مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان- جلد ۹، شماره۱ (پیاپی ۲۵) ، پائیز ۱۳۸۶

بررسی اثر دیازینون بر روی فرآیند اسپرماتوژنزیس درموش سفید کوچک

اسماعیل فتاحی[*۱](Ph.D)، سید غلامعلی جورسرایی[۲](Ph.D)، کاظم پریور[۳](Ph.D)، علی اکبر مقدم نیا [۴](Ph.D)

۱ - *دانشگاه آزاد اسلامی آیت ا... آملی، گروه زیست شناسی*

۲- *دانشگاه علوم پزشکی بابل، گروه آناتومی و جنین شناسی*

۳- *دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست شناسی جانوری*

۴- *دانشگاه علوم پزشکی بابل، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی*

چکیده

سابقه وهدف: دیازینون یکی از سموم ارگانوفسفره است که برای کنترل آفات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این سم فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز را مهار کرده و احتمالاً باعث آسیب سلول‌های جنسی و دستگاه تولید مثلی می‌گردد. با توجه به مصرف فراوان این سم در مزارع برنج و باغ مرکبات به ویژه در مناطق شمال کشور و ضرر احتمالی آن‌ها، در صدد برآمدیم تا تاثیر دیازینون را بر روی روند اسپرماتوژنزیس در موش آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش: موش‌های نر بالغ به سه گروه آزمایشی، شم و شاهد تقسیم شدند. گروه آزمایشی، دیازینون را با دوز ۳۰ mg/kgبه صورت داخل صفاقی و به مدت یک ماه (۵ روز متوالی و دو روز استراحت در هفته) دریافت کردند، به گروه شم آب مقطر تزریق شد وگروه شاهد هیچگونه تزریقی نداشتند. حیوانات ۷ روز بعد از آخرین تزریق کشته شده و با خارج کردن بیضه، برش‌های بافتی از آن‌ها تهیه گردید و سلول‌های ژرمینال، رده‌های اسپرماتوگونی و لایدیگ بعد از رنگ آمیزی، مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین با استفاده از ترازوی حساس و ریز سنج، وزن و قطر بیضه اندازه گیری شد.

یافته‌ها: پس از تزریق طولانی مدت دیازینون، تعداد سلول‌های ژرمینال، اسپرماتوگونی‌ها، سلول‌های لایدیگ، تعداد عروق خونی، قطر لوله‌های اسپرم ساز و قطر بیضه نسبت به گروه شاهد و شم کاهش معنی‌داری پیدا کرده است.

نتیجه‌گیری: مقایسه گروه‌های آزمایشی و شاهد نشان می‌دهد که دیازینون به عنوان یک فاکتور محیطی می‌تواند بر روی بافت بیضه اثر منفی داشته باشد. کاهش تعداد سلول‌های ژرمینال که برای تولید اسپرم ضروری هستند می‌تواند احتمال ناباروری را افزایش دهد. این مطالعه توجه بیش‌تر به مدیریت صحیح در استفاده از این گونه سموم را پیشنهاد می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: دیازینون، اسپرماتوژنزیس، سلول‌های لایدیگ، لوله‌های اسپرم ساز، موش کوچک

مقدمه

دیازینون یک ترکیب آلی فسفردار غیر سیستمیک است. این سم در مزارع کشاورزی و باغات به صورت گسترده برای از بین بردن کرم ساقه‌خوار و آفات درختان مورد استفاده قرار

*نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۳۲۵۵۲۱۱ نمابر: ۲۲۲۹۹۳۶- ۰۱۱۱

Email:esmail_fattahy@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۸/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۱/۲۴

