Archive of SID

مقاله پژوهشی

اثر سم دیازینون بر روی بافت بیضه در موش بالغ رت: مطالعه هیستوپاتولوژی

دکتر غلامرضا نجفی[۱]، دکتر سیامک سلامی[۲]، علی کریمی[۳]

تاریخ دریافت ۸۸/۰۳/۲۰، تاریخ پذیرش ۸۸/۰۶/۱۰

چکیده

پیش زمینه و هدف: دیازینون حشره‌کشی ارگانوفسفره است که به‌طور معمول برای کنترل انواع مختلف حشرات مضر برای کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به حجم وسیع استفاده از این ترکیب در کشور، در این مطالعه اثر سم دیازینون به‌عنوان یک ارگانوفسفره بر روی ساختار بافتی بیضه و باروری در موش رت بررسی شده است.

مواد و روش کار: ۳۵ موش رت بالغ مورد مطالعه قرار گرفت که به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل و تیمار تقسیم شدند. به گروه تیمار میزان ۷۰ میلی گرم دیازینون به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی یک روز در میان تا ۶۰ روز خورانده شد. برش‌های ۷ میکرومتری از بافت بیضه پارافینه به روش آهن وایگرت رنگ آمیزی شدند. قطر لوله‌های اسپرم ساز، ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم ساز، ضخامت کپسول بیضه اندازه گیری شدند.

یافته‌ها: در گروه تیمار در روزهای ۱۰ الی ۶۰ لوله‌های اسپرم ساز دچار آتروفی شده و شکل نامنظم داشتند. اتصال‌های بین سلولی در لوله‌های اسپرم ساز کاهش یافته و ادم مشخصی در بافت بینابینی بیضه دیده شد. قطر لوله‌های اسپرم ساز و ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم ساز نیز کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. وقوع دیو سلولی از روز بیست و چهارم مطالعه در بعضی از لوله‌های اسپرم ساز مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: دیازینون می‌تواند باعث تغییرات مورفولوژی و آتروفی واضح در ساختار بافتی بیضه شده و نقص در عملکرد دستگاه تناسلی نر را به‌بار آورد.

کلید واژه‌ها: دیازینون، بافت بیضه، ادم، آسیب شناسی بافتی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیستم، شماره چهارم، ص ۳۱۹-۳۱۳، زمستان ۱۳۸۸

آدرس مکاتبه: ارومیه، پردیس نازلو، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۷۹۵۵۲

E-mail: g.najafi2006@yahoo.com

مقدمه

در طی پنجاه سال گذشته، آفت‌کش‌ها جزء ضروری دنیای کشاورزی بوده‌اند. گرچه تقاضا برای تولید و توزیع آفت‌کش‌ها که باعث افزایش بهبود کیفیت و کارآیی کشاورزی می‌شوند محرز است ولی احتمال بکارگیری نابجا و غیرمعقول بسیار زیاد می‌باشد. یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های سازمان بهداشت جهانی استفاده بی‌رویه از آفت‌کش‌ها در صنعت کشاورزی می‌باشد. افزایش جمعیت و به‌دنبال آن افزایش مصرف مواد غذایی به‌ویژه محصولات کشاورزی، کشاورزان را بر آن داشته است که میزان محصولات خود را افزایش دهند. افزایش کشت محصولات متعاقباً افزایش سموم آفت‌کش را به همراه داشته است. تماس با حشره‌کش‌ها به‌عنوان یک مشکل بهداشتی اساسی در بسیاری از مناطق روستایی محسوب می‌گردد. دیازینون از جمله سموم ارگانوفسفره و حشره کشی نسبتاً فرار است و برای از بین بردن مگس و کنه به‌خصوص کنه تولوزانی به مقدار زیاد استفاده می‌شود چرا که با کارآیی خوب و صرفه اقتصادی آفات بسیاری را

[۱] استادیار بخش گروه علوم تشریح پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

[۲] استادیار بخش بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه ارومیه

[۳] کارشناس ارشد رشته زیست شناسی(گرایش بیوشیمی)، دانشگاه پیام نور تهران

www.SID.ir

Archive of SID

مهار می‌کند. این سم و به تنهایی به وفور در مزارع کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد و پس مانده‌های این سم در آب‌های زیر زمینی و همچنین در رودخانه‌ها یافت می‌شود. همچنین برخی از سموم ارگانوفسفره در دامپزشکی و پزشکی به‌عنوان یک داروی مهم ضد انگلی موضعی یا سیستمیک یا در مواردی که مهار طولانی مدت استیل کولین استراز لازم باشد مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷،۸،۳-۱).

