

## **Evaluation of Sulfur Mustard Effect on the Spermatogenesis Process of Mature Male Rats**

**Kooshesh L., M.Sc.,\* Dashtnavard H., Ph.D., Bahadoran H., Ph.D., Karimi A., Ph.D., Jafari M., Ph.D., Asadi MH., Ph.D.**

*\*P.O.Box: Infertility Department, Zeinabieh Hospital, Shiraz, Iran*

### **Abstract**

**Purpose:** The evaluation of sulphur mustard effect on the spermatogenesis process of mature male sprague-dawley rats.

**Material and Methods:** This research was carried out on 30 mature male albino rats, weighing about 200-300 gr. Animals were divided into four groups such as control, sham and experimental groups 1 & 2. Experimental groups 1 & 2 received a single injection of sulphur mustard dissolved in thyrod's buffer interaperitoneally with doses of 5 mg/Kg and 10 mg/Kg, respectively. Sham group contaminated with only thyrod's buffer and control group received nothing. After 10 days, the rats were dissected under general anaesthesia. Then the concentration of testosterone and estradiol were determined in blood aspirated from the heart of the rats. Also semen samples were collected from 1 cm of the left vas deference and sperm count was done. Finally, the general cells in tubules of the left testicular tissues were assessed according to the Johnsen Score methods.

**Results:** Following contamination with sulphur mustard, the rats showed dose related effects such as decrease of testosterone hormone, increase of estradiol hormone, decrease of sperm cells, decrease cells in tubular left tissue and decrease of the testicular weight.

**Conclusion:** Considering the above results, it can be concluded that the sulphur mustard causes disfunction of spermatogenesis in mature male albino rats.

**Keywords:** Sulphur mustard, spermatogenesis, Sperm count, Johnsen score method.

## بررسی اثر سولفور موستارد بر فرآیند اسپریماتوزنزیس در موش صحرایی نر بالغ

لیلا کوشش <sup>M.Sc.\*</sup>، حسین دشت نورد <sup>Ph.D.\*</sup>، حسین بهادران <sup>Ph.D.\*</sup>، علی کریمی <sup>Ph.D.\*\*</sup>،

مهوش جعفری <sup>Ph.D.\*\*</sup>، محمد حسین اسدی <sup>Ph.D.\*\*</sup>

\* گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)

\*\* گروه آمار و بهداشت دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)

\*\*\* گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)

تاریخ وصول: دی ماه ۸۵، تاریخ پذیرش: اسفندماه ۸۵

### چکیده

**هدف:** بررسی اثر سولفور موستارد بر فرآیند اسپریماتوزنزیس در موش صحرایی نر بالغ

**مواد و روشها:** برای انجام تحقیق حاضر ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ آلبینو از نژاد اسپراگو- داوولی با وزن بین ۲۰۰-۳۰۰ گرم انتخاب شده و به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل، شم، آزمایش ۱ و آزمایش ۲ تقسیم شدند. در این میان گروههای آزمایش ۱ و ۲، عامل شیمیایی سولفور موستارد حل شده در بافر تیروید را به ترتیب با دوز ۵ mg/Kg و ۱۰ mg/Kg، و گروه شم تنها بافر تیروید را به صورت تزریقی و به فرم داخل صفاقی دریافت کردند. گروه کنترل هیچ ماده‌ای را دریافت نکرد. ۱۰ روز پس از تزریق، موشها در حالت بیهوشی تشریح شدند. به منظور بررسی میزان هورمونهای جنسی تستوسترون و استرادیول، سی‌سی خون از قلب موشها جمع‌آوری شد. همچنین برای بررسی تعداد سلولهای اسپرم، ۱ سانتیمتر از انتهای مجرای دفران چپ جدا شده و پس از اسپرم‌گیری تعداد آنها شمارش شد. علاوه بر اینها با استفاده از روش Johnsen Score، جمعیت سلولی موجود در لوله‌های اسپرم ساز بیضه چپ موشهای مورد آزمایش، بررسی شد.

**یافته‌ها:** نتایج به دست آمده نشان دهنده آن است که آلودگی با سولفور موستارد می‌تواند باعث آثار وابسته به دوز شامل کاهش سطح هورمون تستوسترون، افزایش استرادیول، کاهش سلولهای اسپرم، کاهش جمعیت سلولی موجود در لوله‌های اسپرم ساز بیضه بر اساس روش (Johnsen score) و وزن بیضه شود.

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج بیان شده می‌توان بیان کرد که عامل شیمیایی سولفور موستارد می‌تواند باعث نقصان در فرآیند اسپریماتوزنزیس شود.

