● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ ششم، شمارهٔ ۲، ص ۶۶ - ۶۱، ۱۳۷۸

مقالهٔ پژوهشی

اثرات ضد باروری فورازولیدون در موش صحرایی نر بالغ

دکتر حمیدرضا صادقی‌پور رودسری[۱]، دکتر محسن وثوقی[۲] و دکتر مجتبی رضایی بخشی[۳]

خلاصه

گرچه روش‌ها و رژیم‌های دارویی متعددی برای جلوگیری از باروری ابداع و عرضه شده است، ولی هنوز در مردان، داروی ضدباروری که تأثیر سوئی بر صفات ثانویه و تمایلات جنسی نداشته و در عین حال بدون عوارض جانبی باشد در دسترس نمی‌باشد. در این پژوهش اثرات ضدباروری فورازولیدون بر فرآیند اسپرماتوژنز و باروری در موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که این دارو با کاهش در تولید، ذخیره، تحرک و تعداد روزانه اسپرم، به طور معنی‌داری میزان باروری را کاهش داده است. لذا می‌تواند به عنوان یک ترکیب رهبر (Lead compound) در طراحی و سنتز داروهای ضد باروری در مردان مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ضدباروری مردانه، فورازولیدون، ناباروری

۱ـ دانشیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، ۲ـ استادیار شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران ۳ـ دکتر داروساز

مقدمه

با توجه به محدودیت امکانات زیستی، معیشتی و رفاهی برای جمعیت در حال انفجار جهان، استفاده از روش‌های ضد باروری لازم و ضروری است. خوشبختانه برنامه‌ریزی برای استفاده از روش‌های ضد حاملگی در خانواده‌ها، در بسیاری از کشورهای جهان انجام گرفته است. ولی با وجود پیشرفت‌های سریع در زمینه بیولوژی تولید مثل، هیچ یک از روش‌های ضد باروری ایده‌آل نبوده و کارآیی اکثر آن‌ها بستگی به انگیزه و اراده شخص استفاده کننده دارد.

استفاده کلینیکی از استروئیدها برای جلوگیری از باروری با قرص‌های مخلوطی از استروژن‌ها و پروژستین‌ها در سال ۱۹۵۲ آغاز شد که این ترکیبات با ایجاد حالت ضدباروری فارماکولوژیک (۵)، برای اولین بار در سال ۱۹۶۰ به صورت تجاری عرضه و در دسترس همگان قرار گرفت (۱۶).

روش‌های ضد باروری قابل استفاده توسط مردان (مانند کاندوم) محدود بوده و میزان شکست آن نسبتاً بالا است. همچنین عوارض روش‌های جراحی مانند وازکتومی، هنوز مورد مطالعه و بررسی است (۳،۲،۱). بنابراین عرضه یا تکوین روش‌های جلوگیری از باروری ایمن‌تر و مؤثرتر، لازم به نظر می‌رسد.

استفاده از ترکیباتی با فعالیت ضدباروری در مردان با کشف گوسیپول، مادهٔ فعال دانه، ساقه و ریشهٔ گیاه پنبه دانه مطرح شد که الهام‌بخش مطالعاتی به منظور عرضه و تکمیل ماده‌ای با اثرات ضدباروری در مردان گردید (۱۷). ادامه این مطالعه به کشف اثرات ضدباروری چند طبقه دارویی منجر شد که سولفونامیدها (سولفاسالازین)، ۲ و ۴ دی آمینو پیریمیدین‌ها، مشتقات نیتروفوران‌ها (۱۴،۱۰،۶) و عصاره چند گیاه از آن جمله هستند که مطالعات تکمیلی از جنبه‌های مختلف در جریان است. با توجه به مطالعات قبلی که اثر ترکیبات نیتروفوران را بر روی توقف اسپرماتوژنز نشان داده‌اند (۹،۱۸)، در این پژوهش اثرات فورازولیدون را با ساختمان و نام شیمیایی (5-Nitrofurfurylideneamino) -2-oxazolidine=(Furazolidone) -3بر شاخص‌های باروری موش صحرایی نر مورد بررسی قرار دادیم که این امر می‌تواند از نظر شیمی دارویی ما را در سنتز و عرضه مشتقات جدید به عنوان ترکیب رهبر (lead compound) راهنمایی نماید.

