

## اثر سم دیازینون بر محور هیپوفیزی - گنادی و روند اسپرماتوژنز موش صحرائی نر بالغ

سمیه رحیمی\*<sup>۱</sup>، محمدجواد ضمیری<sup>۱</sup>، دکتر مهرداد شریعتی<sup>۲</sup>، دکتر سعید چنگیزی آشتیانی<sup>۳</sup>، داوود مقدم نیا<sup>۴</sup>، دکتر آزاد رحیمی<sup>۵</sup>

۱- کارشناسی ارشد علوم جانوری، گروه بیولوژی، دانشگاه آزاداسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران. ۲- دانشیار، گروه بیولوژی، دانشگاه آزاداسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.

۳- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران. ۴- دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران.

۵- دکتری دامپزشکی، دانشگاه آزاداسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** سم دیازینون یک حشره کش ارگانوفسفره بوده که از طریق مهار آنزیم استیل کولین استراز اثرات خود را اعمال می کند.

این مطالعه به منظور تعیین اثر سم دیازینون بر محور هیپوفیزی - گنادی و روند اسپرماتوژنز موش صحرائی نر بالغ انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار در ۵ گروه ۸ تایی تقسیم به صورت گروه های تجربی، کنترل و شم تقسیم شدند. دیازینون در مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ روزانه به گروه های تجربی طی مدت ۲۸ روز به صورت خوراکی تجویز شد. حیوانات گروه کنترل تحت تیمار دارویی یا غیردارویی قرار نگرفتند و گروه شم تنها سرم فیزیولوژی دریافت نمود. در پایان ۲۸ روز پس از تجویز آخرین وعده، خونگیری از قلب حیوانات انجام و غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون اندازه گیری شد. از بیضه های حیوانات نیز نمونه های بافتی تهیه و تغییرات بافتی بررسی گردید.

**یافته ها:** سم دیازینون در گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل سبب کاهش آماری معنی داری در غلظت هورمون تستوسترون و میانگین تعداد سلول های سرتولی، لیدیگ، اسپرماتوسیت های اولیه و اسپرماتیدها گردید ( $P < 0/05$ ). میانگین وزن بدن و بیضه ها نسبت به گروه کنترل اختلاف آماری معنی داری نشان نداد.

**نتیجه گیری:** سم دیازینون سبب کاهش غلظت سرمی تستوسترون و کاهش سلول ها در روند اسپرماتوژنز می گردد.

**کلید واژه ها:** دیازینون، بیضه، تستوسترون، موش صحرائی

\* نویسنده مسؤول: سمیه رحیمی، پست الکترونیکی [somaye\\_biology@yahoo.com](mailto:somaye_biology@yahoo.com)

نشانی: کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، گروه بیولوژی، تلفن و شماره ۰۷۱-۴۲۲۴۳۹۳۰

وصول مقاله: ۹۳/۹/۲۹، اصلاح نهایی: ۹۳/۱۱/۲۰، پذیرش مقاله: ۹۳/۱۲/۹

### مقدمه

سبب سرکوب سیستم ایمنی، مهار کولین استراز گلوبول های قرمز و کاهش نسبی در وزن بدن و تیموس شده و پاسخ دی هیدروتستوسترون را نیز می کاهش (۳). سم دیازینون ۸۲ درصد استیل کولین استراز اریتروسیت ها را مهار می کند و سبب تغییراتی در الگوی خواب می گردد. این سم به عملکرد مغز آسیب رسانده و رشد استخوان را در کودکان به تعویق می اندازد و سن اولین قاعدگی را کم می کند (۴). دیازینون می تواند سبب اختلالات عصبی گردد؛ اما روی آستانه حسی تاثیر ندارد (۵). این سم می تواند باعث بروز سرطان مغز در کودکان و عامل آسیب های ژنتیکی باشد و سبب غیرطبیعی شدن DNA و تقسیم سلولی و شکنندگی DNA موجود در گلوبول های قرمز شود (۶). سم دیازینون می تواند باعث ایجاد سرطان بیضه و کاهش تعداد اسپرم گردد (۷). دیازینون با تغییر در کروموزم های اسپرم خطر سندرم های ژنتیکی از جمله سندرم ترنر را می افزایش (۵). دیازینون موجب کاهش وزن اندام های