**کلید واژه‌ها:** سولفور موستارد، اسپریماتوزنزیس، شمارش اسپرم، روش Johnsen Score

## مقدمه

سولفور موستارد یکی از شایع ترین عوامل شیمیایی مورد استفاده در جنگهای نوین می باشد. این عامل شیمیایی در طبیعت موجود نبوده [۱] و برای اولین بار در سال ۱۸۲۲ به صورت آزمایشگاهی ساخته شد و در سال ۱۹۱۷ به طور وسیع در جنگ جهانی اول مورد استفاده قرار گرفت و از آن به بعد در جنگهای مختلفی از جمله جنگ تحمیلی عراق علیه ایران به کار گرفته شد [۲]. سولفور موستارد به سه حالت جامد، مایع و گاز موجود است [۳]. این عامل در حالت مایع روغنی و بسیار فرار است. همچنین در این حالت از نظر خواص فیزیکی نوع خالص آن بی رنگ و بی بو، اما نوع ناخالص آن به رنگهای زرد کم رنگ، قهوه ای پر رنگ تا سیاه و با بویی شبیه به پیاز، خردل یا سیر می باشد [۴ و ۵]. این عامل شیمیایی دارای پایداری بالایی در محیط بوده و قدرت نفوذ آن بسیار زیاد است. همچنین میزان حلالیت آن در آب کمتر از ۱ درصد بوده اما در بسیاری از حلالهای آلی و روغنی به خوبی حل می شود [۶]. از نظر شیمیایی یک تیواتر بوده [۲] و فرمول شیمیایی آن به صورت  $C_4H_8Cl_2S$  است [۲].

عامل شیمیایی مذکور به علت ایجاد تاوهای پوستی و غشای موکوسی جزء عوامل شیمیایی تاولزا محسوب می شود [۷]. این عامل علاوه بر ایجاد تاو می تواند علایم کلینیکی زودرسی به صورت تاخیری و ۱ تا ۲۴ ساعت بعد از تماس و علایم کلینیکی دیررسی را پس از گذشت سالها از مواجهه با آن ایجاد نماید [۸]. علائم کلینیکی مذکور به علت واکنش عامل فوق با DNA، پروتئینها و سایر مولکولهای بدن ایجاد شده و شامل علایم چشمی، پوستی، تنفسی، گوارشی، عصبی، خونی، دستگاه تناسلی و ... هستند [۹]. در بیان علت ایجاد علایم فوق تاکنون مکانیزمهای مختلفی بیان شده است. در این میان مهمترین مکانیزم مطرح شده مربوط به توانایی آلکیلایون اجزای مختلف نوکلئوفیل موجود در سلولهای

بدن توسط سولفور موستارد است. به طوری که فرآیند آلکیلایون در مراحل بعد به تحریک پروسه های تخریبی دیگری در سلول منجر است. در مکانیزم فوق، با توجه به اینکه ساختمان شیمیایی سولفور موستارد دارای دو گروه فعال کلرواتیل می باشد [۱۰]. این عامل می تواند با اجزای مختلف نوکلئوفیل موجود در سلولها پیوند کوالانسی تشکیل داده و منجر به انتقال گروه آلکیل به آنها گردد [۶ و ۱۰]. بر این اساس به عنوان یک عامل آلکیل کننده شناخته است [۱۱]. قابل توجه است که در میان ترکیبات داخل سلولی، DNA حساسترین مولکول هدف سولفور موستارد بوده [۱۲] و در ساختمان آن بیشترین بازی که مورد هجوم قرار می گیرد باز گوانین است [۱۰]. به طوری که به دنبال اتصال گروههای آلکیل به DNA دامنه ای از تغییرات سلولی ایجاد می شود. که به طور خلاصه عبارتند از: ۱- به علت ناپایداری گوانین آلکیل شده این گوانین از ساختمان DNA آزاد شده و از آنجا که در همانند سازی DNA قسمت بدون گوانین نمی تواند به عنوان الگوی همانند سازی عمل کند در نتیجه موجب وارد شدن یک نوکلئوتید اشتباه در ساختمان DNA شده و منجر به موتاسیون و غیر فعال شدن پروتئین حاصل از این ژن آسیب دیده می شود [۱۰]. ۲- تمایل گوانین آلکیل شده به تشکیل جفتهای بازی با تیمین بیشتر از سیتوزین است که این امر سبب اشتباه در کد کردن و در نهایت اختلال در ساخت پروتئین می شود [۶]. ۳- دو گوانین آلکیل شده در دو رشته DNA به صورت متقاطع به هم متصل شده و منجر به یک اختلال اساسی در عملکرد DNA می شود [۱۰]. ۴- در ترمیم DNA آسیب دیده احتمال خطا بسیار زیاد است. که این امر خود موجب موتاسیون DNA می شود [۱۰]. بنابراین با توجه به موارد فوق می توان گفت که آلکیلایون DNA توسط عامل سولفور موستارد می تواند موجب کارسینوژنز، موتاژنز و مهار تقسیم سلولی شود که بر این اساس سیستم خونساز و ایمنی،

سولفورموسستارد در حمامی از سود دو مولار ضد عفونی شد. ۱۰ روز پس از تزریق [۱۵]، موشها در حالت بیهوشی تشریح شده و پارامترهای مرتبط با فرآیند اسپرماتوژنیزس به صورت زیر بررسی شدند.