مواد و روش‌ها

فورازولیدون از کارخانه داروسازی تهران دارو با شماره B.No.9604 به صورت پودر زرد رنگ و بدون بو تهیه شد. چون داروی فوق در سرم فیزیولوژی محلول نمی‌باشد لذا با توجه به توصیه کارخانه تولید کننده از پروپیلن گلایکول ساخت کارخانه مرک (Merck) به عنوان حلال استفاده گردید. گروه شاهد فقط پروپیلن گلایکول دریافت داشتند. از سرم فیزیولوژی ۳۷ درجه برای تهیه رقت مناسب از اسپرم و از رنگ ائوزین نگروزین جهت رنگ‌آمیزی و تهیه گسترش استفاده شد (۱۵).

موش‌های صحرایی نر و ماده بالغ از نژاد Sprague-dawley در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم از مؤسسه تحقیقاتی انستیتو پاستور ایران تهیه شدند و در اتاق حیوانات گروه فیزیولوژی تحت شرایط استاندارد (۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲±۲۶ درجه سانتی‌گراد) در قفس‌های مخصوص نگهداری می‌شدند. آب و غذا به مقدار کافی در تمام اوقات در اختیار موش‌ها قرار داشت. ۱۶ موش صحرایی نر را به مدت دو هفته جهت عادت کردن به محیط در شرایط فوق‌الذکر قرار داده و از همان ابتدا هر موش صحرایی نر با سه سر موش صحرایی ماده به مدت ده روز جفت و همراه شد (mating test). پس از روز پانزدهم، موش‌های ماده به وسیلهٔ گیوتین کشته شده تا از قدرت‌باروری هر ۱۶ موش صحرایی نر (با مشاهده جنین‌هایی که به شکل دانه‌های تسبیح ایجاد شده بود) اطمینان حاصل شود.

سپس ۱۶ موش صحرایی نر به دو گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه اول (موش‌های شماره ۱ تا ۸) موش‌هایی بودند که ترکیب فورازولیدون گلایکول را که به صورت سوسپانسیون روان در آمده و قابل تزریق با سرنگ انسولین بود، روزانه با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۵۰ روز به صورت زیرجلدی دریافت کردند. لازم به ذکر است که تجویز این مقدار دارو با توجه به تجربیات محققین دیگر در مورد پیریمتامین (۴) و هم‌خوانی اهداف این پژوهش با آنها صورت گرفت. گروه دوم (موش‌های شماره ۹ تا ۱۶) گروه کنترل بودند که پروپیلن گلایکول را با حجمی معادل گروه آزمایش و در طی همان مدت به صورت زیرجلدی دریافت کردند.

بعد از گذشت ۵۰ روز از اولین تجویز دارو، هر موش نر مورد آزمایش را با سه موش ماده جوان و بالغ به مدت ده روز هم قفس کرده، تا باروری موش‌های نر بررسی شود. پس از گذشت این مدت موش‌های نر را جدا نموده، بعد از توزین، به وسیله گیوتین کشته و خون آنها در لوله‌های آزمایش تمیز جهت اندازه‌گیری تستوسترون سرم جمع‌آوری گردید. سپس شکم حیوانات را باز کرده و اندام‌های تولید مثل خارج شدند و شاخص‌های زیر مورد ارزیابی قرار گرفت:

۱- **تعیین درصد تحرک اسپرم‌ها** (Motility)): که نسبت

اسپرم‌های متحرک به اسپرم‌های غیر متحرک است و به صورت درصد بیان می‌شود. این شاخص بر اساس روش‌های مرسوم تعیین شد (۴،۷،۸).

