌ها، سری سلول‌های اسپرماتوژنز کاملاً تحلیل رفته و به تعداد اندکی دیده می‌شود که اکثراً سلول‌های اسپرماتوگونی باقی مانده‌اند. در تعداد کمی از لوله‌های منی ساز لایه‌های سلولی اپی‌تلوم‌های دیگر مشاهده می‌شود و نیز تعداد کمی سلول‌های اسپرماتوزوئید با تاژک‌های بلند مشاهده می‌شود. ولی به طور واضح بیشتر رده‌های سلول‌های اسپرماتوژنز موجود نمی‌باشد. سلول‌های سرتولی تغییرات کمتری را نشان می‌دهند. در داخل بافت بینابینی عروق خونی در سطح وسیعی مشاهده می‌شود که علاوه بر مویرگ‌ها به وریدچه‌ها و شریانچه‌ها صورت دیده می‌شود. سلول‌های لیدیک با اشکال طبیعی دیده می‌شوند ولی در برخی نواحی به نظر می‌رسد تجمع آنها زیاد باشد (تصاویر ۵، ۶).

۵- **نتایج مطالعه بافت شناسی بیضه در روز نود ام پس از تجویز دارو:** در روز نود پس از تجویز داروها مطالعه بافت شناسی بیضه نشان داد که کپسول بیضه در مقایسه با گروه‌های قبل ضخامت بیشتری یافته است. لوله‌های منی ساز بیشتر تحلیل رفته و تعداد سلول‌های اپی‌تلوم‌های دیگر بسیار کاهش یافته‌اند. البته هنوز در برخی لوله‌ها به صورت محدود سلول‌های رده اسپرماتوژنز مشاهده می‌شود و برخی حاوی سلول‌های اسپرماتوزوئید هستند. بافت بینابینی گسترش فوق‌العاده زیادی یافته و اغلب در داخل بافت انتشار مایع پلاسمایی به صورت ادم بافتی به رنگ صورتی یکنواخت دیده می‌شود. مقاطع عروق خونی فراوان در سطح وریدچه و شریانچه در مقطع بافت بیضه مشاهده می‌شود. در برخی از لوله‌های منی ساز تمام سلول‌های اسپرماتوژنز حذف شده و تنها تعداد محدودی اسپرماتوگونی و تعداد بیشتری سلول‌های سرتولی مشاهده می‌شود (تصاویر ۷، ۸).

آنالیز آماری جهت مقایسه ضریب تمایز لوله‌ای (TDI): آنالیز آماری در

به اسپرماتوزوئید تبدیل می‌شوند (۱۶، ۲۸). با توجه به اثر کتوکنازول بر روی سنتز هورمون‌ها بخصوص تستسترون، هدف از این مطالعه تعیین اثر تجویز مزمن کتوکنازول بر روی شاخص‌های اسپرماتوژنز در بافت بیضه موش سوری نرمی باشد.

مواد و روش کار

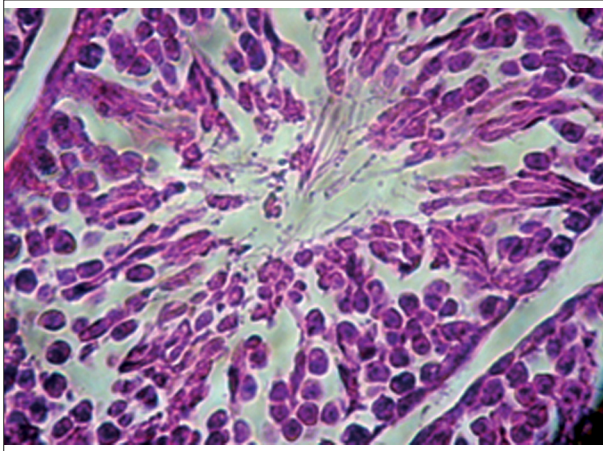
نحوه نگهداری موش‌ها و نحوه تهیه و تجویز دارو: برای انجام این تحقیق از ۵۰ سر موش سوری نر نژاد NMRI با وزن ۲۵-۳۰g استفاده گردید. این حیوانات در محل پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز نگهداری شدند. شرایط نگهداری و تغذیه تمام حیوانات یکسان بود. این موش‌ها در ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. موش‌های سوری دوز کتوکنازول (۵۰ mg/kg) را روزانه به مدت ۱۵ روز، ۲، ۳ و ۴ ماه از راه خوراکی دریافت کردند. به طوری که یک گروه کنترل (نرمال سالین) و ۴ گروه دریافت کننده کتوکنازول بودند. بعد از گذشت زمانهای ذکر شده نمونه بافت بیضه اخذ گردید و پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، از لحاظ شاخص‌های اسپرماتوژنز مطالعه شد و داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار بیان گردید و جهت آنالیز داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست‌های مقایسه چندگانه توکی استفاده شد، مقدار $p < 0.05$ برای تعیین سطح معنی دار بودن بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