## روش استخراج سرم و اندازه گیری هورمونهای

### جنسی تستوسترون و استرادیول

به منظور تهیه سرم خون برای انجام آزمایشهای هورمونی با استفاده از سرنگ ۵ سی سی، مقدار ۴ سی سی خون از قلب حیوان گرفته و در شیشه های کلات برچسب زده و کد گذاری شده، ریخته شد. سپس لوله های کلات حاوی خون در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد و سرم آنها استخراج شد. سرمهای جدا شده در لوله های اپندورف کد گذاری شده ریخته شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری و در نهایت میزان هورمونهای جنسی تستوسترون و استرادیول توسط سیستم RIA اندازه گیری شد.

### روش جمع آوری و شمارش اسپرم

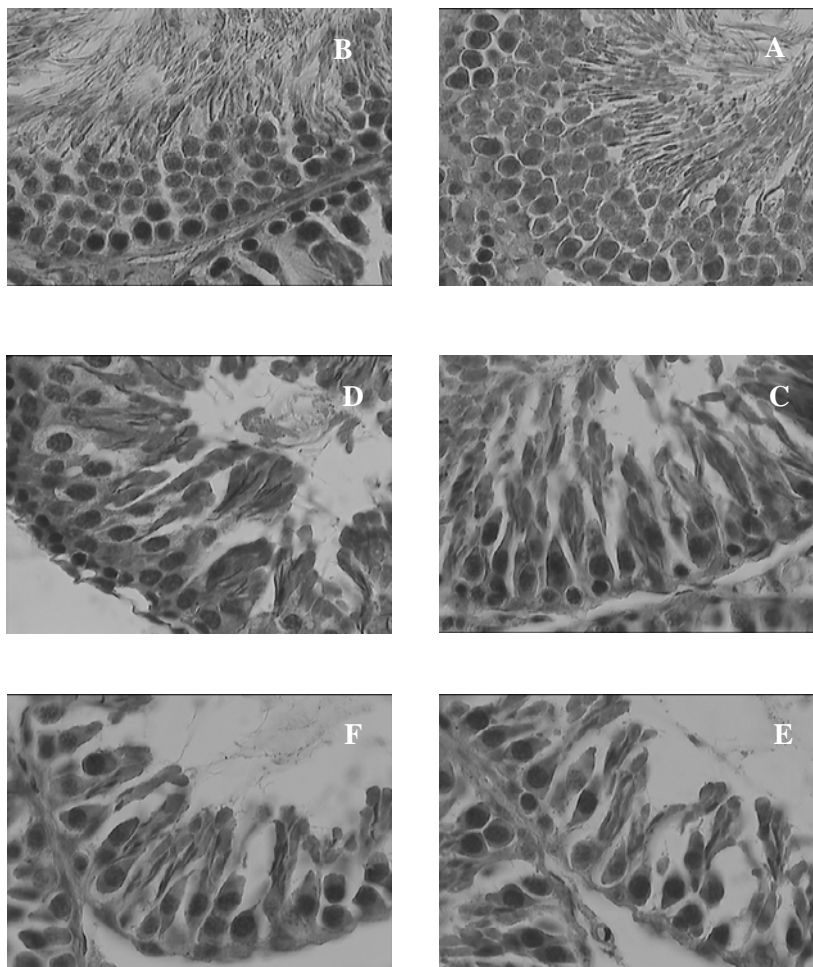
بعد از تشریح برای جمع آوری اسپرم، ۱ سانتی متر انتهایی مجرای دفران چپ جدا شده [۱۶] و در ظرفی محتوی ۴ سی سی محلول HBSS (Hanks Balanced Salt Solution) قرارداده شد. پس از گذشت ۵ دقیقه و خروج اسپرم ها از مجرای دفران و ایجاد یک محلول همگن، با استفاده از سمپلر ۲۰ میکرو لیتری، یک قطره از محلول HBSS حاوی اسپرم روی لام نئوبار ریخته و بعد از قرار دادن لامل روی آن توسط کامپیوتر (نرم افزار intervideo) و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ از خانه های ۱، ۳، ۷ و ۹ عکس گرفته شد. سپس تعداد اسپرمهای موجود در هر عکس شمارش و میانگین اعداد حاصل از شمارش اسپرم در خانه های مذکور محاسبه شد [۱۷].

بافتهای اپی تلیال و بافتهای زاینده به علت داشتن قدرت تقسیم بالا بیش از بقیه قسمتهای بدن در معرض آسیب ناشی از این عامل هستند [۱۰، ۱۳ و ۱۳].

با توجه به آثار مخرب فوق می توان سولفورموسستارد را به عنوان یک عامل محیطی موثر بر فرآیند اسپرماتوژنیزس و دستگاه تناسلی نر دانست. اما جمع آوری و مطالعه منابع کامپیوتری و نوشتاری نشان دهنده آن است که تحقیقات ناچیزی روی اثر سولفورموسستارد بر فرآیند اسپرماتوژنیزس صورت گرفته است. بنابراین به علت کافی نبودن اطلاعات لازم در این زمینه، تحقیق حاضر بررسی تاثیر عامل فوق بر روند اسپرماتوژنیزس و دستگاه تناسلی نر مدنظر است.