امروزه کشاورزان برای افزایش محصولات کشاورزی خود و مبارزه با آفت های گیاهی از سموم مختلف استفاده می کنند. سم دیازینون یکی از سمومی است که کاربرد فراوان دارد. دیازینون حشره کش ارگانوفسفره است که برای کنترل حشرات در خاک، گیاهان زینتی، میوه ها و سبزیجات به کار می رود. دیازینون سمی بی رنگ، روغنی و به شکل مایع است. موجودات زنده به ویژه انسان به طور مستقیم یا غیرمستقیم در معرض این سم قرار می گیرند. سم دیازینون آنزیم استیل کولین استراز را مهار می کند. این آنزیم برای عملکرد سیستم عصبی بسیار ضروری است و مهار آن سلامت موجودات را به خطر می اندازد (۱). سم دیازینون دارای نیمه عمر طولانی بوده و با مدت بقای بالا در محیط می تواند برای انسان خطر آفرین باشد. از این سم به عنوان یک آلاینده محیطی یاد می شود (۲). دیازینون باعث کاهش T3 و T4 می گردد. همچنین

صورت خوراکی طی مدت ۲۸ روز دریافت کرد. (ج) گروه تیمار با دوز پایین سم دیازینون (۵۰ mg/kg/bw) را به صورت حل شده در آب به صورت سوسپانسیون در حجم نهایی ۲ میلی لیتر به صورت خوراکی به مدت ۲۸ روز دریافت کرد. (د) گروه تیمار با دوز میانه سم دیازینون (۱۰۰ mg/kg/bw) را به صورت حل شده در آب به صورت سوسپانسیون در حجم نهایی ۲ میلی لیتر به صورت خوراکی به مدت ۲۸ روز دریافت کرد. (ه) گروه تیمار با دوز بالا سم دیازینون (۱۵۰ mg/kg/bw) را به صورت حل شده در آب به صورت سوسپانسیون در حجم نهایی ۲ میلی لیتر به صورت خوراکی به مدت ۲۸ روز دریافت کرد. در پایان روز ۲۸ حیوانات توزین شدند. سپس با اتر بیهوش شدند. پس از باز کردن قفسه سینه خونگیری از ناحیه بطنی قلب انجام گردید. نمونه‌های خونی به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شدند. سرم‌های حاصله از لخته جدا و نمونه‌ها برای سنجش هورمونی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری هورمونی با روش رادیوایمونواسی انجام و هورمون تستوسترون اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش بیضه حیوانات از بدن خارج و توزین گردید. سپس مقاطع بافتی تهیه و بعد از رنگ آمیزی با هماتوکیسلین اتوزین مطالعات بافتی و شمارش سلولی با میکروسکوپ نوری انجام شد.

برای شمارش رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک، لیدینگ، سرتولی و عروق خونی در واحد سطح و همچنین برای اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، برش‌های بافتی با استفاده از صفحه چشمی مدرج عدسی چشمی میکروسکوپ نوری، مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای شمارش، تعداد سلول‌هایی که در داخل صفحه مدرج قرار گرفت؛ در چند ناحیه از یک برش و به صورت سریالی محاسبه گردید.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-11.5 و آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

مطالعات آماری و مقایسه میانگین وزن بدن، وزن بیضه، سطح تستوسترون، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتیدها، سلول‌های سرتولی و لیدینگ به دنبال دریافت مقادیر مختلف سم دیازینون بین گروه‌های تجربی، کنترل و شم در جدول یک آمده است.

وزن بدن و بیضه در گروه‌های دریافت کننده سم دیازینون نسبت به گروه‌های کنترل و شم تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد (جدول یک).

جنسی، بقا و حرکت اسپرم و افزایش ناهنجاری‌های مرفولوژیکی در اسپرم می‌شود (۸). این سم از طریق فسفریلاسیون پروتئین‌های هسته می‌تواند ساختار کروماتین اسپرم را تغییر داده و بر روی بقا، حرکت و مرفولوژی اسپرم به‌خصوص در مراحل نهایی بلوغ اثر گذارد. دیازینون باعث تغییر قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و سلول‌های ژرمینال می‌گردد (۵). ارگانوفسفره‌ها می‌توانند در دوزهای مختلف بافت بیضه را تحت تاثیر قرار دهند و با دژنره کردن مجاری اسپرم‌ساز و کاهش ساخت اسپرم، ناباروری ناخواسته را سبب گردند (۷).

دیازینون در جنس ماده باعث کاهش باروری، افزایش مرگ و میر نوزادان، کاهش وزن تولد و کاهش رشد و زنده ماندن نوزاد می‌شود. این سم می‌تواند باعث افزایش سرطان سینه گردد. سم دیازینون احتمال ابتلا به سرطان ریه و خون را می‌افزاید (۹). همچنین اثرات تراژدیکی سم دیازینون بر ستون فقرات جنین جوجه زمانی که مقداری دیازینون به کیسه غذایی آن تزریق شد؛ مشخص گردید (۱۰). این مطالعه به منظور تعیین اثر سم دیازینون بر محور هیپوفیز - گناد و روند اسپرماتوزن موش صحرایی نر بالغ انجام شد.

#### روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار ۳-۴ ماهه با وزن تقریبی  $220 \pm 30$  گرم خریداری شده از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انجام گردید.