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

می‌گیرد. این احتمال وجود دارد که دیازینون در انواع جانوران ایجاد سمیت کرده و طیف وسیعی از اثر بیوشیمیایی خود را در دوزهای غیر کشنده بر جای گذارد. کاهش وزن در اندام‌های جنسی، کاهش حرکت، افزایش ناهنجاری و مرگ اسپرم نیز از اثرات منفی آن بوده [۱] و ممکن است باعث صدمات سلولی، ژنتیکی و محیطی گردد [۲]. شدت اثرتخریبی ناشی از تماس با دیازینون، به میزان دوز، نحوه تماس، چگونگی جذب، متابولیت، تجمع و پایداری آن در بدن بستگی دارد و عمدتاً از طریق پوست، چشم، تنفس و بلع وارد بدن می‌شود [۳] ممکن است آسیب‌هایی را بر جای بگذارد که عموماً کشاورزان، باغ داران و ساکنان مجاور آن‌ها درگیر هستند. سردرد، تهوع، مشکلات گوارشی، عوارض پوستی، مشکلات کبدی و کلیوی و حتی تشنج و مرگ از جمله مواردی است که گزارش شده است [۴]. مکانیسم اصلی ارگانو فسفره‌ها به ویژه دیازینون، مهار آنزیم استیل‌کولین استراز می‌باشد که به جهت نقش این آنزیم در رشد و نمو سیستم عصبی، می‌تواند بر روی اعصاب مرکزی و یا محیطی جنین، اثر تخریبی داشته باشد [۵،۶]. مهار این آنزیم معمولاً از یک تا سه ساعت بعد از تزریق داخل صفاقی شروع شده و احتمال دارد تا ۲۴ ساعت باقی بماند. گرچه مکانیسم تاثیر دیازینون به خوبی مشخص نیست [۷]، ولی ساختار کروماتین اسپرم را از طریق فسفوریلاسیون پروتامین‌های هسته آن تغییر داده و بر روی بقا، حرکت و مورفولوژی اسپرم، مخصوصاً در مراحل نهایی بلوغ آن، می‌تواند اثر منفی داشته باشد [۸]. بر روی تخمدان نیز موثر واقع شده و باعث نکروزه شدن آن می‌گردد. همچنین فولیکول‌ها را آسیب رسانده و اووسیت‌ها نیز در مراحل بلوغ خود دچار مشکل می‌شوند [۹] و با کاهش سطح استرادیول در خون، احتمال آسیب به اووسیت‌ها افزایش پیدا می‌کند [۱۰]. دیازینون از طریق سست کردن بافت همبند و عضلات صاف اطراف لوله‌های اسپرم ساز، قطر آن را تغییر می‌دهد. همچنین قطر سلول‌های ژرمینال تغییر یافته و ممکن است اندازه این سلول‌ها، از حد طبیعی کوچک‌تر شوند [۹]. بعضی از محققین، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید رادیکال‌های آزاد حاصل از متابولیسم سموم ارگانوفسفره را به عنوان مکانیسم اصلی در تخریب سلول و بافت‌های مختلف بدن پیشنهاد می‌کنند [۱۱،۱۲]. چون ارگانو فسفره‌ها عوامل آلکیله کننده هستند [۱۳]. لذا بعضی از مطالعات حاکی از آن است که عامل‌های آلکیله کننده روی اسپرماتوژنزیس اثر گذاشته و ساختار کروماتین اسپرم را از طریق باند شدن با پروتامین و DNA تغییر داده و نهایتا باعث دژنره شدن آن می‌شوند [۱۴]. عده‌ای از محققین، ترکیبات ارگانوفسفره را درحالت in-vivo و یا in-vitro، به عنوان یک موتاژن می‌شناسند [۱۵] و معتقدند که دیازینون موجب کاهش وزن اندام‌های جنسی، بقا و حرکت اسپرم و افزایش ناهنجاری‌های مورفولوژیکی در اسپرم می‌شود [۱۶]. همچنین کاهش سطح تستوسترون پلاسما و کاهش میزان باروری از جمله مواردی است که در بعضی از مطالعات به آنها اشاره شده است [۱۷]. حتی کشاورزانی که در معرض دیازینون قرار می‌گیرند، آنوپلوئیدی کروموزومی در آنها افزایش یافته [۱۸] و می‌تواند یک عامل تغییر دهنده ساختار کروموزوم باشد [۱۹]. باید در نظر داشت که گرچه این سم می‌تواند به عنوان یک عامل ژنوتوکسیک مطرح باشد ولی تا رسیدن به یک نتیجه قطعی مطالعات بیش‌تری را می‌طلبد [۲۰]. دیازینون بر روی پارامترهای اسپرم انسان در حالت in-vitro نیز باعث کاهش حرکت اسپرم می‌شود [۲۱]. بعضی از مطالعات حاکی از تأثیر آن بر روی سلول‌های جنسی نر و افزایش ناهنجاری در ساختار اسپرم کسانی است که در معرض اینگونه سموم قرار می‌گیرند [۳]. در مقابل کسانی هم هستند که حتی دوز ۴۵ mg را کارسینوژن نمی‌دانند [۲۲] و معتقدند که دیازینون به تنهایی نمی‌تواند تغییر خاصی در بافت‌های بدن ایجاد کند [۲۳] و تاثیر آن بر روی ساختار بیضه بسیار ناچیز است [۲۴]. با توجه به گزارشات مختلف در خصوص اثرات این سم، و اینکه اثر آن بر روی بافت بیضه و روند اسپرماتوژنزیس در حیوانات آزمایشگاهی به صورت In vivo، جای بحث و بررسی زیادی وجود دارد، لذا درصدد بر آمدیم تا در این مطالعه، تاثیر آن را بر روی بافت بیضه و

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

فرآیند اسپرماتوژنزیس در موش آزمایشگاهی از نژاد Balb/C، مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بصورت تجربی- آزمایشگاهی انجام پذیرفت.

۳۶ سر موش نر بالغ نژاد Balb/C با وزن متوسط ۲۵تا۳۰ گرم و سن متوسط ۱۰ تا ۱۲ هفته، از انستیتو پاستور تهران تهیه شده و بطور تصادفی به ۳ گروه آزمایشی، شاهد و شم تقسیم گردیدند. موش‌ها در قفس‌های استاندارد در شرایط ۳±۲۲ درجه سانتیگراد نگهداری و مراقبت شدند. همگی تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند.

