Archive of SID

پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و کیفیت پارامترهای اسپرمی در موش‌های نر نژاد Balb/c تیمار شده با غلظت‌های مختلف سم دیازینون

• **عیسی لیالی***: گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ایران، کد پستی: ٤٨١٦٦١٣٤٨٥

تاریخ دریافت: شهریور ١٣٩٦ تاریخ پذیرش: آذر ١٣٩٦

چکیده

با توجه به نقش احتمالی دیازینون (DZN) در القاء تولید رادیکال‌های آزاد، احتمال می‌رود که سبب افزایش اکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم و در پی آن کاهش کیفیت پارامترهای اسپرم گردد. در این مطالعه اثرات سمی دیازینون بر پارامترهای اسپرم و اکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم در مایع سمینال موش نر مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه تجربی، ٢٤ موش نر بالغ از نژاد سوری به‌صورت تصادفی به سه گروه تجربی و یک گروه شاهد تقسیم شدند. سم دیازینون با غلظت‌های ٥ (گروه A)، ١٠ (گروه B) و ٢٥ (گروه C) میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن در هر روز، به‌ترتیب به گروه‌های اول تا سوم مورد مطالعه و به‌صورت دهانی به‌مدت پنج هفته داده شد. سپس غلظت مالون دی آلدئید (MDA) در سرم و مایع سمینال به‌روش TBAR (Thiobarbituric acid reaction) با دستگاه اسپکتروفتومتر مورد آماده‌سازی قرار گرفت. پارامترهای اسپرمی نیز به‌روش‌های معمول میکروسکوپی مورد آنالیز قرار گرفت. کاهش معنی‌داری در میانگین کیفیت پارامترهای اسپرمی در گروه‌های تیمار شده با سم دیازینون، به‌خصوص گروه‌های B و C در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید (p<٠/٠٠١). تفاوت معنی‌داری در میانگین غلظت MDA در سرم و مایع سمینال بین گروه‌های تیمار شده A، B، C و گروه شاهد مشاهده گردید (p<٠/٠٠١). سم دیازینون با افزایش اکسیداسیون لیپیدهای غشایی سبب کاهش پارامترهای اسپرمی می‌گردد که اثرات آن وابسته دوز نیز می‌باشد.

کلمات کلیدی: سم دیازینون، پارامترهای اسپرم، استرس اکسیداتیو، مالون دی آلدئید (MDA)، موش نر