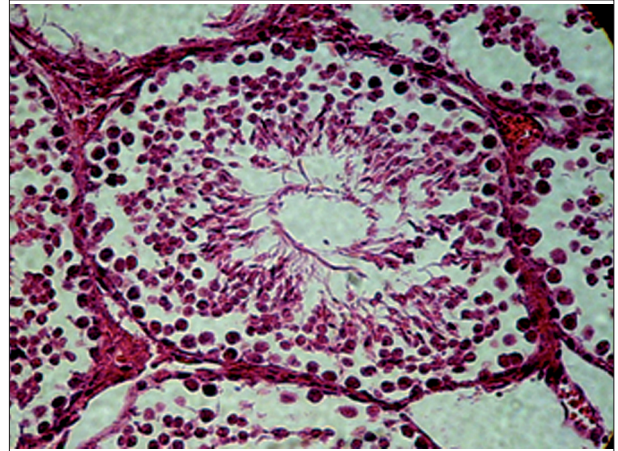
۱- **نتایج مطالعه بافت شناسی بیضه موش‌های سوری گروه کنترل:** در مطالعه بافت شناسی بیضه موش‌های سوری گروه کنترل مشخص گردید که بیضه از خارج توسط کپسول همبندی متراکم احاطه شده و یک لایه سلول‌های سنگفرشی ساده در اطراف آن وجود دارد. در زیر اپی‌تلوم بافت همبند از نوع سست قرار داشته که بلافاصله با بافت همبند رشته‌ای سپید پرده امتداد می‌یابد. در وسط و در عمق سپید پرده مقاطع عروق خونی بخصوص وریدهای متسع و پراز خون مشاهده می‌شود. اغلب در نواحی که کپسول همبندی ایجاد تیغه‌های همبندی می‌کند، در عمق کپسول مقاطع سرخرگ‌ها نیز مشاهده می‌شود. در بافت همبند کپسول بیضه، رشته‌های کلاژن نوع یک، فیبروسیت‌ها با هسته‌های کشیده و تیره، فیبروبلاست‌ها با هسته‌های روشن گرد و بیضی شکل و همچنین سلول‌های عضلانی صاف که در عمق کپسول بیضه پراکنده‌اند، دیده می‌شود. در داخل بافت بیضه، لوله‌های منی ساز بخش عمده پارانشیم بیضه را احاطه نموده و بافت بینابینی ما بین لوله‌ها به صورت تیغه‌های همبندی باریک مشاهده می‌شود (تصاویر ۱، ۲).

۲- **نتایج مطالعه بافت شناسی بیضه در روز پانزده پس از تجویز دارو:** مطالعه بافت شناسی بیضه در روز پانزده پس از تجویز دارو نشان داد که قطر لوله‌های منی ساز و تعداد سلول‌های زایا در مقایسه با گروه شاهد تفاوت

