Original Article

The Effects of a Single Dosage of Diazinon and Hinosan on the Structure of Testis Tissue and Sexual Hormones in Mice

Esmail Fattahi, Ph.D.[1]. Seyed Gholamreza Jorsaraei, Ph.D.[2]. Kazem Parivar, Ph.D.[3], Ali Akbar Moghaddamnia, Ph.D.[4]

1. Department of Biology, Islamic Azad University, Amol, Iran
2. Department of Anatomy and Embryology, Babol University of Medical Science, Babol, Iran
3. Department of Biology, Islamic Azad University, Reaserch and Science Campus, Tehran, Iran
4. Department of Physiology and Pharmacology, Babol University of Medical Science, Babol, Iran

**** Corresponding Address: P.O.Box: P.O.Box:678, Department of Biology, Islamic Azad University, Amol, iran***
Email: esmail_fattahy@yahoo.com

Received: 4/Jan/2010, Accepted: 24/Oct/2010

Abstract

Objective: Diazinon (DZN) and Hinosan, two of the most important organophosphate pesticides, are widely used for pest control in gardens and agriculture. These compounds adversely effect enzyme activation and reproductive organs. Therefore, in the present study, we investigated DZN and Hinosan impacts on the structure of testis tissue and sexual hormones in mice.

Materials and Methods: For this study, 60 male Balb/C mice were divided into the following groups: DZN, Hinosan, control and sham. In the experimental groups, mice were injected with a single dose of DZN (30 mg/kg intraperitoneal) and Hinosan (20 mg/kg intraperitoneal), sham (corn oil) and control (no injection). Animals were sacrificed 35 days after the latest injection. Blood samples were collected and testosterone, luteinzing hormones (LH) and Follicle stimulating hormone (FSH) levels were assayed. Testis tissues sections were provided to investigate the changes of spermatogenic and Leydig cells. Testis and seminiferous diameter were assayed with micrometer and eye piece, respectively. Data were analyzed with one-way ANOVA. Significance was set at $p<0.05$.

Results: In the present study, no significant differences in testis and seminiferous diameter and number of blood vessels were noted. However the number of germ cells, spermatocysts, spermatids and Leydig cells on the testes of mice decreased ($p<0.05$). There was no significant difference between the parameters of the sham group compared to the control group.

Conclusion: These results suggest that DZN and Hinosan can exert a decrease in sperm production. Therefore, application of DZN should be limited to a designed program.

Keywords: Diazinon, Hinosan, Testis, Leydig Cells, Spermatogonia

Yakhteh Medical Journal, Vol 12, No 3, Autumn 2010, Pages: 405-410

تاثیر تک دوز دیازینون و هینوزان بر ساختار بافت بیضه و هورمون‌های جنسی در موش‌های آزمایشگاهی

اسماعیل فتاحی Ph.D.[1*]، سیدغلامعلی جورسرایی Ph.D.[2]، کاظم پریور Ph.D.[3]، علی‌اکبرمقدم‌نیا Ph.D.[4]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت ا... آملی، گروه زیست‌شناسی، آمل، ایران
۲. دانشگاه علوم پزشکی بابل، گروه آناتومی و جنین‌شناسی، بابل، ایران
۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست‌شناسی جانوری، تهران، ایران
۴. دانشگاه علوم پزشکی بابل، گروه فیزیو لوژی و فارماکولوژی، بابل، ایران

* آدرس نویسنده مسئول: ایران، آمل، صندوق پستی ۶۷۸، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت ا... آملی، گروه زیست‌شناسی
پست الکترونیک: Email: esmail_fattahy@yahoo.com

دریافت مقاله: ۸۸/۹/۱۴، پذیرش مقاله: ۸۹/۸/۲

چکیده

* **هدف:** بررسی تاثیر دیازینون و هینوزان بر روی ساختار بافت بیضه و هورمون های جنسی در موش

* **مواد و روش‌ها:** این مطالعه بر روی ۶۰ سر موش از نژاد Balb/c در چهار گروه مساوی شامل دیازینون، هینوزان، کنترل و شم، انجام پذیرفت. موش‌ها در گروه آزمایشی دیازینون و هینوزان، به ترتیب ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم از این سموم را به صورت داخل صفاقی برای یک‌بار دریافت نمودند. گروه شم تنها روغن زیتون دریافت کرده و گروه کنترل تزریقی نداشته است. با تهیه برش‌های بافتی از بیضه، رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک، سلول‌های لایدیگ وعروق خونی در واحد سطح با استفاده از Eye Piece شمارش شدند. قطر بیضه توسط میکرومتر و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز از طریق Eye Piece مدرج اندازه‌گیری گردید. هورمون‌های تستوسترون، (LH) Luteinzing Hormone و (FSH) Follicle stimulating hormone از روش Radioimmunoassay اندازه‌گیری شدند. سپس داده‌ها با تست‌های One way - ANOVA Tukey's HSD تجزیه و تحلیل گردیدند.