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: issalayali@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مسمومیت ناشی از آفت‌کش‌ها یکی از شایع‌ترین نوع مسمومیت است که ممکن است در تماس اتفاقی افرادی که این ترکیبات را به منظورهای مختلف مصرف می‌کنند، دیده شود. گزارشات اخیر حاکی از آن است که مسمومیت با آفت‌کش‌ها در روستاهای کشورهای جهان سوم که سطح آگاهی پایین بوده و سموم خطرناک و منسوخ شده به‌راحتی در دسترس می‌باشد بیش‌تر دیده شده است (Jafari و همکاران، ۲۰۱۷؛ Saraei و همکاران، ۲۰۱۶). در این میان آفت‌کش‌های اُرگانو فسفره، به‌ویژه سم دیازینون، دسته‌ای از مواد شیمیایی فسفردار بوده که برای کنترل طیف وسیعی از آفات در بخش کشاورزی به‌کار برده می‌شوند و کاربرد این سموم درحال حاضر در بین کشاورزان در دنیا رو به گسترش می‌باشد (Velki و همکاران، ۲۰۱۷). این ترکیبات فسفره آلی دارای اثرات بیولوژیکی متنوّعی می‌باشند، اما اکثر این آفت‌کش‌ها به‌عنوان حشره‌کش در بخش کشاورزی استفاده می‌شوند، هرچند تعداد زیادی از آن‌ها حتی به‌عنوان کنه‌کش، داروهای ضدکرم روده، نماتدکش، مواد عقیم‌کننده و موش‌کش نیز استفاده می‌شوند (Trailovic و همکاران، ۲۰۱۷). با این وجود سم دیازینون همانند شمشیر دولبه می‌باشد و بسیاری از محققین بر این باورند که در کنار مزایا و کاربردهای گسترده استفاده از سم دیازینون به‌ویژه در صنایع کشاورزی، میزان سمیت و اثرات جانبی حاصل از استفاده آن‌ها نیز باید به‌خوبی مورد بررسی و کنترل قرار گیرد (Ogasawara و همکاران، ۲۰۱۷؛ Slotkin و همکاران، ۲۰۱۷). به‌همین منظور، هم‌اکنون محققان سراسر دنیا در حال بررسی اثرات سمی سموم ارگانوفسفره به‌ویژه دیازینون بر روی انسان می‌باشند، به‌طوری‌که این موضوع به‌عنوان یکی از بخش‌های بحث انگیز صنایع کشاورزی نیز محسوب می‌گردد (Gao و همکاران، ۲۰۱۷؛ Pirsaheb و همکاران، ۲۰۱۷). یکی از این موضوعات مکانیسم اثرات سم دیازینون بر روی توانایی باروری مردان می‌باشد که کم‌تر مورد بررسی قرار گرفته است. اگرچه اثر سم دیازینون بر روی بروز برخی از بیماری‌ها به‌ویژه مشکلات تنفسی و عصبی به خوبی شناخته شده اما مکانیسم اثر آن بر روی کیفیت اسپرم (شامل تعداد اسپرم، حرکت اسپرم، مورفولوژی اسپرم) و قدرت باروری مردان به‌خوبی شناخته نشده است (Gao و همکاران، ۲۰۱۷). به‌نظر می‌رود که یکی از مکانیسم‌های احتمالی مهم اثر منفی سم دیازینون، تاثیر منفی بر روی سلول‌های اسپرم به‌واسطه القاء مسیر استرس اکسیداتیو باشد که از اهداف این تحقیق می‌باشد. به‌نظر می‌رسد که سم دیازینون با تولید رادیکال‌های آزاد منجر به شرایط استرس اکسیداتیو، به‌ویژه اکسیداسیون اسیدهای چرب غشایی اسپرم و نهایتاً اثرات پاتولوژیک در مجاری تناسلی مردان و اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز شوند (Gao و همکاران، ۲۰۱۷؛ Boussabbeh و همکاران، ۲۰۱۶). به‌همین منظور در این تحقیق سعی گردیده که اثر تخریبی سم دیازینون بر روی این فرآیندها به‌ویژه فرآیند اسپرماتوژنز، اکسیداسیون اسیدهای چرب غشایی اسپرم و هم‌چنین کیفیت پارامترهای اسپرمی مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به کاربرد و استفاده گسترده سم دیازینون در علوم کشاورزی، به‌ویژه در میان کشاورزان زحمت‌کش استان مازندران و باتوجه به نقش احتمالی پاتولوژیک آن‌ها بر روی بافت‌ها و سلول‌ها، انجام تحقیقات گسترده بر روی عوارض ناشی از مصرف آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. از طرفی با توجه به نقش احتمالی سم دیازینون در تولید و افزایش رادیکال‌های آزاد، حساسیت بیش از حد سلول‌های اسپرم نسبت به اثرات پاتولوژیک رادیکال‌های آزاد و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان سیتوپلاسمی سلول‌های اسپرم (Hosseinzadeh و همکاران، ۲۰۰۹)، احتمال می‌رود که سم دیازینون سبب اثرات پاتولوژیک و استرس اکسیداتیو در مایع سمینال و در پی آن کاهش کیفیت و توانایی بارورسازی اسپرم گردند (Jorsaraei و همکاران، ۲۰۱۰؛ Briceno و همکاران، ۲۰۱۶). به‌همین منظور در این مطالعه اثر پاتولوژیک سم دیازینون بر روی استرس اکسیداتیو در مایع سمینال، به‌ویژه اکسیداسیون غشاء اسپرم، و کیفیت اسپرم شامل تعداد، حرکت و مورفولوژی آن مورد بررسی قرار خواهد گرفت. نتایج این تحقیق بسیار حائز اهمیت بوده و یک زنگ‌خطری برای کشاورزان و نسل‌های آینده خواهد بود و قطعاً برای مراکز تحقیقاتی به‌ویژه مراکز ناباروری بسیار حائز اهمیت است.