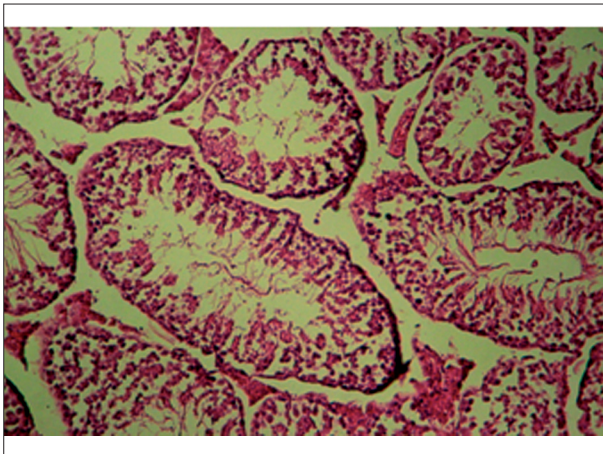




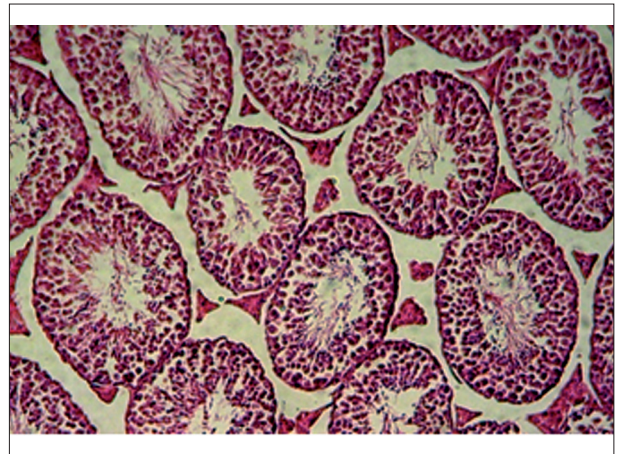
تصویر ۲. مقطع بافتی لوله‌های منی ساز در بیضه موش سوری در گروه شاهد. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین، درشت نمایی ۱۰۰X).



تصویر ۱. مقطع بافتی لوله‌های منی ساز در بیضه موش سوری در گروه شاهد. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین، درشت نمایی ۴۰X).



تصویر ۴. مقطع بافتی لوله‌های منی ساز در بیضه موش سوری ۳۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین، درشت نمایی ۴۰X).



تصویر ۳. مقطع بافتی لوله‌های منی ساز در بیضه موش سوری ۱۵ روز بعد از تجویز کتوکنازول. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین، درشت نمایی ۴۰X).

میانگین $SI \pm 36/3 \pm 68\%$ به دست آمد که این هم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/001$) را نشان می‌داد. در گروهی که ۹۰ روز دارو دریافت کرده بودند میانگین $SI \pm 86/9 \pm 25\%$ بود که این در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/001$) را نشان می‌داد (جدول ۱).

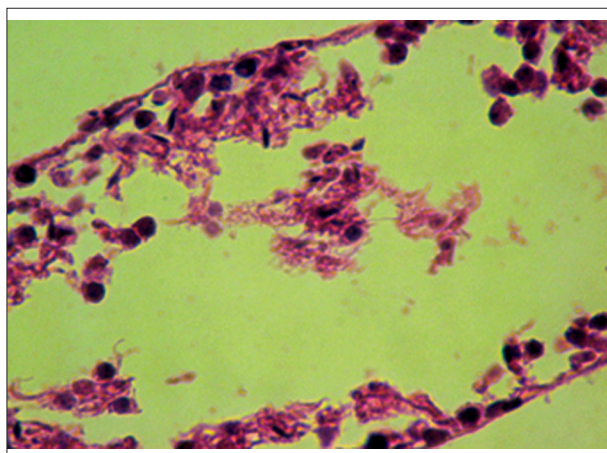
آنالیز آماری جهت مقایسه ضریب بازسازی (R.I): آنالیز آماری در گروه کنترل میانگین $RI \pm 74/3 \pm 95\%$ نشان داد. ۱۵ روز پس از تجویز دارو میانگین RI به $36/1 \pm 89/9\%$ رسید که در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/05$) را نشان می‌داد.

در گروه ۳۰ روزه میانگین $RI \pm 13/4 \pm 87\%$ به دست آمد که در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/01$) را نشان می‌داد. در گروهی که ۶۰ روز دارو دریافت کرده بودند میانگین $RI \pm 7/6 \pm 70\%$ بود که در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/001$) را نشان می‌داد. در گروهی که ۹۰ روز دارو دریافت کرده بودند درصد میانگین $RI \pm 41/9 \pm 43\%$ به دست آمد که در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/001$) را نشان می‌داد (جدول ۱).

