مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۱۹، شماره ۲، تابستان ۸۸، صفحات ۷۳ تا ۸۰

Original Article

بررسی اثرات سم تری‌فلورالین بر هورمون‌های LH، FSH، تستوسترون و تغییرات بافتی بیضه در موش‌های صحرایی بالغ

مهرداد شریعتی[۱]، مختار مختاری[۲]، حمید رضا عسگری[۳]

[۱] استادیار، گروه زیست‌شناسی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون
[۲] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون
[۳] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

چکیده

سابقه و هدف: *تری‌فلورالین علف‌کشی از خانواده دی‌نیتروآنیلین است که برای مبارزه با علفهای هرز مزارع و باغات از آن استفاده می‌شود. این سم از طریق مهار فرآیند میتوز در سلول‌های مریستمی ریشه اثرات خود را اعمال می‌کند. از آنجا که احتمال ورود این سم از طریق سبزی‌های خوراکی به بدن وجود دارد، در این پژوهش اثرات این سم بر میزان هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH و فرآیند اسپرماتوژنز و همچنین تغییرات بافت بیضه بررسی شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار، با وزن تقریبی ۵±۲۵۰ گرم انتخاب و به ۵ گروه ۸ تایی شامل گروه کنترل، شاهد (دریافت کننده نرمال سالین به عنوان حلال) و گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر ۵۰۰، ۱۰۰۰ و۲۰۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگـــرم وزن بدن سم تری‌فلورالین تقسیم شدند. این سم بصورت دهانی و به مدت ۱۶ روز، روزانه در یک نوبت به حیوانات خورانده شد. در پایان، عمل خون‌گیری از قلب حیوانات انجام و غلظت سرمی هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون اندازه‌گیری شد. سپس بیضه حیوانات جهت بررسی تغییرات بافتی از بدن خارج شد.*

یافته‌ها: *سم تری‌فلورالین با مقادیر ذکر شده باعث کاهش معنی‌داری در غلظت هورمون‌های تستوسترون، FSH و LH و هم‌چنین میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، سرتولی و لایدیگ نسبت به گروه کنترل شد ($p<۰/۰۰۱$ و $p<۰/۰۵$). به علاوه تراکم اسپرم‌ها را در لوله‌های منی‌ساز بطور قابل توجهی در گروه‌های تجربی کاهش داده و باعث کاهش معنی‌داری در میانگین وزن بدن و وزن بیضه‌ها نسبت به گروه کنترل شد ($p<۰/۰۵$).*

نتیجه‌گیری: *سم تری‌فلورالین با عبور از غشای سیتوپلاسمی سلول‌های حساس موجود در بافت بیضه و تولید رادیکال آزاد و اعمال فشارهای اکسیداتیو به آنها، باعث کاهش غلظت سرمی تستوسترون و اختلال در روند استروئیدوژنز و اسپرماتوژنز می‌شود.*

واژگان کلیدی: *تری فلورالین، گنادو تروپین، تستوسترون، بیضه، موش صحرایی.*

مقدمه

یکی از نگرانی‌های عمده در سالهای اخیر، کشفیاتی است که در مورد نقش بعضی از مواد شیمیایی محیطی بر روی سیستم‌های اندوکرین صورت گرفته است. این سیستم بسیاری از عملکردهای مهم بدن مانند رشد، بلوغ، رفتار، تولید مثل و تکامل جنین را تعدیل و تنظیم می‌کند و وظیفه خود را بوسیله ساخت و انتشار هورمون‌هایی که به عنوان پیام آورهای شیمیایی عمل می‌کنند، انجام می‌دهد (۱،۲).

سیستم اندوکرین می‌تواند تحت تاثیر بعضی از مواد شیمیایی طبیعی و یا مصنوعی خارجی قرار گیرد که این امر با دخالت

آدرس نویسنده مسئول: کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، بخش تحصیلات تکمیلی، دکتر مهرداد شریعتی (**email**: mehrdadshariati@hotmail.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۹/۲۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۳/۲۳

Archive of SID
www.SID.ir

گیرنده‌ها و پیام‌آورهای شیمیایی صورت می‌گیرد. بطورکلی اختلال اندوکرینی زمانی رخ می‌دهد که یک ماده شیمیایی در عملکرد طبیعی هورمون‌ها دخالت کند. یک تعریف جامع و مورد پذیرش در مورد مواد شیمیایی مختل کننده سیستم اندوکرین (EDC_s) وجود دارد و آن این است که «یک EDC، یک ماده شیمیایی خارجی است که در سنتز، ترشح، حمل و نقل، اتصال به گیرنده و یا رویدادهای پس‌رسپتوری هورمون‌ها دخالت می‌کند و مانع از عملکرد طبیعی هورمون‌های کنترل کننده هموستاز، تولید مثل و یا رفتار می‌شود.» (۱،۲).

