

اثر مترونیدازول بر روی هورمون‌های محور هیپوفیز - بیضه، تستوسترون و اسپرماتوژنز در موش صحرایی (RAT) نر بالغ

داود سهرابی^{*۱}، محسن علیپور^۲، علی اوسط ملتی^۳

خلاصه

سابقه و هدف: برخی گزارشات حکایت از آثار سوء مترونیدازول بر روی گونادوتروپین‌ها، تستوسترون، اسپرماتوژنز و دستگاه تناسلی نر دارد. هدف این پژوهش بررسی اثرات مترونیدازول بر روی هورمون‌های محور هیپوفیز - بیضه، تستوسترون و اسپرماتوژنز در موش صحرایی (RAT) نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی ۲۴ عدد موش Rat نر بالغ با سنین ۱۲-۱۰ هفته به صورت تصادفی در سه گروه ۸ تایی قرار گرفتند. به گروه کنترل آب معمولی و به گروه اول تجربی روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مترونیدازول محلول در آب و به گروه دوم تجربی روزانه ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مترونیدازول محلول در آب و به مدت ۶۰ روز داده شد. در پایان تجربه بعد از بیهوشی خون‌گیری از بطن چپ به عمل آمد و برای سنجش هورمونی، سانتریفوژ گردید. بعد از کشتن موش‌ها، بیضه‌ها و سمینال وزیکول و پروستات از بدن آنها خارج گردید. بعد از مطالعات مورفولوژیکی، در مایع بوئن به عنوان فیکساتیو قرار گرفتند. سپس بیضه‌ها با روش هماتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شدند. آنالیز آماری با استفاده از آزمون t-test انجام شد.

نتایج: بین وزن بیضه‌ها و غدد تناسلی ضمیمه (سمینال وزیکول و پروستات) گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0/01$). هورمون‌های LH و FSH، تستوسترون در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. ($p < 0/01$). مطالعات هیستولوژیک نشان داد در گروه‌های تجربی لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه‌ها دچار آتروفی شده و روند اسپرماتوژنز کند گشته و تعداد سلول‌های زایا کاهش یافته بود.

نتیجه‌گیری: مترونیدازول موجب کاهش هورمون‌های گونادوتروپین و تستوسترون می‌شود و از این طریق و یا راه‌های احتمالی دیگر مانند اثر مستقیم بر روی سلول‌های لیدیک و سلول‌های دودمان اسپرم موجب کاهش روند اسپرماتوژنز در بیضه می‌شود. بنابراین توصیه می‌شود به ویژه در جنس مذکر در مصرف این دارو احتیاط لازم به عمل آید.

واژگان کلیدی: مترونیدازول، گونادوتروپین، تستوسترون، بیضه

۱- استادیار گروه بافت‌شناسی و جنین‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- استادیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۳- دانشیار گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

* نویسنده مسول: داود سهرابی

آدرس: زنجان، شهرک کارمندان، دانشکده پزشکی، گروه بافت‌شناسی

پست الکترونیک: sohrabidavood@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۲ ۲۴۱ ۵۷۰۷

دورنویس: ۰۲۴۱ ۴۲۴۹۵۵۳

تاریخ دریافت: ۸۵/۴/۱۸

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۶/۵/۱۸

مقدمه

به عنوان عامل ضدباروری در افراد مذکر ولی نه در جنس مونث شناخته می‌شوند [۲]. همچنین این مولف در سال ۱۹۸۹ مترونیدازول و اورنیدازول را به عنوان یک داروی موثر ضدباروری در جنس مذکر شناخته و می‌گوید این دارو موجب آتروفی بیضه‌ها در موش‌های Rat نر می‌شود [۳، ۴]. Oberlander و همکاران در سال ۱۹۹۴ اثرات مترونیدازول را بر روی اپیدیدیم و اسپرم‌های

مترونیدازول با فرمول شیمیایی $C_6H_9N_3O_3$ از گروه ۵ - نیتروایمیدازول به عنوان یک داروی ضد میکروبی شناخته می‌شود که در درمان عفونت‌های تک‌یاخته‌ای مانند تریکوموناس و آمیبیاز و گروهی از باکتری‌های بی‌هوازی موثر است [۱]. McClain و همکاران او در سال ۱۹۸۸ گزارش دادند: مشتقات نیتروایمیدازول