## مواد و روشها

در تحقیق حاضر تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ آلبینو (Albino) از نژاد اسپاراگوداولی (Sprague-dawley) با وزن بین ۲۰۰-۳۰۰ گرم به روش تصادفی ساده انتخاب شده و سپس به ۴ گروه کنترل، شش، آزمایش ۱ و آزمایش ۲ تقسیم شدند. شایان ذکر است که برای تطبیق موش ها با شرایط محیط حیوانخانه، موشها به مدت یک هفته قبل از شروع تحقیق در محل فوق نگهداری شدند و در تمام مدت تحقیق شرایط نوری و غذایی مناسب و یکسانی برای آنها فراهم شد. به منظور بررسی اثر سولفورموسستارد بر فرآیند اسپرماتوژنیزس، موشهای گروه آزمایش ۱ و ۲، عامل شیمیایی سولفورموسستارد حل شده در بافر تیروید را به ترتیب با دوز ۵ mg/Kg و ۱۰ mg/Kg و گروه شش تنها بافر تیروید را به صورت تزریقی و به فرم داخل صفاقی دریافت کردند [۱۴] و گروه کنترل هیچ ماده ای را دریافت نکرد. در تمام مدت تزریق جهت ایمنی از دستکش ضد حلال، عینک مخصوص کار با مواد فرار، ماسک فیلتر دار مخصوص مواد فرار و هود استفاده شد و کلیه لوازم استفاده شده برای تهیه و تزریق



شکل ۱. تصاویر میکروسکوپ نوری از لوله های اسپرم ساز بیضه در گروه های مختلف مورد آزمایش: A: گروه کنترل، B: گروه شم، C و D: گروه آزمایش ۱ و E و F: گروه آزمایش ۲، در بزرگنمایی:  $\times 1000$ .

میکروسکوپ نوری بررسی شد. سپس میانگین اعداد حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

جدول ۱. روش Johnsen Score

امتیاز	ظاهر هیستوپاتولوژی
۱	توبولار اسکروسیس
۲	فقط سلولهای سرتولی
۳	فقط سلولهای اسپرماتوگونیا
۴	توقف در اسپرماتوسیت اولیه
۵	تعداد زیادی اسپرماتوسیت بدون سلولهای اسپرماتید
۶	بدون اسپرماتید دیررس (late spermatids)، توقف در مرحله اسپرماتید
۷	بدون اسپرماتید دیررس (late spermatids)، تعداد زیادی اسپرماتید زودرس (early spermatids)
۸	تعداد کمی اسپرماتید دیررس (late spermatids)
۹	تعداد زیادی اسپرماتید دیر رس، توبولار اپیتلیوم نامنظم
۱۰	اسپرماتوژنزیس کامل

## اندازه گیری وزن بیضه و بررسی جمعیت سلولی درون لوله های اسپرم ساز بر اساس

### روش Johnsen score

پس از تشریح هر موش، بیضه سمت چپ جدا شده و بعد از وزن کردن توسط ترازوی دقیق دیجیتالی، مراحل تثبیت، پردازش، برش و در نهایت رنگ آمیزی با هماتوکسیلین - اتوزین روی آن صورت گرفت. بعد از تهیه اسلاید از نمونه های تهیه شده، به منظور بررسی جمعیت سلولی درون لوله های اسپرم ساز از روش Johnsen Score [۱۸ و ۱۹] استفاده شد. بر اساس روش فوق از هر نمونه تعداد ۱۰ لوله اسپرم ساز به صورت تصادفی انتخاب شده [۲۰] و جمعیت سلولی درون آنها طبق جدول Johnsen (جدول ۱)، و به وسیله

## آزمونهای آماری

اطلاعات به دست آمده توسط روشهای آماری ANOVA، T-Test و TUKEY مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

## یافته‌ها

## بررسی اثر سولفور مستارد بر میزان

## هورمونهای جنسی تستوسترون و استرادیول

همان‌طور که در شکل ۲-ب ملاحظه می‌شود مقایسه میانگین سطح هورمون جنسی تستوسترون بر حسب نانومول در لیتر در گروههای آزمایش ۱ (دوز ۵ mg/kg) و آزمایش ۲ (دوز ۱۰ mg/kg) نسبت به گروههای کنترل و شم کاهش یافته است. همچنین مقایسه نتایج فوق بین دو گروه آزمایش ۱ و ۲ بیانگر آن است که سطح این هورمون در گروه آزمایش ۲ (دوز ۱۰ mg/kg) نسبت به گروه آزمایش ۱ (دوز ۵ mg/kg) کاهش یافته است. شایان ذکر است که مقایسه نتایج فوق از نظر آماری معنی‌دار نبوده است.

همچنین مقایسه سطح هورمون جنسی استرادیول بر حسب نانومول در لیتر بین گروههای کنترل، شم، آزمایش ۱ و آزمایش ۲، شکل ۲-الف، نشان دهنده آن است که میزان این هورمون در گروههای آزمایش ۱ (دوز ۵ mg/kg) و آزمایش ۲ (دوز ۱۰ mg/kg) نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. علاوه بر این میانگین سطح هورمون جنسی فوق در گروه آزمایش ۲ (دوز ۵ mg/kg) نسبت به گروه آزمایش ۱ (دوز ۱۰ mg/kg) افزایش بیشتری را نشان می‌دهد. البته نتایج فوق از نظر آماری معنی‌دار نبوده است.