تهیه محلول دیازینون: با اضافه کردن ۰/۲ میلی‌لیتر سم دیازینون به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، امولسیون آن تهیه گردید و بعد از تعیین LD50، دوز تزریقی برابر ۳۰ mg/kg تعیین شد.

تزریق دیازینون:گروه آزمایشی به مدت یک ماه (پنج روز متوالی در طول یک هفته و دو روز استراحت) به میزان ۳۰mg/kg دیازینون (تهیه شده از شرکت شیمی کشاورز) بصورت داخل صفاقی دریافت کردند. به گروه شم تنها آب مقطر تزریق شد و گروه شاهد نیز هیچگونه تزریقی نداشتند. بعد از سپری شدن دوره تزریق، موش‌ها به مدت یک هفته در شرایط اپتیموم قرار گرفتند، سپس نمونه برداری، انجام پذیرفت.

تهیه نمونه بافت: برای ارزیابی نمونه‌ها، بعد از کشتن موش‌ها، بیضه‌ها خارج شده و در داخل فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. با سپری شدن زمان فیکساسیون، قسمت میانی بیضه انتخاب شده و برای پروسسینگ آماده گردید. پس از انجام مراحل تهیه بافت و تهیه قالب‌های پارافینی، با استفاده از میکروتوم، برش‌هایی به ضخامت پنج میکرون به صورت سریال تهیه گردید و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند.

اندازه‌گیری و شمارش: برای شمارش رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک، لایدیگ، سرتولی و عروق خونی در واحد سطح و همچنین برای اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، برش‌های بافتی با استفاده از صفحه چشمی مدرج (eye piece) که بر روی عدسی چشمی میکروسکوپ نوری سوار می‌گردد، مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای شمارش، تعداد سلول‌هایی که در داخل صفحه مدرج قرار می‌گرفت، در چند ناحیه از یک برش و به صورت سریالی محاسبه شدند. همچنین برای اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم ساز از صفحه مدرج خط کش‌دار استفاده گردید. برای بررسی قطر بیضه‌ها از وسیله ریز سنج جهت اندازه‌گیری آن استفاده شد. همچنین با استفاده از ترازوی حساس وزن بیضه‌ها مشخص گردید.

سپس داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۳ و با استفاده از تست‌هایTukey's HSD, One way ANOVA تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

سلول‌های ژرمینال و اسپرماتوسیت‌ها: با شمارش سلول‌های ژرمینال و اسپرماتوسیت‌ها در واحد سطح، میانگین تعداد سلول‌های ژرمینال و اسپرماتوسیت‌ها به ترتیب در گروه آزمایشی برابر ۶±۰/۲۶ و ۳۵/۰۲±۰/۸ به دست آمد. شمارش سلول‌های ژرمینال در گروه شاهد، ۹/۰۷±۰/۳۴ و اسپرماتوسیت‌ها در این گروه برابر ۳۸/۵۰±۱/۱ محاسبه گردید. در گروه شم نیز میانگین این سلول‌ها به ترتیب برابر ۱۱/۲۶±۰/۳۴۷ و ۳۸/۰۱±۱/۲۵ به دست آمد. گروه آزمایشی نسبت به دو گروه شم و شاهد، دارای کاهش معنی‌داری بود ($p<0/001$)، ولی این تفاوت بین دو گروه شم و شاهد معنی‌دار نبود (جدول ۱).

اسپرماتید گرد و سلول‌های لایدیگ: نتایج بررسی میکروسکوپی بافت بیضه، نشان دهنده کاهش معنی‌داری بین تعداد اسپرماتید گرد در گروه آزمایشی دیازینون و مقایسه آن با گروه شاهد و شم می‌باشد. در بررسی‌های به عمل آمده از مقاطع بافتی بیضه در گروه آزمایشی دیازینون نشان می‌دهد که تعداد سلول‌های لایدیگ با میانگین ۶/۲۹±۰/۳۶ در مقایسه با دو گروه شاهد و شم بترتیب با میانگین ۱۱/۳۷±۰/۷۶ و

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

۱۱/۳۲±۰/۳۰، کاهش معنی‌داری پیدا کرده است (p<۰/۰۰۱) (جدول ۱).