موجود در آن ناحیه مطالعه کرده و گزارش می‌دهند. بیشترین اثر مترونیدازول در کاهش تحرک اسپرم‌ها است [۵]. همین مولف و همکاران او در سال ۱۹۹۶ اثرات سوء مشتقات نیتروایمیدازول را بر روی لقاح و ضد باروری آن مطالعه کرده‌اند و می‌گویند: این ترکیبات موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک اسپرم‌های اپیدیدیم شده و موجب کاهش تحرک اسپرم‌ها می‌شود [۶]. Bone و همکاران نیز در سال ۲۰۰۰ اثرات Ornidazole یکی از آنالوگ‌های مترونیدازول را بر روی اسپرم‌ها ناشی از اثرات مهاری آن بر روی آنزیم‌های گلیکولیز می‌دانند که می‌تواند موجب کاهش قدرت حرکت اسپرم‌ها بشود [۷]. Grover و همکاران در سال ۲۰۰۱ اثرات مترونیدازول را بر روی اسپرماتوژنز و هورمون‌های FSH, LH و تستوسترون مطالعه کرده و می‌گویند مترونیدازول موجب کاهش این هورمون‌ها شده و موجب کند شدن یا حتی متوقف شدن روند اسپرماتوژنز می‌گردند [۸]. Yeung و همکاران او در سال ۱۹۹۵ گزارش می‌دهند Ornidazole موجب کاهش حرکت اسپرم‌ها شده و در توان‌یابی (Capacitation) آنها اختلال ایجاد می‌کند [۹]. Cooper و همکاران او در سال ۱۹۹۷ و Pang و همکاران او در سال ۲۰۰۵ تاثیرات Ornidazole را بر روی اسپرم مطالعه کرده و گزارش می‌دهند: ارنیدازول اثر مهاری بر روی آنزیم آلفا - گلیکوزیداز مالونیدالدئید (MDA) اسپرم‌های بیضه و اپیدیدیم دارند و به این ترتیب قدرت حرکت اسپرم‌ها را کاهش می‌دهند [۱۰، ۱۱]. Andrea و همکاران او در سال ۱۹۹۸ اثرات ضدباروری Ornidazole و آنالوگ‌های آن را ناشی از اثرات این داروها در تخریب پروتئین‌های ناحیه سر اسپرم می‌دانند [۱۲]. با توجه به مطالعات گذشته و مصرف زیاد داروی مترونیدازول و آنالوگ‌های آن در کشور ما در بیماری‌های گوارشی و بیماری‌های دستگاه تناسلی تصمیم گرفتیم اثرات آن را بر روی گونادوتروپین‌ها و تستوسترون و اسپرماتوژنز با دوزهای جدید بررسی کنیم و در این مطالعه تغییرات کمی و تغییرات کیفی و پاتولوژیک را با دوزهای متفاوت از دیگران بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی بر روی موش‌های صحرایی نر (Rat) سفید از نژاد Wistar که از سرم‌سازی حصارک خریداری شد و به اتاق حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان منتقل گردید و در آنجا پرورش یافتند تا با محیط جدید سازش یابند. دمای اتاق حیوانات بین ۲۳-۲۱ درجه‌ی

نتایج

۱- تفاوت وزن بدن حیوانات در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل بعد از اتمام تجربیات معنی‌دار نبود اما وزن نسبی بیضه‌ها، کیسه‌ی منی (سمینال وزیکول) و پروستات کاهش معنی‌داری در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل نشان می‌داد (جدول شماره ۱).