مواد و روش‌ها

نوع و جمعیت مورد مطالعه: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ موش نر سورندی از انستیتوپاستور خریداری و در چهار گروه ۶ تایی شامل سه گروه مطالعه و یک گروه شاهد قرار گرفتند و جهت تزریق سم دیازینون مطالعه شدند. موش‌ها در قفس مخصوص در شرایط استاندارد نگه‌داری شده و از لحاظ آب و غذا کنترل می‌شدند. شرایط استاندارد نگه‌داری موش شامل دمای اتاق ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ تا ۶۰٪ با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی ۱۲ بود. موش‌های گروه مطالعه به‌مدت ۳۵ روز در یک‌دوره کامل اسپرماتوژنز، مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه مورد مطالعه اول، دوم و سوم در روز اول به‌ترتیب دوز ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم محلول دیازینون به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد تنها آب و غذای معمولی دریافت نمودند. براساس مشاهده نتایج مطالعه، پرسشنامه‌ای جهت بررسی تمام اطلاعات آزمایشگاهی از هر چهار گروه مورد مطالعه تهیه و جمع‌آوری گردید. این پرسشنامه، شامل اطلاعاتی در زمینه بررسی اثر دیازینون بر روی وضعیت پارامترهای اسپرمی (شامل تعداد، حرکت،

www.SID.ir

Archive of SID

قابلیت حیات و مورفولوژی اسپرم) و سطح مالون دی آلدئید (MDA) در سرم و مایع سمینال بود.

نمونه‌گیری از اپیدیدیوم: پس از بی‌هوش کردن و خونگیری از قلب موش‌های مورد مطالعه، ناحیه شکم آن‌ها با اتانل ۷۰٪ استریل و سپس برش داده شد. پس از باز کردن لایه‌های چربی ناحیه شکمی به کمک پنس، بخش بیضه و ناحیه اپیدیدیوم نمایان گردید. دم اپیدیدیوم که در قطب تحتانی هر بیضه قابل مشاهده می‌باشد توسط قیچی استریل بریده شده و در محیط کشت HamsF10 قرار خواهد گرفت. لازم به‌ذکر می‌باشد که محیط HamsF10 باید تا قبل از نمونه گیری، به‌مدت ۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ای و با فشار CO_2 ۵٪ قرار گیرد. پس از قرار دادن اپیدیدیوم داخل محیط کشت، با فشردن و تکان دادن آرام، سلول‌های اسپرم به‌صورت شناور وارد محیط کشت می‌شوند. سپس قطعات اضافی اپیدیدیوم از داخل ظرف برداشته شده و این محیط کشت حاوی سوسپانسیون اسپرم به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه با فشار CO_2 ۵٪ انکوبه شدند. بعد از این نمونه‌ها از انکوبه خارج شده و برای آنالیز پارامترهای اسپرمی مورد مطالعه قرار گرفتند. بعد از انکوباسیون، سوسپانسیون حاوی اسپرم توسط سمپلر برداشته شده و به میکروتیوپ انتقال یافت. نمونه‌ها سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۱۰۰۰ سانتریفوژ شده و پس از آن مایع رویی برداشته شده و فورا در دمای ۷۰- نگه‌داری شده تا بعداً برای اندازه‌گیری MDA مورد بررسی قرار گیرند.

مطالعه مورفولوژی (morphology) اسپرم: برای بررسی درصد اسپرم‌هایی با مورفولوژی طبیعی از رنگ‌آمیزی پاپانیکولا (Papanicolaou) استفاده گردید. جهت بررسی مورفولوژی اسپرم، از هر نمونه یک نمونه لام تهیه و فیکس شده و سپس در یک زمان از رنگ پاپانیکولا برای رنگ‌آمیزی تمام نمونه‌ها استفاده می‌گردد.