سموم ارگانوفسفره می‌توانند در حین سمپاشی از طریق پوست، مخاطات، چشم و به‌صورت خوراکی و استنشاقی وارد بدن شده و عوارض بسیار مختلفی از جمله تهوع، سرگیجه، سختی تنفس، کهیر در بعضی از قسمت‌های پوست شود. تحقیقات نشان داده است که آفت‌کش‌ها باعث سقط جنین، عقب ماندگی ذهنی، اثرات تراتولوژی یا نقص‌هایی در اعمال و بافت‌های بدن می‌شوند. سموم ارگانو فسفره مثل دیازینون بر روی استیل کولین استراز اثر گذاشته و باعث عوارض عصبی بسیار شدیدی در جنین می‌شوند (۳،۸).

مواد و روش کار

برای انجام این تحقیق از ۳۵ قطعه موش رت نر بالغ با وزن ۲۰۰±۲/۱ گرم استفاده شد. موش‌ها در شرایط نگهداری استاندارد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رعایت شرایط اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. موش‌ها به دو گروه کنترل (۵ قطعه موش رت) و تیمار (۳۰ قطعه موش رت) تقسیم شدند. در گروه تیمار سم دیازینون به همراه روغن ذرت با دوز ۷۵ میلی‌گرم (¼ LD50) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی و از طریق گاواژ به موش‌ها خورانده شدند.

در گروه تیمار از بافت بیضه در روزهای ۵۴،۲،۱۰،۲۴،۳۰ و ۶۰ بعد از خورانده شدن سم نمونه‌برداری انجام گردید. نمونه‌های بافت بیضه جهت فیکس شدن فوراً در فرمالین بافری ۱۰ درصد به مدت یک هفته قرار داده شدند. بعد از طی مراحل روتین پاساژ بافتی، قالب‌های پارافینی تهیه و توسط دستگاه میکروتوم مقاطع ۷ میکرومتری تهیه شده و بعد توسط آهن وایگرت رنگ آمیزی شده و در زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

پارامترهای ضخامت کپسول بیضه، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز با در نظر گرفتن سر اسپرماتوزوئیدها، تعداد لایه‌های سلولی لوله‌های اسپرم ساز، اندازه دیوسلول‌ها و تعداد هسته داخل دیوسلول‌ها مورد بررسی قرار گرفت. سپس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون تی - تست و آنالیز واریانس مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها

یافته‌های بافت شناسی:

گروه کنترل:

در این گروه بیضه توسط کپسولی از جنس بافت هم‌بند متراکم نامنظم متشکل از رشته‌های کلاژن و سلول‌های فیبروسیت احاطه شده بود و در بعضی از قسمت‌های کپسول عروق خونی (شریان، ورید، شریانچه، ونول و مویرگ) دیده می‌شد. لوله‌های اسپرم ساز اپیتلیوم مکعبی مطبق داشته و در مقطع عرضی شکل هندسی منظم (نسبتاً کروی شکل) داشتند. در اطراف لوله‌های اسپرم ساز بافت فیبروزی متشکل از رشته‌های هم‌بندی، فیبروبلاست‌های کشیده و سلول‌های میوئید وجود داشت. در لوله‌های اسپرم ساز اولین ردیف سلول‌ها اسپرماتوگونی‌های نوع B با هسته گردتر و تیره تر واسپرماتوگونی‌های نوع A با هسته نسبتاً روشن وجود داشت. در لوله‌های اسپرم ساز اسپرماتوسیت‌های اولیه با هسته کاملا بزرگ و روشن (اوکروماتین) و سلول‌های اسپرماتوسیت ثانویه، اسپرماتید، اسپرماتوزوئید و سلول‌های سرتولی دیده می‌شود. در بین لوله‌ای اسپرم ساز، بافت بینابینی بیضه حاوی رشته‌ها کلاژن، رگ‌های خونی و سلول‌های هم‌بندی و سلول‌های لیدیک با سیتوپلاسم ائوزینوفیلی و هسته گرد و چند ضلعی دیده می‌شد.