جدول ۱- مقایسه‌ی میانگین وزن بدن، وزن غدد تناسلی و ضمیمه (نسبت درصد وزن بدن) در گروه‌های کنترل و تجربی در موش تحت تاثیر مترونیدازول (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه‌های مورد مطالعه	وزن بدن (گرم)	وزن نسبی دو بیضه (میلی‌گرم)	وزن نسبی سمینال وژیکول (میلی‌گرم)	وزن نسبی پروستات (میلی‌گرم)
شاهد (کنترل)	۱۹۲/۵ \pm ۱۷/۲	۱۴۷۲/۲ \pm ۳۱/۹	۴۷۶/۶ \pm ۲۲/۱	۲۲۹/۴ \pm ۲۱/۳
۲۰۰ میلی‌گرم مترونیدازول	۱۸۴/۶ \pm ۱۶/۱	***۱۳۱۸/۴ \pm ۳۴/۲	***۳۹۱/۷ \pm ۲۲/۲	***۱۸۹/۳ \pm ۴/۳
۴۰۰ میلی‌گرم مترونیدازول	۱۸۰/۷ \pm ۱۵/۴	***۱۲۹۱/۸ \pm ۳۵/۳	***۳۲۵/۲ \pm ۱۸/۹	***۱۶۱/۴ \pm ۱۳/۵

*** مقادیر از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۱)

۲- سنجش هورمون‌های پلازما:

الف: هورمون FSH: کاهش معنی‌داری در هورمون FSH

در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ در اثر مترونیدازول در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد (جدول شماره ۲).

ب: هورمون LH: هورمون LH نیز در اثر مترونیدازول در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌داد (جدول شماره ۲).

ج: هورمون تستوسترون: هورمون تستوسترون در اثر مترونیدازول کاهش معنی‌داری را در گروه تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌داد (جدول شماره ۲).

۳- نتایج بررسی کمی سلول‌های جنسی: همان طوری که در جدول شماره ۳ مشاهده می‌شود کاهش معنی‌داری در تعداد اسپرماتوگونی‌ها بین گروه‌های تجربی و کنترل مشاهده نشد. اما کاهش معنی‌داری در اسپرماتوسیت‌های اولیه و اسپرماتیدها بین گروه‌های تجربی و کنترل مشاهده شد (p<۰/۰۱). از سوی دیگر

تفاوت سلول‌های سرتولی بین گروه‌های تجربی و کنترل، معنی‌دار مشاهده نشد. اما کاهش معنی‌داری در سلول‌های لیدیگ بین گروه‌های تجربی و کنترل مشاهده شد (p<۰/۰۱).

۴- مطالعات بافتی و سلولی: از نظر مطالعات تشریحی بعد از برداشتن بیضه‌ها که با همکاری دو نفر پاتولوژیست ارشد انجام گرفت، اندکی چروکیدگی در بیضه‌ها وجود داشت ولی سایر آنومالی‌های تشریحی در آن‌ها دیده نشد اما مطالعات هیستوپاتولوژیک نشان داد که آتروفی و تغییرات دژنراتیو در لوله‌های اسپرم‌ساز وجود دارد و در مجموع دودمان سلول‌های زاینده اسپرم، کاهشی را در لوله‌های اسپرم‌ساز نشان می‌داد. غشای پایه در لوله‌های اسپرم در بعضی نقاط گسیختگی و در بعضی مناطق ضخیم‌شدگی نشان می‌دهد. تعدادی از لوله‌ها از نظر سلول‌های جنسی فقیر هستند و حتی بافت بینابینی لوله به ویژه از نظر سلول‌های لیدیگ آتروفیه شده بود (شکل شماره ۱ و ۲).

جدول ۲- مقایسه‌ی میانگین هورمون‌های پلازما در گروه‌های کنترل و تجربی در موش تحت تاثیر مترونیدازول (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه‌های مورد مطالعه	FSH(U/L)	LH(U/L)	تستوسترون (ng/ml)
شاهد (کنترل)	۰/۶۳ \pm ۰/۱۹	۰/۸۹ \pm ۰/۳۷	۰/۱۸ \pm ۰/۳۲
۲۰۰ میلی‌گرم مترونیدازول	***۰/۲۴ \pm ۰/۱۹	***۰/۵۴ \pm ۰/۱۷	***۰/۱۱ \pm ۰/۲۵
۴۰۰ میلی‌گرم مترونیدازول	***۰/۱۷ \pm ۰/۳۱	***۰/۳۱ \pm ۰/۱۳	***۰/۰۹ \pm ۰/۱۶