* **یافته‌ها:** در این مطالعه قطر بیضه، قطر مجاری اسپرم‌ساز و تعداد عروق خونی کاهش یافت ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. هم‌چنین با شمارش سلول‌های اسپرماتوژنیک توسط Eye Piece (صفحه چشم شطرنجی) مشخص گردید که تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها و سلول‌های لایدیگ در گروه آزمایشی نسبت به گر وه کنترل کاهش معنی‌داری پیدا کرده است. پارامترها در گروه شم نسبت گروه تجربی کاهش معنی‌دار نشان نداده است ($p<0/05$).

* **نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه نشان می‌دهد که سموم دیازینون و هینوزان می‌توانند تعداد اسپرم را در موش‌های آزمایشگاهی کاهش دهند. بنابراین این مطالعه توجه بیشتری بر مدیریت صحیح استفاده از این گونه سموم را پیشنهاد می‌نماید.

* **کلیدواژگان:** دیازینون، هینوزان، بافت بیضه، سلول‌های لایدیگ، اسپرماتوگونی

فصلنامه پزشکی یاخته، سال دوازدهم، شماره ۳، پاییز ۸۹، صفحات: ۴۱۰-۴۰۵

مقدمه

دیازینون و هینوزان از سموم ارگانوفسفره و به ترتیب از گروه حشره‌کش‌ها و قارچ‌کش‌ها بوده که به طور گسترده در باغ‌ها و مزارع کشاورزی به ویژه در استان‌های شمالی ایران برای از بین بردن آفات به کار می‌روند. قدرت کشندگی هینوزان از دیازینون بیشتر بوده ولی اثرات ناهنجاری‌زایی دیازینون بر سیستم موجودات زنده از هینوزان بیشتر می‌باشد. هر چند میزان بروز آثار این ترکیبات آلی فسفره به نوع سم، مدت زمان اثر و ساختار سلولی بافت بستگی دارد (۱، ۲). ارگانوفسفره‌ها عوامل آلکیله‌کننده هستند و با ماکرومولکول‌های اصلی سلول مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها واکنش می‌دهند و از این طریق می‌توانند عملکرد آنها را تغییر دهند (۳، ۴). مکانیسم اصلی ارگانوفسفره‌ها، به ویژه این دو ترکیب، مهار آنزیم استیل کولین استراز می‌باشد و با توجه به نقش این آنزیم در رشد و نمو سیستم عصبی، مهار این آنزیم می‌تواند سیستم عصبی مرکزی و محیطی را تخریب کند (۵، ۶). این سموم در کبد به متابولیت‌های فعال تبدیل می‌شوند ولی مقدار زیادی از متابولیت‌ها از بدن دفع می‌شوند و باقی‌مانده آن در بافت‌های بدن از جمله در اندام‌های جنسی ممکن است تاثیر منفی بر جای بگذارند، بنابراین بعضی از مطالعات حاکی از تاثیر آن بر روی سلول‌های جنسی نر و افزایش ناهنجاری در ساختار اسپرم می‌باشد (۷). 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 از جمله کبد، بیضه و تخمدان پیشنهاد می کنند (۸، ۹). این گروه از سموم از طریق فسفوریلاسیون پروتامین‌های هسته می‌توانند ساختار کروماتین اسپرم را تغییر داده و بر روی بقا، حرکت و مورفولوژی اسپرم، به خصوص در مراحل نهایی بلوغ آن، اثر منفی بگذارند (۱۰، ۱۱). دیازینون باعث تغییر قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و سلول‌های ژرمینال می‌شود (۱۲). سموم دیازینون و هینوزان ممکن است باعث جهش در ژن‌ها، تخریب کروموزوم، اثر منفی بر تمایز سلولی و القای مرگ سلولی، توقف تقسیم میتوزی در جنین و کاهش سنتز DNA می‌شوند (۱۳، ۱۴). این سموم سطح تستوسترون و هورمون‌های استروژن را کاهش می‌دهند (۱۵، ۱۶). هینوزان و دیازینون موجب افزایش تبادلات کروموزومی در اسپرم شده (۱۷، ۱۸) و بر تخمدان نیز موثر واقع شده و باعث نکروزه شدن آن می گردند. هم‌چنین سبب کاهش قابل توجهی در تعداد فولیکول‌های گراآف و افزایش فولیکول‌های آترتیک و کاهش وزن تخمدان می گردند (۱۹، ۲۰). این

سموم در طولانی مدت موجب کاهش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، سلول‌های اسپرماتوژنیک، سلول‌های لایدیگ و هورمون تستوسترون می‌شوند (۲۱). کاهش وزن اندام‌های جنسی، افزایش ناهنجاری در ساختار اسپرم، مرگ اسپرم و کاهش میزان باروری از جمله مواردی است که در بعضی از مطالعات به آنها اشاره شده است (۲۲). این مطالعه، به تاثیر سموم دیازینون و هینوزان بر ساختار بیضه و هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون در موش‌های آزمایشگاهی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه حیوانات آزمایشگاهی