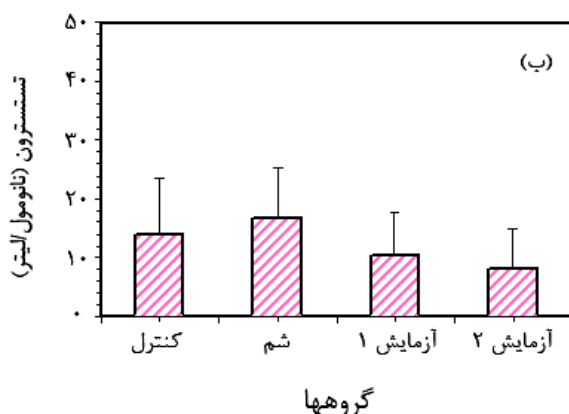
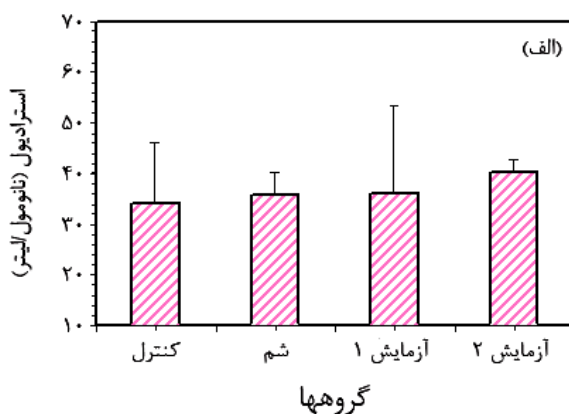
## بررسی اثر سولفور مستارد بر وزن بیضه و

## جمعیت سلولی موجود در لوله های اسپرم‌ساز آن

چنانچه در جدول ۲ ملاحظه می‌شود، میانگین وزن بیضه بر حسب گرم در دو گروه آزمایش ۱ (دوز ۵ mg/kg) و آزمایش ۲ (دوز ۱۰ mg/kg) نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است.

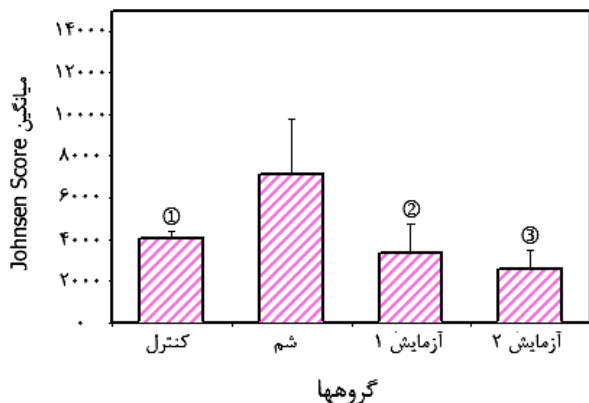
که مقایسه نتایج بین دو گروه کنترل و آزمایش ۲، از نظر آماری معنی‌دار است، ( $p < 0.05$ ). همچنین میانگین وزن بیضه در گروه آزمایش ۲ (دوز ۱۰ mg/kg) نسبت به گروه آزمایش ۱ (دوز ۵ mg/kg) کاهش معنی‌دار یافته است، ( $p < 0.05$ ). به عبارت دیگر با افزایش دوز عامل سولفور مستارد میزان کاهش وزن بیضه نسبت به گروه کنترل بیشتر می‌شود.

رتبه بندی تصاویر میکروسکوپی گرفته شده از لوله های اسپرم ساز بیضه در گروههای مختلف، شکل ۱ طبق جدول Johnsen score، در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۳ می‌توان نتیجه گرفت که میانگین Johnsen score در لوله های اسپرم ساز بیضه در گروه آزمایش ۲ نسبت به گروههای کنترل، شم و آزمایش ۱ کاهش معنی‌داری یافته است، ( $p < 0.05$ ).



شکل ۲. الف) مقایسه میانگین سطح هورمون جنسی استرادیول و ب) مقایسه میانگین سطح هورمون جنسی تستوسترون، در سرم موشهای صحرائی مورد مطالعه

که البته کاهش فوق از نظر آماری معنی دار نیست.