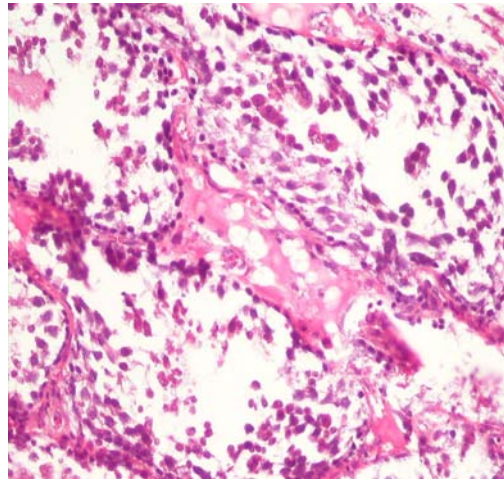
*** مقادیر از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۱)

جدول ۳- مقایسه‌ی میانگین تعداد سلول‌های زایا، سرتولی و لیدیگ در گروه‌های کنترل و تجربی در موش تحت تاثیر مترونیدازول (میانگین \pm انحراف معیار)

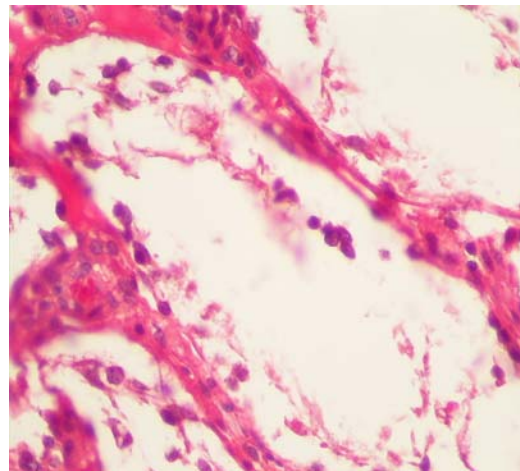
گروه‌های مورد مطالعه	اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت اولیه	اسپرماتید	سلول سرتولی	سلول لیدیگ
شاهد (کنترل)	۳/۲۵ \pm ۰/۶	۶۱/۹۱ \pm ۸/۲	۸۴/۶۲ \pm ۲/۹	۱۰/۰۴ \pm ۱/۵	۳۳/۶۲ \pm ۷/۱
۲۰۰ میلی‌گرم مترونیدازول	۳/۱۸ \pm ۰/۵	***۳۹/۴۲ \pm ۷/۹	***۷۳/۶۸ \pm ۲/۷	۱۰/۷۲ \pm ۱/۲	***۲۶/۱۲ \pm ۶/۸
۴۰۰ میلی‌گرم مترونیدازول	۳/۰۸ \pm ۰/۳	***۲۶/۳۲ \pm ۶/۵	***۶۳/۵۱ \pm ۳/۱	۱۰/۴۲ \pm ۱/۴	***۱۹/۳۵ \pm ۴/۷