گروه تیمار:

روز۲:

در این روز هیچ تغییر بافتی میکروسکوپی قابل مشاهده‌ای در بافت بیضه به دست نیآمد و یافته‌های بافت شناسی مشابه گروه کنترل بود.

روز ۱۰:

ادم جزئی در زیر کپسول بیضه مشاهده گردید همچنین در برخی از لوله‌های اسپرم ساز نزدیک به کپسول بیضه آتروفی دیده شد. به شکلی که در بعضی از لوله‌های اسپرم سازتعداد لایه‌های سلولی لوله‌های اسپرم ۲ الی ۴ ردیف بوده همچنین ضخامت لوله‌های اسپرم ساز نیز به‌صورت معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) کاهش یافته بود.

روز۲۴:

در این روز شدت بیشتری از اثر سم دیازینون بر روی بافت بیضه دیده شده و ادم بسیار شدیدی در زیر کپسول بیضه و بافت بینابینی بیضه بوجود آمده بود. لوله‌های اسپرم ساز در مقطع عرضی نیز به شکل‌های غیر طبیعی مشاهده شدند. در لوله‌های

www.SID.ir

Archive of SID

اسپرم ساز ضخامت اپی‌تلیوم، تعداد لایه‌های سلولی و قطر لوله‌ها نسبت به گروه کنترل و گروه تیمار در روزهای ۲ و ۱۰به شدت کاهش یافته (P< ۰/۰۵) ولی ضخامت کپسول بیضه و ضخامت بافت بینابینی لوله‌های اسپرم ساز نسبت به گروه کنترل و گروه تیمار در روزهای ۲ و ۱۰ (P< ۰/۰۵) افزایش یافته بود. در اغلب لوله‌های اسپرم ساز دیو سلول‌هایی با تعداد متغیری هسته قابل مشاهده بودند و سلول‌های موجود در لوله‌های اسپرم ساز به علت از دست دادن اتصالی بین سلولی از هم فاصله گرفته بودند.

روزهای ۳۰، ۵۰ و ۶۰:

در این روزها ادم زیر کپسول بیضه و ادم بافت بینابینی و آتروفی در لوله‌های اسپرم ساز دیده شد اما شدت آن‌ها نسبت به روز ۲۴ کم‌تر بود.

میانگین پارامترهای لوله‌های اسپرم ساز شامل ضخامت اپیتلیوم، قطر لوله‌ها و تعداد لایه‌های سلولی، ضخامت کپسول بیضه، اندازه دیو سلول‌ها و تعداد هسته در داخل دیو سلول‌ها در گروه کنترل و گروه تیمار در روزهای مختلف در جدول ۱ ارائه شده است.

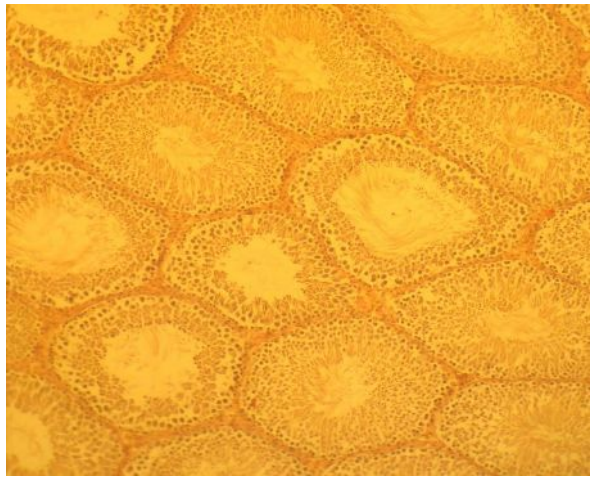
جدول شماره (۱): میانگین پارامترهای لوله‌های اسپرم ساز (قطر، ضخامت اپیتلیوم و تعداد لایه‌های سلولی)، ضخامت کپسول بیضه، اندازه دیو سلول‌ها و تعداد هسته درون دیو سلول‌ها (MEAN±SE).