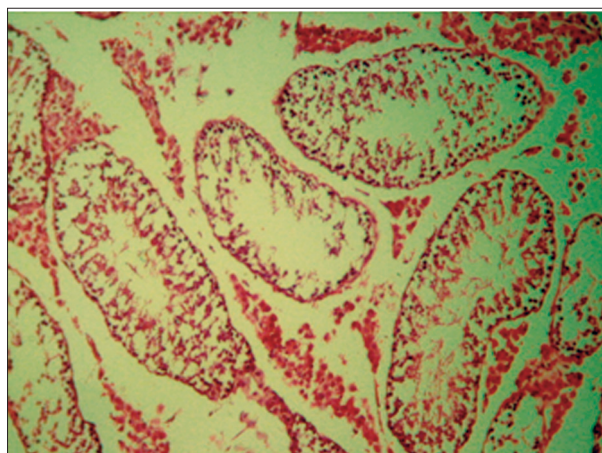
گروه کنترل میانگین $TDI \pm 50/5 \pm 95\%$ نشان می‌داد. در گروهی که ۱۵ روز دارو دریافت کرده بودند درصد میانگین $TDI \pm 61/4 \pm 97\%$ بود که این در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان نمی‌داد. آنالیز آماری در روز ۳۰، میانگین $TDI \pm 68/7 \pm 90\%$ نشان داد که این در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/05$) را نشان می‌داد. آنالیز آماری در روز ۶۰، میانگین $TDI \pm 68/1 \pm 72/5\%$ درصد بود که این در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/001$) را نشان می‌داد. در روز ۹۰ میانگین $TDI \pm 70/7 \pm 28\%$ بود که این در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/001$) را نشان می‌داد (جدول ۱).

آنالیز آماری جهت مقایسه ضریب اسپرمیوژنز (SI): آنالیز آماری در گروه کنترل میانگین $SI \pm 39/9 \pm 96\%$ نشان داد. ۱۵ روز پس از تجویز دارو میانگین $SI \pm 6/6 \pm 40/9\%$ بود که در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/05$) را می‌داد. در گروهی که ۳۰ روز دارو دریافت کرده بودند میانگین $SI \pm 81/8 \pm 82/7\%$ به دست آمده که در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری ($p < 0/001$) را نشان می‌داد. ۶۰ روز پس از تجویز دارو

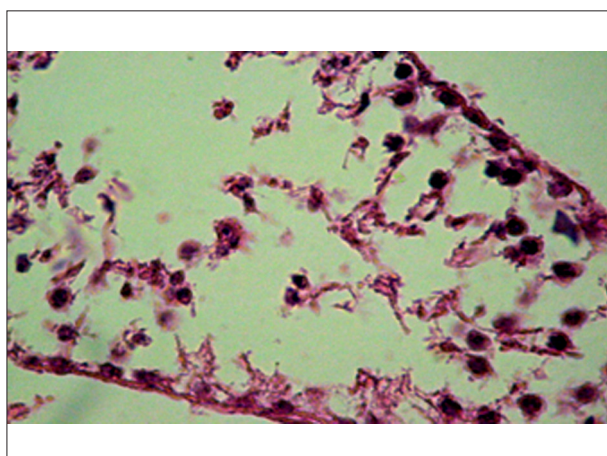




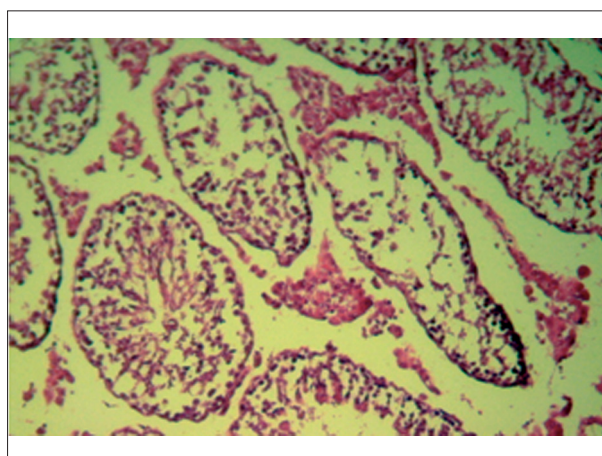
تصویر ۶. مقاطع بافتی لوله‌های منی ساز در بیضه موش سوری ۶۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین درشت نمایی ۱۰۰x).



تصویر ۵. مقاطع بافتی لوله‌های منی ساز در بیضه موش سوری ۶۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین، درشت نمایی ۴۰x).



تصویر ۸. مقاطع بافتی لوله‌های منی ساز در بیضه موش سوری ۹۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین درشت نمایی ۱۰۰x).



تصویر ۷. مقاطع بافتی لوله‌های منی ساز در بیضه موش سوری ۹۰ روز بعد از تجویز کتوکنازول. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین درشت نمایی ۴۰x).

