

اثر حفاظتی پپتیدهای زیست فعال بر شاخص‌های مورفولوژیک لوله‌های سمینیفروس و مانایی اسپرم در رت‌های نر تیمار شده با آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین

زهرا زارع^۱، ابراهیم حسین نجدگرامی^{۱*} و وحید نجاتی^۱، غلامرضا نجفی^۲ و مهدی نیکو^۳

^۱ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

^۲ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه علوم پایه

^۳ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، پژوهشکده آرتیمیا و آبی‌پروری

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۱۰



چکیده

در این تحقیق تأثیرات استفاده از پپتیدهای زیست فعال استخراج شده از ضایعات موتوماهیان بر فعالیت تام آنتی‌اکسیدانی، شاخص‌های اسپرمی، قطر لوله‌های منی‌ساز، ضخامت لایه اپیتلیوم و همچنین آسیب DNA در بافت بیضه رت‌های نر تیمار شده با آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین بررسی شد. برای این منظور تعداد ۳۶ عدد رت نر نژاد ویستار سالم با وزن اولیه 200 ± 40 گرم به ۶ قفس منتقل شدند و به مدت ۴۵ روز با تیمارهای غذایی (گروه C کنترل، گروه P 20 میلی‌گرم پپتید، گروه OF72 و OF360 به ترتیب ۷۲ و ۳۶۰ گرم اوفلوکساسین، گروه OFP72 و OFP360 به ترتیب ۷۲ و ۳۶۰ گرم اوفلوکساسین + ۲۰ میلی‌گرم پپتید) تغذیه شدند. در انتهای دوره آزمایش نتایج تحقیق نشان داد که ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در رت‌هایی که از آنتی‌بیوتیک و پپتید تغذیه کرده بودند به‌طور معنی‌دار نسبت به تیمار کنترل افزایش یافته بود ($P < 0/05$). همچنین براساس این نتایج، تغذیه با تیمارهای غذایی میزان زنده مانای اسپرم‌ها را نسبت به تیمار کنترل کاهش و میزان تحرک آنها را در تیمارهای حاوی آنتی‌بیوتیک ۷۲ میلی‌گرم افزایش داده بود ($P < 0/05$). همچنین استفاده از پپتیدهای زیست فعال، ضخامت لایه اپیتلیوم را در تیمارهای دارای آنتی‌بیوتیک افزایش و میزان آسیب DNA را نسبت به تیمار کنترل کاهش داد. به نظر می‌رسد با توجه به تأثیرات آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای زیست فعال که در تحقیقات قبلی گزارش شده بود، این مواد تأثیرات اکسیداتیو آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین را در بافت بیضه و همچنین اسپرم‌ها تعدیل کرده است.

واژه‌های کلیدی: پپتیدهای زیست فعال، موتوماهیان، ناباروری، استرس اکسیداتیو، اوفلوکساسین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۴۳۹۶۲۷۶، پست الکترونیکی: e.gerami@urmia.ac.ir

مقدمه

در میان عوارض ذکر شده، ناباروری یکی از مشکلات عمده پزشکی در دنیای امروز است که فراوانی آن از سال ۱۹۵۵ پنجاه درصد افزایش یافته است و هم‌اکنون ۱۵-۱۰ درصد زوجین دارای این مشکل هستند (۴۲). براساس آمارهای موجود، ۳۰-۵۰ درصد ناباروری‌ها مربوط به ناباروری مردانه است که از این میزان، ۳۰-۴۰ درصد آن مربوط به ناهنجاری‌های اسپرم می‌شود (۲۴). علل متعددی

از جمله رایج‌ترین عفونت‌های باکتریایی که به‌عنوان دومین عامل عفونت در بدن انسان شناخته می‌شود عفونت دستگاه ادراری است که عدم تشخیص و درمان به‌موقع آن می‌تواند عوارض شدیدی هم‌چون ناهنجاری‌های دستگاه ادراری، کلیوی، فشارخون و مخصوصاً ناباروری در مردان و زنان را موجب شود (۱۰، ۳۴ و ۴۶).

در برخی از تحقیقات استفاده از مواد پروتئینی آبکافت شده طبیعی که به نام پروتئین آبکافته (Hydrolysate protein) یا پپتیدهای زیست‌فعال (Bioactive peptides) معروف هستند گزارش شده است.

پپتیدهای زیست‌فعال معمولاً دارای ۲ تا ۲۰ اسیدآمینو با وزن مولکولی ۲۰۰ تا ۱۸۰۰ دالتون هستند که در اثر هیدرولیز آنزیمی و یا تخمیر میکروبی از مواد پروتئینی مانند شیر، سویا و سایر ضایعات پروتئینی تولید می‌شوند (۱۹، ۵۲ و ۵۳). در کنار ارزش غذایی، اثرات شبه هورمونی و فیزیولوژیکی این مواد در بدن گزارش شده است که این اثرات بستگی به ترکیب و قرارگیری اسیدآمینو در موقعیت N- و C- ترمینال، طول زنجیره پپتید، نوع بار اسیدهای آمینو تشکیل دهنده پپتید و خصوصیات آبرگیز/هیدروفیل زنجیره اسیدآمینو دارد (۳۶). از جمله اثرات پپتیدهای زیست‌فعال می‌توان به تأثیرات ضد فشارخون، آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان، ضد میکروبی و فعالیت‌های شبیه مواد مخدر و همچنین تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و کاهش کلسترول اشاره کرد (۹، ۲۳، ۵۰ و ۵۳).

متأسفانه با توجه به مرور منابع، رفرنسی که در رابطه با تأثیرات پپتیدهای زیست‌فعال در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از اوفلوکساسین باشد یافت نشد. ولی با توجه به تأثیرات سایر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند ویتامین‌ها و... به برخی از نتایج آنها اشاره می‌شود. تیمور در سال ۲۰۱۰ نشان داد که استفاده از اوفلوکساسین فاصله بین لوله‌های اسپرم‌ساز را در رت‌های تیمار شده با این آنتی‌بیوتیک افزایش داد (۱۷). همچنین نتایج آنها نشان داد که استفاده از ژل رویال به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند تا حدودی تأثیرات اوفلوکساسین را تعدیل کند. نتایج مشابه در تحقیقات امیرشاهی و همکارانش در سال ۲۰۱۴ و همچنین حسامی و همکاران در سال ۱۳۹۵ در مورد تأثیرات حفاظتی ژل رویال در رت‌های تیمار شده با آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین مشاهده شد (۳ و ۷). براساس نتایج