۲ـ تعیین درصد اسپرم‌های زنده (Viability): اسپرم‌های زنده رنگ را جذب نمی‌کنند، در حالی که اسپرم‌های مرده رنگ را جذب می‌کنند. درصد اسپرم‌های زنده مطابق با روش‌های گزارش شده محاسبه گردید (۷).

۳ـ تعیین میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیم [Epididymal Sperm Reserves (ESR)] : میزان ذخیره اسپرمی‌اپیدیدیم بر طبق روش راب (Robb) و سایر محققین انجام گرفت (۸،۱۳،۱۹).

۴ـ تعیین میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه‌ها [Daily Sperm Production (DSP)] : جهت تعیین میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه‌ها از روش راب (Robb) با اندکی تغییر استفاده شد (۱۱،۱۳). چون در موش صحرایی نر رشد اسپرماتوزوئیدها تقریباً ۶/۳ روز در حین اسپرماتوژنز طول می‌کشد و ۶/۳ روز زمان لازم در چرخه تکوینی اپیتلیوم لوله‌های منی‌ساز می‌باشد، بنابراین از تقسیم مقادیر به دست آمده تعداد اسپرم‌ها برای هر گرم به ۶/۳ میزان تولید کل اسپرم برای یک روز به دست می‌آید.

۵ـ بررسی تغییرات وزن بدن: با توجه به اینکه میزان وزن موش‌های صحرایی یکی از شاخص‌های مهم در ارتباط با سلامتی حیوان است، بدین لحاظ جهت بررسی اثرات احتمالی داروهای مورد مصرف بر روندهای متابولیکی و یا ایجاد عارضه و نقص در سیستم‌های حیاتی حیوان، موش‌های هر گروه به طور منظم و روزانه توزین شده و وزن آنها ثبت می‌شد. بدین وسیله هم مقدار داروی مورد مصرف دقیق‌تر تعیین، و هم سیر افزایش وزن موش‌های هر گروه نسبت به گروه شاهد مقایسه می‌شد. میانگین افزایش وزن موش‌های هر گروه در آخرین توزین در پایان دوره محاسبه و سپس از نظر آماری تجزیه و تحلیل به عمل آمد.

۶ـ بررسی تغییرات وزن بیضه‌ها نسبت به وزن بدن [Gonado Somatic Index (GSI)]: نسبت وزن بیضه‌ها به وزن بدن، نسبت وزن دو بیضه حیوان به وزن کل بدن ضرب در ۱۰۰ می‌باشد. برای بررسی اثرات احتمالی داروها بر بیضه‌ها، هر دو بیضه حیوان را خارج و نسبت وزن دو بیضه به کل وزن حیوان محاسبه و حاصل را در صد ضرب می‌کنیم.

۷ـ بررسی میزان باروری موش‌های صحرایی نر (Fertility): میزان باروری بر اساس روش گزارش شده توسط اُبرلاندر و همکاران (Oberlander) تعیین شد و عبارت است از نسبت نقاط لانه‌گزینی جنین‌ها در رحم به کل تعداد جسم‌های زرد موجود در تخمدان که به صورت درصد بیان می‌شود (۱۱).

۸ـ اندازه‌گیری تستوسترون سرم: تعیین تستوسترون سرم بر اساس روش‌های معمول با استفاده از روش [(Radioimmuno assay) (RIA)] انجام شد. تمام حیوانات پس از توزین به وسیله گیوتین کشته شدند و خون آنها در لوله‌های آزمایش کاملاً تمیز جمع‌آوری شد. سپس سرم آنها جدا و میزان تستوسترون سرم با روش (RIA) اندازه‌گیری شد.

جهت محاسبات آماری از آزمون اختلاف میانگین دو جامعه (Student's t-test) استفاده شد.