بحث

کتوکنازول به عنوان یک داروی ضد قارچ وسیع الطیف در درمان قارچ‌های سطحی و سیتیمیک مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۹). همچنین کتوکنازول به عنوان یک داروی ضد سرطان در درمان سرطان پیشرفته پروستات استفاده می‌شود (۲۷). مطالعات نشان می‌دهد که مصرف کتوکنازول، اثرات سوء بر روی دستگاه تناسلی نر در انسان و حیوانات دارد که با کاهش وزن بیضه‌ها و اپیدیدیم و کاهش میزان تستوسترون سرم مشخص می‌گردد (۲۴). همچنین مصرف کتوکنازول موجب بروز ضایعات هیستوپاتولوژیک در بیضه همانند دژنراسیون لوله‌های منی ساز و کاهش سلول‌های زایا می‌شود (۱۳). در مطالعه حاضر، مصرف طولانی مدت کتوکنازول موجب کاهش قطر لوله‌های منی ساز و کاهش تعداد سلول‌های زایا در موش‌های سوری گردید. در این بررسی عمدتاً سلول‌های اسپرماتید و اسپرماتوزوئا تحت تأثیر قرار گرفتند. تغییرات عمده‌ای که در بافت بیضه و روند اسپرماتوزوئا متعاقب مصرف کتوکنازول

صورت می‌گیرد عمدتاً بواسطه کاهش میزان تستوسترون می‌باشد. کتوکنازول با مهار سنتز آنزیم استرول ۱۴-الفا دمتیلاز از تولید ارگوسترول غشایی ضروری در ساختار غشاء سطحی قارچ‌ها و مخمرها ممانعت می‌کند (۸، ۱۲). مشخص گردیده که سکانس DNA آنزیم فوق در بسیاری از قارچ‌ها و مخمرها شبیه سکانس آن در موش رت، خوک و انسان است. این آنزیم در پستانداران لانوسترول را به استرول‌های فعال کننده میوز (MAS) تبدیل می‌کند (۱۸). اخیراً مشخص شده که MAS، رشد و نمو سلول‌های زایا را در حیوان نر و ماده تعدیل می‌کند. در رت ظهور آنزیم استرول ۱۴-الفا دمتیلاز در اسپرماتیدهای پیش میوزی می‌باشد و عمدتاً در مرحله نمو اسپرماتیدها ظاهر می‌شود (۲۶). در بیضه‌رتهای بالغ مقادیر بسیار فراوانی از MAS یافت می‌شود. آنزیم دیگری که تحت تأثیر ترکیبات آزولی قرار می‌گیرد آروماتاز می‌باشد، آروماتاز به طور برگشت پذیر می‌تواند بوسیله ترکیبات آزول مهار شود (۲۰). آروماتازیکی از آنزیم‌های شرکت کننده در روند استروئیدوژنز می‌باشد و دمتیلاسیون اکسیداتیو استرول‌ها را تسهیل می‌کند. آنزیم آروماتاز با دمتیله کردن C_{19} به طور اختصاصی



کتوکونازول در سلول های نر بالغ با دوز ۲۵۰-۲۰۰ mg و در میمون با دوز ۸۵-۱۰۰ mg موجب کاهش تعداد اسپرم و کاهش تحرک اسپرم در این حیوانات گردید (۷، ۱۴). در انسان مصرف کتوکونازول با دوز درمانی ۸۰۰-۱۲۰ mg در روز به طور موقت سنتز تستوسترون و پاسخ غده فوق کلیوی رابه کورتیکوتروپین مهار می کند در این افراد اولیگواسپرمی (کاهش اسپرم) و آژواسپرمی (فقدان اسپرم) پس از مصرف طولانی مدت کتوکونازول دیده می شود همچنین ناتوانی و کاهش میل جنسی اغلب در این افراد دیده می شود (۱۷، ۲۰).

تشکر و قدردانی

با تشکر فراوان از تمامی همکاران و کارکنان دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد تبریز که در اجرای امور ما یاری نموده اند.