از جمله اختلالات هورمونی و کروموزومی، ناهنجاری‌های ساختاری بیضه، سموم، داروها، تشعشعات و بیماری‌های عفونی باکتریایی باعث اختلال در عملکرد دستگاه تولیدمثل و در نتیجه بروز ناباروری در مردان می‌شود (۳۱ و ۵۸). امروزه پزشکان جهت درمان بیماری‌های عفونی باکتریایی در دستگاه ادراری، مصرف درازمدت آنتی‌بیوتیک‌ها را توصیه می‌کنند (۵۱ و ۵۷). آنتی‌بیوتیک‌ها جزو عوامل محیطی و استرسی بوده که اثرات آنها بر روی باروری کمتر مورد توجه قرار گرفته است، با این حال گزارشاتی درباره‌ی اثرات سوء از آنها بر روی باروری جنس نر در مطالعات متفاوت وجود دارد که می‌توان به توقف روند اسپرماتوزئیک، کاهش تحرک اسپرم و تغییر در مورفولوژی آن اشاره کرد (۴۱ و ۴۸). همچنین باکتری‌ها هم به‌صورت مستقیم (تأثیر بر اسپرماتوزوا) و هم غیرمستقیم (تأثیر بر پلاسمای مایع منی و تولید مواد ضد اسپرم) بر عملکرد تولیدمثلی جنس نر تأثیر می‌گذارند (۸).

خانواده فلوروکینولون‌ها، جزو داروهایی با تأثیرات گسترده بر علیه پاتوژن‌های میکروبی و جزو مؤثرترین آنها برای درمان عفونتهای ادراری- تناسلی هستند (۱۱، ۱۷ و ۳۰). در تحقیقاتی صورت گرفته تأثیرات این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و نقش منفی که در تمایز و متابولیسم سلولهای مختلف بدن دارند گزارش شده است (۳۸ و ۳۹). از جمله آنتی‌بیوتیک‌های این خانواده، می‌توان به اوفلوکساسین اشاره کرد که سنتز DNA و توپوایزومراز IV را در باکتریهای گرم منفی در انسان و حیوانات مهار می‌کند (۱۶، ۱۸ و ۴۴). براساس تحقیقات انجام شده این آنتی‌بیوتیک موجب اختلال در سیستم تولیدمثلی نر شده و بر تولید اسپرم تأثیر می‌گذارد (۶، ۱۳، ۱۷ و ۳۳). امروزه محققان برای کاهش تأثیرات استرس اکسیداتیو استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند انواع ویتامین‌ها مانند ویتامین E (۲۷، ۳۲، ۳۷ و ۴۳)، ویتامین C (۲۲)، ویتامین D (۲۱) و سایر آنتی‌اکسیدان‌ها (۴۷، ۵۴ و ۵۵) استفاده می‌کنند. اخیراً

فعال (۴ و ۲۹) مورد تغذیه قرار گرفتند و در ادامه تیمار با آنتی‌بیوتیک قطع شد. تیمارهای آزمایشی به شرح زیر بودند: گروه کنترل (C)، گروه ۲۰ میلی‌گرم پپتید در کیلوگرم وزن بدن (P)، گروه اوفلوکساسین ۷۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (OF72)، گروه اوفلوکساسین ۳۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (OF360)، گروه تیمار شده با اوفلوکساسین ۷۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن + ۲۰ میلی‌گرم پپتید (OFP72)، گروه تیمار شده با اوفلوکساسین ۳۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن + ۲۰ میلی‌گرم پپتید (OFP360)

برای تهیه پپتیدهای زیست فعال، از سس تخمیری مهباه که از فروشگاه‌های محلی در بندرعباس خریداری شده بود استفاده شد. نمونه تهیه شده در آزمایشگاه با استفاده از خشک‌کن انجمادی خشک شد. قبل از آنالیز، عصاره پپتیدی از طریق حل نمودن ۱ قسمت پودر خشک شده با ۵ قسمت آب مقطر تهیه و مخلوط حاصل در حمام آبی با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت و نیم توسط هم زن الکتریکی بهم زده شد. در انتها، مخلوط به هم زده شده در دور 1000g برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سوپرناتانت‌های حاصل سپس با یکدیگر جمع و توسط کاغذ واتمن فیلتر گردیده تا عصاره پپتیدی شفاف حاصل گردد. عصاره پپتیدی سپس با استفاده از خشک‌کن انجمادی خشک گردیده و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد برای استفاده‌های بعدی نگهداری شد. مقدار پروتئین عصاره پپتیدی به روش بیورت با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) تعیین گردید (۲۶).

پپتیدهای زیست فعال تهیه شده با روش فوق، در غلظت‌های ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن موش روزانه در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و از طریق گاواژ وارد دستگاه گوارشی رت‌ها می‌شد. آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین از شرکت دارویی دارو پخش تهیه شد و بعد از حل کردن در آب مقطر حاوی ۰/۵۰ درصد کربوکسی متیل سلولز

تحقیقات باب الحوائجی و همکاران (۱۳۸۷) استفاده از آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین باعث کاهش تحرک اسپرم‌ها و افزایش اسپرم‌های نابالغ شده، در حالیکه استفاده از ژل رویال همراه با این آنتی‌بیوتیک باعث بهبود پارامترهای کیفی و کمی اسپرم می‌شود (۲). همچنین مطالعات فارومبی و همکاران نشان داد که تجویز تتراسایکلین به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تحرک اسپرم، درصد اسپرماتوزوئید زنده و شمارش اسپرم و ناهنجاری‌های ناشی از مورفولوژی اسپرم می‌شود و مصرف همزمان آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند ویتامین C و (N-acetyl NAC) cysteine به میزان قابل‌توجهی از کاهش تحرک اسپرم، درصد اسپرماتوزوئید زنده و تعداد اسپرم جلوگیری می‌کند (۱۵).

باتوجه به مطالب ذکر شده و نتایج آزمایشات قبلی در خصوص القای استرس اکسیداتیو بوسیله آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون و همچنین تأثیرات آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای زیست فعال، این مطالعه باهدف بررسی تأثیرات استفاده از آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین بر برخی از شاخص‌های اسپرمی و بافتی بیضه و تأثیرات آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای زیست فعال استخراج شده از ضایعات موتو ماهیان طراحی و اجرا شد.