وزن نسبی و قطر بیضه : با اندازه‌گیری قطر بیضه مشخص گردید که اندازه آن در گروه آزمایشی دیازینون با میانگین

جدول ۱. بررسی میانگین رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک و سلول‌های لایدیگ در موش‌های آزمایشگاهی، ۷ روز بعد از تزریق دوز مکرر (X±SE)

پارامترها / گروه‌ها	سلول ژرمینال	اسپرماتوسیت‌ها	اسپرماتید گرد	سلو ل‌های لایدیگ
شاهد	۹/۰۷±۰/۳۴	۳۸/۵۰±۱/۱۰	۱۲/۰۴±۰/۲۵	۱۱/۳۷±۰/۷۶
شم	۸/۸۲±۰/۳۹	۳۸/۰۱±۱/۲۵	۱۱/۹۱±۰/۱۹	۱۱/۳۲±۰/۳۰
دیازینون	۶±۰/۲۶*	۳۵/۰۲ ±۰/۸۰*	۹/۳۸±۰/۴۱*	۶/۲۹±۰/۳۶*

* = (p<۰/۰۰۱)

جدول ۲. بررسی میانگین قطر لوله اسپرم‌ساز، وزن نسبی، قطربیضه و تعدادعروق خونی در موش‌های آزمایشگاهی، ۷ روز بعد از تزریق دوزمکرر (X±SE)

پارامترها / گروه‌ها	قطر لوله اسپرم ساز	وزن نسبی بیضه	قطر بیضه	تعداد عروق خونی
شاهد	۷۲/۲۵±۱/۶۶	۸/۲۲±۰/۵۰	۷/۰۱±۰/۴۸	۱/۱±۰/۱۱
شم	۷۱/۹۳±۱/۶۱	۸/۳±۰/۲۲	۶/۹±۰/۵۱	۱/۱۰±۰/۱۲
دیازینون	۶۵/۱۸±۱/۳۶*	۸/۲۳±۰/۲۵	۶/۴۴±۰/۱۸*	۰/۷۰۷±۰/۰۶*

* = (p<۰/۰۰۱)

۶/۴۴±۰/۱۸، در مقایسه با گروه‌های شاهد و شم به ترتیب با میانگین ۷/۰۱±۰/۴۸ و ۶/۹±۰/۵۱، کاهش پیدا کرده است که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱). این داده‌ها در اندازه‌گیری وزن نسبی بیضه، در گروه آزمایشی با میانگین ۸/۲۳±۰/۲۵، نسبت به دو گروه شاهد و شم به ترتیب با میانگین ۸/۲۲±۰/۵۰ و ۸/۳±۰/۲۲ اختلاف معنی‌داری از خود نشان نداد (p<۰/۰۷) (جدول۲).

قطر لو له های اسپرم ساز: با اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم ساز، میانگین آن به ترتیب در گروه آزمایشی ۶۵/۱۸±۱/۳۶ ، در گروه شاهد برابر ۷۲/۲۵±۱/۶۶و در گروه شم نیز ۷۱/۹۳±۱/۶۱به دست آمد. گروه آزمایشی نسبت به دو گروه شم و شاهد، کاهش معنی‌داری از خود نشان داد (p<۰/۰۰۱) (جدول ۲).

عروق خونی: همچنین تعداد عروق خونی در واحد سطح نیزدر گروه آزمایشی با میانگین ۰/۷۰۷±۰/۰۶ نسبت به دو گروه شاهد وشم به ترتیب با میانگین ۱/۱±۰/۱۱ و ۱/۱۰±۰/۱۲، کاهش معنی‌داری یافت (p<۰/۰۰۱) (جدول ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی ما نشان داد که سم دیازینون، باعث کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، سلول‌های لایدیگ، تعداد عروق خونی و قطر بیضه شده است. مسلماً متعاقب کاهش رده‌های سلولی، تولید اسپرم نیز تحت تاثیر قرار گرفته و کاهش خواهد یافت. بسیاری از ترکیبات شیمیایی [۲۵]، گازها، [۲۶] و مواد آلاینده مثل سرب [۲۷] و یا عناصر دیگری که در محیط وجود دارند [۲۸]، بر روی تولید مثل اثر گذاشته و گاهی اوقات باعث آسیب‌های جبران ناپذیری می‌شوند. دراین میان دیازینون به عنوان یکی از سموم ارگانوفسفره که علیه آفات در مزارع برنج و باغات مورد استفاده قرار می‌گیرد از این قاعده جدا نیست [۲۹]. دیازینون به سرعت در محیط و همچنین در داخل بدن تجزیه شده و اثرش بیش‌تر مربوط به متابولیت‌های آن در کبد است [۱]. گزارشاتی در خصوص عوارض آن برروی دستگاه گوارش، تنفس و تولید مثل، وجود دارد [۳۰]. ارگانوفسفره‌ها چون بر روی دستگاه تناسلی بدن انسان و حیوانات عوارضی باقی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