*** مقادیر از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۱).

که به طور یقین آثار آن را بر روی اسپرماتوزن می‌بینیم. نتایج این پژوهش این گونه نشان می‌دهد که روند اسپرماتوزن کند شده است. از طرفی مترونیدازول موجب کاهش هورمون‌های گونادوتروپین و تستوسترون شده است که شروع و دوام اسپرماتوزن وابسته به این هورمون‌هاست [۱۳، ۱۴]. این احتمال وجود دارد اثر سوء مترونیدازول بر روی اسپرماتوزن به صورت غیر مستقیم وابسته به این هورمون‌ها به ویژه تستوسترون باشد که در این تجربه کاهش معنی‌داری در گروه‌های تجربی نشان داده است. مطالعات گروه زیادی از محققین از جمله McClain نشان می‌دهد که مترونیدازول و آنالوگ‌های آن موجب کاهش تحرک اسپرم‌ها می‌شود اما تغییرات آن بر روی لوله‌های اسپرم‌ساز برگشت‌پذیر است [۲، ۳، ۴]. در مطالعه‌ی ما نیز تغییرات دژنراتیو در لوله‌های اسپرم‌ساز مربوط به یک عامل ثانویه یا همان مترونیدازول است که می‌تواند برگشت‌پذیر باشد و موافق یافته‌های آنها است. در مطالعه‌ی دیگر Pang و همکاران گزارش می‌دهند اثرات Ornidazole یکی از آنالوگ‌های مترونیدازول بر روی اسپرم‌ها ناشی از مهار آنزیم آلفا گلیکوزیداز مالونید آلدئید (MDA) و فروکتوز است که موجب کاهش فعالیت حرکتی اسپرم‌ها می‌شود [۱۱]. Grover و همکاران اثرات مترونیدازول را بر روی اسپرماتوزن و گونادوتروپین‌ها و تستوسترون بررسی کرده‌اند می‌گویند مترونیدازول موجب کاهش این هورمون‌ها و اسپرماتوزن می‌شود [۸]. یافته‌های مطالعه ما نیز حاکی از کاهش تستوسترون و گنادوتروپین‌ها در گروه‌های تجربی است و همچنین کاهش روند اسپرماتوزن نیز در مطالعه‌ی ما مشهود است و موافق یافته‌های آنها است. McClain و همکاران نیز معتقد هستند مترونیدازول موجب Azoospermia شده و به این ترتیب موجب عقیمی موش‌ها می‌گردد [۴] که با یافته‌های این پژوهش هم‌خوانی دارد که مقاطع بافتی کاهش سلول‌های جنسی و آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز را نشان می‌دهد. اکثر مطالعات بر خاصیت ضدباروری Metronidazole & Ornidazole تاکید دارند [۱۵، ۱۶] و یافته‌های ما نیز نشان می‌دهد در اثر مترونیدازول وزن نسبی بیضه‌ها کاهش یافته است که می‌تواند در تولید اسپرم‌ها موثر باشد از طرف دیگر کاهش وزن نسبی سمینال وزیکول و حتی پروستات در اثر مترونیدازول به طور یقین بر روند یک اسپرماتوزن موفق تاثیر منفی خواهد داشت که همین طور هم هست. از سوی دیگر مطالعات هیستوپاتولوژیک این پژوهش نشان می‌دهد تعداد سلول‌های زاینده دودمان اسپرم کاهش چشم‌گیری داشتند که این می‌تواند اثر مستقیم مترونیدازول و یا آنالوگ‌های آن بر روی بیضه باشد و یا فرضیه‌ی دیگری که دیگران نیز به آن اشاره کرده‌اند از



شکل ۱- نمای میکروسکوپی از لوله‌های اسپرم‌ساز گروه تجربی اول (۲۰۰ میلی‌گرم مترونیدازول) به کندی روند اسپرماتوزن و تخلیه برخی لوله‌های اسپرم‌ساز و کاهش سلول‌های لیدیگ و افزایش چربی بین سلولی توجه نمایند (رنگ‌آمیزی H-E و ۱۰۰x)



شکل ۲- نمای میکروسکوپی لوله‌های اسپرم‌ساز گروه تجربی دوم (۴۰۰ میلی‌گرم مترونیدازول) لوله اسپرم‌ساز از نظر سلول‌های جنسی بسیار فقیر است اسپرماتوزن تقریباً متوقف شده و لوله آتروفیه شده‌اند و غشای پایه‌ی اطراف لوله‌ها ضخیم‌شدگی را نشان می‌دهد (رنگ-آمیزی H-E و ۴۰۰x)

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد کاهش معنی‌داری در وزن نسبی بیضه‌ها و غدد تناسلی ضمیمه یعنی پروستات و سمینال وزیکول در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد فرآیند اسپرماتوزن با حجم و وزن بیضه‌ها ارتباط مستقیمی دارد از طرفی آتروفیه شدن غدد تناسلی ضمیمه بر روی یک اسپرماتوزن موفق، موثر است [۴]. در این مطالعه وزن اندام‌های مذکور به طور معنی‌داری کاهش یافته است

روند اسپرماتوزنز گشته است. گرچه برای اثبات این موارد احتیاج به مطالعات بیشتر به ویژه با میکروسکوپ الکترونی و روش‌های هیستوشیمیایی است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعات قبلی و این پژوهش باید داروی مترونیدازول را با احتیاط بیشتری در مردان تجویز کرد و در صورت امکان از داروهای مشابه استفاده نمود.