مواد و روشها

تعداد ۳۶ عدد رت نر نژاد ویستار سالم با وزن اولیه 200 ± 40 گرم از خانه حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه برای انجام تحقیق به ۶ قفس مربوطه منتقل شدند. رت‌ها در طول مدت آزمایش، در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رژیم نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با جیره استاندارد تغذیه شدند. بعد از دو هفته آدپتاسیون با شرایط آزمایش به شش گروه آزمایشی تقسیم و با تیمارهای مورد نظر به مدت ۴۵ روز تغذیه شدند. لازم به ذکر است در تیمارهای ۳، ۴، ۵ و ۶، رت‌ها به مدت ۲۰ روز با آنتی‌بیوتیک (۶) و پپتیدهای زیست

ارزیابی قطر لوله‌های منی ساز (STD) اندازه غشای پایه تا غشای پایه مقابل ملاک عمل قرار گرفت و برای اندازه‌گیری ضخامت لایه اپیتلیوم (ET)، اندازه از غشای پایه تا سطح اپیتلیوم اندازه‌گیری شد (۲۸). برای بررسی میزان آسیب DNA از روش رنگ‌آمیزی آکریدین اورانژ (AO) و روش یوریس عرنپرسیس در سال ۲۰۰۱ استفاده شد (۲۰).

برای مقایسه داده‌های حاصل از تیمارها در انتهای دوره با تیمار کنترل، از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) برای داده‌های اندازه‌گیری شده و تست کروسکال والیس برای داده‌های شمارشی استفاده شد. قبل از اعمال تست‌های مذکور ابتدا دادها از نظر نرمال بودن (تست Kolmogorov-Smirnov) و همگنی واریانسها (تست Levene) بررسی شدند. برای رسم گرافها از نرم‌افزار Excell نسخه ۲۰۱۳ و برای بررسی تغییرات آماری در تیمارهای آزمایشی از نرم‌افزار آماری Spss نسخه ۲۱ استفاده شد.

نتایج

شکل ۱ نتایج بررسی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در بیضه‌ها را نشان می‌دهد. براساس این نتایج استفاده از ترکیب پپتیدهای زیست فعال با آنتی بیوتیک اوفلوکساسین به‌طور معنی‌داری میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام را در مقایسه با تیمار کنترل افزایش می‌دهد ($P < 0/05$). اختلاف معنی‌دار در سایر تیمارها در مقایسه با تیمار کنترل مشاهده نشد ($P > 0/05$).

شکل ۲ تأثیرات استفاده از تیمارهای غذایی بر شاخصهای اسپرمی را در مقایسه با تیمار کنترل نشان می‌دهد. براساس نتایج به‌دست‌آمده استفاده از آنتی بیوتیک و همچنین پپتیدهای زیست فعال به همراه آنتی‌بیوتیک باعث کاهش معنی‌دار زنده مانی اسپرم‌ها در رت‌های نر شد ($P < 0/05$). همچنین نتایج نشان داد که استفاده از پپتیدهای زیست فعال به‌صورت مجزا و تیمارهایی که در آنها از غلظت

سدیم (CMC) به‌صورت روزانه از طریق گاوژ در موش‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفت (۶) لازم به ذکر است که در گروه کنترل به‌جای سایر مواد مورد استفاده، آب مقطر حاوی ۰/۵ درصد CMC گاوژ شد.

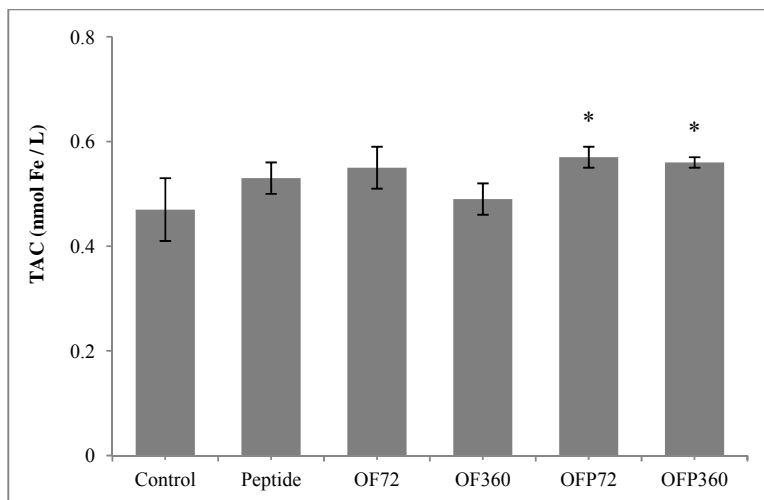
جهت تعیین دوز دارو و پپتید نسبت به وزن موش‌ها، آنها دو بار در هفته وزن‌کشی می‌شدند. بعد از اتمام دوره تیمار موش‌ها با کلروفورم آسان کشی شدند بیضه‌ها با رعایت شرایط استریل از داخل شکم خارج گردید، برای این کار، پوست ناحیه شکمی رت‌ها توسط الکل اتانول ۷۰ درصد استریل و سپس در ناحیه شکم برشی ایجاد شد. بعد از جدا کردن بافت‌های همبندی اطراف، بیضه‌ها از بدن خارج شدند و دم اپیدیدیم بیضه‌ها به داخل محیط کشت mR1ECM (۴۰) جهت ارزیابی پارامترهای اسپرمی انتقال داده شد. در نهایت بیضه‌ی چپ رت‌ها جهت تثبیت و کارهای بافتی به محلول فرمالین ۱۰ درصد منتقل گشت.

جهت تعیین درصد تحرک اسپرم‌ها، یک قطره از اسپرم‌های موجود در محیط کشت بر روی لام میکروسکوپی قرار داده شد و ۱۰ میدان دید میکروسکوپی با درشت‌نمایی ۴۰۰ برابر مورد بررسی قرار گرفت. سپس میانگین کل اسپرم‌های متحرک در این ۱۰ میدان دید به‌عنوان درصد تحرک ثبت گردید (۴۹). برای ارزیابی درصد اسپرم‌های زنده، از رنگ‌آمیزی ائوزین-نگروزین استفاده شد و درصد اسپرم‌های زنده (بی‌رنگ) و مرده (نارنجی تا قرمز) بر اساس متد ویرویک و همکاران در سال ۱۹۸۳ محاسبه گردید (۵۶).