مواد شیمیایی مختل کننده سیستم درون‌ریز زیاد و متنوعند و شامل مواد طبیعی و صناعی می‌باشند. نگرانی‌ها از اینجا شروع می‌شود که مواد شیمیایی زیادی وجود دارند که اختلال‌گران بالقوه سیستم درون‌ریز بدن می‌باشند و بخوبی مورد مطالعه و شناسایی قرار نگرفته‌اند. حتی بعضی از این مواد می‌توانند در غلظت‌های کم مؤثر باشند. منابع اصلی این مواد شیمیایی برای تماس با افراد، کارخانه‌ها و کارگاه‌های صنعتی، آب‌های خوراکی، غذاها، سموم کشاورزی و موارد مشابه هستند. امروزه با پیشرفت وسیع علم کشاورزی و تلاش در بهره‌وری بیشتر از مزارع و باغات، استفاده از سموم کشاورزی در کنترل آفات و علفهای هرز گسترش زیادی داشته و به این منظور انواع متنوع و زیادی از این سموم به راحتی در دسترسی افراد قرار می‌گیرد. به این جهت یکی از جنبه‌های مهم تحقیقاتی که باید به آن پرداخته شود، اثرات سوئی است که این سموم می‌توانند روی سیستم اندوکرین خصوصاً دستگاه تولید مثلی ایجاد کنند، زیرا نه تنها افراد یک نسل بلکه نسل‌های بعدی را نیز می‌توانند درگیر اثرات مخرب آن نمایند (۱،۲).

با توجه به اینکه طیف وسیعی از مردان همواره در معرض این سموم قرار دارند، در این پژوهش اثرات یکی از سموم علف‌کش پرمصرف دنیا بنام تری‌فلورالین مورد بررسی قرار گرفته است. گسترش مصرف این سم در سال‌های اخیر در دنیا، حلالیت کم آن در آب و پایداری بالا در محیط و در نتیجه بیشتر شدن احتمال ورود آن به بدن و اثرات بالقوه آن به عنوان یک اختلال‌گر سیستم اندوکرین، ما را بر آن داشت تا به بررسی تأثیرات این سم بر روی دستگاه تولید مثلی جنس نر و هورمون‌های مربوط به آن بپردازیم.

مواد و روشها

حیوانات مورد استفاده در این پژوهش، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن متوسط ۲۵۰ گرم و سن ۳-۲/۵ ماه بودند که از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه و پس از توزین با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم، به تعداد مساوی درون ۵ قفس پلاستیکی از جنس پلی‌کربنات که کف آنها با خاک اره پوشیده شده بود منتقل گردیدند و به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. سقف قفس‌ها متحرک و از جنس استیل مشبک بود که غذای فشرده مخصوص موش صحرایی و ظرف آبخوری (محتوی آب لوله‌کشی) روی آن و بدون هیچ محدودیتی در دسترس حیوانات قرار می‌گرفت. درجه حرارت محیط آزمایش بین ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد در شبانه‌روز ثابت نگه داشته می‌شد و سیکل روشنایی و تاریکی نیز ۱۲ ساعت در نظر گرفته شد. ۵ گروه ۸ تایی شامل گروه‌های زیر بودند:

گروه کنترل، که هیچ‌گونه تجویز دارویی در مورد آنها انجام نگرفت و فقط از آب و غذای فشرده استفاده کردند.

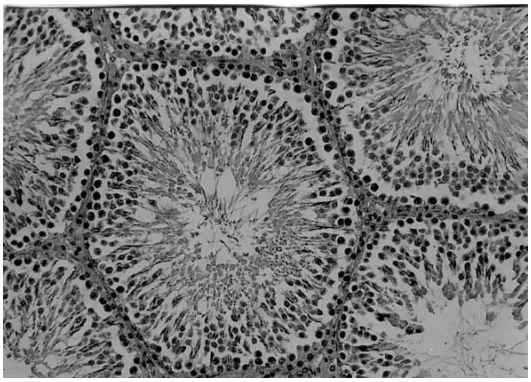
گروه شاهد، که روزانه ۱ سی‌سی نرمال سالین به عنوان حلال سم دریافت می‌کردند.

گروه‌های تجربی ۱، ۲ و۳ که به ترتیب روزانه مقادیر ۵۰۰، ۱۰۰۰ و۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن سم تری‌فلورالین به میزان ۱ سی‌سی دریافت می‌کردند.

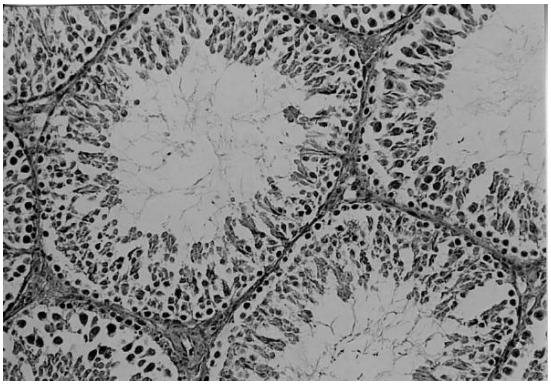
روش تجویز سم به حیوانات بصورت خوراکی و با کمک نیدل مخصوص موش صحرایی (feeder) انجام گرفت. با توجه به اثرات جانبی احتمالی حلال‌های این دارو و تداخل عمل احتمالی با نتایج، در این پژوهش از حلال نرمال سالین استفاده شد. در پایان روز شانزدهم، وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد و سپس تحت تأثیر بی‌هوشی خفیف با اتر قرار گرفتند. پس از ثابت کردن حیوان بر روی میز تشریح و باز کردن قفسه سینه توسط پنس و اسکالپر، خون‌گیری مستقیم از قلب از ناحیه بطن راست به کمک سرنگ ۵ سی‌سی انجام و خون هر حیوان در لوله آزمایش جداگانه‌ای ریخته شد. خون موش‌ها جهت تهیه سرم به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و تا زمان انجام سنجش‌های هورمونی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