نتایج

اثر بر وزن بدن: نتایج به دست آمده از میزان افزایش وزن بدن موش‌های صحرایی نشان داد که هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین گروهی که فورازولیدون دریافت کرده بودند و گروه کنترل وجود ندارد.

اثر بر میزان درصد تحرک اسپرماتوزوئیدها (Motility) : نتایج حاصل از بررسی میزان درصد تحرک اسپرماتوزوئیدها نشان داد که تحرک اسپرم‌ها در گروهی که فورازولیدون دریافت کرده‌اند نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داده است. درصد تحرک اسپرم‌ها در گروه فورازولیدون حدود ۳۱٪ بود، در حالی که در گروه کنترل حدود ۷۰٪ اسپرم‌ها تحرک داشته‌اند. در این بررسی تحرک پیش‌رونده مد نظر بوده و اسپرم‌هایی که در یک جای ثابت تحرک کمی داشته‌اند محاسبه نگردیدند ($P<0/001$).

اثر بر میزان درصد اسپرماتوزوئیدهای زنده (Viability): در این مورد نیز درصد اسپرماتوزوئیدهای زنده در گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. درصد اسپرم‌های زنده در گروه فورازولیدون حدود ۴۷٪ بود، در حالی که در گروه کنترل حدود ۷۴٪ اسپرم‌ها زنده بودند ($P<0/001$).

اثر بر میزان ذخیره اسپرماتوزوئیدی اپیدیدیم‌ها (ESR): نتایج حاصل از بررسی میزان ذخیره اسپرم توسط اپیدیدیم‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. به طوری که ذخیره اسپرم در اپیدیدیم گروه فورازولیدون حدود ۱۶۵×۱۰^{۶} عدد به ازای هر گرم اپیدیدیم و در گروه کنترل حدود ۱۹۸×۱۰^{۶} عدد به ازای هرگرم اپیدیدیم بوده است ($P<0/01$).

جدول ۱: اثر فورازولیدون بر شاخص‌های فیزیولوژیک تولید مثل و میزان باروری

شاخص / گروه	وزن حیوانات به گرم	درصد اثر بر تحرک اسپرم	درصد اسپرم‌های زنده	میزان ذخیره اسپرمی اپیدیدیم (ESR) (10^6)	میزان تولید روزانه اسپرم (DSP) (10^6)	نسبت وزن بیضه‌ها به بدن (GSI) (10^{-3})	درصد میزان باروری	مقدار تستوسترون سرم (ng/ml)
گروه کنترل n=۸	۸۷/۹۳۶±۸/۸۵۳	۶۹/۶۲۵±۳/۳۴۸	۷۴/۲۵±۳/۷۳۶	۱۹۷/۹۷۴±۵/۷۴۲	۲۰/۵۰۰±۰/۷۷۱	۹/۴۵۶±۰/۲۶۴	۶۷/۹۳۱±۴/۰۴۴	۵۵۰/۵±۸۱/۱۶۹
گروه مورد آزمایش با فورازولیدون n=۸	۸۹/۶۲۵±۶/۳۶ N/S	۳۰/۸۷۵±۲/۸۷۷ ***	۴۶/۸۷۵±۳/۲۲۱ ***	۱۶۴/۶۲±۷/۹۰۹ **	۱۷/۶۸۹±۰/۶۱۲ **	۹/۵۸۲±۰/۲ N/S	۳۵/۴۰۲±۲/۵۶۲ ***	۴۴۵/۸۳±۴۵/۹۷ N/S

**=P<۰/۰۱ ***=P<۰/۰۰۱ N/S=Non-Significant

اثر بر میزان تولید اسپرم روزانه توسط بیضه‌ها (DSP): نتایج حاصل از بررسی میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه‌ها نیز بیانگر تغییرات معنی‌دار می‌باشد. این شاخص در گروه موردآزمایش در حدود ۱۸×۱۰^۶ عدد و در گروه کنترل $۲۰/۵\times۱۰^۶$ عدد بوده است ($P<۰/۰۱$).