۶۰ سر موش با وزن متوسط ۲۵ تا۳۰ گرم و سن متوسط ۱۰ تا ۱۲ هفته، از نژاد Balb/c، از انستیتو پاستور تهران تهیه و به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی دیازینون، هینوزان، کنترل و شم تقسیم گردید. موش‌ها در قفس‌های استاندارد در شرایط ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و مراقبت شدند. همگی تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق نظر کمیته اخلاق در پزشکی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل انجام گرفت.

تهیه محلول دیازینون و هینوزان

سموم دیازینون و هینوزان از شرکت‌های شیمی کشاورزی و خدمات حمایتی کشاورزی تهیه گردید. با اضافه کردن ۰/۲ میلی‌لیتر از این سموم به طور جداگانه به ۱۰ میلی‌لیتر روغن زیتون، محلول تهیه شد و بعد از تعیین LD50 دوز تزریقی برای سموم دیازینون و هینوزان به ترتیب برابر ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین گردید.

تزریق سموم

موش‌ها در گروه آزمایشی، سموم دیازینون و هینوزان را به ترتیب به میزان ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. به گروه شم تنها روغن زیتون تزریق شد و گروه کنترل نیز هیچ گونه تزریقی نداشتند. موش‌ها به مدت سی و پنج روز در شرایط اپتیموم قرار گرفته، سپس نمونه‌برداری برای تمام گروه‌ها انجام پذیرفت.

تهیه نمونه بافت

برای ارزیابی رده‌های سلولی بافت بیضه، سلول‌های لایدیگ و عروق خونی، بیضه‌ها خارج شده و در داخل فرمالین ۱۰درصد قرار گرفتند. پس از انجام مراحل تهیه بافت، برش‌هایی به ضخامت پنج میکرون تهیه گردید و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس رده‌های مختلف سلولی، سلول‌های لایدیگ و عروق خونی با استفاده ازصفحه چشمی شطرنجی (Eye Piece) که بر روی عدسی چشمی میکروسکوپ نوری متصل می‌گردد، در واحد سطح شمارش شدند. قطر لوله‌های اسپرم‌ساز از طریق صفحه چشمی مدرج، قطر بیضه توسط ریزسنج با دقت ۰/۰۰۱ و وزن آن با ترازوی دیجیتالی و با دقت بسیار بالا اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری هورمون‌ها

برای اندازه‌گیری هورمون‌های تستوسترون، Luteinzing (LH) Hormone و Follicle stimulating hormone (FSH) تمامی خون موش‌ها از ناحیه زیربغل جمع‌آوری شد. با استفاده از سانتریفیوژ (دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه) سرم خون جدا شد. سپس با استفاده از روش Radioimmunoassay و کیت تهیه شده از شرکت کاوشیار ایران، هورمون‌ها مورد سنجش قرار گرفتند.

آنالیز داده‌ها

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

یافته ها

قطر و وزن نسبی بیضه

با اندازه‌گیری قطر بیضه در هر چهار گروه مشخص گردید که میانگین آن در گروه آزمایشی نسبت به گروه‌های کنترل و شم کاهش معنی‌داری پیدا نکرده است. هم‌چنین وزن نسبی بیضه در گروه آزمایشی نسبت به دو گروه کنترل و شم افزایش یافته ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. قطر و وزن نسبی بیضه در گروه کنترل در مقایسه با گروه شم کاهش معنی‌داری نشان نداده است (جدول ۱).

قطر لوله‌های اسپرم‌ساز

مقایسه برش‌های تهیه شده از نمونه‌های مربوط به گروه‌های مختلف نشان داد که قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های آزمایشی کاهش یافته است ولی این کاهش معنی‌دار نمی‌باشد. هم‌چنین در رده‌های سلولی، بی‌نظمی ایجاد شده است. میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری با گروه شم نداشته است. تفاوت قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه دیازینون نسبت به هینوزان معنی‌دار نبوده است (جدول ۱، شکل ۱).