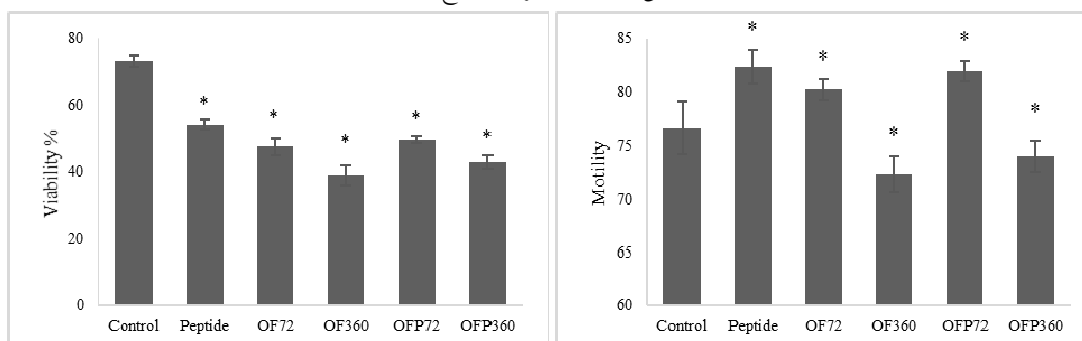
برای اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرمی در بیضه و همچنین ضخامت لایه اپیتلیوم، نمونه‌های بافتی به مدت ۱۰-۷ روز در محلول فرمالین قرار داده شدند. پس از تثبیت نمونه‌ها مراحل مختلف پاساژ بافتی انجام داده شد. برای بررسی خصوصیات فیزیکی اجزاء سلولی و ارتباطات بافت‌ها، برش‌های مورد نظر به ضخامت ۵ میکرون با هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. برای

غلظت بالای آنتی‌بیوتیک استفاده شده بود به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار کنترل کاهش پیدا کرد ($P < 0.05$).

پایین آنتی‌بیوتیک استفاده شده بود باعث افزایش تحرک اسپرم می‌شود که با تیمار کنترل اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). تحرک اسپرم‌ها در تیمارهایی که در آنها از



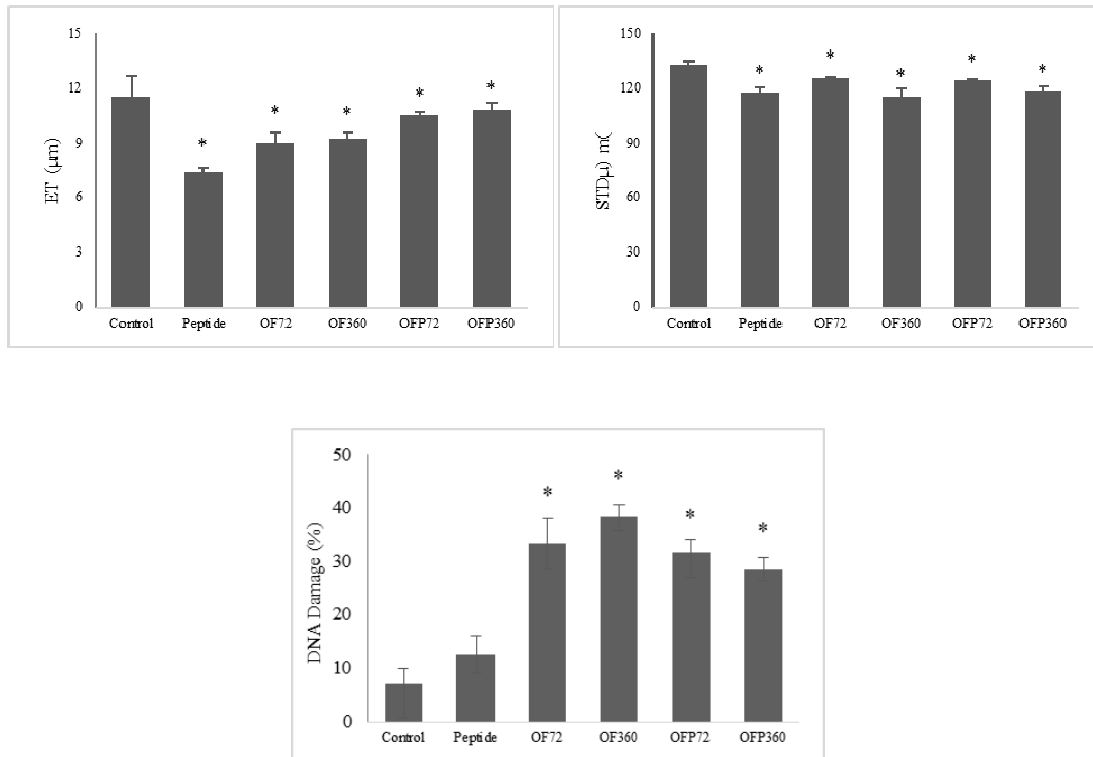
شکل ۱- تأثیرات استفاده از آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین و پپتیدهای زیست‌فعال بر ظرفیت تام‌آنتی‌اکسیدانی در رت‌های نر نژاد ویستار * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با تیمار کنترل در سطح اطمینان ۹۵ درصد است



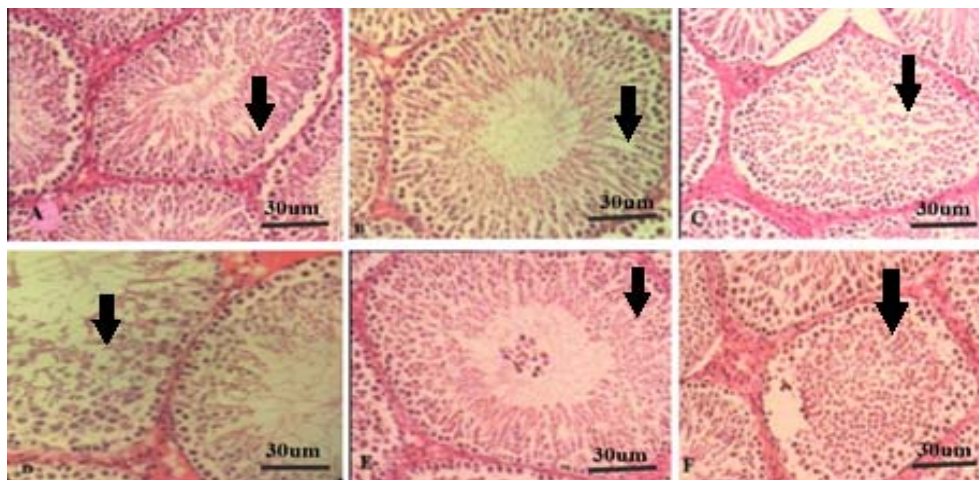
شکل ۲- تأثیرات استفاده از آنتی‌بیوتیک و پپتیدهای زیست‌فعال بر شاخص‌های اسپرمی در رت‌های نر نژاد ویستار * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با تیمار کنترل در سطح اطمینان ۹۵ درصد است

معنی‌داری کاهش می‌دهد ($P < 0.05$). همچنین آسیب DNA در بافت بیضه بررسی شد و نتایج نشان داد که استفاده از تیمارهای غذایی میزان آسیب DNA را در بافت بیضه نسبت به تیمار کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد ($P < 0.05$). همچنین براساس این نتایج در تیمارهایی که از آنتی‌بیوتیک و پپتید زیست‌فعال استفاده شده بود میزان آسیب DNA نسبت به سایر تیمارها پایین بود.