References

- Adams, M., Meyer, E., Cicero, T. (1998) Imidazoles suppress rat testosterone secretion and testicular interstitial fluid invivo. Biol Reprod. 59: 248-254.
- Amin, A. (2008) Ketoconazol-induced testicular damage in rats reduced by gentian extract. Exp Toxicol Pathol. 59: 377-384.
- Beasley, S., Hutson, J. (1988) The role of the gubernaculum in testicular descent. J Urol. 140: 1191-1193.
- Brtram, C. (2005) Basic and Clinical Pharmacology. Bertman, G., katzung. (ed.). (12th ed.) Arjmand Publication. Tehran, Iran.
- Clarnette, T., Rowe, D., Hasthorpe, S. (1997) Incomplete disappearance of the processus vaginalis as a cause of ascending testis. J Urol. 157: 1889-1891.
- Dellman, H.D., Eurell, J. (1998) Textbook of Veterinary Histology. Eurell, J. (ed.). (6th ed.) Williams and Wilkins. Carlton, Victoria, Australia.
- Dismukes, W., Graybill, J., Craven, P., Galgiani, J. (1984) High-dose ketoconazole therapy and adrenal and testicular function in humans. Arch Intern Med 144: 2150-2153.
- Evans, H., Sack, W. (1973) Prenatal development of domestic and laboratory mammal. Anat Histol Embryol. 2: 11-45.
- Faghihi, M. (2004) Principles of Veterinary Pharmacology. Faghihi, S.M. (ed.). (1th ed.) Jungle Publication.

جدول ۱. مقایسه میانگین ضریب تمایز لوله ای (TDI)، ضریب اسپرمیوزن (SI) و ضریب بازسازی (RI) پس از تجویز خوراکی کتوکونازول (۵۰ mg/kg) در روزهای مختلف (پرسب درصد). : تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه کنترل (p<۰/۰۵). : تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه کنترل (p<۰/۰۱). : تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه کنترل (p<۰/۰۰۱).

گروه ها	TDI	SI	RI
کنترل	۹۵/۵±۰/۵	۹۶±۰/۳۹	۹۵/۳±۰/۷۴
۱۵ روز بعد از تجویز دارو	۹۴/۷±۰/۶۱	۹۰/۴±۰/۶ ^(*)	۸۹/۹±۱/۳۶ ^(*)
۳۰ روز بعد از تجویز دارو	۹۰/۷±۰/۶۸ ^(*)	۸۲/۷±۰/۸ ^(***)	۸۷/۴±۱/۱۳ ^(**)
۶۰ روز بعد از تجویز دارو	۷۲/۵±۱/۸۲ ^(***)	۶۸/۳±۱/۶ ^(***)	۷۰/۶±۱/۷ ^(***)
۹۰ روز بعد از تجویز دارو	۲۸/۷±۱/۰۷ ^(***)	۲۵/۹±۱/۸۶ ^(***)	۴۳/۹±۱/۴۱ ^(***)

باعث سنتز آندروستندیون و تستوسترون می شود (۳۰). Santen و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان دادند که کتوکونازول باعث مهار آنزیم C_{۱۷-۲۰} لیاز می شود که در نتیجه باعث ممانعت از تبدیل ۱۷-الفا هیدروکسی پروژسترون به آندروستندیون می شود (۲۷). اثر مهار کتوکونازول روی ترشح تستوسترون ممکن است بواسطه اثرات مهار رادیکال های آزاد (Ros) روی آنزیم های استروئیدوژن بیضی باشد (۱۹، ۲۴). کتوکونازول آسیب های اکسیداتیو مشخص در لیبیدهای بیضه و تغییراتی در میزان آنتی اکسیدانهای طبیعی مثل کاتالازها و سوپراکسید دسموتازها را ایجاد می کند. مصرف برخی از آنتی اکسیدانها مانند عصاره گیاه زنتینا آسیب های حاصل از مصرف کتوکونازول بر روی بافت بیضه را کاهش می دهد (۱۳). در یک بررسی انجام شده توسط Adams و همکاران در سال ۱۹۹۸ مصرف کتوکونازول با دوز (۱۰-۳۰ mg/kg) در طی ۲۴ ساعت موجب کاهش شدید تستوسترون سرم گردید بدون اینکه میزان FSH، LH تغییر کرده باشد (۱). کتوکونازول ممکن است حساسیت هیپوفیزی-هیپوتالاموسی به کنترل فیدبکی تستوسترون روی ترشح LH را کاهش دهد (۱۳). در مطالعه حاضر ضریب اسپرمیوزن (SI) ضریب تمایز لوله ای (TDI) و ضریب بازسازی (RI) به عنوان شاخص های ارزیابی اسپرماتوژنز که بیانگر روند فعالیت و تکثیر سلول های رده اسپرماتوژنز در اپی تلیوم لوله های منی ساز می باشد مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۶، ۳۰). نتایج بیانگر تغییر شاخص های فوق در بیضه موش های تحت درمان با کتوکونازول در روزهای ۳۰ و ۶۰ و ۹۰ بود. تغییرات عمده در ضرایب اسپرماتوژنز بخصوص کاهش ضریب اسپرمیوزن در گروه های تیمار به دلیل کاهش شدید سلول های اسپرماتید و اسپرماتوزو می باشد (۹). در مطالعه انجام شده توسط Amin در سال ۲۰۰۸، مصرف کتوکونازول با دوز ۱۰۰ mg به صورت تزریقی و به مدت ۵ روز در موش های رت بالغ علاوه بر کاهش معنی دار وزن بیضه و اپی دیدیم، موجب کاهش تعداد و درصد تحرک اسپرم ها گردید. همچنین آتروفی لوله های منی ساز و کاهش سلول های زایا نیز در گروه های تحت درمان با کتوکونازول مشاهده گردید (۲). در مطالعه صورت گرفته توسط Vickery و همکاران در سال ۱۹۸۵، مصرف خوراکی