جمله اینکه Foote در سال ۲۰۰۲ در گزارشی می‌گوید مترونیدازول و آنالوگ‌های آن فقط بر روی ساختمان مولکولی تاژک‌های اسپرم‌ها تاثیر دارد و موجب کم‌ترکی یا بی‌ترکی اسپرماتوزونیدها می‌شود و از این طریق موجب نازایی می‌گردد [۱۷]. علی‌رغم اینکه در این مطالعه تغییرات معنی‌داری در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی بین گروه‌های کنترل و تجربی مشاهده نشد اما تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و اسپرماتیدها در گروه تجربی کاهش معنی‌داری مشاهده شد. علت احتمالی آن توقف رشد سلول‌ها در مرحله‌ی میوز I می‌تواند باشد که موجب کنده

References:

- [1] Bone W, Yeung CH, Skupin R, Haufe G, Cooper TG. Toxicity of ornidazole and its analogues to rat spermatozoa as reflected in motility parameters. *Int J Androl* 1997; 20: 347-355.
- [2] McClain RM, Downing JC. Reproduction studies in rats treated with ornidazole. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 92: 480-487.
- [3] McClain RM, Downing JC. The effect of ornidazole on fertility and epididymal sperm function in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 92: 489-496.
- [4] McClain RM, Downing JC, Edgcomb JE. Effect of metronidazole on fertility and testicular function in male rats. *Fundam Appl Toxicol* 1989; 12: 386-396.
- [5] Oberlander G, Yeung CH. Induction of reversible infertility in male rats by oral ornidazole and its effects on sperm motility and epididymal secretions. *J Reprod Fertil* 1994; 100: 551-559.
- [6] Oberlander G, Yeung CH, Cooper TG. Influence of oral administration of ornidazole on capacitation and the activity of some glycolytic enzymes of rat spermatozoa. *J Reproduc Fertil* 1996; 106: 231-239.
- [7] Bone W, Jones NG, Kamp G, Yeung CH, Cooper TG. Effect of ornidazole on fertility of male rats: inhibition of a glycolysis-related motility pattern and zona binding required for fertilization in vitro. *J Reprod Fertil* 2000; 118: 127-135.
- [8] Grover JK, Vats V, Srinivas M, Das SN, Jha P, Gupta DK, et al. Effect of metronidazole on spermatogenesis and FSH, LH and testosterone levels of pre-pubertal rats. *Indian J Exp Biol* 2001; 39: 1160-1162.
- [9] Yeung CH, Oberlander G, Cooper TG. Effects of the male antifertility agent ornidazole on sperm function in vitro and in the female genital tract. *J Reprod Fertil* 1995; 103: 257-264.
- [10] Cooper TG, Yeung CH. Recent biochemical approaches to post-testicular, epididymal contraception. *Hum Reprod Update* 1999; 5: 141-152.
- [11] Pang XB, Zhu Y, Lih HG, Zhou H, Zhu JW, Liao AH, et al. Effect of ornidazole on sperm in rats and its mechanism of action. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2005; 11: 26-28.
- [12] Wagenfeld A, Yeung CH, Strupat K, Cooper TG. Shedding of rat epididymal sperm protein association with infertility induced by ornidazole and Alpha Chlorohydrin. *Biol Reprod* 1998; 58: 1257-1263.
- [13] Menendez DA, Bendesky E, Rojas F, Salamanca P, Ostrosky-Wegman : Role of P53 functionality in the genotoxicity of metronidazole and its hydroxy metabolite. *Mutat. Res* 2002; 501: 57-67.
- [14] Russell LD, Alger LF, Naquin LG. Hormonal control of pubertal spermatogenesis. *Endocrinology* 1987; 120: 1615-1632.
- [15] Abeer F EL, Nahas and Ibrahim M EL-Ashmawy. Reproductive and cyto genetic toxicity of metronidazole in male mice. *Pharmacology & Toxicology* 2004; 94: 226-233.
- [16] Cooper TG, Yeung CH, Skupin R, Haufe G. Antifertility potential of ornidazole analogues in rats. *J Androl* 1997; 18: 431-438.
- [17] Foote RH. Effects of metronidazole, ipronidazole, and dibromochloropropane on rabbit and human sperm motility and fertility. *Reprod Toxicol* 2002; 16: 749-755.