شکل ۳، نتایج تأثیرات پپتیدهای زیست‌فعال بر شاخص‌های بافتی بیضه و مقایسه این تیمارها با تیمار کنترل و همچنین پپتیدهای زیست‌فعال را نشان می‌دهد. براساس این نتایج، غلظت‌های متفاوت آنتی‌بیوتیک و همچنین پپتیدهای زیست‌فعال به‌طور معنی‌داری میزان شاخص ضخامت لایه اپیتلیوم را در بافت بیضه نسبت به تیمار کنترل کاهش دادند ($P < 0.05$). نتایج مشابه در شاخص قطر لوله‌های سمینفروز مشاهده شد و نتایج نشان داد که استفاده از تیمارهای غذایی میزان این شاخص را نسبت به تیمار کنترل به‌طور



شکل ۳- تأثیرات استفاده از آنتی بیوتیک و پپتیدهای زیست فعال بر قطر لوله‌های سمینفروز (STD)، ضخامت لایه اپیتلیوم (ET) و آسیب DNA در رت‌های نر نژاد ویستار، * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با تیمار کنترل در سطح اطمینان ۹۵ درصد است

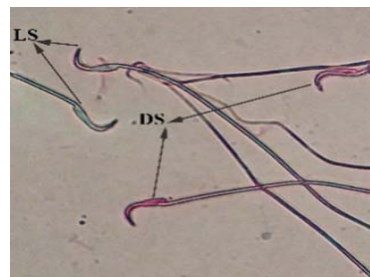


شکل ۱- مقطع عرضی بافت بیضه در گروه‌های کنترل (A) تمامی رده‌های سلولی اسپرماتوژنز به صورت کامل و مرتب قرار دارند، پپتیدزیست فعال (B) در این گروه همانطور که دیده می‌شود در قسمت میانی لوله ایپرم‌ها به صورت معنی‌داری کاهش یافته است، اوفلوکساسین ۷۲ (C) این تصویر نشان می‌دهد ارتباط سلولی در بین سلولهای نسل اسپرماتوژنز از بین رفته و گسیختگی ما بین این سلول‌ها دیده می‌شود، اوفلوکساسین ۳۶۰ (D) در این گروه در غالب لوله‌های منی ساز ارتباطات بین سلولی از بین رفته است، اوفلوکساسین ۷۲+پپتید (E) در این گروه پپتید باعث شده است لوله‌ها و سلولهای نسل اسپرماتوژنز بهبودیافته است، اوفلوکساسین ۳۶۰+پپتید (F) دوز بالای آنتی بیوتیک اثرات تخریبی زیادی دارد که پپتید هم نتوانسته است اثرات بهبود خود را بگذارد- (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۱۰×)

اوفلوکساسین از جمله افزایش سطح MDA و کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های TAC و TTM را بهبود بخشید (۱۴).

امروزه به تبع افزایش مصرف غذاهای دریایی، استفاده از پپتیدهای زیست فعال با منشأ دریایی به عنوان یک فرآورده مهم و یک آنتی‌اکسیدانت طبیعی در تحقیقات مختلف گزارش شده است. این فرآورده‌ها از نظر ساختاری از ۲ تا ۲۲ اسید آمینه تشکیل شده‌اند برخی از این اسیدهای آمینه مانند تریپتوفان، تیروزین، متیونین، سیستین، هیستامین و فیل آلانین دارای خواص بالای آنتی‌اکسیدانی و فعالیت تمیزکنندگی می‌باشند (۱۲ و ۳۵). بنابراین وجود خاصیت احیاء کنندگی و دارا بودن اسیدهای آمینه آنتی‌اکسیدانی می‌تواند ظرفیت مقابله با استرس را در بدن جانداران افزایش دهد. نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج تحقیقات پیشین در خصوص تأثیرات آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای زیست فعال و همچنین سایر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی همخوانی دارد.

عبادی مناس و همکاران در سال ۲۰۱۷ تغییرات هیستومورفومتری و استرس اکسیداتیو ناشی از اوفلوکساسین و اثر ژل رویال را بعنوان یک آنتی‌اکسیدانت در بیضه موش مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج گروه‌های آزمایشی نشان داد که اوفلوکساسین باعث کاهش تعداد و زنده مانی اسپرم و همچنین باعث افزایش درصد آسیب DNA می‌شود و استفاده از ژل رویال + اوفلوکساسین باعث بهبود این شاخص‌ها می‌شود (۱۴). فارموبی و همکاران در سال ۲۰۰۸ تأثیر ویتامین C و استیل سیستین (NAC) بر اثرات مخرب تتراسایکلین بر سیستم تولیدمثلی رت نر را بررسی کردند و نتایج آنها نشان داد که تجویز تتراسایکلین باعث کاهش تحرک اسپرم ایدیدیم، درصد اسپرم زنده، تعداد اسپرم و افزایش مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم و همچنین القای تغییرات نامطلوب هیستوپاتولوژیک در بیضه‌ها می‌شود، در حالی که ویتامین C و NAC تأثیرات سمی تتراسایکلین را بر پارامترهای اسپرم کاهش داده‌اند



شکل ۲- تصاویر مربوط به رنگ‌آمیزی اتوزین-نگروزین جهت ارزیابی زنده مانی اسپرم- اسپرم مرده (DS)، اسپرم زنده (LS)- (بزرگنمایی ۱۰۰۰×)

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه برای کاهش یا تعدیل تأثیرات سوء داروهایی مانند آنتی بیوتیک‌ها بر شاخصهای تولیدمثلی، از آنتی‌اکسیدانتهای طبیعی مانند ژل رویال (۳ و ۱۴)، ویتامین E (۴۵) و میکرو المنتهای مانند روی و سلنیوم (۲۵) استفاده می‌کنند که هر کدام از این مواد دارای محدودیتهایی در استفاده می‌باشند.