می‌گذارند، احتمالاً با تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ایجاد رادیکال آزاد و اکسیژن‌های واکنش‌پذیر، موجب القای مرگ سلولی می‌شوند [۱۱،۳۱]. لذا ممکن است سم دیازینون مستقیماً بر روی بافت‌ها و سلول‌های جنسی اثر گذاشته و سبب آسیب در ساختار بیضه و رده‌های مختلف سلولی و فرآیند اسپرماتوژنزیس و اختلالات هورمونی شود و یا اینکه با فسفریلاسیون جایگاه فعال آنزیم کولین‌استراز، اثر آن را غیر فعال ساخته و با پراکسیداسیون لیپیدها، دستگاه تولید مثلی را آسیب برساند [۳۲]. حال با توجه به کاهش تعداد رده‌های مختلف سلولی در فرآیند اسپرماتوژنزیس، که در مطالعه ما به آن دست یافتیم، نشان‌گر تخریب بافت بیضه است. گرچه اینگونه آسیب‌ها بصورت کوتاه مدت رخ نخواهد داد ولی کاهش رده‌های سلولی این مسئله را تائید می‌کند که سمومی مثل دیازینون در دراز مدت اثر نامطلوبی بر روی ساختار و فرآیند اسپرماتوژنزیس باقی می‌گذارند. مطالعه ما تا حدودی بیان‌گر کاهش رده‌های مختلف سلولی است. در این میان، سلول‌های لایدیگ نیز تحت تاثیر قرار خواهند گرفت. کم شدن تعداد سلول‌های لایدیگ باعث کاهش هورمون تستوسترون می‌شود. با توجه به نقش این هورمون برای بقا و حیات سلول‌های اسپرماتوژنیک، آسیب و تخریب رده‌های سلول‌های اسپرم‌ساز را می‌توان انتظار داشت. همچنین دوز بالای دیازینون، باعث تاخیر در چرخه سلولی شده و تقسیم میتوزی را کاهش می‌دهد [۳۳] و در دراز مدت، وزن اندام‌های جنسی مانند پروستات، کیسه منی و بیضه نیز کاهش پیدا می‌کنند [۲]. بعضی از ارگانوفسفره‌ها مثل کینولفوس مستقیماً بر روی بافت بیضه اثر گذاشته و باعث کاهش تستوسترون می‌شوند [۳۴]. چون روند دفع متابولیت‌های ارگانوفسفره بیش‌تر از طریق ادرار است، لذا قبل از اینکه از بدن دفع شوند، بر روی ارگان‌های مختلف مخصوصاً سیستم تناسلی، اثر می‌گذارند. گرچه بعضی از ارگانوفسفره‌ها مثل متیل پاراتیون، تاثیر خاصی بر روی سلول‌های جنسی ندارند [۳۵]. ولی با توجه به توانایی اینگونه سموم در اتصال به ماکرومولکول‌های سلول [۱۲]، می‌توان چنین استنباط کرد که یکی از علل کاهش تعداد سلول‌های بیضه ناشی از این گونه واکنش‌ها باشد. دوزهای غیر کشنده بعضی از ارگانوفسفره‌ها باعث تغییردر سیستم تولید مثل [۱۸]، کاهش ترکیبات پروتئینی و تغییر در ساختار کروماتین سلول‌ها شده و نهایتاً باعث ناهنجاری در اسپرم خواهند شد [۷، ۸]. به نظر می‌رسد که این گونه ترکیبات، مرگ سلولی را افزایش دهند، چون کاهش رده‌های سلولی که در مطالعه ما نیز اتفاق افتاده است، تنها توجیه آن، حذف و دژنره شدن سلول‌ها است. هر چند کاهش تعداد سلول‌های بیضه، باعث توقف تولید اسپرم نمی‌شود، ولی می‌تواند در دراز مدت فرد را به سمت ناباروری سوق دهد. نتایج بعضی از مطالعات بیان‌گر آن است که دیازینون در متابولیسم لیپید، پروتئین و اسیدهای نوکلئیک نیز اثر گذاشته [۳۶] و باقیمانده متابولیت‌های آن در بدن ممکن است بر روی اندام‌های جنسی تاثیر منفی بگذارد و باعث ناهنجاری در ساختار اسپرم شوند [۲]. یا اینکه قطر سلول‌های ژرمینال را کاهش داده و روند تولید اسپرم‌ها را به تاخیر بیاندازند، گاهی اوقات نیز باعث افزایش و بعضاً سبب کاهش قطر مجاری اسپرم‌ساز شوند [۹]. در مطالعه ما قطر لوله‌های اسپرم‌ساز کاهش یافت که می‌تواند ناشی از کاهش رده‌های سلولی آن باشد. البته این‌گونه عوارض اختصاص به جنس نر ندارد، بلکه در جنس ماده نیز قطر تخمدان را کاهش داده [۳۷] و با ایجاد بافت‌های نکروزه، میزان فولیکول‌های آترتیک را زیاد می‌کنند و با کاهش استرادیول، اووسیت‌های بالغ را تخریب می‌سازند [۱۴]. همچنین این‌گونه سموم سبب تغییرات مورفولوژیکی و هیستوشیمیایی و هیپرتروفی در تخمدان و آدرنال و کاهش وزن بیضه و لوله‌های اسپرم‌ساز و شکست کرموزوم می‌شوند [۳۸]. بعضی از مطالعات دوز پایین و عدم تکرار آن را چندان خطر آفرین ندانسته و عوارض آنرا بیش‌تر، در دوز بالا در مدت زمان طولانی می‌دانند [۳۹]. به نظر می‌رسد اثر سوء سموم با توجه به شرایط جسمی و محیطی، تفاوت داشته باشد. بافت بیضه نیز از این قاعده مستثنی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