اثر بر نسبت وزن بیضه‌ها به وزن بدن (GSI): نتایج به دست آمده از بررسی میزان نسبت وزن بیضه‌ها به کل وزن بدن موش‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های فورازولیدون و کنترل وجود نداشت.

اثر بر توانایی باروری (Fertility): نتایج به دست آمده از بررسی میزان باروری موش‌های صحرایی نشان داد که میزان باروری در گروه فورازولیدون نسبت به گروه کنترل کاهش قابل توجهی داشته است. در گروه اول حدود ۳۵٪ حاملگی، در حالی که در گروه دوم حدود ۶۸٪ حاملگی رخ داده بود ($P<۰/۰۰۱$).

اثر بر میزان تستوسترون سرم: نتایج حاصل از بررسی تستوسترون سرم موش‌های صحرایی نر نشان داد که میزان تستوسترون سرم در گروه فورازولیدون نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری ندارد (جدول ۱).

بحث و نتیجه گیری

برخی از ترکیبات دارویی می‌توانند نقش یک ترکیب رهبر و راهنما را ایفا نمایند (lead compound). زیرا تغییر و اصلاح ساختمان شیمیایی آنها می‌تواند منجر به تولید مشتقاتی گردد که خصوصیات مورد نظر را در حد ایده‌آل داشته باشند. به عنوان مثال بررسی اثرات جانبی سولفونامیدها که به عنوان ماده‌ای با فعالیت ضد باکتری (Antibacterial) مورد استفاده بود، دانشمندان را در تکوین و عرضه مشتقات با خاصیت کاهش‌دهنده قندخون و مشتقات مهارکنندهٔ آنزیم کربونیک انهیدراز (Carbonic Anhydrase) در دو دهه بعد رهبری و مساعدت نمود (۶). بنابراین با توجه به مشاهدات سایر محققین مبنی بر کاهش یافتن تولید اسپرماتوزوئیدها به علت مصرف نیتروفوران‌ها که در درمان بیماری‌های عفونی و پروتوزوائی (Protozoal) مصرف می‌شوند (۱۴,۱۸)، بر آن شدیم تا اثر فورازولیدون را بر سیستم تولید مثل موش‌تر بالغ مورد مطالعه قرار دهیم و در گروه فورازولیدون نسبت به گروه کنترل اثرات متفاوتی را در این زمینه مشاهده نمودیم. حال با نگاهی گذرا موارد فوق را مورد بررسی قرار می‌دهیم.

نتیجه حاصل در بررسی وزن موش‌ها حاکی از عدم اختلاف وزن بین گروه فورازولیدون و گروه کنترل بود و تغییر قابل ملاحظه‌ای در افزایش وزن نشان داده نشد. در بررسی اندام‌های داخلی از قبیل کبد و دیگر احشاء داخلی نیز هیچ‌گونه تغییر غیر طبیعی دیده نشد و موش‌ها از سلامتی کامل برخوردار بودند. این عدم اختلاف در تغییر وزن در هر گروه و همچنین عدم تأثیر بر دیگر اندام‌های داخلی را می‌توان نوعی امتیاز برای این دارو به شمار آورد.

کاهش قابل توجهی در تحرک اسپرماتوزوئیدها (Motility) در گروه فورازولیدون نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. با توجه به اینکه اسپرماتوزوئیدهایی که از لوله‌های منی‌ساز گرفته می‌شوند کاملاً غیر متحرک بوده و نمی‌توانند تخمک را بارور سازند، لذا ضروری است اسپرماتوزوئیدها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در اپیدیدیم باقی بمانند تا تحرک لازم را به دست آورند. بنابراین به نظر می‌رسد که فورازولیدون با دوز به کار برده شده بعضی از اثرات خود را از طریق تأثیر بر بافت اپیدیدیم اعمال می‌کند.