مطالعه حرکت (motility) اسپرم: برای اندازه‌گیری درصد اسپرم‌های متحرک به‌روش Talebi و همکاران (۲۰۱۳) استفاده گردید. در آزمایش بررسی تحرک اسپرم، مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه حیوانی را در مرکز Makler chamber قرار داده و پس از گذاشتن درپوش توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی X40 مشاهده و شمارش می‌شود. در این بررسی تعداد ۱۰۰ سلول مورد شمارش قرار گرفته واز این تعداد درصد تحرک اسپرم براساس قوانین WHO مشخص گردید.

مطالعه قابلیت حیاتی (viability) اسپرم: بررسی قابلیت حیاتی سلول‌های اسپرم از روش سیتوپلاسمی و با رنگ‌آمیزی ائوزین استفاده گردید. به‌طور خلاصه حدود ۱۰ میکرولیتر نمونه‌های سمن هر ۴ نمونه مورد تحقیق بر روی یک لام استریل قرار گرفت و حدود ۱۰ میکرولیتر رنگ ائوزین ۵٪ به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن رنگ با نمونه‌ها، یک عدد لامل استریل بر روی لام‌ها قرار گرفته و توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی X40 مشاهده و شمارش گردید. اسپرم‌های زنده به‌دلیل سالم بودن غشاء سیتوپلاسمی رنگ ائوزین وارد شده به‌داخل سلول را حفظ نموده لذا بعد از شستشو هم‌چنان به‌حالت رنگی مشاهده می‌شوند درحالی‌که اسپرم‌های مرده به‌دلیل غشاء آسیب‌دیده رنگ‌واردشده به‌داخل سلول را مجدداً خارج می‌کنند و بنابراین در زیر میکروسکوپ بدون رنگ قابل مشاهده هستند.

اندازه‌گیری MDA در سرم و مایع سمینال: نمونه‌های سرم و پلاسمای فریز شده بعد از قرار گرفتن در دمای اتاق برای اندازه‌گیری MDA مورد استفاده قرار می‌گیرند. غلظت MDA به‌روش Tavilani و همکاران (۲۰۰۵)، اندازه‌گیری گردید. به‌طور خلاصه ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های مورد آزمایش را به لوله‌های اپندورف انتقال داده و حدود ۵۰۰ میکرولیتر از محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) به آن اضافه می‌گردد. حدود ۱۰ میکرولیتر هیدروکسی تولوئن به محلول فوق اضافه شده و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۳۰۰۰ سانتریفوژ می‌گردد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته شده و به آن ۴۰۰ میکرولیتر محلول TBAR اضافه می گردد و به‌مدت یک ساعت در دمای ۹۵ در حمام آب جوش درجه نگه‌داری می‌شود. پس از آن نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای یخچال نگه‌داری شده تا سرد شوند. سپس مجدداً نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور g ۴۰۰۰ سانتریفوژ شده و در نهایت حدود ۲۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برای گرفتن جذب نوری در طیف ۵۹۳ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر مورد استفاده قرار گرفت.

روش آماری تجزیه و تحلیل اطلاعات: میانگین تمام پارامترها به‌صورت Mean ±SD نشان داده شده است. مقایسه میانگین غلظت کیفیت پارامترهای اسپرمی و غلظت MDA در بین تمام گروه‌ها با استفاده از برنامه ANOVA و بین دو گروه با برنامه t-test مورد ارزیابی قرار گرفت. نمودار استاندارد غلظت‌های مختلف MDA و TAC به‌کمک نرم‌افزار اکسل رسم گردید. آنالیزهای آماری در این تحقیق با برنامه SPSS ورژن ۱۹ انجام گردید و مقدار p-value کم‌تر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار بود.