گروه‌ها / پارامترها	گروه کنترل	گروه یازینون روز۲	گروه یازینون روز۱۰	گروه دیازینون روز۲۴	گروه یازینون روز۳۰	گروه یازینون روز۵۴	گروه دیازینون روز۶۰
قطر لوله‌های اسپرم ساز (میکرومتر)	۲۰۲/۴۹±۹/۱۲	۲۰۱±۹/۲۹	۲۰۰/۱۴±۹/۲	*۱۹۱/۱۳±۸/۷۱	۲۰۰±۹	۲۰۳±۹/۱۷	۱۹۷/۵۴±۹/۰۷
ضخامت اپیتلیوم لوله‌های اسپرم ساز (میکرومتر)	۴۰/۱۲±۱/۱۹	۴۰۱۲±۱/۱۹	۳۹/۹۱±۱/۷۱	*۳۲/۰±۱/۳۵	۳۵/۴۲±۱	۳۷/۰۸±۰/۹۷	۳۸/۴۳±۱/۰۱
ضخامت کپسول بیضه (میکرومتر)	۳۴/۷۲±۱/۴۷	۳۲/۹۱±۱/۳۷	۳۳/۰۴±۱/۳۹	*۳۸/۷±۱/۰۵	۳۸/۰۰±۰/۹۹	۳۵/۴۲±۰/۹۵	۳۲/۱۷±۱/۶۰
تعداد لایه‌های سلولی لوله‌های اسپرم ساز	۵/۶۶±۰/۲۲	۵/۰۴±۰/۲۲	۵/۰۰±۰/۱۹	*۲/۳۰±۰/۳۹	۳/۱۱±۰/۴۱	۴/۵±۰/۱۷	۵/۰۰±۰/۲۳۰
اندازه دیوسلوها (میکرومتر)	۰	۰	۰	*۷/۵±۲/۸۸	۰	۰	۰
تعداد هسته داخل دیوسلول‌ها	۰	۰	۰	*۱/۰۸±۰/۲۹	۰	۰	۰

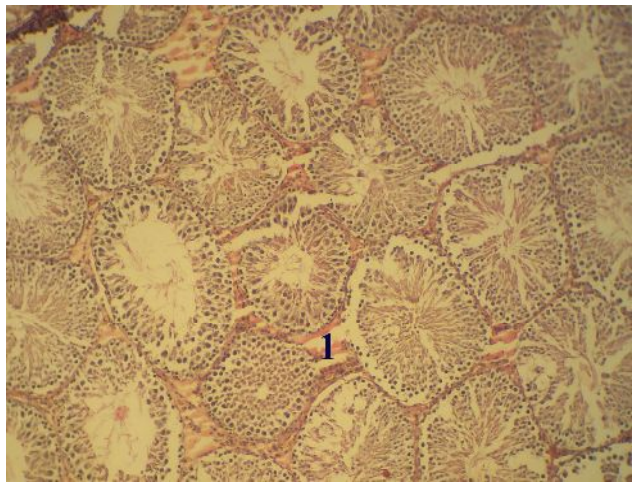
* P< ۰/۰۵

www.SID.ir

Archive of SID



شکل شماره (۱): مقطع عرضی لوله‌های اسپرم ساز در گروه کنترل (آهن وایگرت x۲۵۰).

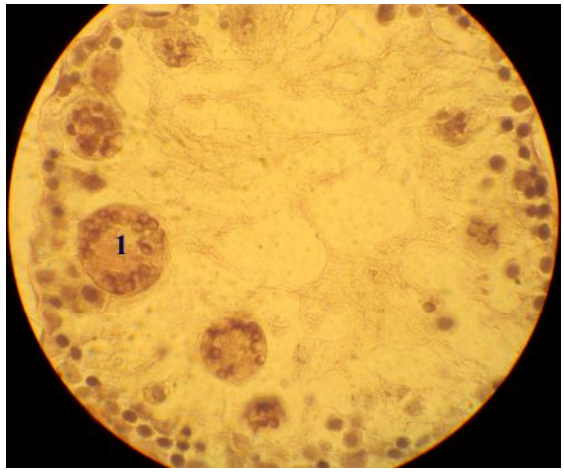


شکل شماره (۲): لوله‌های اسپرم ساز در گروه تیمار روز ۱۰. یک گسیختگی در سلول‌های رده اسپرماتوژنز و ادم بین بافتی در لوله‌های اسپرم ساز نزدیک کپسول بیضه دیده می‌شود (آهن وایگرت x۲۵۰).