میزان غلظت گنادوتروپین‌ها و تستوسترون، با استفاده از کیت‌های هورمونی مخصوص موش‌های صحرایی، به ترتیب ساخت شرکت‌های Monobind آمریکا و IBL آلمان و با استفاده از روش رادیوایمونواسی (RIA) اندازه‌گیری شد. پس از انجام عمل خون‌گیری، بیضه‌ها از بدن حیوانات خارج و وزن شدند، سپس به مدت ۱۷ تا ۱۸ ساعت در شیشه‌های محتوی فیکساتور فرمالین قرار داده شدند و پس از آن مراحل تهیه

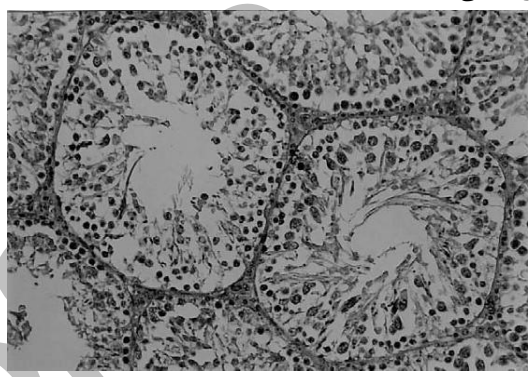
Archive of SID
www.SID.ir



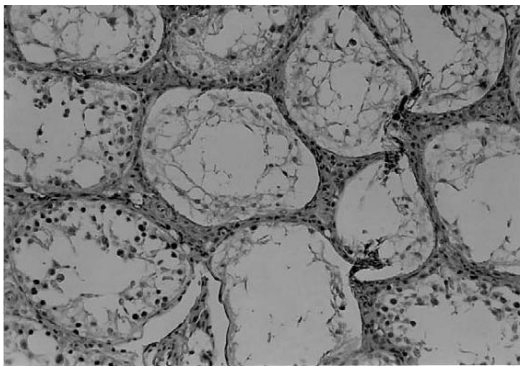
شکل ۱- بافت بیضه در گروه کنترل (هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۴۰x)



شکل ۲- بافت بیضه در گروه دریافت کننده ۵۰۰mg/kg تری فلورالین (هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۴۰x)



شکل ۳- بافت بیضه در گروه دریافت کننده ۱۰۰۰ mg/kg تری فلورالین (هماتوکسیلین- ائوزین- بزرگنمایی ۴۰x)



شکل ۴- بافت بیضه در گروه دریافت کننده ۲۰۰۰mg/kg تری فلورالین (هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۴۰x)

بافتی و رنگ‌آمیزی با استفاده از رنگ‌های هماتوکسیلین- ائوزین انجام شد.

لام‌های تهیه شده از مقاطع بافتی بیضه، به منظور بررسی ساختار لوله‌های اسپرم‌ساز، شکل، اندازه و تعداد سلول‌های بیضه توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند.

داده‌های عددی به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شدند. به منظور مقایسه اختلاف میانگین وزن بیضه‌ها و هم‌چنین وزن حیوانات بین گروه کنترل و سایر گروه‌ها در پایان دوره آزمایش از آزمون t و ANOVA استفاده شد. به علاوه به منظور براوری میانگین غلظت هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH در پنج گروه از روش ANOVA استفاده شد. سپس گروه‌ها بصورت جفت با کمک روش‌های Duncan و Tukey با گروه کنترل مقایسه شدند. به منظور مقایسه میانگین سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، سرتولی و بینابینی نیز از آزمون t، ANOVA، Tukey و Duncan استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از برنامه SPSS انجام گرفت و $p<0/05$ و $p<0/001$ معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

کاهش معنی‌داری در میزان وزن بدن و وزن بیضه در کلیه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (جدول ۱) و میزان سرمی هورمون LH در کلیه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲).

جدول ۱- تغییرات وزن بدن و بیضه‌ها در گروههای مختلف در مقایسه با گروه کنترل

	وزن بدن	وزن بیضه راست	وزن بیضه چپ
گروه کنترل	۲۵۳/۶±۲*	۱/۳۶±۰/۰۲	۱/۳۹±۰/۰۴
گروه شاهد	۲۵۴/۶±۱/۲	۱/۳۹±۰/۰۳	۱/۴±۰/۰۳
تری فلورالین ۵۰۰mg/kg	۲۳۰±۳/۱۶†	۱/۲±۰/۰۵†	۱/۱۹±۰/۰۴†
تری فلورالین۱۰۰۰mg/kg	۲۲۹±۳/۱۱†	۱/۱۵±۰/۰۸†	۱/۱۵±۰/۰۳†
تری فلورالین۲۰۰۰mg/kg	۲۲۷/۴±۳/۶۷†	۱/۰۷±۰/۱۱†	۱/۰۶±۰/۰۹†

* میانگین وزن±خطای معیار میانگین (گرم)

† اختلاف معنی‌دار بین گروههای تجربی و کنترل ($p<0/05$).