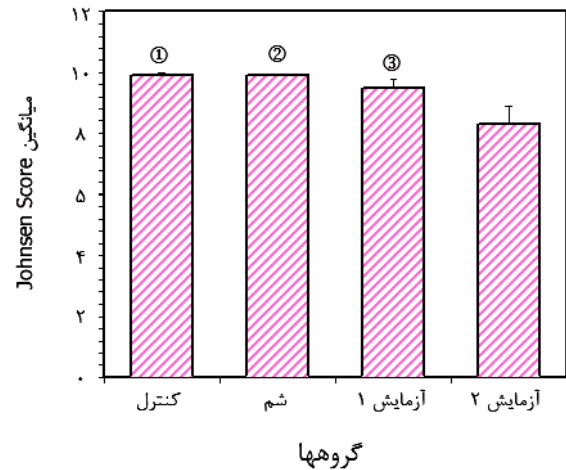
شکل ۴. مقایسه میانگین تعداد اسپرمها در موشهای صحرائی مورد مطالعه

- ① اختلاف معنی دار با گروه شم ( $p < 0.05$ )
- ② اختلاف معنی دار با گروه شم ( $p < 0.05$ )
- ③ اختلاف معنی دار با گروه شم ( $p < 0.05$ )

### بحث

میانگین سطح هورمون جنسی تستوسترون برحسب نانومول در لیتر در گروههای آزمایش ۱ (دوز ۵ mg/kg) و آزمایش ۲ (دوز ۱۰ mg/kg) نسبت به گروههای کنترل و شم کاهش یافته است که این کاهش در گروه آزمایش ۲ (دوز ۱۰ mg/kg) در مقایسه با گروه آزمایش ۱ (دوز ۵ mg/kg) بیشتر است. همچنین میانگین سطح هورمون جنسی استرادیول بر حسب نانومول در لیتر در گروههای آزمایش ۱ (دوز ۵ mg/kg) و آزمایش ۲ (دوز ۱۰ mg/kg) نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است که این افزایش در گروه آزمایش ۲ (دوز ۵ mg/kg) در مقایسه با گروه آزمایش ۱ (دوز ۱۰ mg/kg) بیشتر است. با توجه به تحقیقات گذشته می توان بیان کرد که آلودگی با سولفور موستارد می تواند باعث افزایش سطح هورمونهای LH<sup>۱</sup> و FSH<sup>۲</sup> آزاد شده از هیپوفیز قدامی شود [۲۱ و ۲۲]. به طور کلی بر اساس کنترل هورمونی تستوسترون، ساخت این

1. Luteinizing hormone  
2. Follicle stimulating hormone



شکل ۳. بررسی تغییرات میانگین Johnsen Score در گروه های مختلف مورد آزمایش

- ① اختلاف معنی دار با گروه آزمایش ۲ ( $p < 0.05$ )
- ② اختلاف معنی دار با گروه آزمایش ۲ ( $p < 0.05$ )
- ③ اختلاف معنی دار با گروه آزمایش ۲ ( $p < 0.05$ )

جدول ۲. مقایسه میانگین وزن بیضه در موش صحرائی مورد مطالعه

گروهها	کنترل	شم	آزمایش ۱	آزمایش ۲
Mean±SD	1/48±0/31	1/29±0/00697	**1/30±0/12	*1/01±0/13

\* اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.05$ )

\*\* اختلاف معنی دار با گروه آزمایش ۲ ( $p < 0.05$ )

### بررسی اثر سولفور موستارد بر تعداد سلولهای اسپرم

نتایج حاصل از شمارش اسپرم موشهای صحرائی نر مورد بررسی در تحقیق حاضر در شکل ۴ نشان داده شده است. بر اساس نمودار فوق میانگین تعداد سلولهای اسپرم در گروههای آزمایش ۱ و ۲ در مقایسه با گروههای کنترل و شم کاهش یافته است. که این کاهش تنها بین گروههای شم با هر کدام از گروههای کنترل و آزمایش معنی دار است، ( $p < 0.05$ ). همچنین مقایسه نتایج بین دو گروه آزمایش ۱ و ۲ بیانگر کاهش بیشتر تعداد سلولهای اسپرم در گروه آزمایش ۲ (دوز ۱۰ mg/kg) نسبت به گروه آزمایش ۱ (دوز ۵ mg/kg) است

شدید مربوط به این عامل متوجه سلولهای با قدرت تکثیر و تقسیم سلولی بالا است که منجر به مهار تقسیم سلولی در آنها می‌شود [۲۷-۲۴]. مهار تقسیم سلولی می‌تواند ناشی از توانایی سولفور موستارد برای اتصال به DNA و آلکیلاسیون آن و ایجاد جهش به دنبال آلکیلاسیون در آن باشد. این جهش خود می‌تواند به علت جایگزینی اشتباه و ترمیم غلط باز آلی آلکیله شده ایجاد شود [۱۲]. با توجه به اینکه سلولهای زایای موجود در بیضه نیز دارای تقسیم سلولی بالایی هستند؛ بنابراین می‌تواند تحت تاثیر عامل سولفور موستارد قرار گرفته و تقسیم سلولی در آنها مهار می‌شود. که این خود منجر به کاهش جمعیت سلولی موجود در لوله های اسپرم ساز بیضه می‌گردد.