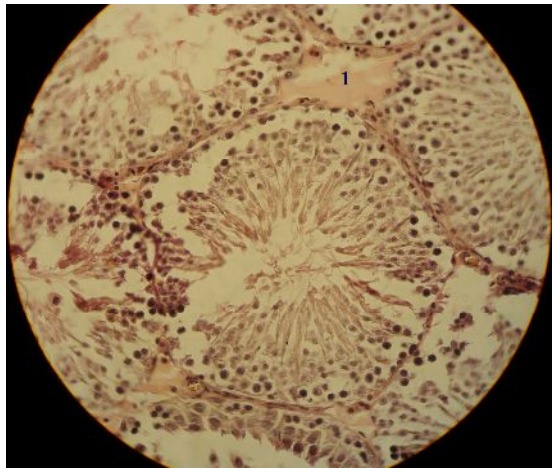
شکل شماره (۳): در گروه تیمار روز ۲۴. لوله‌های اسپرم ساز در اشکال غیر طبیعی دیده شده،ادم و آتروفی بسیار شدیدی به‌خصوص در لوله‌های اسپرم ساز نزدیک کپسول بیضه و ادم شدیدتری در بافت بینابینی لوله‌های اسپرم ساز دیده می‌شود (آهن وایگرت x۲۵۰).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل شماره (۴): در گروهس تیمار روز ۲۴در لوله‌های اسپرم ساز تعداد زیادی دیو سلول‌ها دیده می‌شود (آهن وایگرت ۱۰۰۰ x).



شکل شماره (۵): در گروه تیمار روز ۳۰ ادم بین بافتی لوله‌های اسپرم ساز دیده می‌شود همچنین در لوله‌های اسپرم ساز گسیختگی سلولی دیده می‌شود (آهن وایگرت x۴۰۰).

شکل شماره (۶): گروه تیمار روز ۵۴. ادم بین بافتی لوله‌های اسپرم ساز دیده می‌شود همچنین در لوله‌های اسپرم ساز گسیختگی سلولی دیده می‌شود (آهن وایگرت x۴۰۰).

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

اثرات بسیاری از موادی مثل الکل (۴)، نیکوتین (۶،۵) و لیدوکائین (۷) و داروهای مختلف مثل داروی سیپرومترین (۸)، فوکسیم (۹) که باعث تغییراتی در بافت بیضه و کاهش طول عمر، کاهش حرکت و مرگ و میر اسپرم‌ها می‌شوند مورد مطالعه قرار گرفته است. بعضی از سموم از جمله کپون و سم کاربارییل باعث آتروفی بافت بیضه و اشکال غیر طبیعی در اسپرم می‌شوند و میزان باروری مردانی که در محیط کارشان با این سموم مواجه هستند در مقایسه با سایر افراد کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (۱). همچنین تحقیقات نشان داده که سم مالاتیون در موش سوری (۱۰) و سم اندوسولفان (۱۱) در ماهی آبشش آبی سبب اختلالات عمده از جمله کاهش اسپرم، کاهش قطر و ضخامت لوله‌های اسپرم ساز شده است. در مطالعه حاضر با استفاده از سم دیازینون مشخص شد که این سم می‌تواند باعث تغییرات شدیدی در بافت بیضه نظیر کاهش قطر و ضخامت و تعداد لایه‌های سلولی لوله‌های اسپرم ساز می‌گردد. چنین تغییراتی می‌تواند ناشی از اثر سم بر روی سلول‌های اسپر ماتوگونی و توقف تولید سایر رده‌های سلولی در لوله‌های اسپرم ساز باشد. آتروفی موجود در مقاطع بافتی نیز ناشی از اثر سم بر سلول‌های اسپرماتوگونی است.