میزان سرمی هورمون FSH تنها در گروه تجربی ۳ اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نشان داد (جدول ۲). هم‌چنین

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- میانگین تعداد سلولهای بافت بیضه در گروههای مختلف در مقایسه با گروه کنترل

	اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت اولیه	اسپرماتید	سرتولی	بینابینی
گروه کنترل	۵۶/۵±۲/۰۶*	۶۷/۰±۳/۱۸	۱۸۰/۷۵±۹/۸۳	۱۱±۱/۲۵	۱۰/۵±۰/۸۵
گروه شاهد	۵۱/۵±۱/۵۹	۶۴/۵±۱/۵۹	۱۹۹/۲۵±۹/۶۱	۱۰/۵±۰/۷۳	۱۱/۳۸±۱/۶۷
تری فلورالین ۵۰۰mg/kg	۴۹/۰±۲/۲۴†	۵۸/۵±۲/۱۳†	۱۵۷/۵±۸/۸۱	۱۱±۱	۹/۷۵±۰/۴۹
تری فلورالین۱۰۰۰mg/kg	۳۲/۲۵±۲/۹۲‡	۴۵±۳/۷‡	۱۴۱/۱۳±۹/۴۱†	۹/۵±۰/۷۶	۸/۱۳±۰/۳۵†
تری فلورالین۲۰۰۰mg/kg	۱۰/۱۳±۱/۳۶‡	۲۲±۰/۸‡	۳۰/۶۳±۱/۱‡	۷/۳۸±۰/۵†	۵/۷۵±۰/۳۷‡

* میانگین وزن±خطای معیار میانگین (گرم)

† اختلاف معنی‌دار بین گروههای تجربی و کنترل ($p<۰/۰۵$).

‡ اختلاف معنی‌دار بین گروههای تجربی و کنترل ($p<۰/۰۰۱$).

کاهش معنی‌داری در میزان هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (جدول ۲). سم تری‌فلورالین بر روی تعداد سلول‌های سازنده اسپرم، بینابینی و سرتولی تأثیر داشت (جدول ۳ و شکل‌های ۱ تا ۴). هم‌چنین بررسی میکروسکوپی نشان داد که تراکم اسپرم‌ها در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ رو به کاهش گذاشته و با بالا رفتن میزان دوز در گروه‌های تجربی بطور قابل ملاحظه‌ای از تراکم اسپرم‌ها در مقایسه با گروه کنترل کم می‌شد (شکل‌های ۱ تا ۴). مطالعه ساختار و تراکم لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های تجربی و مقایسه آنها با گروه کنترل نشان داد که در گروه تجربی ۳ تغییرات آشکاری از نظر به هم‌ریختگی‌های بافتی و تغییر شکل در لوله‌های اسپرم‌ساز صورت گرفته است (شکل ۴).

جدول ۲- میانگین غلظت سرمی هورمونهای LH، FSH و تستوسترون در گروههای مختلف در مقایسه با گروه کنترل

	LH (IU/L)	FSH (IU/L)	تستوسترون (nmol/L)
گروه کنترل	۴/۰۱±۰/۲۶*	۷/۵۸±۰/۲۴	۴/۱۴±۰/۲۴
گروه شاهد	۳/۸۹±۰/۲	۷/۳±۰/۲۹	۴/۰۳±۰/۴۳
تری فلورالین ۵۰۰mg/kg	۲/۶۳ ±۰/۱۴‡	۷/۵±۰/۲۹	۳/۴۱±۰/۲۹
تری فلورالین۱۰۰۰mg/kg	۲/۴۶±۰/۲۱‡	۷/۳±۰/۳۲	۲/۶۷±۰/۴۹†
تری فلورالین۲۰۰۰mg/kg	۱/۷۱±۰/۱۵‡	۶/۴۵±۰/۳۵†	۲/۰۲±۰/۲۹‡

* میانگین وزن±خطای معیار میانگین (گرم)

† اختلاف معنی‌دار بین گروههای تجربی و کنترل ($p<۰/۰۵$).

‡ اختلاف معنی‌دار بین گروههای تجربی و کنترل ($p<۰/۰۰۱$).

بحث

نتایج بررسی حاضر نشان داد سم تری‌فلورالین باعث کاهش میزان وزن بدن و بیضه‌ها، هورمون‌های گنادوتروپین و تستوسترون و تعداد سلول‌های موجود در بافت بیضه می‌شود.

غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه تجربی ۱ کاهش نسبی و در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل داشتند.

تستوسترون اثرات آنابولیک مستقیمی روی ساخت پروتئین در همه اندام‌ها و بافت‌های بدن دارد و باعث افزایش توده ماهیچه و استخوان در جنس نر می‌شود (۳). در گروه‌های تجربی دریافت کننده سم تری‌فلورالین، کاهش تستوسترون می‌تواند از طریق کاهش ساخت پروتئین منجر به کاهش حجم ماهیچه‌ها و وزن بدن شود.