در این تحقیق از سم دیازینون (بازودین دیاک- کد محصول ۲۴۸ - ساخت شرکت گیاه ایران) استفاده شد.

LD50 خوراکی حاد (دوز لازم برای کشتن نصف جمعیت حیوانات آزمایشگاهی) برای موش‌های صحرایی  $1250 \text{ mg/kg/bw}$  تعیین شد (۱۱).

با اضافه کردن  $0/2$  میلی لیتر سم دیازینون به  $10$  میلی لیتر آب مقطر، امولسیون آن تهیه گردید و بعد از تعیین LD 50 دوز تزریقی حداکثر برابر  $150 \text{ mg/kg}$  تعیین شد.

آزمایش در محیطی با درجه حرارت محیط ( $22 \pm 2$ ) درجه سانتی گراد) و با دسترسی آزاد به آب آشامیدنی، تغذیه استاندارد و با رعایت کلیه کدهای مصوب کار روی حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید.

حیوانات در ۵ گروه ۸ تایی و به صورت زیر گروه‌بندی شدند (۱۰).

الف) گروه کنترل هیچ گونه تیمار دارویی دریافت نکرد و تمامی شرایط نگهداری و تغذیه آنها مشابه دیگر گروه‌ها بود.

ب) گروه شم روزانه  $2$  میلی لیتر آب مقطر (حلال دارو) به

جدول ۱: اثر دیازینون روی میانگین و انحراف معیار وزن بدن و بیضه‌های موش‌های صحرایی نر بالغ

گروه‌ها	تعداد	وزن بدن قبل از آزمایش	وزن بدن بعد از تزریق	وزن بیضه راست	وزن بیضه چپ
کنترل	۶	۲۰۸/۲±۱۰/۷	۲۵۱±۱۵/۳	۱/۲۸±۰/۱۵	۱/۳۲±۰/۱۲
شاهد	۶	۲۲۳/۳±۱۳/۷	۲۶۶/۷±۱۸/۲	۱/۳۷±۰/۱۲	۱/۳۸±۰/۸
دیازینون (۵۰ mg/kg/bw)	۸	۲۳۷/۵±۲۶	۲۶۰±۲۹/۳	۱/۳۹±۰/۱۴	۱/۳۸±۰/۱۲
دیازینون (۱۰۰ mg/kg/bw)	۸	۲۲۱/۳±۲۱	۲۷۵±۲۹/۳	۱/۳۶±۰/۱۲	۱/۳۵±۰/۸
دیازینون (۱۵۰ mg/kg/bw)	۸	۲۳۶/۲±۲۶/۷	۲۶۷/۵±۳۸/۵	۱/۳۵±۰/۲	۱/۳۸±۰/۱۲

جدول ۲: اثر دیازینون روی میانگین و انحراف معیار تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و تعداد اسپرماتید موش‌های صحرایی نر بالغ

گروه‌ها	تعداد	تعداد اسپرماتوگونی	تعداد اسپرماتوسیت	تعداد اسپرماتید
کنترل	۶	۴۴±۹/۰	۹/۳±۲/۵	۱۶۰±۳
شاهد	۶	۴۴/۵±۱/۱ *	۶۱/۲±۳/۱	۶۲/۸±۲/۳ *
دیازینون (۵۰ mg/kg/bw)	۸	۴۱/۸±۱/۸ *	۶۱/۳±۳/۷ *	۱۵۱/۶±۱/۷ *
دیازینون (۱۰۰ mg/kg/bw)	۸	۷/۷±۲/۲ *	۴۵±۲ *	۱۴۷±۲/۵ *
دیازینون (۱۵۰ mg/kg/bw)	۸	۳۴±۲/۱ *	۳۹/۴±۲/۷ *	۱۳۷/۴±۴/۵ *

P<۰/۰۵ \*

جدول ۳: اثر دیازینون روی میانگین و انحراف معیار تعداد سلول‌های لیدیک، سلول سرتولی و غلظت هورمون تستوسترون سرم موش‌های صحرایی نر بالغ

گروه‌ها	تعداد	تعداد سلول‌های لیدیک	تعداد سلول‌های سرتولی	هورمون تستوسترون (nmol/l)
کنترل	۶	۹/۱±۰/۷	۱۵/۵±۰/۵	۲/۳±۰/۲
شاهد	۶	۹/۱±۰/۴ *	۱۴/۵±۰/۵	۲/۴±۰/۷
دیازینون (۵۰ mg/kg/bw)	۸	۷/۴±۰/۵ *	۱۱/۵±۰/۵ *	۱/۶±۰/۶ *
دیازینون (۱۰۰ mg/kg/bw)	۸	۶/۳±۰/۵ *	۱۰/۹±۱/۱ *	۰/۵±۰/۸ *
دیازینون (۱۵۰ mg/kg/bw)	۸	۵/۸±۱ *	۹/۱±۰/۶ *	۰/۵±۰/۹ *