تعداد سلولهای اسپرم در گروه آزمایش ۲ در مقایسه با سه گروه کنترل، شم و آزمایش ۱ کاهش یافته است که این کاهش تنها بین دو گروه آزمایش ۲ و شم معنی دار است که در تایید نتایج فوق می‌توان به مطالعات انجام شده توسط عزیزی (Azizi) و همکاران [۲۱] و گراف (Graef) و همکارانش [۲۸] اشاره کرد. این کاهش وابسته به دوز در تعداد سلولهای اسپرم در موشهای آلوده به سولفور موستارد را می‌توان به کاهش جمعیت سلولی موجود در لوله های اسپرم ساز بیضه و کاهش سطح تستوسترون آزاد شده از سلولهای لاییدیک در موشهای آلوده به عامل شیمیایی فوق نسبت داد.

وزن بیضه در گروه آزمایش ۲ نسبت به گروه آزمایش ۱ و کنترل کاهش معنی داری یافته است که این کاهش را می‌توان ناشی از کم شدن جمعیت سلولی موجود در لوله های اسپرم ساز بیضه یا کاهش بافت بینابینی لوله های اسپرم ساز دانست. به طور کلی وزن و اندازه بیضه ارتباط مستقیمی با عملکرد آن دارد بنابراین کاهش وزن آن باعث نقصان در عمل اسپرماتوزنریز و تولید هورمون آندروژن در بیضه می‌شود [۲۹ و ۳۰].

با توجه به نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر که نشان

هورمون تحت کنترل LH بوده و همچنین سطح هورمون LH نیز به مقدار هورمون تستوسترون در خون وابسته است. به طوری که با افزایش هورمون LH سطح هورمون تستوسترون کاهش یافته تا توسط مکانیزم فیدبک منفی سطح هورمونی LH را در خون تنظیم نماید. بنابراین می‌توان گفت که یکی از علت‌های کاهش سطح هورمون تستوسترون تاثیر عامل سولفور موستارد بر هیپوفیز قدامی و افزایش هورمون LH در خون است.

یکی از متابولیت‌های تستوسترون هورمون استرادیول است. این هورمون توسط سلولهای سرتولی و با استفاده از فرآیند آروماتیز تستوسترون تحت کنترل FSH ساخته می‌شود [۲۳]. با توجه به تاثیر عامل سولفور موستارد بر هیپوفیز قدامی و افزایش آزاد شدن هورمون FSH در خون می‌توان بیان کرد که یکی از علت‌های دیگر کاهش هورمون تستوسترون و افزایش هورمون استرادیول در خون موشهای آلوده به سولفور موستارد، بالا رفتن میزان روند آروماتیز تستوسترون و تبدیل آن به استرادیول است.

شایان ذکر است که با وجود کاهش وابسته به دوز هورمون تستوسترون و افزایش وابسته به دوز استرادیول در گروه‌های آزمایش نسبت به گروه کنترل، اما نتایج فوق از نظر آماری معنی دار نیست. که علت آن می‌تواند ناشی از دوز پائین سولفور موستارد و یا نحوه آلوده ساختن موشها به عامل سولفور موستارد باشد.

میانگین جمعیت سلولی موجود در لوله های اسپرم ساز بیضه بر اساس روش Johnsen score در گروه آزمایش ۲ نسبت به گروه‌های دیگر مورد مطالعه کاهش معنی داری یافته است که این نشان دهنده تاثیر کاهنده و وابسته به دوز عامل سولفور موستارد بر جمعیت سلولهای فوق است. از آنجا که DNA یکی از مهمترین مولکولهای هدف برای آسیب‌های ایجاد شده توسط سولفور موستارد است [۱۲]، بنابراین یکی از آسیب‌های



## تقدیر و تشکر

تحقیق حاضر در گروه آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... انجام شده است، بنابراین نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از زحمات کارشناسان آزمایشگاههای گروه آناتومی، به‌ویژه آقای مهدوی کمال تشکر را داشته باشند.

دهنده کاهش در تعداد سلولهای اسپرم گرفته شده از انتهای مجرای دفران، کاهش در جمعیت سلولی موجود در لوله های اسپرم ساز بیضه بر اساس روش Johns score، کاهش در سطح هورمونهای جنسی تستوسترون و کاهش وزن بیضه در موشهای آلوده به سولفور موستارد است، می‌توان نتیجه گرفت که عامل شیمیایی سولفور موستارد می‌تواند باعث نقصان در فرآیند اسپرمتوژنریس شود.