تری‌فلورالین جزو مواد شیمیایی مختل کننده هورمون‌های تیروئیدی است و آزمایشات نشان داده که این سم می‌تواند باعث ایجاد تومور و افزایش حجم در سلول‌های فولیکولار غده تیروئید شود (۴). در نتیجه انتظار می‌رود تری‌فلورالین باعث افزایش T_4 و در درازمدت کاهش TSH شود. مطالعات نشان داده‌اند رابطه عکسی بین شاخص توده بدن (BMI) و میزان T_4 سرمی و رابطه مستقیمی بین شاخص توده بدن و میزان TSH وجود دارد (۵،۶) که می‌تواند دلیلی دیگر بر کاهش وزن بدن باشد.

آزمایشات نشان داده‌اند سم تری‌فلورالین باعث افزایش میزان سرمی کورتیزول می‌شود (۷). افزایش فیزیولوژیک کورتیزول در شرایط بروز استرس باعث افزایش گلوکونئوژنز، افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها و کاهش اکسیداسیون گلوکز می‌شود تا انرژی مورد نیاز بدن را تأمین نماید و پس از برطرف شدن استرس و یا شرایط مشابه اشتها برای بازسازی مواد مصرف شده افزایش می‌یابد که می‌تواند باعث پرخوری و چاقی شود (۸). افزایش نسبی وزن موش‌های صحرایی در گروه شاهد نسبت به کنترل می‌تواند مؤید این مطلب باشد (جدول ۱). اما افزایش پاتولوژیک ترشح کورتیزول می‌تواند باعث کاهش پروتئین‌سازی، افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها، کاهش

Archive of SID

www.SID.ir

استخوان‌سازی و در نهایت کاهش وزن شود که این موضوع می‌تواند تاییدی بر کاهش وزن در گروه‌های تجربی باشد (۹).

کاهش وزن بیضه‌ها در این پژوهش با تحقیق بر روی ماده‌ای که حاوی تری‌فلورالین است و باعث کاهش وزن پروستات، کیسه منی و همچنین اندام‌های حساس به آندروژن شده، مطابقت دارد (۱۰). مطالعات نشان داده تری‌فلورالین می‌تواند باعث تولید رادیکال آزاد (۱۱) و هم‌چنین افزایش ناهنجاری‌های کرومزومی در سلول‌های زایا شود (۱۲) که می‌تواند منجر به آسیب در سلول‌های حساس بیضه، کاهش تراکم آنها و در نتیجه تا حدی کاهش وزن بیضه‌ها شود.

بر اساس مطالعات، غلظت‌های فیزیولوژیک تستوسترون، FSH و LH در اسپرماتوژنز نقش اساسی دارند (۳). با توجه به اینکه تجویز تری‌فلورالین کاهش این هورمون‌ها را در پی داشت و کاهش این هورمون‌ها از جمله عوامل اصلی در کاهش تعداد سلول‌های زایا، سرتولی، بینابینی و تحلیل رفتن بافت بیضه است، بنابراین کاهش وزن بیضه دور از انتظار نمی‌باشد.

این پژوهش نشان داد تری‌فلورالین باعث کاهش میزان سرمی گنادو تروپین‌ها بخصوص LH می‌شود. مطالعات آزمایشگاهی بر روی موش‌های صحرایی نشان داده که تجویز تری‌فلورالین باعث کاهش وزن هیپوفیز می‌شود (۱۳) که این امر می‌تواند منجر به کاهش هورمون‌های مترشحه نظیر گنادوتروپین‌ها شود. هم‌چنین مطالعات ثابت کرده که تری‌فلورالین باعث گسترش اختلال در آدرنال و افزایش گسترده و چشم‌گیر در میزان سرمی هورمون کورتیزول می‌شود (۴،۷). یافته‌های محققان که با آزمایش بر روی جانوران گوناگون بدست آمده، نشان می‌دهد که افزایش کوتیزول پالس‌های ترشحی GnRH و LH را کاهش می‌دهد (۱۸-۱۴) و باعث کاهش در عملکرد اندوکرین بیضه می‌شود که منشأ آن کاهش LHRH هیپوتالاموسی و در نتیجه کاهش LH هیپوفیزی است (۱۷،۱۸).

با توجه به اینکه تری‌فلورالین باعث ایجاد تومور و هایپرتروفی سلول‌های فولیکولار تیروئید (۴) و احتمالاً افزایش میزان سرمی T_4 می‌شود (۷)، با توجه به دوزهای مصرفی در این پژوهش افزایش معنی‌دارT_4 محتمل است. در درازمدت این افزایش، از طریق خودتنظیمی منفی منجر به کاهش TRH و سپس TSH می‌شود، در نتیجه میزان پرولاکتین بالا می‌رود که این امر می‌تواند اثر منفی روی ترشح GnRH و در نهایت گنادوتروپین‌ها اعمال کند.