در این مطالعه از پپتیدهای زیست فعال به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده به همراه آنتی بیوتیک اوفلوکساسین استفاده شد و نتایج نشان داد که استفاده از پپتیدهای زیست فعال به همراه آنتی بیوتیک در نهایت باعث افزایش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در بیضه و کاهش تأثیرات مخرب این آنتی بیوتیک شود. طبق تحقیقات صورت گرفته توسط حیدری و همکاران در سال ۱۳۹۶ که در مورد تأثیرات پپتیدهای زیست فعال بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد در رت‌های نر تحت استرس بی‌حرکتی انجام شد نتایج نشان داد که استفاده از پپتیدهای زیست فعال باعث افزایش سطح TAC می‌شود. همچنین استفاده از پپتیدهای زیست فعال باعث بهبود تنش اکسیداتیو ناشی از استرس بی‌حرکتی شد و سیستم ایمنی را نیز در کبد تقویت نمود (۴). طبق نتایج عبادی مناس و همکاران در سال ۲۰۱۷، استفاده از ژل رویال می‌تواند اختلال در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیضه ناشی از مصرف

شاخص‌ها همخوانی دارد. همچنین نتایج نشان داد که استفاده از پپتیدهای زیست فعال که خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است، باعث افزایش ضخامت اپیتلیوم (ET) و تعدیل تأثیرات منفی اوفلوکسازین می‌شود که با تأثیرات تعدیل‌کنندگی سایر آنتی‌اکسیدانت‌ها طبیعی همخوانی دارد.

به نظر می‌رسد پپتیدهای زیست فعال با استفاده خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود که در مطالعات مختلف گزارش شده است (۱ و ۴) رادیکالهای آزاد حاصل از عملکرد آنتی‌بیوتیک اوفلوکسازین در بیضه را تعدیل و شرایط را برای عملکرد مناسب سلولهای منی ساز فراهم کرده‌اند. برای بررسی و نتیجه‌گیری دقیق این مسئله، نیاز به ارزیابی مجدد چند شاخص اکسیدانی و یا آنتی‌اکسیدانی اوفلوکسازین و پپتیدهای زیست فعال و همچنین مکانیسم عمل پپتیدهای زیست فعال در این خصوص می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد استفاده از پپتیدهای زیست فعال در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم رت‌های نر، می‌تواند تأثیرات اکسیداتیو آنتی‌بیوتیک اوفلوکسازین بر بافت بیضه و همچنین شاخص‌های اسپرمی را تا حد زیادی تعدیل کرده و ریسک باروری را با توجه به نتایج این تحقیق افزایش دهد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه بابت حمایت مالی و همچنین کارشناسان بخش فیزیولوژی جانوری گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم و دامپزشکی دانشگاه ارومیه نهایت سپاس و تشکر را دارند.

(۱۵). در این مطالعه نتایج نشان داد که استفاده از آنتی‌بیوتیک اوفلوکسازین باعث اختلال در میزان شاخص‌های اسپرمی از جمله افزایش میزان آسیب DNA اسپرم‌ها، زنده ماندن و همچنین تعداد اسپرم‌های بالغ شده است که با نتایج مطالعات پیشین در خصوص تأثیرات منفی آنتی‌بیوتیک‌ها بر این شاخص‌ها همخوانی دارد. همچنین نتایج نشان داد که استفاده از پپتیدهای زیست فعال میزان شاخص‌ها به‌طور معنی‌داری بهبود داده است که نشان دهنده تأثیرات آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای زیست فعال در کاهش اثرات سوء اوفلوکسازین بر شاخص‌های اسپرمی می‌باشد.

همچنین براساس یافته‌های عبادی مناس و همکاران در سال ۲۰۱۷، آنتی‌بیوتیک اوفلوکسازین باعث کاهش قطر لوله‌های سمی فروز و ضخامت اپیتلیوم زایا و فاصله بین لوله‌های اسپرم‌ساز شد. نتایج آنها نشان داد که استفاده از ژل رویال به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت می‌تواند تا حدودی تأثیرات مخرب اوفلوکسازین را در این خصوص را تعدیل کند (۱۴). کیانی و همکاران در سال ۱۳۹۶ اثرات حفاظتی ال کارنیتین بر سیستم تولیدمثلی رت‌های تحت درمان با سیپروفلوکسازین را بررسی کردند و نتایج کاهش میانگین قطر لوله‌های منی ساز، قطر لومن لوله‌های منی ساز، ضخامت اپیتلیوم و قطر تونیک‌آلبوژینا را نشان داد. ال کارنیتین با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود توانست کاهش ناشی از سیپروفلوکسازین را جبران کند (۵). در مطالعه حاضر نتایج نشان داد که استفاده از آنتی‌بیوتیک اوفلوکسازین به مدت ۲۰ روز متوالی، ضخامت لایه زایا (ET) را کاهش می‌دهد که با نتایج تحقیقات پیشین در خصوص تأثیرات منفی آنتی‌بیوتیک بر این

منابع

۲-باب الحوائجی، ه.، و فیضیان، م.، ۱۳۸۷. بررسی فراوانی اختلال عملکرد جنسی در مردان نابارور مراجعه‌کننده به بیمارستان فاطمیه همدان، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی همدان، دوره ۱۵، شماره ۲، صفحه ۸.

۱- احمدی، ز.، حسین نجدگرمی، ا.، نجاتی، و.، و نیکو، م.، ۱۳۹۸. بررسی تأثیرات مثبت پپتیدهای زیست فعال (Bioactive peptides) بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیضه و سمیت تولیدمثلی حاصل از سایمتیدین در موش‌های رت نر، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه

- ۳-حسامی، س.، نجاتی، و.، ۲۰۱۶. مطالعه تأثیر آنتی بیوتیک افلوکساسین بر قطر لوله‌های اسپرماتوزن دررت نر بالغ و اثر درمانی ژله رویال بر آن، مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۹، صفحات ۱۴۶-۱۵۴.
- ۴-حیدری، ش.، حسین نجدگرامی، ا.، و نیکو، م.، ۱۳۹۵. تأثیر مخلوط پپتیدهای زیست فعال ماهی ساردین بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم، پراکسیداسیون چربی‌ها و فراسنجه های خونی در
- 15-Ebenezer, O., Farombi Mercy, C., Ugwuezumba Teclar, T., Ezenwadia, Matthew, O., and Oyeyemi, Martins Ekor., 2008. Tetracycline-induced reproductive toxicity in male rats: Effects of vitamin C and N-acetylcysteine. *Experimental and Toxicologic Pathology* 60, PP: 77-85.
- 16-El-Nekeety, A. A., El-Kholy, W., Abbas, N. F., Ebaid, A., Amra, H. A., and Abdel-Wahhab, M. A., 2007. Efficacy of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats, *Toxicon* 50, PP: 256-269.
- 17-El-Harouny, M., Zalata, A., Naser, M., Abo El-Atta, H., El-Shawaf, I., and Mostafa, T., 2010. Long-term ofloxacin testicular toxicity: an experimental study, *Andrologia* 42, PP: 92-96.
- 18-Elmas, M., Tras, B., Kaya, S., Bas, A. L., Yazar, E., and Yarsan, E., 2001. Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular administration in Angora goats, *Canadian journal of veterinary research* 65, 64 p.
- 19-Erdmann, K., Cheung, B. W., and Schröder, H., 2008. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *The Journal of nutritional biochemistry* 19, PP: 643-654.
- 20-Erenpreis, J., Bars, J., Lipatnikova, V., Erenpreisa, J., and Zalkalns, J., 2001. Comparative study of cytochemical tests for sperm chromatin integrity, *Journal of andrology* 22, PP: 45-53.
- 21-Fu, L., Chen, Y. H., Xu, S., Ji, Y. L., Zhang, C., Wang, H., Yu, D. X., and Xu, D. X., 2017. Vitamin D deficiency impairs testicular development and spermatogenesis in mice. *Reproductive Toxicology* 73, PP: 241-249.
- 22-Gholami, M., Abbaszadeh, A., Khanipour Khayat, Z., Anbari, K., Baharvand, P., and Gharravi, A., 2018. Honey improves spermatogenesis and hormone secretion in testicular ischaemia-reperfusion-induced injury in rats. *Andrologia* 50, e12804 p.
- ۵-کیانی، م.، و پرتو، پ.، ۱۳۹۶. اثر حفاظتی ال-کارنیتین روی پارامترهای اسپرم در موش‌های تحت درمان با سیپروفلوکساسین، مجله علوم پزشکی اردبیل، شماره ۴، صفحات ۴۰۱-۳۹۲.
- 6-Abd-Allah, A. R. A., and Aly, H., 2000. Adverse testicular effects of some quinolone members in rats. *Pharmacological research* 41, PP: 211-219.
- 7-Amirshahi, T., and Nejati, V., 2014. Protective effect of royal jelly on fertility and biochemical parameters in bleomycin- induced male rats. *Iranian journal of reproductive medicine*, 12(3), 209 p.
- 8-Agarwal, A., Rana, M., Qiu, E., AlBunni, H., Bui, A. D., and Henkel, R., 2018. Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility, *Andrologia* 50, e13126 p.
- 9-Arihara, K., 2006. Functional properties of bioactive peptides derived from meat proteins. *Advanced technologies for meat processing*, PP: 245-274.
- 10-Beyene, G., and Tsegaye, W., 2011. Bacterial uropathogens in urinary tract infection and antibiotic susceptibility pattern in jimma university specialized hospital, southwest ethiopia. *Ethiopian journal of health sciences* 21, PP: 141-146.
- 11-Calogero, A. E., Condorelli, R. A., Russo, G. I., and La Vignera, S., 2017. Conservative nonhormonal options for the treatment of male infertility: antibiotics, anti-inflammatory drugs, and antioxidants. *BioMed research international*, 2017 p.
- 12-Davalos, Miguel, 2004. Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis, *Journal of Food Protection* 67, PP: 1939-1944.
- 13-Djurdjevic, P. T., and Jelkic-Stankov, M., 1999. Study of solution equilibria between aluminum (III) ion and ofloxacin. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 19, PP: 501-510.
- 14-Ebadimanas, Najafi, 2017. Protective effects if royal jelly on the histomorphologic oxidative stress and sperm parameters in Ofloxacin treated rat. *Comparative clinical pathology*.

- 23-Giri, A., and Ohshima, T., 2012. Bioactive marine peptides: Nutraceutical value and novel approaches, *Advances in food and nutrition research*. Elsevier, PP: 73-105.
- 24-Godmann, M., Lambrot, R., and Kimmins, S., 2009. The dynamic epigenetic program in male germ cells: Its role in spermatogenesis, testis cancer, and its response to the environment, *Microscopy research and technique* 72, PP: 603-619.
- 25-Goel, A., Dani, V., and Dhawan, D., 2005. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity, *Chemico-Biological Interactions* 156, PP: 131-140.
- 26-Gornal, A., Bardawill, C., and David, M., 1949. Protein-Biuret colorimetric method. *J., Biol., Chem* 177, 751p.
- 27-Hajihashemil, 2017. effects of cobalamin (vitamin B12) on gentamicin induced nephrotoxicity in rat, *Drug research (Stuttgart)* 67, 710 p.
- 28-Haron, M. N., D'Souza, U. J., Jaafar, H., Zakaria, R., and Singh, H. J., 2010. Exogenous leptin administration decreases sperm count and increases the fraction of abnormal sperm in adult rats. *Fertility and sterility* 93, PP: 322-324.
- 29-Heidari, S. H., Najdegerami, E., and Nikoo, M., 2017. The effect of bioactive peptides mixture extracted from sardine on total antioxidant capacity of serum, lipid peroxidation and blood parameters in rats exposed to restraint stress. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)* 30, PP: 279-288.
- 30-Herbold, B. A., Brendler-Schwaab, S. Y., and Ahr, H. J., 2001. Ciprofloxacin: in vivo genotoxicity studies. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 498, PP: 193-205.
- 31-Huang, Y., 2010. Varicocele and male infertility, *Zhonghua nan ke xue National journal of andrology* 16, 195p.
- 32-Khajehei, 2009. Randomised double-blind trial of the effect of vitamin C on dyspareunia and vaginal discharge in women receiving doxycycline and triple sulfa for chlamydial cervicitis. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 49, 525 p.
- 33-Khaki, A., and Mekaniksannati, A., 2008. Evaluation of the effects of streptomycin and ofloxacin antibiotics on leydig cell apoptosis in rat, *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 12, PP: 23-31.
- 34-Kothari, A., and Sagar, V., 2013. Antibiotic resistance in pathogens causing community-acquired urinary tract infection in india: a multicancer study, *Journal of family and community medicine* 20, 20 p.
- 35-Lassoued, I., Mora, L., Nasri, R., Jridi, M., Toldrá, F., Aristoy, M. C., and Nasri, M., 2015. Characterization and Comparative assessment of antioxidant and ACE inhibitory activities of thornback ray gelatin hydrolysates, *Journal of Functional Foods* 13, PP: 225-238.
- 36-Li, Y., and Yu, J., 2015. Research progress in structure-activity relationship of bioactive peptides, *Journal of medicinal food* 18, PP: 147-156.
- 37-Manali, P., 2011. Evaluation of vitamin E and N-acetyl cysteine in gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Renal Failure* 10, PP: 1171-1188.
- 38-Manas, G. E., and Najafi, G., 2017. Protective effects of royal jelly on the histomorphologic, oxidative stress and sperm parameters in Ofloxacin treated rat, *Comparative Clinical Pathology* 26, PP: 1111-1115.
- 39-Montanari, M., Prenna, M., Mingoia, M., Ripa, S., and Valardo, P., 1998. In vitro antibacterial activity of trovafloxacin and five other fluoroquinolones, *Chemotherapy* 44, PP: 85-93.
- 40-Oh, S. H., Miyoshi, K., and Funahashi, H., 1998. Rat oocytes fertilized in modified rat 1-cell embryo culture medium containing a high sodium chloride concentration and bovine serum albumin maintain developmental ability to the blastocyst stage. *Biology of reproduction* 59, PP: 884-889.
- 41-Olayemi, F., 2010. Review on some causes of male infertility. *African Journal of Biotechnology* 9.
- 42-Oliva, A., Spira, A., and Multigner, L., 2001. Contribution of environmental factors to the risk of male infertility, *Human Reproduction* 16, 1776 p.
- 43-Ourique, G. M., Saccol, E. M., Pes, T. S., Glanzner, W. G., Schiefelbein, S. H., Woehl, V. M., Baldissotto, B., Pavanato, M. A., Goncalves, P. B., and Barreto, K. P., 2016. Protective effect of vitamin E on sperm motility and oxidative stress in valproic acid treated rats. *Food and Chemical Toxicology* 95, PP: 159-167.
- 44-Petri, W., 2001. Antimicrobial agents: Sulphonamides trimethoprim-sulfamethoxazole, quinolones and agents for urinary tract infection.