P<۰/۰۵ \*

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید در مقطع لوله‌های اسپرم‌ساز گروه‌های تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شم کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (جدول ۲). (P<۰/۰۵)

میانگین تعداد سلول‌های لیدیک، سرتولی و هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شم کاهش آماری معنی‌داری نشان داد (جدول ۳). (P<۰/۰۵)

**بحث**

در این مطالعه مصرف خوراکی سم دیازینون با مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg/bw طی ۲۸ روز اثر معنی‌داری روی وزن حیوانات نداشت.

سم دیازینون لیپیدهای سرم و یا غلظت‌های لیپوپروتئینی کلسترول را افزایش می‌دهد (۱۲). مسمومیت با ترکیبات ارگانوفسفره مانند دیازینون در انسان باعث افزایش ACTH و کورتیزول و پرولاکتین و کاهش ترشح FSH می‌گردد (۱۳). ارتباط نزدیکی بین تعادل وزن بدن و فعالیت ترشحی آدرنال وجود دارد. افزایش ACTH ارتباط مستقیمی با کاهش وزن بدن نشان داده است (۱۴). ارگانوفسفات‌ها نوراپی‌نفرین را افزایش می‌دهند. نوراپی‌نفرین باعث افزایش نرخ متابولیسم می‌شود و این عمل را از طریق اثر بر

گلیکوژنولیز انجام می‌دهد که افزایش متابولیسم و کاهش وزن بدن را در پی دارد (۱۵). در مطالعه ما میانگین وزن بیضه‌های چپ و راست در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان داد که با نتایج حاصل از بررسی هیستولوژیکی بیضه در گروه‌های دریافت‌کننده مقادیر مختلف سم مطابقت دارد. به طوری که در آن تغییر آشکاری در ساختار بافتی لوله‌های اسپرم‌ساز دیده نشد. از سویی تحقیقات بر روی موش‌های صحرایی نر بالغ به مدت ۱۵ روز نشان داده تجویز مزمن آفت‌کش‌های ارگانوفسفره باعث کاهش جرم بیضه و فعالیت استیل کولین استراز در اندام‌ها می‌گردد (۱۶). سم دیازینون باعث تخریب لوله‌های اسپرم‌ساز می‌گردد و با تخریب این لوله‌ها احتمال کاهش جرم بیضه‌ها وجود دارد (۱۷). دیازینون باعث کاهش وزن بیضه‌ها می‌گردد (۱۸). در مطالعه جورسرای و همکاران اثر سم دیازینون در غلظت ۱/۱۰۰۰ و ۱/۱۰۰۰۰ بر روی اسپرم انسان، کاهش تعداد و حرکات اسپرم‌ها را نشان داد و این اثر وابسته به دوز و زمان نبود (۱۹).

در مطالعه فتاحی و همکاران تزریق داخل صفاقی دیازینون به میزان ۳۰ mg/kg/bw طی مدت یک‌ماه سبب کاهش تعداد سلول‌های ژرمینال گردید؛ به نحوی که در ایجاد ناباروری موثر بود