جدول ۲ نشان می‌دهد که میزان سرمی هورمون تستوسترون در این پژوهش کاهش یافته است. مطالعات ثابت کرده که هورمون LH با تأثیر بر سلول‌های بینابینی باعث ترشح تستوسترون می‌شود (۳). کاهش LH و کاهش تعداد سلول-های بینابینی در این پژوهش می‌تواند از جمله عوامل مؤثر بر کاهش تستوسترون باشد. افزایش میزان کورتیزول توسط تری‌فلورالین (۷) باعث القای اثرات منفی بر ساخت تستوسترون، اسپرماتوژنز و استروئیدوژنز در بیضه می‌شود (۱۹-۱۷). حتی بعضی یافته‌ها نشان می‌دهدکه افزایش کورتیزول بطور مزمن، باعث کاهش فعالیت استروئیدوژنیک بافت بیضه می‌شود (۲۰). پس احتمالا سم تری‌فلورالین از طریق افزایش کورتیزول باعث کاهش تستوسترون می‌شود.

مطالعات نشان می‌دهد تجویز تری‌فلورالین باعث فعال شدن یک گیرنده هسته‌ای در کبد بنام PXR (Pregnane Xenobiotic Receptor) می‌شود که از دسته گیرنده‌های استروئیدی بنام SXR (Steroid Xenobiotic Receptor) است. این گیرنده با ورود مواد شیمیایی خارجی خاصی به بدن فعال می‌شود (۲۱). بسیاری از مواد شیمیایی مختل کننده سیستم اندوکرین که PXR را فعال می‌کنند، دارای اثرات ضدآندروژنی هستند (۲۲،۲۳). با توجه به اینکه تری‌فلورالین نیز PXR را فعال می‌کند، می‌توان فرض کرد که این سم نیز می‌تواند دارای چنین اثراتی باشد. هم‌چنین فعال شدن PXR باعث القای آنزیمی بنام CYP3A می‌شود. این آنزیم تعداد بیشماری از استروئیدها مانند تستوسترون، پروژسترون، آندروستندیون را متابولیزه می‌کند. افزایش CYP3A منجر به افزایش پاک‌سازی این استروئیدها از پلاسما می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند القای CYP3A باعث تولید متابولیت‌هایی می‌شود که اختلالاتی را در سیستم اندوکرین ببار می‌آورند و می‌توانند فعالیت زیستی آندروژن‌ها و استروژن‌ها را تحت تأثیر قرار دهند (۲۳). این مطلب با فرضیه جدیدی که اخیراً پیشنهاد شده همخوانی دارد، بدین صورت که قسمت پروموتور ژن انسانی تحریک کننده سنتز نیتریک اکسید (iNOS) دارای عناصر پاسخ دهنده به PXR است. یعنی فعال سازی PXR بوسیله مواد شیمیایی خارجی باعث خود تنظیمی مثبت iNOS و متعاقباً افزایش سنتز نیتریک اکساید (NO) می‌شود (۲۳،۲۴). پس بطور خلاصه می‌توان گفت احتمالاً تری‌فلورالین باعث افزایش سنتز نیتریک اکسید می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که نیتریک اکسید استروئیدوژنز را در سلول‌های بینابینی مهار می‌کند. مکانیسم این اثرات مهاری از طریق مهار آنزیم سیتوکروم $P450_{SCC}$ و جلوگیری از تبدیل کلسترول به پرگننولون انجام می‌شود (۲۷-۲۵) که نتیجه این عمل کاهش تستوسترون و استروئیدوژنز در بافت بیضه است.

Archive of SID

www.SID.ir

تری‌فلورالین می‌تواند باعث افزایش پاتولوژیک کورتیزول (۷) و افزایش پلاکت‌های خون (۲۸) شود. افزایش پلاکت‌ها باعث آزاد شدن مواد التهاب‌زای سروتونین و هیستامین می‌شود. کلیه عوامل ذکر شده درایجاد واکنش‌های التهابی دخیل هستند و این واکنش‌ها می‌توانند باعث افزایش نیتریک اکسید شوند (۹). مطالعات نشان داده‌اند، افزایش نیتریک اکسید و کورتیزول در بافت بیضه آثار مخربی بر روی این بافت و اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم ساز و سلول‌های آن دارد (۳۱-۲۹) و باعث کاهش اسپرماتوژنز می‌شود (۱۷،۲۰) و هم‌چنین قادر به کاهش اسپرماتوسیت‌ها و اسپرماتیدها بدلیل القای مرگ سلولی است (۳۳،۱۹-۳۱).

در مطالعه‌ای بر روی موش‌های صحرایی، استفاده از علف‌کشی که حاوی ۲۶ درصد تری‌فلورالین بود باعث افزایش فرکانس ناهنجاری‌های کروموزومی در سلول‌های زایای بیضه‌ها شد (۱۲). هم‌چنین با بررسی‌هایی که بر روی صفات وابسته به جنس مگس‌های سرکه صورت گرفت، مشخص شد تجویز تری‌فلورالین، باعث افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی و جهش در این مگسها می‌گردد (۳۴). در بعضی مقالات نیز به خاصیت جهش‌زا بودن تری‌فلورالین اشاراتی شده است (۴،۳۵). با توجه به این تحقیقات و بیانیه نشریه مرکز کنترل و محافظت از بیماریها مبنی بر اینکه مواد شیمیایی اختلال‌گر سیستم اندوکرین با تولید رادیکال‌های آزاد قادر به اعمال آسیب‌های اکسیداتیو مولکول‌های زیستی از قبیل DNA و پروتئین‌ها هستند و تری‌فلورالین نیز در فهرست این مواد شیمیایی می‌باشد (۱۱)، احتمال می‌رود تری فلورالین با ایجاد رادیکال‌های آزاد و جهش در بافت بیضه خصوصاً سلول‌های حساس اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و اسپرم‌ها باعث آسیب جدی و از بین رفتن این سلول‌ها شود.