- IN THE Pharmacological Basis of therapeutics. 10, 1171 p.
- 45- Ronald, A., Nicolle, L., Stamm, E., Krieger, J., Warren, J., Schaeffer, A., Naber, K., Hooton, T., Johnson, J., Chambers, S., 2001. Urinary tract infection in adults: research priorities and strategies. *International journal of antimicrobial agents* 17, 343-348.
- 46-Ronald, A., Nicolle, L., Stamm, E., Krieger, J., Warren, J., Schaeffer, A., Naber, K., Hooton, T., Johnson, J., and Chambers, S., 2001. Urinary tract infection in adults: research priorities and strategies. *International journal of antimicrobial agents* 17, PP: 343-348.
- 47-Sansone, A., Gandini, L., Lombardo, F., and Lenzi, A., 2017. Carnitine in Male Infertility, *Antioxidants in Andrology*, Springer, PP: 35-41.
- 48-Schlegel, P. N., Chang, T., and Marshall, F. F., 1991. Antibiotics: potential hazards to male fertility. *Fertility and sterility* 55, PP: 235-242.
- 49-Selvakumar, E., Prahalathan, C., Sudharsan, P. T., and Varalakshmi, P., 2006. Chemoprotective effect of lipoic acid against cyclophosphamide-induced changes in the rat sperm, *Toxicology* 217, PP: 71-78.
- 50-Shahidi, F., and Zhong, Y., 2008. Bioactive peptides, *Journal of AOAC International* 91, PP: 914-931.
- 51-Silici, S., Ekmekcioglu, O., Eraslan, G., and Demirtas, A., 2009. Antioxidative effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage, *Urology* 74, PPI 545-551.
- 52-Taheeri, A. S. F. K., Jacobsen, C., and Baron, C. P., 2014. Antioxidant activities and functional properties of protein and peptide fraction isolated from salted herring brin, *Food Chemistry*, 142, PP: 318-326.
- 53-Tonolo, F., Folda, A., Cesaro, L., Scalcon, V., Marin, O., Ferro, S., Bindoli, A., and Rigobello, M. P., 2020. Milk-derived bioactive peptides exhibit antioxidant activity through the Keap1-Nrf2 signaling pathway, *Journal of Functional Foods* 64, 103696 p.
- 54-Vahidinia, A., Rahbar, A. R., and Shakoori Mahmoodabadi, M. M., 2017. Effect of astaxanthin, vitamin E, and vitamin C in combination with calorie restriction on sperm quality and quantity in male rats, *Journal of dietary supplements* 14, PP: 252-263.
- 55-Williams, E. A., and Pacey, A., 2020. Reply to the letter: Lycopene improves sperm motility and morphology: a promising agent for treating male infertility, *European journal of nutrition*, PP: 1-1.
- 56-Wyrobek, A. J., Gordon, L. A., Burkhart, J. G., Francis, M. W., Kapp Jr, R. W., Letz, G., Malling, H. V., Topham, J. C., and Whorton, M. D., 1983. An evaluation of the mouse sperm morphology test and other sperm tests in nonhuman mammals: A report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program, *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* 115, PP: 1-72.
- 57-Yoshida, S., Takakura, A., Ohbo, K., Abe, K., Wakabayashi, J., Yamamoto, M., Suda, T., and Nabeshima, Y. I., 2004. Neurogenin3 delineates the earliest stages of spermatogenesis in the mouse testis. *Developmental biology* 269, PP: 447-458.
- 58-Zhang, H.a.J., BF, 2010. Azoospermia factor and male infertility. *Zhonghua nan ke xue National journal of andrology* 16, 166 p.

Protective effects of Bioactive peptides on morphology of the seminiferous tubules and sperm survival in Ofloxacin treated male rats

Zare Z.¹, H. Najdegerami E.¹, Nejati V.¹, Najafi Gh.² and Nikoo M.³

¹ Dept. of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

² Dept. of Basic Science, Faculty of Veterinary, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

³ Artemia & Aquaculture Research Institute, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

Abstract

In this study, protective effects of bioactive peptides extracted from Anchovy on total antioxidant capacity, sperm parameters, sperm tubular diameters, epithelium thickness (ET) and DNA damage in ofloxacin treated rats was investigated. Thirty-six healthy male rats (200±40) were randomly assigned to 6 cages and fed with experimental diets (Control, 20mg bioactive peptide P, 72 mg ofloxacin OF72, 360 mg ofloxacin OF360, OF72+P, OF360+P) for 45 days. The results indicated that the rat fed on ofloxacin + peptid had significant higher TAC then the control ($P<0.05$). Based on these results, feeding with experimental diets significantly decreased sperm viability and increased sperm motility in rats fed on low antibiotic concentration + peptids then the control. Also, bioactive peptids improved ET and DNA damage in rats fed ofloxacin + peptids then those fed only antibiotics. It seems, bioactive peptides have an antioxidant effects on sperm parameters and testis tissue in ofloxacin treated rats and decrease infertility risk.

Key words: Bioactive peptides, anchovy, infertility, oxidative stress, ofloxacin