تعداد اسپرماتوگونی‌ها و اسپرماتوسیت‌ها

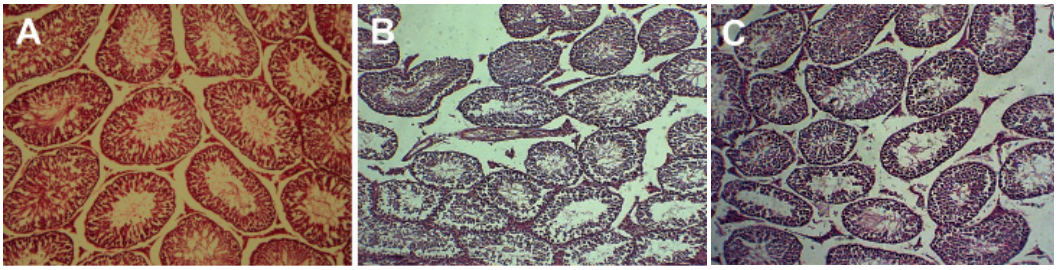
در بررسی میکروسکوپی نمونه‌های مربوط به گروه آزمایشی مشاهده گردید که تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نسبت به سایر گروه‌ها کاهش یافته است ($p<0/05$). ولی تعداد آنها بین دو گروه کنترل و شم تفاوت معنی‌داری نداشتند. هم‌چنین بررسی مقاطع بافت بیضه نشان می‌دهد که تعداد اسپرماتوسیت‌ها در گروه آزمایشی هینوزان نسبت به دو گروه کنترل و شم تفاوت معنی‌داری پیدا کرده است. هم‌چنین بین گروه کنترل و شم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. تعداد سلول‌های مذکور در گروه دیازینون نسبت به گروه هینوزان کاهش بیشتری را نشان می‌دهد اما از لحاظ آماری تفاوت‌ها معنی‌دار نبوده است (جدول ۲) ($p<0/05$).

تعداد اسپرماتیدها، سلول‌های لایدیگ و عروق خونی

تعداد اسپرماتیدها در گروه آزمایشی نسبت به دو گروه کنترل و شم کاهش پیدا کرده است، ولی هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و شم وجود نداشت ($p<0/02$). این مطالعه نشان داد که تعداد سلول‌های لایدیگ در گروه آزمایشی، نسبت به دو گروه کنترل و شم کاهش معنی‌داری پیدا کرده است (جدول ۲) ($p<0/05$). تعداد عروق خونی نیز در واحد سطح، در گروه آزمایشی، در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم کاهش پیدا نکرده است. پارامترهای مذکور در گروه شم نسبت به گروه کنترل تفاوتی را نشان نمی‌دهند (جدول ۱).

اندازه گیری هورمون‌ها

بعد از اندازه‌گیری هورمون تستوسترون مشخص گردید که میزان این هورمون در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه‌های کنترل و شم، کاهش معنی‌داری پیدا کرده است ($p<0/05$). هورمون‌های LH و FSH نیز در سرم خون در تمام گروه‌ها اندازه‌گیری شد.



شکل ۱: مقاطع لوله‌های اسپرم‌ساز (A) گروه کنترل ۲۰۰ X، (B) گروه دیازینون ۲۰۰ X و (C) گروه آزمایشی هینوزان ۲۰۰ X (رنگ‌آمیزی H & E). بی‌نظمی و کاهش در رده‌های سلولی لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه آزمایشی مشخص می‌باشد.

جدول ۱: میانگین مقایسه قطر لوله اسپرم ساز، تعدادعروق خونی، وزن نسبی و قطر بیضه بیضه موش در تزریق تک دوز سموم دیازینون و هینوزان

گروه‌ها پارامترها (واحد)	کنترل	شم	دیازینون	هینوزان	pvalue
تعداد عروق خونی	۱/۲ ± ۰/۱۱۳	۱/۲۰۶ ± ۰/۱۲۶	۱/۱۷ ± ۰/۰۳۶	۱/۱۷۵ ± ۰/۰۲۸	–
وزن نسبی بیضه (گرم)	۷/۳۵ ± ۰/۵۰۷	۷/۲۳ ± ۰/۲۲۶	۷/۲۹± ۰/۲۱۸	۷/۲۵ ± ۰/٤۸٦	–
قطر بیضه (میکرومتر)	۷/٦۵ ± ۰/٤۵۲	۷/۵۵ ± ۰/٤۲۳	۷/۵۰ ± ۰/۲۹٤	۷/٤۵ ± ۰/۲۸۸	–
قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (میکرومتر)	٦۸/۵٤ ± ۱/٦٤۵	٦۸/۳۳ ± ۱/٦٤۵	٦۷/۸٤ ± ۱/۲۸٦	٦۷/۸۸ ± ۱/۳٤	–

میانگین ± خطای استاندارد پارامترهای بافت بیضه در گروه‌های تجربی و کنترل را نشان می‌دهد.