نخواهد بود و لاجرم با عبور سم دیازینون از سد خونی بیضه، برروی روند اسپرماتوژنزیس اثر می‌گذارد. بدیهی است که تاثیر اینگونه سموم بر روی بافت بیضه متوجه سلول‌های ژرمینال، اسپرماتوگونیا، اسپرماتید و سلول‌های ضمیمه مثل لایدیگ و عروق خونی نیزخواهد بود. لذا مشاهده می گردد که تحقیقات زیادی به صورت in-vivo و in-vitro انجام گردیده تا چگونگی تاثیر آن‌ها را بر روی پارامترهای اسپرم مثل تعداد، حرکت و روند اسپرماتوژنزیس مشخص نماید [۴۰]. گرچه همه محققین به یک نتیجه واحد دست نیافته‌اند، اما بیش تر آن‌ها اتفاق نظر دارند که سموم یاد شده بر روی پارامترهای اسپرم و روند اسپرماتوژنزیس تاثیر می‌گذارند و افرادی که از نظر باروری در یک خط مرزی قرار دارند، خطر بیش‌تری متوجه آن‌ها خواهد بود. عده‌ای هم از دیازینون به عنوان ویران‌گر بافت نام می برند، چون باعث فسفریلاسیون پروتئین‌ها و تخریب کروماتین اسپرم‌ها می‌شود [۴۱]. در مطالعه ما نیز کاهش معنی‌داری که در تعداد سلول‌های ژرمینال، در گروه آزمایش دیده شد، چنین به نظر می‌رسد که اگرچه کاهش تعداد این سلول‌ها در آن حدی نیست که اسپرم مورد نیاز حیوان ساخته نشود، ولی سوق یافتن به سمتی که کاهش سلول‌های ژرمینال و متعاقباً کاهش رده‌های بعدی سلول‌ها مثل اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه را به دنبال دارد، نهایتاً باعث کاهش در تعداد اسپرم می‌گردد. این کاهش زمانی بیش‌تر خود را نشان می‌دهد که حسب استاندارد جهانی WHO ممکن است تعداد واقعی اسپرم و یا تعداد و حرکت آن از حداقل قابل قبول خود بر خوردار نباشد. لذا می‌توان کاهش سلول‌های ژرمینال را قدمی رو به جلو برای ایجاد ناباروری ثانویه دانست. نتایج حاصل از بررسی محققین در سال‌های اخیر، تا حدودی دریچه‌های مطمئن‌تری را بر روی مکانیسم آسیب سلولی باز کرد. آنها ثابت نمودند که مکانیسم اصلی تخریب بافت‌ها، ناشی از افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید رادیکال آزاد حاصل از این سموم [۱۱،۱۲] و بسیاری از عوامل دیگری است که ناشناخته باقی مانده‌اند [۱۱،۴۲]. این پژوهش با توجه به نتایج بدست آمده، پیشنهاد می‌کند تا مدیریتی صحیح در استفاده بهینه از این گونه سموم صورت پذیرد و راه‌کارهایی کم خطر و مطمئن‌تر جایگزین آن شود.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیتا... آملی و همچنین ازهمکاران بخش آناتومی و جنین شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل آقایان: جعفری، صباغ موسوی، منصف و جناب آقای دکتر سرابی و پرسنل محترم مرکز ناباروری حضرت فاطمه زهرا(س) خانم‌ها: حیدری، فصیحیان، هاشمی و قاسمی تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

[1] Larkin DJ, and Tjeerdema RS. Fate and effects of diazinon. Rev Environ Contam Toxicol. 2000; 166: 49-82.

[2] Abdel-Aziz MI, Sahlab AM, and Abdel-Khalik M. Influence of diazinon and deltamethrin on reproductive organs and fertility of male rats. Dtsch Tierarztl. Wochenschr 1994; 101 (6):230-232.

[3] Jeyaratnam J, Lun KC, and Phoon WO. Survey of acute pesticide poisoning among agricultural workers in four Asian countries. Bull World Health Organ. 1987; 65(4):521-527.

[4] Vittozzi L, Fabrizi L, Di Consiglio E, and Testai E. Mechanistic aspects of organophosphorothionate toxicity in fish and humans. Environ Int 2001; 26(3):125-129.

[5] Axelrad JC, Howard CV, and McLean WG. Interactions between pesticides and components of pesticide formulations in an in vitro neurotoxicity test. Toxicology 2002; 1:173(3):259-268.

[6] Brent, Wallase, Brakhout, Critical toxicology, Mosby, Philips, 2005. Elsewier, pp271-280.

[7] Pina-Guzman B, Solis-Heredia MJ, and Quintanilla-Vega B. Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. Toxicology and Applied pharmacology 2005; 202:189-198.

[8] Sanchez-pena LC, Reyes BE, Lopez-Carrillo L, REcio R, and Moran-Martinez J. Changes on sperm chromatin structure in organophosporus agriculture works. Toxicol Appl Phamcol 2004; 196:108-113.