در بررسی شاخص وابسته به میزان درصد حیات اسپرماتوزوئیدها (Viability)، شاهد کاهش معنی‌داری در گروه فورازولیدون نسبت به گروه کنترل بودیم. و می‌توان این کاهش را به تأثیر احتمالی فورازولیدون بر فرآیند اسپرماتوژنزیس در بیضه و یا تحولات حاصل از فرآیند بلوغ اسپرم در اپیدیدیم نسبت داد.

این مشاهدات همراه با کاهش معنی‌دار در ذخیره اسپرمی‌اپیدیدیم (ESR) مؤید این نتیجه است که فورازولیدون سبب اختلال در فرآیند رشد و تکثیر اسپرماتوگونی‌ها و اسپرمیوژنزیس می‌شود. در ارزیابی میزان تولید روزانه اسپرم (DSP) کاهش معنی‌داری مشاهده می‌شود که تأییدی بر اختلال ایجاد شده در فرآیند اسپرمیوژنزیس است.

در بررسی نتایج مربوط به نسبت وزن بیضه‌ها به بدن (GSI) هم هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین گروه فورازولیدون و گروه کنترل مشاهده نمی‌گردد. به نظر می‌رسد که فورازولیدون با دوز به کار برده شده بر بقیه بافت بیضه‌ها اثر سوئی اعمال نمی‌کند. در نتایج مربوط به باروری شاهد کاهش قابل توجهی در گروه فورازولیدون نسبت به گروه کنترل از نظر باروری هستیم و این امر را می‌توان به کاهش شاخص‌های قبلی مانند: کاهش درصد تحرک، کاهش درصد حیات اسپرماتوزوئیدها و همین طور کاهش DSP و ESR نسبت داد. با توجه به این که در گروه فورازولیدون میزان تستوسترون سرم کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت، لذا فورازولیدون در فرآیند تولید و ترشح تستوسترون در محدوده آزمایش‌های انجام شده، اثر منفی ندارد. از نتایج به دست آمده می‌توان چنین استنباط کرد که فورازولیدون با دوز روزانه ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بر فرآیند اسپرماتوژنز اثر دارد. قابل ذکر است که اخیراً گزارش‌هایی در مورد بی خطر بودن مصرف کوتاه مدت این دارو (۱۲) علی‌رغم گزارشات قبلی مبنی بر تشکیل تومورهای بدخیم ریوی در حیوانات آزمایشگاهی، وجود دارد، ولی هدف از این پژوهش، ارزیابی اثرات ضدباروری این مشتق به عنوان یک ترکیب رهبر جهت سنتز مشتقات جدید است و ارزیابی آن برای استفاده بالینی، در این مرحله مطرح نمی‌باشد.

با جمع‌بندی اثرات مثبت ضد باروری فورازولیدون در این پژوهش و اثرات تأیید شده سایر مشتقات گروه نیتروفوران‌ها، شناخت دقیق‌تری نسبت به فعالیت در رابطه با تغییرات موجود در ساختمان شیمیایی مشتقات مورد استفاده (فعالیت در رابطه با ساختمان شیمیایی) به دست آمد و بدین طریق ما را در طراحی و سنتز داروهای ضدباروری در جنس مذکر راهنمایی نمود که امیدواریم ترکیبات جدید سنتز شده به طور اختصاصی‌تر عمل نموده و فاقد هرگونه عوارض جانبی غیرقابل قبول باشند.