جدول ۲: میانگین مقایسه رده‌های سلولی در فرآیند اسپرماتوژنیس و سلول‌های لایدیگ بیضه موش در تزریق تک دوز سموم دیازینون و هینوزان

گروه‌ها پارامترها (واحد سطح)	کنترل	شم	دیازینون	هینوزان	pvalue
تعداد اسپرماتوگونی‌ها	۸/٦۹ ± ۰/۲۳	۸/۷۰ ± ۰/۳۹۲	۷/۷۵ ± ۰/۲۸٦	۷/۸۷ ± ۰/۲۱	p<۰/۰۵
تعداد اسپرماتوسیت‌ها	٤۰/۰۵ ± ۱/۳۰	۳۹/۹۰ ± ۱/۲٤	۳۸/۹۵ ± ۰/۱۸٦	۳۹/۰۳۵ ± ۰/۵۷	p<۰/۰۵
تعداد اسپرماتید گرد	۱٤/۰٤ ± ۰/۳۳	۱۳/۹۲ ± ۰/۲۹۳	۱۲/۹۷۵ ± ۰/۱۸٦	۱۳/۱۵ ± ۰/۱۵٤	p<۰/۰۵
تعداد سلول‌های لایدیگ	۱۲/۷۵ ± ۰/۵۸	۱۲/٦۹۵ ± ۰/٤۹	۱۱/۵۱ ± ۰/۲۸٦	۱۱/٦۷ ± ۰/٤۵	p<۰/۰۵

میانگین ± خطای استاندارد پارامترهای بافت بیضه در گروه‌های تجربی و کنترل را نشان می‌دهد.

جدول ۳: میانگین مقایسه هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH در تزریق تک دوز سموم دیازینون و هینوزان

گروه‌ها پارامترها (واحد)	کنترل	شم	دیازینون	هینوزان	pvalue
میزان LH (U/L)	۳ ± ۰/۵۳٤	۳ ± ۰/۷۰۷	۳/۳۲ ± ۰/۷۰۵	۳/۲۵ ±۰/٦۳۲	–
میزان FSH (U/L)	۲/۵ ± ۰/۵۳٤	۲/٦ ± ۰/۵٤۷	۳ ± ۰/٤٤۷	۲/۸ ±۰/۵۳۲	–
میزان تستوسترون (nmol/L)	۱۵/۲ ± ۱/۲۱	۱۵/۱۸ ± ۱/۵۱	۱۱/٤ ± ۱/۳٤۷	۱۲/۷۲ ± ۱/۵۸٦	p<۰/۰۵

میانگین ± خطای استاندارد هورمون‌های جنسی در گروه‌های تجربی و کنترل را نشان می‌دهد.

میزان این هورمون‌ها در گروه‌های دیازینون و هینوزان افزایش نشان داد ولی تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. هورمون‌های جنسی در گروه دیازینون نسبت به گروه هینوزان افزایش بیشتری را نشان می‌دهند ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است (جدول ۳).

بحث

مطالعات میکروسکوپی و مقایسه شمارش سلول‌های بافت بیضه در گروه‌های آزمایشی، کنترل و شم نشان داد که سلول‌های اسپرماتوژنیک و سلول‌های لایدیگ در گروه آزمایشی دیازینون و هینوزان، نسبت به دو گروه دیگر کاهش معنی‌داری پیدا کرده است. ولی وزن و قطر بیضه، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و تعداد عروق خونی کاهش ناچیزی یافته است و از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. این نتایج، تاثیرگذاری عوارض ناشی از این سموم را مورد تاکید قرار می‌دهد و استفاده از دوزهای ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب برای دیازینون وهینوزان به صورت تک دوز در این مطالعه باعث کاهش برخی از پارامترها در بیضه گردید. بررسی‌ها نشان می‌دهد که سموم ارگانوفسفره با ماکرومولکول‌های سلول واکنش داده و با افزایش پراکسیداسیون موجب القای مرگ سلول‌ها

می‌گردد (۲۳، ۲۴). هم‌چنین می‌تواند تقسیم میتوزی را به تاخیر انداخته و باعث توقف آن شود (۲۵). در این مطالعه مشخص گردید که سموم دیازینون و هینوزان، رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک را در لوله‌های اسپرم‌ساز کاهش داده ولی کاهش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز معنی‌دار نبوده است. به نظر می‌رسد که تاثیر این سموم به مدت زمان، نحوه، نوع بافت در موجودات زنده بستگی داشته باشد. با این نتایج چنین استنباط می‌گردد که تاثیر طولانی مدت سموم دیازینون و هینوزان بر بافت بیضه می‌تواند سبب کاهش بیشتر در تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک و دیگر پارامترها گردد (۲۱). اگرچه کاهش تعداد این سلول‌ها در آن حدی نیست که اسپرم مورد نیاز حیوان ساخته نشود، ولی سوق یافتن آن به سمتی که کاهش سلول‌های ژرمینال و متعاقب آن کاهش رده‌های بعدی سلول‌ها مثل اسپرماتوگونی‌های اولیه و ثانویه را به دنبال دارد، باعث کاهش در تعداد اسپرم می‌گردد. بنابراین می‌توان کاهش سلول‌های ژرمینال را قدمی برای ایجاد ناباروری ثانویه دانست. شاید اثر این سموم را بتوان به ایجاد رادیکال‌های آزاد نسبت داد. چون اثر تخریبی رادیکال‌های آزاد بر روی غشای پلاسمایی مورد تایید برخی از محققین است و آن را از هم گسیختگی بافت بیضه تلقی کرده و معتقدند که لوله‌های اسپرم‌ساز از روز چهارم به بعد در اثر برخورد با سموم ارگانوفسفره شروع به تخریب می‌نمایند (۲۶).