- Tehran, Iran.
10. Frey, H., Rajfer, J. (1984) Role of the gubernaculum and intraabdominal pressure in the process of testicular descent. *J Urol.* 131: 574-579.
 11. Gaytvm, A. (2002) Medical Physiology. Siddiqu. (ed.). (3th ed.) Volume II, Chapter Eighty. Chehr Published. Tehran, Iran.
 12. Ghazi, B., Radmehr, B., Rashid, E. (1994) Embryos of Domestic Animals, Mechanisms and Evolutionary Growth Abnormalities. Rashid, E. (ed.). (1th ed.) Shiraz University Press. Shiraz, Iran.
 13. Hafez, B., Hafez, E.S.E. (2000) Reproduction in Farm Animals. Hafez, B., Hafez, E.S.E. (eds.). (7th ed.) Lippincott Williams and wilkins. Sydney, Australia.
 14. Hafiz, A. (2001) Reproduction in farm animals, translated AR Mahmoudzadeh, Guilan University Press. Guilan, Iran.
 15. Heyns, C., Hutson, J. (1995) The history of theories on testicular descent. *J Urol.* 153: 754-767.
 16. Hutson, J.M., Baker, M., Terada, M., Zhou, B. (1994) Hormonal Control of testicular descent and the cause of cryptorchidism. *Reprod Fertil Dev.* 6: 151-156.
 17. Hutson, J.M., Sasaki, Y., Yong, E. (2004) The gubernaculum in testicular descent and cryptorchidism. *Turk J Pediatr.* 46: 3-6.
 18. Hutson, J., Hasthorpe, S., Heyns, C.F. (1997) Anatomical and functional aspect of testicular descent and cryptorchidism. *Endocr Rev.* 18: 259-280.
 19. John Kvyrya, B.K. (2003) Histological Grade. Wort, J. (ed.). (3th ed.) Arjmand publications. Tehran, Iran.
 20. Khoddami, B. (2005) Pocket Guide to the Use of Generic Drugs. Dibaji, M. (ed.). (2th ed.) Tehran, Iran.
 21. Lam, S.K., Clarnette, T., Hutson, J.M. (1998) Does the gubernaculum migrate during inguinoscrotal testicular descent in the rat. *Anat Rec.* 250: 159-163.
 22. Malek Nia, N., Shahbazi, C. (2002) General Biochemistry. Malek Nia. (ed.). (28th ed.) Tehran University Press. Tehran, Iran.
 23. Mazaheri, T., Rashidi, A.H., Ranjbar, B. (2005) Khuzestan native buffaloes fetal testis macroscopic study. *Iran Vet J.* 8: 45-51.
 24. Meistrich, M., Wilson, G., Porter, K. (2003) Restoration of spermatogenesis in DBCP - treated rats by hormone suppression. *Toxicol Sci.* 76: 418-426.
 25. Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E. (1979) The Viscera of the Domestic Mammals. (2nd ed.) Verlag Paul Parer. Berlin-Humburg, Germany.
 26. Ramasamy, M. (2001) Enlargment of the processus vaginalis during testicular descent in rats. *Pediatr Int.* 17: 312-315.
 27. Santen, R., Bossche, H., Symoens, J. (1983) Site of action of low dose ketoconazole on androgen biosynthesis in men. *J Clin Endocrinol Metabol.* 57: 732-736.
 28. Shetty, G., Wilson, G., Huhtaniemi, I. (2000) Gonadotropin-releasing hormone analogs stimulated and testosterone inhibits the recovery of spermatogenesis in irradiated rats. *Endocrinology.* 141: 1735-1745.
 29. Vickery, B.H., Burns, J., zaneveld, L., Goodpasture, J. (1985) Orally administered ketoconazole rapidly appears in seminal plasma and suppresses sperm motility. *Adv Contracept.* 1: 324-330.
 30. Zarn, A., Braschweiler, J., Schlatter, R. (2003) Azole fungicides affect mammalian steroidogenesis by inhibiting sterol 14- α -demethylase and aromatase. *Environ Health Perspect.* 111: 255-261.