ثابت شده که LH مترشحه از هیپوفیز با اثر بر روی سلول‌های بینابینی و ترشح تستوسترون و FSH با تأثیر بر روی سلول‌های سرتولی و ایجاد محیط مناسب جهت فرآیند اسپرماتوژنز باعث تبدیل موفق سلول‌های اسپرماتوگونی به اسپرم‌های بالغ می‌شوند (۳). با توجه به اینکه در این پژوهش تری‌فلورالین باعث کاهش هورمون‌های FSH و LH شده و متعاقباً میزان تستوسترون بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش پیدا کرده، کاهش شدید فرآیند اسپرماتوژنز و کاهش سلول‌های زایا محتمل بنظر می‌رسد.

تری‌فلورالین می‌تواند باعث کاهش وزن پروستات و کیسه منی شود (۱۰). احتمالاً این امر باعث عدم کارآیی مناسب این غدد می‌گردد و با توجه به اینکه غدد مذکور اکثر ترکیبات مایع منی را تشکیل می‌دهند و باعث فراهم آوردن محیط مناسب برای اسپرم‌ها می‌گردند (۳)، اختلال و کاهش وزن آنها می‌تواند باعث از بین رفتن اسپرم‌ها شود.

با توجه به اینکه در این پژوهش میزان تستوسترون در گروه‌های تجربی بطور معنی‌داری کاهش پیدا کرده و با توجه به اینکه تستوسترون از سلول‌های بینابینی ترشح می‌شود (۳)، پس کاهش تعداد سلول‌های بینابینی در راستای کاهش تستوسترون بدیهی بنظر می‌رسد. سلول‌های سرتولی در این پژوهش تنها در گروه تجربی ۳ تغییرات معنی‌داری را نشان داده بودند که احتمالاً بدلیل مقاومت بیشتر آنها نسبت به سایر سلول‌های بافت بیضه است.

نتیجه‌گیری می‌شود که سم تری‌فلورالین با دوزهای بکار برده شده و در دوره زمانی ۱۶ روز باعث کاهش غلظت سرمی گنادوتروپین‌ها، تستوسترون و هم‌چنین کاهش روند اسپرماتوژنز در بافت بیضه می‌شود که احتمالاً این اثرات در نتیجه افزایش سرمی کورتیزول، القای آنزیم PXR کبدی و تحریک سنتز نیتریک اکسید صورت می‌گیرد.

تشکروقدردانی

نگارندگان لازم می‌دانند از کارکنان محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و آزمایشگاه دکتر قوامی شیراز نهایت تشکرو تقدیر را ابراز دارند.

REFERENCES

1. Chen J, Ahn KC, Gce NA, Ahmed MI, Lasely BL. Triclocarbon enhancers testosterone action: a new type of endocrine disrupt? 2008;49:1173-79.
2. Lyons G. Endocrine disrupting pesticides: pesticide news. 1999 ;46:16-19.
3. Ganong WF. Review of medical physiology. 20th edition. Philadelphia: McGraw-Hill; 2001. p.383-438.
4. Saghir SA, charles GD, Bartels MJ, Kan LH, Clark AJ. Mechanism of trifluralin- induced thyroid tumors in rats. Toxicol Lett 2008;180:38-45.
5. Iacobellis G, Ribaudo MC, Zappaterreno A, Iannucci CV, Leonetti F. Relationship of thyroid function with body mass index, Leptin, insulin sensitivity and adiponection in euthyroid obese women. Clin Endocrinol (Oxf.) 2005;65:487-91.

Archive of SID

www.SID.ir

6. Knudsen N, Laurberg P, Rasmussen LB, Bülow I, Perrild H, Ovesen L, et al. Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:4019-24.

7. Rawlings NC, Cook SJ, waldbillig D. Effects of pesticides Carbofuran, Chlorpyrifos, Dimethoate, Lindane, Triallate, Trifluralin, 2,4D and penta chlorphenol on the metabolic endocrine and reproductive endocrine system in news. Toxocol environ health 1998;54:21-36.

8. Fraser R, Ingram MC, Anderson NH, Morrison C, Davis E, Connell JMC. Cortisol effects on body mass, blood pressure, and cholesterol in the general population. Hypertension 1999;33:1364-68.

9. Zamiri MJ, editor. Medical Endocrinology. 1st edition. Shiraz: Shiraz University Publishing; 1998. p.121-23. [In Persian]

10. Yilmaz B, Bulmus D, Sandal S, Shalin Z, Yildiz S, Kelestimur H. Evaluation of endocrine disruptive effects of Cypermethrin and Trifluralin in male rats by Hershberger assay. Acta physiologica 2006;188:23.