از همین راه باعث مهار استروئیدسازی می‌شوند و با کاهش میزان انتقال کلسترول به لایه درونی میتوکنندری سنتز تستوسترون کم می‌شود (۲۲). در مطالعه ملیجی و همکاران دیازینون به میزان  $3,0,3 \text{ mg/kg/bw}$  و  $30$  به مدت ۵ روز در هفته طی مدت یک‌ماه در موش‌های صحرایی سبب افزایش معنی‌داری در سطح اینترلوکین ۱۰ و افزایش تستوسترون و کاهش هورمون FSH گردید (۲۳). دیازینون سیستم‌های سرتونینی (5HT) را مختل می‌کند (۲۴و۴). بین گیرنده‌های سرتونین گیرنده‌های  $\alpha 1$  آدرنژیک و بتا آدرنژیک و هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین برای تولید CAMP و تستوسترون در بیضه ارتباط وجود دارد (۱۲و۲۵). ارگانوفسفات‌ها، ACTH و کورتیزول را افزایش می‌دهند (۲۶). افزایش کورتیزول و ACTH فعالیت محور هیپوتالاموسی - هیپوفیزی-گنادی (HPG) را مهار می‌کند. مهار این محور روند اسپرماتوزن را مختل می‌کند (۲۷). ارگانوفسفات‌ها باعث افزایش استیل کولین، اپی نفرین، نوراپی نفرین و دوپامین و کاهش پرولاکتین می‌شوند (۲۸). ارگانوفسفات‌ها با مهار استیل کولین استراز (ACHE) و افزایش استیل کولین (ACH) سبب افزایش آزادسازی CRF از هیپوتالاموس می‌شوند (۲۶). CRF بدون اثر بر هیپوفیز عملکرد سلول لیدینگ را تحت تاثیر قرار می‌دهد. یک مسیر عصبی مغز و بیضه‌ها وجود دارد که تحریک این مسیر توسط CRF باعث تداخل در ترشح تستوسترون می‌شود. هسته مجاور بطنی در مغز یکی از مهم‌ترین مراکز این مسیر است. با افزایش میزان CRF میزان تستوسترون نیز افزایش می‌یابد (۲۹). این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مغایرت دارد. اپی نفرین و نوراپی نفرین از طریق رسپتورهای ۱ و  $\beta 2$  آدرنژیک بر تولید CAMP و تولید تستوسترون اثر تحریکی دارند (۲۵). دوپامین مهم‌ترین عامل مهار کننده ترشح پرولاکتین (PIF) است که در نورون‌های هسته قوسی وجود دارد. دوپامین از پایانه‌های نورون‌های سیستم تیوبرواینفاندیبولار (TIDA) به داخل گردش خون باب ترشح شده و به سلول‌های لاکتوتروپ که دارای گیرنده‌های دوپامینی هستند منتقل و باعث مهار ترشح پرولاکتین می‌شود. در شرایطی که نورون‌های این ناحیه دوپامین بیشتری سنتز کنند؛ ترشح پرولاکتین کاهش می‌یابد. از آنجا که پرولاکتین باعث افزایش تعداد گیرنده‌های LH در بیضه می‌شود و همچنین گیرنده‌های LH بیضه‌ای به وسیله پرولاکتین موجود در گردش خون نگهداری می‌شود؛ احتمالاً به دنبال کاهش پرولاکتین گیرنده‌های LH بیضه‌ای نیز کاهش می‌یابد. با کاهش تعداد گیرنده‌های LH در سلول‌های لیدینگ ترشح تستوسترون نیز کاهش می‌یابد (۲۸). دیازینون تعداد سلول‌ها اسپروماتوگونی را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد. مواد شیمیایی و سموم کشاورزی مانند دیازینون سلول‌های جنسی را در

(۸). در مطالعه نجفی و همکاران دریافت خوراکی سم دیازینون به میزان  $70 \text{ mg/kg/bw}$  یک روز در میان طی مدت ۲ ماه تغییرات مرفولوژی و آتروفی واضح در ساختار بیضه و نقص عملکرد دستگاه تناسلی نر را به دنبال داشت (۱۶). در مطالعه دیگری از فتاحی و همکاران با تزریق داخل صفاقی دیازینون به میزان  $30 \text{ mg/kg/bw}$  به موش‌های صحرایی، برش‌های بافتی بیضه، رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوزنیک، سلول‌های لیدینگ و عروق خونی بررسی شد و کاهش تعداد اسپرم‌ها مشاهده گردید (۲۰). احتمال می‌رود مطابقت نکردن نتایج حاصل از مطالعه ما با دیگر محققان به متفاوت بودن دوزها و نیز مدت زمان دوره تیمار باشد.

در مطالعه حاضر میانگین غلظت سرمی تستوسترون گروه‌های دریافت کننده دیازینون کمتر از گروه کنترل بود. بسیاری از آفت کش‌های ارگانوفسفره سبب ایجاد اختلال در عملکرد تولید مثل از طریق اختلال در بیان ژن پروتئین StAR (Steroidogenic Acute Regulatory Protein) می‌گردند. این پروتئین عامل تعیین کننده‌ای در بیوسنتز استروئیدها بوده و حشره کش‌های ارگانوفسفره به طور مستقیم استروئیدسازی را در سلول‌های لیدینگ از طریق اختلال در بیان آن مختل می‌کنند. پروتئین StAR کلسترول را از لایه خارجی میتوکنندری به لایه داخلی میتوکنندری انتقال می‌دهد و در آنجا آنزیم‌های تقسیم کننده زنجیره‌های جانبی سیتوکروم P450 (P450cc) فعال شده و سنتز هورمون‌های استروئیدی شروع می‌شود. این ترکیبات بر فعالیت آنزیم P450 (آنزیم تبدیل کننده کلسترول به pregnenolone) و آنزیم HSD- $\beta 3$  (Droxy Steroid Dehydrogenase) که پرتگولون را به پروژسترون تبدیل می‌کند؛ اثر گذاشته و بیوسنتز همه هورمون‌های استروئیدی با جدا شدن زنجیره جانبی کلسترول و تبدیل شدن آن به pregnenolone شروع می‌شود. کلسترول به آسانی به لایه‌های درونی میتوکنندری منتقل نمی‌شود و در نتیجه میزان تولید استروئید فیزیولوژیکی مربوطه کاهش می‌یابد. مکانیسم‌هایی برای انتقال کلسترول از منابع ذخیره‌ای به میتوکنندری و نیز از لایه خارجی به لایه داخلی میتوکنندری وجود دارند؛ اگرچه آزادسازی کلسترول از منابع ذخیره‌ای به میتوکنندری برای ثابت نگه داشتن حداکثر تولید استروئید ضروری است (۲۱). جهش در ژن STAR که باعث هایپرلازی آدرنال مادرزادی می‌شود؛ وضعیتی است که در آن کلسترول و کلسترول استراز تجمع می‌یابند و نوزاد تازه متولد شده قادر به سنتز سطوح کافی از هورمون‌های استروئیدی نیست (۲۱و۲۲). حشره کش‌های ارگانوفسفره موجب کاهش بیان پروتئین STAR و سنتز استروئیدها در سلول‌های لیدینگ می‌شوند. این تحقیقات نشان می‌دهند احتمالاً دیگر حشره کش‌ها نیز