کاهش جزیی قطر بیضه را می‌توان به کاهش تعداد رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز نسبت داد که این کاهش معنی‌دار نبوده است. این گونه عوارض تنها اختصاص به جنس نر ندارد، بلکه در جنس ماده نیز باعث کاهش قطر تخمدان شده و با ایجاد بافت نکروزه، میزان فولیکول‌های آترتیک را افزایش می‌دهند و ممکن است با کاهش سطح استرادیول، اووسیت‌های بالغ را تخریب کنند (۲۷). هم‌چنین ممکن است باعث جهش در ژن‌ها و القای مرگ سلولی شود (۱۳، ۲۸) ارگانوفسفره‌ها باعث تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شوند که به احتمال با ایجاد رادیکال آزاد و اکسیژن‌های واکنش‌پذیر، موجب القای آسیب‌های تولیدمثلی می‌گردند (۲۳، ۲۴). ترکیبات آلی فسفردار با ماکرومولکول‌های اصلی سلول، مثل پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپید واکنش نشان می‌دهند (۳). ارگانوفسفره‌ها باعث آتروفی شدن سلول‌های لایدیگ شده و سطح تستوسترون سرم خون را نیز کاهش می‌دهند. ذکر این نکته که در این مطالعه، تعداد سلول‌های لایدیگ بافت بیضه، پس از تزریق تک دوز این ترکیبات آلی فسفردار کاهش یافته است، تا حدودی می‌تواند آن را توجیه نماید. به نظر می‌رسد که اگر این گونه سموم به مدت طولانی وارد بدن شوند، ممکن است علاوه بر آسیب به دستگاه‌های مختلف بدن، بر سیستم تناسلی به ویژه بر روی اسپرماتوسیت‌ها و سلول‌های ژرمینال تاثیر بگذارند (۱۹، ۲۹). در این مطالعه سلول‌های ژرمینال و اسپرماتوسیت‌ها نیز به صورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده‌اند. بنابراین با توجه به نتایجی که در این تحقیق به دست آمد، می‌توان کاهش این سلول‌ها را ناشی از تزریق تک دوز سموم دیازینون و هینوزان دانست. در این مطالعه اثرات منفی برخی از پارامترها در گروه آزمایشی دیازینون در مقایسه با گروه آزمایشی هینوزان بیشتر می‌باشد. از نتایج مطالعه حاضر و تحقیقات دیگران چنین استنباط می‌شود سم دیازینون احتمالا اثرات ناهنجاری‌زایی بیشتری بر بافت‌های مختلف از جمله بافت بیضه بر جای می‌گذارد. تحقیقات نشان می‌دهد که این گونه سموم در دراز مدت باعث کاهش سلول‌های اسپرماتوژنیک، لایدیگ و هورمون تستوسترون و افزایش هورمون‌های LH و FSH می‌شوند (۲۱). نتایج این تحقیق در تک دوز نیز تا حدودی همین اثرات را بربافت بیضه و سلول‌های آنها نشان می‌دهد. با توجه به بررسی‌های ما و تحقیقات دیگران می‌توان پیشنهاد کرد که تاثیر این گونه سموم به دوز و مدت زمان تماس آنها بستگی دارد. به نظر می‌رسد سموم دیازینون و هینوزان، با توقف تقسیم میتوزی و القای مرگ سلولی باعث کاهش سلول‌های ژرمینال شوند (۱۳، ۱۴). این سلول‌ها در فرایند اسپرماتوژنزیس بسیار ضروری هستند و کاهش این سلول‌ها، رده‌های سلولی مثل اسپرماتوسیت‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند که در نهایت منجر به کاهش اسپرم خواهد گردید.