[9] Dutta HM, and Meijer HJ.Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, Lepomis macrochirus: a microscopic analysis. Enviromental pollution 2003125; 355-360.

[10] Maxwell LB, and Dutta HM. Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, Lepomis macrochirus. Ecotoxicol Environ Saf 2005;60(1): 21-27.

[11] Altuntas I ,Kilinc I, Orhan H, Demirel R, Koylu H, and Delibas N. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. Hum Exp Toxicol 2004; 23(1): 9-13.

[12] Contreras HR, and Bustos-obregon E. Morphological alterations in mouse testis by single does of malation.J ExpZool 1999; 284: 355-359.

[13] Evenson DP, Higgins PH, Grueneerg D, and Ballachey B. Flow cytometric analysis of mouse sprmatogenic function following exposure to ethyl- nitrosoure. Cytometry 1985; 6: 238-253.

[14] Evenson, D.P, and Jost, L. Sperm chromatin structure assay for fertility assessment. Methods cell Sci 2000; 22: 169-189.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

[15] Hatjian BA, Mutch E, Williams FM, Blain PG, and Edwards JW. Cytogenetic response without changes in peripheral cholinesterase enzymes following exposure to a sheep dip containing diazinon in vivo and in vitro. Mutat Res 2000; 427, 85-92.

[16] El-Aziz, M.I., Sahlab, A. M., and El-Khalik, M. Ifluence of diazinon and deltamethrin on reproductive organs and fertility of male rats. Dtsch. Tieraerztl Wochenschr 1994; 101, 230-232.

[17] Recio R, Robins WA,Ocmpo-Gomez G , and Borja-AburtoV. Organophos-phorus pesticide exposure increases the frequeny of sperm sex null aneuploidy. Environ Health Prspect 2001; 109:1237-1240.

[18] Recio R, Robins WA,Ocmpo-Gomez G , and Borja-AburtoV. Organophos-phorus pesticide exposure increases the frequeny of sperm sex null aneuploidy. Environ Health Prspect 2001; 109:1237-1240.

[19] Codrington AM, Hales BF, Robaire B. Exposure of male rats to cyclophosphamide alters the chromatin structure and basic proteome in spermatozoa. Hum Reprod. 2007 May; 22(5): 1431-1442. Epub 2007 Feb 15.

[20] Piña-Guzmán B, Solís-Heredia MJ, Rojas-García AE, Urióstegui-Acosta M, and Quintanilla-Vega B. Genetic damage caused by methyl-parathion in mouse spermatozoa is related to oxidative stress. Toxicol Appl Pharmacol. 2006 Oct 15; 216(2):216-224. Epub 2006 Jun 19.

[۲۱] جورسرائی سید غلامعلی، بیکی علی اصغر، یوسف نیا پاشا یوسف رضا، علیـزاده رضا. تاثیر سموم دیازینون و هیتوزان بر پارامترهای اسپرم انسان در حالت in-vitro. مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، ۱۳۸۴، سال هفتم شماره ۲، صفحه ۳۴-۳۰.

[22] Hill EF, and Camardese MB Toxicity of anticholinesterase insecticides to birds: Technical grade versus granular formulations: (1994); 32, 28-41.

[23] Neishabouri EZ, Ostad SN, Azizi E, and Hassan ZM. Evaluation of immunotoxicity induced by diazinon in C57bl/6 mice. Toxicology. (2004); 196(3):173-179.

[24] Dikshith TS, Mathur AK, Datta KK, and Behari JR. Effect of diazinon in male rats. Histopathological and biochemical studies. Environ Physiol Biochem. (1975); 5(5):293-299.

[25] McClusky LM, de Jager C, and Bornman MS. Stage-related increase in the proportion of apoptotic germ cells and altered frequencies of stages in the spermatogenic cycle following gestational, lactational, and direct exposure of male rats to p-nonylphenol. Toxicol Sci. 2007 Jan; 95(1):249-256.

[26] Loftin Ma, and Mask W, Lodvig N. The effect of pesticides on testes tissue in bluegill.Environ Int 1996; 26(3): 113-117.

[27] Hernández-Ochoa I, García-Vargas G, López-Carrillo L, Rubio-Andrade M, Morán-Martínez J, Cebrián ME, and Quintanilla-Vega B. Low lead environmental exposure alters semen quality and sperm chromatin condensation in northern Mexico. Reprod Toxicol. 2005 Jul-Aug; 20 (2): 221-228.

[28] Wirth JJ, Rossano MG, Daly DC, Paneth N, Puscheck E, Potter RC, and Diamond MP. Ambient manganese exposure is negatively associated with human sperm motility and concentration. : Epidemiology. 2007 Mar; 18(2): 270-273.

[۲۸] اسماعیلی مرتضی , میر کریمی اسدالله, آزمایش فرد پروانـه . حـشره شناسـی کشاورزی , انتشارات دانشگاه تهران, سال انتشار، ۱۳۷۰. ص: ۱۱۰ -۱۱۵

[30] Howard F, and Philip H. Fate and exposure data for organic chemicals.volumeIII pesticide, Lewis publishers 1993; 204(3) 245-254.