مهم‌ترین تغییرات بود که با افزایش غلظت سم، به طور معنی‌داری افزایش نشان داد (۳۲).

با کاهش میزان ترشح هورمون‌های تیروئیدی در موش‌های صحرایی نر بالغ رشد و توسعه سلول‌ها و نیز تعداد سلول‌های اینتراستیشیال کاهش می‌یابد. احتمالاً سم دیازینون با تغییر جریان خون تیروئیدی یا مهار آنزیم آدنیلات سیکلاز و کاهش CAMP توسط TSH در سلول‌های تیروئید باعث کاهش ترشح هورمون‌های تیروئیدی می‌شود که این امر به توقف رشد و تکثیر سلول‌های اینتراستیشیال در بیضه منجر می‌شود (۴). میزان هورمون LH نقش موثری در تکامل سلول‌های اینتراستیشیال دارد و سلول‌های تمایز نیافته در فضای اینتراستیشیال تحت اثر تحرکی هورمون LH تمایز یافته و به سلول‌های لیدیگ تبدیل می‌شوند (۳۳). اگرگانوفسفات‌ها باعث کاهش میزان LH سرمی و در نتیجه اختلال در تکامل سلول‌های اینتراستیشیال می‌شوند (۱۳).

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سم دیازینون باعث کاهش روند اسپرماتوژنز در موش صحرایی نر بالغ می‌گردد که احتمالاً از طریق کاهش و یا مرگ سلول‌های لیدیگ و نیز کاهش فعالیت و یا عملکرد سلول‌های سرتولی ایجاد می‌شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه خانم سمیه رحیمی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی جانوری از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون بود. بدین وسیله از ریاست و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند؛ صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم.

### References

- Duysen EG, Cashman JR, Schopfer LM, Nachon F, Masson P, Lockridge O. Differential sensitivity of plasma carboxylesterase-null mice to parathion, chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon, but not to diazinon, dichlorvos, diisopropylfluorophosphate, cresyl saligenin phosphate, cyclosarin thiocholine, tabun thiocholine, and carbofuran. *Chem Biol Interact*. 2012 Feb 5;195(3):189-98. doi: 10.1016/j.cbi.2011.12.006.
- Jones RR, Barone-Adesi F, Koutros S, Lerro CC, Blair A, Lubin J, et al. Incidence of solid tumours among pesticide applicators exposed to the organophosphate insecticide diazinon in the Agricultural health study: an updated analysis. *Occup Environ Med*. 2015 Jul;72(7):496-503. doi: 10.1136/oemed-2014-102728
- Goldner WS, Sandler DP, Yu F, Shostrom V, Hoppin JA, Kamel F, LeVan TD. Hypothyroidism and pesticide use among male private pesticide applicators in the agricultural health study. *J Occup Environ Med*. 2013 Oct; 55(10):1171-8. doi: 10.1097/JOM.0b013e31829b290b
- Slotkin TA, Ryde IT, Levin ED, Seidler FJ. Developmental neurotoxicity of low dose diazinon exposure of neonatal rats: effects on serotonin systems in adolescence and adulthood. *Brain Res Bull*. 2008 Mar; 75(5):640-7. doi: 10.1016/j.brainresbull.2007.10.008
- Slotkin TA, Seidler FJ. Developmental neurotoxicity of organophosphates targets cell cycle and apoptosis, revealed by transcriptional profiles in vivo and in vitro. *Neurotoxicol Teratol*. 2012 Mar;34(2):232-41. doi: 10.1016/j.ntt.2011.12.001
- Beane Freeman LE, Bonner MR, Blair A, Hoppin JA, Sandler DP, Lubin JH, et al. Cancer incidence among male pesticide applicators in the Agricultural Health Study cohort exposed to diazinon. *Am J Epidemiol*. 2005 Dec;162(11):1070-9.
- Jayachandra S, D'Souza UJ. Pre- and postnatal toxicity of diazinon induces disruption of spermatogenic cell line evidenced by increased testicular marker enzymes activities in rat offspring. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2013;32(1):73-90.
- Fattahy E, Jorsaraei S, Parivar K, Moghaddamnia AA. [Influence of diazinon on spermatogenesis in mice]. *Koomesh*. 2007; 9(1): 75-82. [Article in Persian]
- Guyton KZ, Loomis D, Grosse Y, El Ghissassi F, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *Lancet Oncol*. 2015 May;16(5):490-1. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70134-8
- Oh YJ, Jung YJ, Kang JW, Yoo YS. Investigation of the estrogenic activities of pesticides from Pal-dang reservoir by in vitro assay. *Sci Total Environ*. 2007 Dec; 388(1-3):8-15.