میانگین سطح تستوسترون پس از اندازه‌گیری، کاهش معنی‌داری را در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل در تزریق تک دوز، نشان می‌دهد. بنابراین می‌بایست بعد از کاهش سلول‌های لایدیگ که مسوول ترشح هورمون تستوسترون در جنس نر هستند، این انتظار را داشت که متعاقب آن میزان این هورمون نیز در سرم خون کاهش یابد. مطالعات مختلف حاکی از آن است که ارگانوفسفره‌ها، سطح هورمون‌های استروئیدی سرم را از طریق افزایش کاتابولیسم، اثر مستقیم بر بافت بیضه و هم‌چنین اثر مستقیم و غیرمستقیم بر سیستم آندوکرینی کاهش می‌دهند (۳۰). عوامل زیادی در کاهش هورمون تستوسترون دخیل هستند. با مهار استروئیدها، نقص در تولید آندروژن‌ها و یا دژنره شدن سلول‌های لایدیگ، میزان هورمون تستوسترون کاهش می‌یابد (۳۱). ولی با توجه به نتایجی که از مطالعه ما به دست آمد، کاهش هورمون تستوسترون یک ارتباط مستقیمی با کم شدن تعداد سلول‌های لایدیگ پیدا کرده بود. در این تحقیق سطح هورمون‌های LH و FSH سرم افزایش یافته است ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. ارگانو فسفره‌ها با جلوگیری از مهار برگشتی، باعث افزایش LH و FSH می‌شوند (۳۲). به نظر می‌رسد دیازینون و هینوزان که باعث افزایش ناچیزی در مطالعه ما گردیده‌اند، در قالب همین گروه قرار می‌گیرند و با جلوگیری از مهار برگشتی، هورمون LH و FSH را افزایش داده‌اند. البته هورمون LH نقش مهمی در شروع و ادامه تخریب مراحل مختلف اسپرماتوژنزیس داشته و افزایش آن می‌تواند سلول‌های بافت بیضه راکاهش دهد (۳۳). برای تولید، بلوغ و انتقال اسپرم وجود هورمون‌های جنسی درمقادیرمناسب ضروری می‌باشد. تغییر در میزان هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH می‌تواند فرایند تولید اسپرم را دچار اختلال نمایند. شواهد علمی نشان می‌دهد که تعداد اسپرم و حرکت آن در طی ۵۰ سال گذشته به میزان قابل توجهی کاهش یافته است. بسیاری از محققین عوامل محیطی از جمله سموم، آفت‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها، استروژن‌های اگزوژن، فلزات سنگین و غیره را در این امر دخیل می‌دانند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد اگر اندام‌های مختلف به ویژه بافت بیضه در برابر این گونه سموم قرار گیرند، می‌تواند اثرات منفی گذاشته و در نهایت انسان را به سمت ناباروری سوق دهد. اگرچه به طور قطع نمی‌توان بر اساس این مطالعه مدعی ایجاد ناباروری، در کشاورزان منطقه بود، اما با توجه به اینکه، سموم دیازینون و هینوزان در مزارع برنج و باغ مرکبات استان‌های شمالی ایران به صورت گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد، پیشنهاد می‌گردد که مدیریتی صحیح در استفاده بهینه از اینگونه سموم صورت پذیرد.

تقدیر و تشکر

محققان بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌ا... آملی کمال تشکر را دارند. هم‌چنین از آقای مهندس محمود شهروزی قدردانی می‌گردد.