11. Choi SM, Lee BM. An alternative mode of action of endocrine disrupting chemicals and chemo preventation. J Toxicol Environ Health 2004;7:451-63.

12. Rakitsky VN, Koblyakov VA, Turusov VS. Nongenotoxic (epigenic) carcinogens pesticides as an example. Teratog Carcinog Mutagen. 2000;20(4):229-40.

13. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette LJ, et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. Environ Health Perspect 1996;104:741-803.

14. Debus N, Breen KM, Barrell GK, Billings HJ, Brown M, Young EA, et al. Does cortisol mediate endotoxin-induced inhibition of pulsatile luteinizing hormone and gonadotropin- releasing hormone secretion? Endocrinology 2002;143:3748-58.

15. Suter DE, Schwartz NB. Effects of glucocorticoids on secretion of luteinizing hormone and follicle- stimulating hormone by female rat pituitary cells in vitro. Endocrinology 1985;117:849-54.

16. Breen KM, Billings HJ, Wagenmaker ER, Wessinger EW, Karsch FJ. Endocrine basis for disruptive effects of cortisol on preovulatory events. Endocrinology 2005;146:2107-15.

17. Bambino TH, Hsueh AJ. Direct inhibitory effect of glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis in vivo and in vitro. Endocrinology 1981;108:2142-48.

18. Juinewicz PE, Johnson BH, Bolt DJ. Effect of adrenal steroids on testosterone and luteinizing hormone secretion in the ram. Andrology 1987;8:190-96.

19. Norman RL. Effect of corticotrophin- releasing hormone on luteinizing hormone, testosterone and cortisol secretion in intact male rhesus macaques. Biol Reprod 1993;79:178-53.

20. Consten D, Keuning ED, Terlou M, Lambert JGD, Goods HGT. Cortisol effects on the testicular androgen synthesizing capacity in common carp, cyprinus carpio L. Fish physiology and biochemistry 2001;25:91-98.

21. Mikamo E, Harda S, Nishikawa J, Nishihara T. Endocrine disruptors induce cytochrome p450 by affecting transcriptional regulation via pregnane X receptor. Toxicol Appl Pharmacol 2003;193:66-72.

22. Tabb MM, Blumberg B. New modes of action for endocrine – disrupting chemicals. Mol Endocrinol 2006;20:475-82.

23. Guillette LJ Jr. Endocrine disrupting contaminants- beyond the Dogma. Environ Health Perspect 2006;114:9-12.

24. Toell A, Kroncke KD, Kleinert H, Carlberg C. Orphan nuclear receptor binding site in the human inducible nitric oxide synthase promotor mediators responsiveness to steroid and xenobiotic ligands. J Cell Biochem 2002;85:72-82.

25. Del Punta K, Charreau EH, Pignataro OP. Nitric oxide inhibits leydig cell steroidogenesis. Endocrinology 1996;137:5337-43.

26. Pomerantz DK, Pitelka V. Nitric oxide is a mediator of the inhibitory effect of activated macrophages on production of androgen by the leydig cell of the mouse. Endocrinology 1998;139:3922-31.

27. O'Bryan M, Schlatt S, Gerdprasert O, Philips DJ, Kretser DM, Hedger MP. Inducible nitric oxide synthase in the rat testis: Evidence for potential roles in both normal function and inflammation- mediated infertility. Biol Reprod 2000;63:1285-93.

28. Kaidoh T, Nath J, Fujioka H, OKoye V, Aikawa M. Effect and localization of trifluralin in plasmodium faliciparum gametocytes: an electron microscopic study. J Eukaryot Microbiol 1995;42:61-64.

Archive of SID

www.SID.ir

29. Kisa U, Başar MM, Ferhat M, Yilmaz E, Başar H, Cağlayan O, et al. Testicular tissue nitric oxide and thiobarbituric acid reactive substance levels: Evaluation with respect to the pathogenesis of varicocele. Urol Res 2004;32:196-99.

30. Nicotera P, Bonfoco E, Brüne B.. Mechanisms for nitric oxide- induced cell death: involvement of an apoptosis. Adv Neuroimmunol 1995;5:411-20.

31. Ishikawa T, Kondo Y, Goda K, Fujisawa M. Overexpression of endothelial nitric oxide synthase in transgenic mice accelerates testicular germ cell apoptosis induced by experimental cryptorchidism. J Androl 2005;26:281-88.

32. Lue Y, Sinha Hikim AP, Wang C, Leung A, Swerdloff RS.. Functional role of inducible nitric oxide synthase in the induction male germ cell apoptosis regulation of sperm number, and determination of testes size: Evidence from null mutant mice. Endocrinology 2002;144:3092-100.

33. Garban H, Vernet D, Freedman A, Rajifer J, Gonzalez- Cadavid N. Effect of aging on nitric oxide- mediated penile erection in rats. Am J Physiol 1995;268:1467-75.

34. Pontecorvo G, Fantaccione S. Recombinogenic activity of 10 chemical compounds in male germ cells of Drosophila Melanogaster: Ecotoxicol Environ Saf 2006;65:93-101.

35. Hurley PM. Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in ordents. Environ Health Perspect 1998; 106:437-45.

Archive of SID

www.SID.ir