Summary

Antifertility Effects of Furazolidone in Adult Male Rats

HR. Sadeghipour Roodsari, PhD[1]; M. Vosooghi, PhD[2]; and M. Rezaea Bakhshi, Pharm. D[3]

1. Associate Professor of Physiology, Medical School, 2. Assistant Professor of Medical Chemistry, Pharmacy School, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, 3. Pharmacist

Although various contraceptive methods and medications have been devised so far, there is no ideal male contraceptive agent, free from side effects and without adverse effects on secondary sexual characterestics and sexual behaviour. In this study the antifertility effects of furazolidone on the process of spermatogenesis in adult male rats have been evaluated. The results indicate that this drug significantly decreases daily sperm production (DSP), motility, epididymal sperm reserve (ESR) and therefore decreases the infertility indices. Consequently this drug can be used as a lead compound in the synthesis of male contraceptive drugs.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 1999; 6(2): 61-66

Key Words: *Male contraceptive agent, Furazolidone, Antifertility*

منابع

۱. اسپیروف، گلاس، کاس: هورمون‌شناسی زنان و نازایی اسپیروف. ترجمه: امیرخانی ژیلا، مرکز نشر اشارت، تهران، ۱۳۷۱، ص ۴۲۳-۳۹۱ و ص ۴۸۹-۴۷۵.

۲. پریور، کاظم و محسنی کوچصفهانی، هما: اطلس جنین‌شناسی تجربی. انتشارات جهاد دانشگاهی تربیت معلم، تهران، ۱۳۷۲.

۳. کنت، جی، ریان: اصول و درمان بیماری‌های زنان کیسنر. ترجمه: قطبی، نادر. مؤسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده - آوا، تهران، چاپ دوم، ۱۳۷۵، ص ۵۰۹-۴۷۷.

4. Awoniyi CA, Chandrashekar V, Hurst BS, Kim WK and Schlaff WD. The effects of chronic administration of pyrimethamine on spermatogenesis and fertility in male rats. *J Androl* 1993; 14(3): 174
5. Comhaire FH. Male contraception: Hormonal, Mechanical and other. *Hum-reprod* 1994; 9(2): 22-27.
6. Cosentino MJ, Chey WY, Takihara H and Cockett ATK. The effects of sulfasalazine on human male fertility potential and seminal prostaglandins. *Jurol Baltimore* 1984; 132(4): 682-686.
7. Cosentino MJ, Pakyz RE and Fried J. Pyrimethamine: An approach to the development of a male contraceptive. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87(4): 1431-1435.
8. Ghosh PK, Biswas NM and Ghosh D. Effect of lithium chloride on testicular steroidogenesis and gametogenesis in immature male rats. *Acta endocrinol* 1991; 124(1): 76-82.
9. Karol HJ. Nitrofurans in treatment of malignant testicular tumors. *J Urol* 1960; 48(1): 120-122.
10. Morrow DA: Current Therapy in Theriogenology. Philadelphia, W.B Saunders Company, 1987; pp1015-1047.
11. Oberlander G, Yeung CH and Cooper TG. Induction of reversible infertility in male rats by oral ornidazole and its effects on sperm motility and epididymal secretions. *J Reprod Fertil* 1994; 100(2): 551-559.
12. Physicians' Desk refference. 53rd ed., Medical Economics company, 1999; p2627.
13. Robb GW, Amann RP and Killian GJ. Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *J Reprod Fert* 1978; 54: 103-7.
14. Schlegel PN, Chang TSK and Marshall FF. Antibiotics: Potential hazards to male fertility. *Fertil Steril* 1991; 55(2): 235-242.
15. Setchell BP. Possible physiological bases for contraceptive techniques in the male. *Hum Reprod* 1994; 9(2): 28-35.
16. Stubbefield PG, Family Planning. In: Berek JS, (Ed.), Novak's textbook of gynecology. 12th ed., A waverly company, 1990; pp227-278.
17. Taylor GT, Griffin MG and Bardgett M. Search for a male contraceptive: The effect of gossypol on sexual motivation and epididymal sperm. *J Med* 1991; 22(1): 29-44.
18. Timmermans L. Influence of antibiotics on spermatogenesis. *J Urol* 1974; 112: 348.
19. Zhen QS, Ye X and Wei ZJ. Recent progress in research on tripterygium: A male antifertility plant. *Contraception* 1995; 51: 121-129.