References

1. Khanjani M, Pourmirza AA. Toxicology book. 3th ed. Hamedan: Bu-Ali University Publisher; 2005; 5-15.
2. Larkin DJ, Tjeerdema RS. Fate and effects of diazinon. Rev Environ Contam Toxicol. 2000; 166: 49-82.
3. Kurodak K, Yamaguchy Y, Endo G. Mitotic toxicity, sister chromatid exchange, and rec assay of pesticides. Arch Environ Contam Toxicol. 1992; 23 (1): 13-18.
4. Evenson D, Jost L. Sperm chromatin structure assay for fertility assessment. Curr Protoc Cytom. 2001; Chapter 7: Unit 7.13.
5. Axelrad JC, Howard CV, McLean WG. Interactions between pesticides and components of pesticide formulations in an in vitro neurotoxicity test. Toxicology. 2002; 173(3): 259-268.
6. Aluigi MG, Angelini C, Falugi C, Fossa R, Genever P, Gallus L, et al. Interaction between organophosphate compounds and cholinergic functions during development. Chem Biol Interact. 2005; 157-158: 305-316.
7. Timchalk C, Busby A,Campbell JA, Needham LL, Barr DB. Comparative pharmacokinetics of the organophosphorus insecticide chlorpyrifos and its major metabolites diethylphosphate, diethylthiophosphate and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in the rat. Toxicology. 2007; 237(1-3): 145-157.
8. Contreras HR, Badilla J, Bustos-Obregón E. Morphofunctional disturbances of human sperm after incubation with organophosphorate pesticides. Biocell. 1999; 23(2): 135-141.
9. Altuntas I, Kilinc I, Orhan H, Demirel R, Koylu H, Delibas N. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. Hum Exp Toxicol. 2004; 23(1): 9-13.
10. Pina-Guzman B, Solis-Heredia MJ, Quintanilla-Vega B. Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. Toxicol Appl Pharmacol. 2005; 202: 189-198.
11. Sanchez-pena LC, Reyes BE, Lopez-Carrillo L, Recio R, Moran-Martinez J, Cebrián ME, et al. Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. Toxicol Appl Phamcol. 2004; 196: 108-113.
12. Dutta HM, Meijer HJ. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, Lepomis macrochirus: a microscopic analysis. Environ pollut. 2003; 125: 355-360.
13. Slotkin TA, Tate CA, Ryde IT, Levin ED, Seidler FJ. Organophosphate insecticides target the serotonergic system in developing rat brain regions: disparate effects of diazinon and parathion at doses spanning the threshold for cholinesterase inhibition. Environ Health Perspect. 2006; 114(10): 1542-1546.
14. 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.
15. Azmi MA, Nagvi SN, Azmi MA, Aslam M. Effect of pesticides residue on health and different enzyme levels in the blood of farm workers from Gadop (rural area) Karachi-Pakistan. Chemosphere. 2006; 64(10): 1739-1744.
16. Hela DG, Lambro poulou DA, Konstantinou IK, Albanis TA. Environmental monitoring and ecological risk assessment for pesticides contamination and effects in lake Pamvotis, northwestern Greece. Environ Toxicol chem. 2005; 24(6): 1548-1556.
17. Vijaraghavan M, Nagarajan B. Mutagenic potential of acute exposure to organophosphorus and organocholorine compounds. Mutat Res. 1994; 321(1-2): 103-111.
18. Jayashree IV, Vijayalaxmi KK, Abdul Rahiman M. The genotoxicity of Hinosan , an organophosphorus pesticide in the in vivo mouse.Mutat Res. 1994; 322(2): 77-85.
19. Maxwell LB, Dutta HM. Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, Lepomis macrochirus. Ecotoxicol Environ Saf. 2005; 60(1): 21-27.
20. Math JR, Jadaramkunti UC, Kaliwal BB. Effect of edifenphos on follicular dynamics in albino rats. Indian J Exp Biol. 1998; 36(1) 39-42.
21. Fattahi E, Parivar K, Jorsaraei SGA, Moghadamnia AA. The effects of diazinon on testosterone, FSH and LH levels and testicular tissue in mice. Iranian Journal of Reproductive Medicine. 2009; 7(2): 59-64.
22. Abd el-Aziz MI, Sahlab AM, Abd el-Khalik M. Influence of diazinon and deltamethrin on reproductive organs and fertility of male rats. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 1994; 101(6): 230-232.
23. Nakagawa Y, Moldeus P. Mechanism of p-hydroxybenzoate ester induced mitochondrial dysfunction and cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. Biochem Pharmacol. 1998; 55(11): 1907-1914.
24. Altuntas I ,Kilinc I, Orhan H, Demirel R, Koylu H, Delibas N. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. Hum Exp Toxicol. 2004; 23(1): 9-13.
25. Whyatt RM , Camann D, Perera FP, Rauh VA, Tang D, Kinney PL, et al. Biomarkers in assessing residential insecticide exposures during pregnancy and effects on fetal growth.Toxicol Appl Pharmacol. 2005; 206(2): 246-254.
26. Loftin Ma, Mask W, Lodvig N.The effect of pesticides on testis tissue in bluegill.Environ Int. 1996; 26(3) : 113-17.
27. Dutta HM, Maxwell LB. Histological examination of sublethal effects of diazinon on ovary of bluegill, Lepomis macrochirus. Environ Pollut. 2003; 121(1): 95-102.
28. Paraoanu LE, Mocko JB, Becker-Roeck M, Smidek-Huhn J, Layer PG.Exposure to diazinon alters in vitro retinogenesis: retinospheroid morphology, development of chicken retinal cell types, and gene expression. Toxicol Sci. 2006; 89(1): 314-324.
29. Contreras HR, Bustos-Obregon E. Morphological alterations in mouse testis by single does of malation. J ExpZool. 1999; 284: 355-359.
30. Walsh LP, Webster DR , Stocco DM . Dimethoate inhibits steroidogenesis by disrupting transcription of the steroidogenic acute regulatory (StAR) gene. J Endocrinol. 2000 ;167: 253-263
31. Betancourt M, Resendiz A, Fierro EC. Effect of two insecticides and two herbicides on the porcine sperm motility patterns using computer-assisted semen analysis (CASA) in vitro. Reprod Toxicol. 2006; 22(3): 508-512.
32. Andrews P, Freyberger A, Hartmann E, Eiben R, Loof I, Schmid U, et al. Feasibility and potential gains of enhancing the sub acute rat study protocol(OECD test guideline no.407) by additional parameters selected to determine endocrine modulation. A pre-validation study to determine endocrine-mediated effects of the antiandrogenic drug flutamide. Arch Toxicol. 2001; 75: 65-73.
33. Narayana K, Prashanthi N, Nayanatara A, Bairy LK, D'Souza UJ. An organophosphate insecticide methyl parathion (o- o- dimethyl o-4-nitrophenyl phosphorothioate) induces cytotoxic damage and tubular atrophy in the testis despite elevated testosterone level in the rat. J Toxicol Sci. 2006; 31(3): 177-189.