[31] Nakagawa Y, and Moldeus P. Mechanism of p-hydroxy benzoate ester induced mitochondrial dysfunction and cytotoxicity in isolated rathepatocyte,Bio Chem Pharmacol,Japan 1998;1(35):1901-1914.

[32] Hill EF & Camardese MB, Toxicity of anticholinesterase insecticides to birds: Technical grade versus granular formulations. 1994; 32: 28-41.

[33] Pesando D, Huitorel P, Dolcini V, Angelini C, Guidetti P, Falugi C. Biological targets of neurotoxic pesticides analysed by alteration of developmental events in the Mediterranean sea urchin, Paracentrotus lividus. Mar Environ Res 2003; 55(1):39-57.

[34] Ray A, Chattarjes S, Ghosh S, Bhattacharya K, Pakrashi A, and Deb C. Quinalphos-induced suppression of spermatogenesis, plasma gonadotrophins, testicular testosterone production, and secretion in adult rats.Environ Res 1992; 57: 181-189.

[35] Andrews P, Freyberger A, Hartmann E, Eiben R, Loof I, Schmid U, Temerowski M, and Becka. Feasibility and potential gains of enhancing the sub acute rat study protocol (OECD test guideline no.407) by additional parameters selected todetermie endocrine- mediated of the antiandrogenic drug flutamide.Arch. Toxicol 2001; 75:65-73.

[36] Ibrahim NA, and El-Gamal BA. Effect of diazinon, an organophosphate insecticide, on plasma lipid constituents in experimental animals. J Biochem Mol Biol 2003 ;30: 36(5): 499-504.

[37] Whyatt RM, Camann D, Perera FP, Rauh VA, Tang D, Kinney PL, Garfinkel R, Andrews H, Hoepner L, and Barr DB. Biomarkers in assessing residential insecti cide exposures during pregnancy and effects on fetal growth.Toxicol Appl Pharmacol 2005; 206(2):246-254.

[38] Rishi KK, Grewal S. Chromosome aberration test for the insecticide, dichlorvos, on fish chromosomes. Mutat Res. 1995; 344(1-2): 1-4.

[39] Bouchard M, Carrier G, Brunet RC, Dumas P, Noisel N. Biological monitoring of exposure to organophosphorus insecticides in a group of horticultural greenhouse workers. Ann Occup Hyg. 2006; 50(5): 505-515.

[40] Swan SH, Semen quality in fertile us men in relation to geographical area and pesticide exposure 2006; 29(1): 62-68.

[41] Hela DG, Lambro poulou DA, Konstantinou IK, Albanis TA, Environme- ntal mounitoring and ecological risk accessment for pesticides contamination and effects in lake pamvotis, North western Greece, Environ Toxicol chem. 2005: 24 (6),1548-1556.

[42] Mahar Am, and Watzim MC, Effect of metal and organophospate mixture on cerio daphnia dubia survival and reproduction, Environ Toxicol Chem, USA 2005; (24): (7):1579-1586.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]

Influence of diazinon on spermatogenesis in mice

E. Fattahy [*1](Ph.D), S.G.A. Jorsaraei [2] (Ph.D), K. Parivar [3] (Ph.D), A. A. Moghaddamnia [4] (Ph.D)
1- Department of Biology, Islamic Azad University, Amol, Iran
2- Department of Anatomy and Embryology, Babol University of Medical Science, Babol, Iran
3- Research& Science campus, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4- Department of Physiology &Pharmacology, Babol University of Medical Science, Babol, Iran

Introduction: Diazinon (DZN) is an organophosphate that inhibits of acetylcolinesterase activity by phosphorylating of active site, in which could be resulted in damages of germinal cells and reproductive functions. Since this compound is extensively using in the agriculture, especially in the northern regions of Iran in order to control of pests, the present study was performed to investigate the influence of DZN on spermatogenesis in mice.

Materials and Methods: Male mice were divided into three experimental, sham and control groups. The animals in the experimental group were injected with the consecutive doses of DZN (30mg/kg i.p, five consecutive days per week for one month). The sham mice were received only water injection and no injection was performed on animals in the control group. Animals were scarified 35 days after the latest injection of DZN. Then, the mice testis sections were prepared and morphologic aspects of testis and spermatogenesis processes assessed.

Results: The DZN showed a significant decrease in number of germ cells, spermatocytes, spermatids, Leydig cells, blood vessels. In addition, the diameter of seminiferous in the testis of the mice decreased.

Conclusion: The current finding showed that Diazinon is an environmental factor that can cause toxic effects on the morphologic parameters of germ cells. These results suggested that the DZN might be a factor that results in infertility in mice.

Key words: Diazinon, spermatogenesis, Leydig cells, seminiferous tubule. Mice

* Corresponding author: Fax: +98 111 2229936 Tel: 09113255311
esmail_fattahy@yahoo.com

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31]