## References

1. **Fact About Sulfur Mustard.** Department of Health & Human services, USA, www.bt.cdc.gov.
2. Mustard Gas: Definition and Much more From Answers.com, www.answers.com/topic/mustard-gas.
3. Mustard Gas: Public Health Emergency Preparedness, www.nyc.gov/html/doh/html/bt/bt\_fact\_mustard.shtml.
4. **Budavari S, O'Neil MJ, Smith A, et al., eds.** The Merck index. An encyclopedia of chemicals drugs and biologicals. 12th ed. Whitehouse Station, NJ: Merck & Co. Inc., 1996, p1082.
5. **Munro NB, Talmage SS, Griffin GD, Waters Lc, Watson AP, King JF, Hauschild V.** The sources, fate, and toxicity of chemical warfare agent degradation products. Environ Health Perspect, 1999; 107(12):933-73.
6. **حیدری غ.** عوامل جنگ شیمیایی: سم شناسی و درمان. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی بقیه .. (عج)، تهران، ایران، ۱۳۸۱، ۵۵-۱۴۴.
7. Sulfur Mustard, www.wikipedia.com
8. Medical Management Guidelines (MMGs) for Blister Agents: Sulfur Mustard Agent H or HD (C4H8Cl2S) Sulfur Mustard Agent HT Agency for Toxic Substances and Disease Registry, www.atsdr.cdc.gov/MHMI/mmg165.html
9. **Balali-Mood M, Hefazi M, Mahmodi M, Jalali I, Attaran D, Maleki M.** Evaluation of Delayed Toxic Effect of Sulfur Mustard Poisoning in Severly Intoxicated Iranian Veterans: A Cross Sectional Study. J Med CBRDef. 2005; 3:1-32.
۱۰. **مهرانی ح، کشاورز م.** جنبه های پشکی دفاع شیمیایی، موسسه انتشاراتی گلبن و دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... (عج)، تهران، ایران، ۱۳۸۰، ۴۴-۳۶.
11. Alkilation, www.Wikipedia.com.
12. Papirmeister B. Excitement in vesicant research yesterday, today, and tomorrow. In: Proceedings of the medical defense bioscience review held in Baltimore, Vol. 1. Springfield, VA: US Department of Commerce, Maryland on 10-13 May1993 1-14.
۱۳. **فروتن ع.** جنگ شیمیایی عراق و تجارب پزشکی آن. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... (عج)، ۱۳۸۲، صفحات ۵۵-۵۲.
14. **Hassan ZM, Ebtakar M.** Modeling for Immunosuppression by Sulfur Mustard. Int Immunopharmacol 2001; 1:605-10.
15. **Aich S, Manna CK.** Histophysiological Changes of the Testicular Tissue due to Busulphan Administration in the Wild Indian house Rat. J Acta Biol Hung 2001 ; 52(1): 105-16.
16. Industrial Reproductive Toxicology Discussion Group (IRDG). Rat Sperm Morphological Assessment., Guideline Document Edition 1, 2000; 1-13. www.section.info/ssat/apr282.html

17. **Narayana K, Prashanthi N, Nayanatara A, Harish Chandra Kumar H, Abhilash K, Bairy KL.** Effects of methyl parathion (o,o-dimethyl o-4-nitrophenylphosphorothioate) on rat sperm morphology and sperm count, but not fertility, are associated with decreased ascorbic acid level in the testis. *Mut Res-Genet Toxicol Environ Mut*, 2005; 588 : 28–34.
18. **Glander HJ, Horn LC, Dorschner W, Paasch U, Kratzsch J.** Probability to retrieve Testicular Spermatozoa in Azoospermic Patient. *J Asian Androl* 2000; 2:199-205.
19. **Johnsen SG.** Testicular biopsy and score count- a method for registration of spermatogenesis in human testies: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970; 1: 2-25.
20. **Ahmed F.A, Jequier AM, Cummins JM, Whelan J.** Differentially expressed DNA sequences following recovery from unilateral testicular torsion in rat, *Biochimica et biophysica Acta* 2001; 1535: 192-9.
21. **Azizi F, Keshavarz A, Roshanzamir F, Nafarabadi M.** Reproductive function in men following exposure to chemical warfare with sulphur mustard. *Med War* 1995; 11:34-44.
22. **Safarinejad MR.** Testicular effect of mustard gas. *Urology* 2001; 58: 90-94.
23. Estradiol, [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com).
24. **Lin P, Bernstein IA, Vaughan FL.** Bis(2-chloroethyl)sulfide (BCES) disturbs the progression of rat keratinocytes through the cell cycle. *Toxicol Lett* 1996; 84: 23-32.
25. **Lin P, Vaughan FL, Bernstein IA.** Formation of interstrand DNA cross-links by bis-(2-chloroethyl)sulfide (BCES): A possible cytotoxic mechanism in rat keratinocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 218: 556-61.
26. **Smith WJ, Sanders KM, Ruddle SE, et al.** Cytometric analysis of DNA changes induced by sulfur mustard. *J Toxicol Cutaneous Ocul Toxicol*, 1993; 12(4): 337-47.
27. **Smith WJ, Martens ME, Gross CL.** Biochemical and flow cytometric studies of the mechanism of action of sulfur mustard using human cells in culture. In: Salem H, Katz SA, eds. *Advances in animal alternatives for safety and efficacy testing*. Washington, DC: Taylor and Francis, 1998; 99-101.
28. **Graef I, Karnofsky DA, Jager VB, Krichevsky B, Smith HW.** The clinical and pathologic effects of the nitrogen and sulphur mustards in laboratory animals. *Am J Pathol* 1948; 24:1-47.
29. **Rai J, Pandey SN, Srivastava RK.** Effect of immobilization stress on Spermatogenesis of Albino Rats, *J Anat. Soc India* 2003; 52(1): 55-7.
30. **Ono K, Sofikitis N.** A Novel Mechanism to Explain the Detrimental Effect of Left Cryptorchidism on Right Testicular Functions. *Yonago Acta Medica* 1997; 40: 79-89.