11. Woodward K, Marrs T, Waters MD. Toxicological effects of veterinary medicinal products in humans. 1<sup>st</sup>. Cambridge: RSC Press. 2012; p: 181.
12. El-Demerdash FM, Nasr HM. Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon. *J Trace Elem Med Biol.* 2014 Jan; 28(1):89-93. doi: 10.1016/j.jtemb.2013.10.001
13. Bisson M, Hontela A. Cytotoxic and endocrine-disrupting potential of atrazine, diazinon, endosulfan, and mancozeb in adrenocortical steroidogenic cells of rainbow trout exposed in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002 Apr; 180(2):110-7.
14. Mazzocchi G, Malendowicz LK, Gottardo L, Aragona F, Nussdorfer GG. Orexin A stimulates cortisol secretion from human adrenocortical cells through activation of the adenylate cyclase-dependent signaling cascade. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Feb; 86(2):778-82.
15. Ahmed MA, Ahmed HI, El-Morsy EM. Melatonin protects against diazinon-induced neurobehavioral changes in rats. *Neurochem Res.* 2013 Oct; 38(10):2227-36. doi: 10.1007/s11064-013-1134-9
16. Najafi GR, Salami S, Karimi A. [The effects of diazinon on testicular tissue in adult male rat. A histopathological study]. *Urma Medical Journal.* 2010; 20(4): 313-19. [Article in Persian]
17. Piña-Guzmán B, Solís-Heredia MJ, Quintanilla-Vega B. Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005 Jan; 202(2):189-98.
18. Jayachandra S, D'Souza UJ. Prenatal and postnatal exposure to diazinon and its effect on spermatogram and pituitary gonadal hormones in male offspring of rats at puberty and adulthood. *J Environ Sci Health B.* 2014;49(4):271-8. doi: 10.1080/03601234.2014.868287
19. Jorsaraei Gh, Beiki AA, Yousefnia Pasha YR, Alizadeh Navaei R. [The in vitro effects of Hinosan and Diazinon on human sperm parameters]. *J Babol Uni Med Sci.* 2005; 7(2): 30-34. [Article in Persian]
20. Fattahi E, Jorsaraei SG, Parivar K, Moghaddamnia AA. The effects of a single dosage of Diazinon and Hinosan on the structure of testis tissue and sexual hormones in mice. *Yakhteh Medical Journal.* 2010; 12(3):405-10.
21. Ikeda K, Saito T, Tojo K. Efonidipine, a Ca(2+)-channel blocker, enhances the production of dehydroepiandrosterone sulfate in NCI-H295R human adrenocortical carcinoma cells. *Tohoku J Exp Med.* 2011;224(4):263-71.
22. Viswanath G, Chatterjee S, Dabral S, Nanguneri SR, Divya G, Roy P. Anti-androgenic endocrine disrupting activities of chlorpyrifos and piperophos. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010 May; 120(1):22-9. doi: 10.1016/j.jsmb.2010.02.032
23. Maliji Gh, Jorsaraei SG, Zabihi E, Fattahi E, Rezaie E, Sohan Faraji A. [Diazinon alters sex hormones, Interferon-gamma, Interleukin-4 and 10 in male Wistar rats]. *J Gorgan Uni Med Sci.* 2014; 16(1): 22-28. [Article in Persian]
24. Lima CS, Nunes-Freitas AL, Ribeiro-Carvalho A, Filgueiras CC, Manhães AC, Meyer A, et al. Exposure to methamidophos at adulthood adversely affects serotonergic biomarkers in the mouse brain. *Neurotoxicology.* 2011; 32(6): 718-24.
25. Slotkin TA, Seidler FJ. Transcriptional profiles reveal similarities and differences in the effects of developmental neurotoxicants on differentiation into neurotransmitter phenotypes in Pc12 cells. *Brain Res Bull.* 2009 Mar; 78(4-5): 211-25. doi: 10.1016/j.brainresbull.2008.08.021
26. Proskocil BJ, Bruun DA, Thompson CM, Fryer AD, Lein PJ. Organophosphorus pesticides decrease M2 muscarinic receptor function in guinea pig airway nerves via indirect mechanisms. *PLoS One.* 2010; 5(5): e10562. doi: 10.1371/journal.pone.0010562
27. Selvage DJ, Rivier C. Importance of the paraventricular nucleus of the hypothalamus as a component of a neural pathway between the brain and the testes that modulates testosterone secretion independently of the pituitary. *Endocrinology.* 2003 Feb; 144(2):594-8.
28. Oswal DP, Garrett TL, Morris M, Lucot JB. Low-dose sarin exposure produces long term changes in brain neurochemistry of mice. *Neurochem Res.* 2013 Jan;38(1):108-16. doi: 10.1007/s11064-012-0896-9
29. Heinrich N, Meyer MR, Furkert J, Sasse A, Beyermann M, Bönigk W, et al. Corticotropin-releasing factor (CRF) agonists stimulate testosterone production in mouse leydig cells through CRF receptor-1. *Endocrinology.* 1998 Feb;139(2):651-8.
30. Salazar-Arredondo E, de Jesús Solís-Heredia M, Rojas-García E, Hernández-Ochoa I, Quintanilla-Vega B. Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. *Reprod Toxicol.* 2008 Aug; 25(4):455-60. doi: 10.1016/j.reprotox.2008.05.055
31. Leong CT, D'Souza UJ, Iqbal M, Mustapha ZA. Lipid peroxidation and decline in antioxidant status as one of the toxicity measures of diazinon in the testis. *Redox Rep.* 2013;18(4):155-64. doi: 10.1179/1351000213Y.00000000054
32. Banayi M, Mirvaghefi A, Ahmadi K, Ashori R. [The effect of diazinon on histopathological changes of testis and ovaries of common carp (Cyprinus carpio)]. *Journal of Marine Biology.* 2009; 1(2): 14-25. [Article in Persian]
33. ElMazoudy RH, Attia AA. Endocrine-disrupting and cytotoxic potential of anticholinesterase insecticide, diazinon in reproductive toxicity of male mice. *J Hazard Mater.* 2012 Mar; 209-10: 111-20. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.12.073