مطالعه اثرات سموم ارگانوفسفره بر روی بعضی از بافت‌ها از جمله قلب و عضلات اسکلتی (۲) بروز ادم در این بافت‌ها را اثبات نموده است. در مطالعه حاضر نیز ادم زیر کپسول بیضه و ادم بافت بینابینی مشاهده گردید که می‌تواند ناشی از اثر سم بر روی عروق خونی و تغییر در نفوذ پذیری عروق خونی باشد که خود باعث ورود بیش از حد پلاسما به بافت بیضه و ادم می‌گردد. در روز ۲۴ وجود دیو سلول‌ها نشان می‌دهد که هسته سلول‌های رده اسپرماتوژنز به‌طور کامل تقسیم شده ولی تقسیم سیتوپلاسم صورت نگرفته است و از این رو شاهدی بر برهم خوردن سیستم کنترل درون سلولی تقسیم در سطح سایتوکاینز است.

بر اساس شواهدی که حکایت از مکانیسم اکسیداتیو این گروه از سموم در بافت بیضه داشته و کاربرد آنتی اکسیدان‌ها سبب کاهش اثرات مخرب آنان می‌شود (۱۲) می‌توان در مورد دیازینون نیز امکان تاثیر به طریق ایجاد استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزادی که اجزای سلولی مختلفی را در بافت‌ها هدف قرار می‌دهند در نظر گرفت. جزئیات بیشتر در این زمینه نیازمند تحقیق مستقلی است.

با توجه به اثرات هیستوپاتولوژیک تیمار با دیازینون در بافت بیضه موش می‌توان به امکان بروز چنین سمیت سلولی در کشاورزان و افرادی که تماس مزمنی با این ترکیب دارند اشاره نمود و بر لزوم مراقبت و رعایت پوشش‌های محافظتی جهت جلوگیری از ورود سم به بدن که سبب ساز اختلالات گنادی و احتمالاً ناباروری خواهد شد، تاکید نمود.

References:

1. Saabia L, Maurer I, Bustosobregon E. Melatonin prevent damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the mouse testis. Ecotoxicol Environ Saf 2009; 72(3):938-42.
2. Wilkinson JG, Rajendra W, Oloffs PC, Banister EW. Diazinone treatment effect on heart and skeletal muscle enzyme activities. J Environ Sci Heal B 1986; 21(2): 103-13.
3. Hiran M, Douglas M, Sanaullah Kh. The effect of Endosulfan on the testes of Bluegill fish, Lepomis macrochirus: a histopathological study. Arch. Environ Contam Toxicol 2006; 51: 149- 56.
4. Dare WV, Noronha CC, Kusemiju OT, Okanlawon OA. The effect of ethanol on spermatogenesis and fertility in male Sprague-Dawley rats pretreated with acetylsalicylic acid. Niger Postgrad Med 2002; 9(4): 194-8.
5. Gamal H, El-Sokkary, Salvatore C, Russel J. Effect of chronic nicotine adminnistration on the rat lung and liver: beneficial role of melatonin. Toxicology 2007; 239 (1-2): 60-7.
6. Reddy A, Sood A, Rust PF, Busby JE, Mathur Rs, Mathur S. The effect of nicotine on in-vitro sperm motion characteristics. J Assist Repro Genet 1995; 12(3): 217-23.
7. Moudgil P, Gupta A, Sharma A, Gupta S, Tiwarg AK. Potentiation of spermicidal activity of 2',4'-dichlorobenzamil by lidocaine Indian J Exp Biol 2002; 40(12): 1373-7.
8. Yousef MI, Demerdash FM, Salhen KS. Protective role of isoflavones againts the toxic effect of cypermethrin on semen quality and

www.SID.ir

Archive of SID

testostrone levels of rabits. J Eviron Sci Heal 2003; 38(4): 463-78.

9. Zhan N, Wang S, Wang X. Effect of phoxim on sperm production and motility of rats. Weisheng Yan Jiu 2000; 29(1): 4-6.
10. Bustos OE, Gonzalez HP. Effect of single dose of malation on spermatogenesis in mice. Asian J Androl 2003; 5(2): 105- 7.
11. Vittozzi L, Fabrizi L, Dicosiglio E, Testai E. Mechanistic aspect of organophosphorothionate toxicity in fish and humans. Environ Int 2001; 26(3):125-9.
12. Uzun FG, Kalender S, Durak D, Demir F, Kalender Y. Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E, Food and Chemical Toxicology 2009; 47(8), 1903-8.

www.SID.ir