The effect of long-term use of ketoconazol on spermatogenesis and testicular tissue in mice

Azimi Dabagh, F.^{1*}, Mirrazavi, F.², Babapour, A.²

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Specialty Veterinary Sciences and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Tabriz, Tabriz-Iran

³Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Specialty Veterinary Sciences and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received 14 January 2013 , Accepted 29 April 2013)

Abstract:

BACKGROUND: Ketoconazole is a widely used antifungal medication. Studies showed that this medication has an inhibitory effect on production of steroid hormones such as glucocorticoids and sex hormones. **OBJECTIVES:** The purpose of the present study is to determine the effect of chronic administration of Ketoconazol on spermatogenesis indexes of testicular tissue in male mice. **METHODS:** 50 male mice (NMRI) weighing between 25-30 g, maintained and fed under the same conditions were divided into 5 groups of 10. The mice received 50 mg/kg of Ketoconazol orally daily for 15 days in 1, 2 and 3 months. There were one control group (normal saline) and four consuming groups. After the specified time, a testicular biopsy was performed and the sections were stained by H&E. Then, they were studied in terms of spermatogenesis indexes (tubular differentiation index (TDI), spermiogenesis index (SI), and repopulation index (RI)). **RESULTS:** The results showed that RI and SI on day 15 and RI, SI and TDI in the first, second and third month decreased significantly ($p < 0.05$). **CONCLUSIONS:** Chronic administration of Ketoconazol led to reduction of spermatogenesis indexes of testicular tissue in male mice. The reduction in RI, SI and TDI was probably due to low serum testosterone. The effect of ketoconazol on spermatogenesis index and unfertilization in human being needed further studies.

Key words: ketokonazole, mice, spermatogenesis indexes

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Histological section of seminiferous tubules in the testes of mice in the control group. (Stained with hematoxylin - eosin, magnification 40).

Figure 2. Histological section of seminiferous tubules in the testes of mice in the control group. (Stained with hematoxylin - eosin, magnification 100x).

Figure 3. Histological section of seminiferous tubules in the testes of mice 15 days after administration of ketoconazole. (Stained with hematoxylin - eosin, magnification 40x).

Figure 4. Histological section of seminiferous tubules in the testes of mice 30 days after administration of ketoconazole. (Stained with hematoxylin - eosin staining, magnification 40x).

Figure 5. Histological sections of seminiferous tubules in the testes of mice 60 days after administration of ketoconazole. (Stained with hematoxylin - eosin, magnification 40 x).

Figure 6. Seminiferous tubules in the testis tissue sections from mice 60 days after administration of ketoconazole. (Stained with hematoxylin - eosin magnification 100x).

Figure 7. Sections of seminiferous tubules in the testis tissue of mice 90 days after administration of ketoconazole. (Stained with hematoxylin - eosin magnification 40x).

Figure 8. Sections of seminiferous tubules in the testis tissue of mice 90 days after administration of ketoconazole. (Stained with hematoxylin - eosin magnification 100x).

Table 1. Comparison of mean (TDI), (SI) and (RI) after oral administration of ketoconazole (mg / kg 50) on different days (in terms of percentage).



*Corresponding author's email: Farhad.azimi@hotmail.com, Tel: 021-4447042, Fax: 021-4447042

J. Vet. Res. 68, 4:359-365, 2013