Original Paper

## Effect of Diazinon on pituitary-gonadal axis and histological alteration of seminiferous tubules in adult rat testis

Rahimi S (M.Sc)\*<sup>1</sup>, Zamiri MJ (M.Sc)<sup>1</sup>, Shariati M (Ph.D)<sup>2</sup>  
Changizi-Ashtiyani S (Ph.D)<sup>3</sup>, Moghadamnia D (M.Sc)<sup>4</sup>, Rahimi A (DVM)<sup>5</sup>

<sup>1</sup>M.Sc in Animal Physiology, Department of Biology, Islamic Azad University, Kazeroon Branch, Kazeroon, Iran.

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Kazeroon Branch, Kazeroon, Iran. <sup>3</sup>Associate Professor, Department of Physiology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran. <sup>4</sup>Ph.D Candidate in Animal Physiology, Islamic Azad University, Shiraz Branch, Shiraz, Iran. <sup>5</sup>Doctor in Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Kazeroon Branch, Kazeroon, Iran.

---

### Abstract

**Background and Objective:** Diazinon is an organophosphate insecticide, which inhibits the enzyme acetylcholinesterase. This study was done to evaluate the effect of Diazinon on pituitary-gonadal axis and histological alteration of seminiferous tubules in adult rat testis.

**Methods:** In this experimental study, 40 adult male Wistar rats were randomly allocated into five groups including control, sham and experimental 1, 2 and 3. Animals in experimental group 1, 2 and 3 were received 50, 100 and 150 mg/kg/bw of diazinon for 28 days, orally, respectively. Animals in control group did not receive any substance. Animals in sham group were received an equivalent amount of normal saline. The animals were euthanized after 28 days and a blood sample was collected via heart puncture and testes were removed for histological studies.

**Results:** Diazinon significantly reduced serum testosterone concentration, sertoli cell, leydig cell count, primary spermatocyte and spermatid ( $P<0.05$ ). Diazinon had no significant effect on the body and testis weight in the experimental groups compared to controls.

**Conclusion:** Diazinon reduces the concentration of testosterone and cells in seminiferous tubule in adult rat.

**Keywords:** Diazinon, Testis tissue, Testosterone, Rat

---

\* **Corresponding Author:** Rahimi S (M.Sc), E-mail: [somaye\\_biology@yahoo.com](mailto:somaye_biology@yahoo.com)

Received 20 Dec 2014

Revised 9 Feb 2015

Accepted 28 Feb 2015