نتایج

در این تحقیق میانگین پارامترهای اسپرمی (شامل تعداد، حرکت، و قابلیت حیاتی اسپرم‌ها) در کلیه نمونه‌ها آنالیز گردید و سپس با نمونه شاهد مقایسه شد (جدول ۱). گروه مطالعه براساس میزان دوز مصرفی دیازینون به سه گروه ۱ تا ۳ تقسیم شدند. وزن موش‌ها بعد از ۳۵ روز اندازه‌گیری گردید. تفاوت معنی‌داری بین میانگین وزن

www.SID.ir

Archive of SID

موش‌ها در گروه‌های مختلف مشاهده گردید به‌طوری‌که موش‌های دریافت‌کننده غلظت ۲۵ میلی‌گرمی دیازینون کم‌ترین وزن را در مقایسه با موش‌های گروه شاهد داشتند (p<۰/۰۵). از طرفی وزن بیضه چپ موش‌ها نیز بعد از کشته شدن اندازه‌گیری گردید که در این مورد نیز تفاوت معنی‌داری بین گروه سوم و شاهد مشاهده گردید (p=۰/۰۴۸).

جدول ۱: مقایسه آنالیز میانگین پارامترهای اسپرمی در گروه‌های مختلف

پارامترها	گروه شاهد	گروه مطالعه ۱	گروه مطالعه ۲	گروه مطالعه ۳	*p-value*
تعداد نمونه‌ها	۶	۶	۶	۶	-
دوز تزریق دیازینون (میلی‌گرم به‌ازاء هر کیلوگرم وزن بدن)	۰	۵	۱۰	۲۵	-
وزن بدن پس از تیمار (گرم)	۳۸/۱۹ ± ۴/۲۵	۳۶/۱۶ ± ۳/۱۹	۳۱/۴۵ ± ۲/۲۹	۲۷/۳۱ ± ۲/۸۲	<۰/۰۵
وزن بیضه چپ پس از تیمار (گرم)	۰/۱۲ ± ۰/۰۱	۰/۱۱ ± ۰/۰۲	۰/۰۹ ± ۰/۰۲	۰/۰۷ ± ۰/۰۱	<۰/۰۰۱
تعداد اسپرم (10^6 در هر میلی‌لیتر)	۲۴/۶۲ ± ۳/۴۶	۱۹/۱۵ ± ۳/۰۲	۱۴ ± ۲/۶	۱۱/۴۱ ± ۲/۱	<۰/۰۰۱
اسپرم متحرک (درصد)	۶۲/۲۱ ± ۱۴/۴۷	۵۷/۶۸ ± ۱۲/۳۹	۵۱/۳۲ ± ۱۲/۸۱	۴۶/۵۲± ۱۴/۷۵	<۰/۰۰۱
بی‌حرکت (درصد)	۱۲/۳ ± ۲/۷۸	۱۹/۴ ± ۵/۱۶	۲۲/۳۱ ± ۳/۲۵	۲۷/۲۱ ± ۳/۱۲	<۰/۰۰۱
اسپرم‌های زنده (درصد)	۶۵/۲۳ ± ۵/۱۲	۵۸ ± ۶/۳۲	۵۲/۳ ± ۸/۴۵	۴۱/۶ ± ۶/۳۹	<۰/۰۰۱
درصد اسپرم‌های غیرطبیعی (درصد)	۲۸/۱۷ ± ۴/۴۷	۳۹/۲۴ ± ۱/۲۸	۴۱/۱۲ ± ۳/۴	۴۴/۵۲ ± ۲/۸	<۰/۰۰۱

مقدار p<۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد.

نتیجه حاصل از آنالیز مقایسه میانگین تعداد اسپرم: مقایسه آنالیز میانگین تعداد اسپرم‌ها بین گروه‌های مختلف به‌کمک برنامه ANOVA، تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف نشان داد (p<۰/۰۰۱).به‌طوری‌که گروه مطالعه‌سوم، که بیش‌ترین دریافت‌کننده دوز مصرفی دیازینون بود، به‌طور معنی‌داری کم‌ترین میانگین تعداد اسپرم را در مقایسه با گروه شاهد (p<۰/۰۰۱) و حتی در مقایسه با گروه‌های مورد مطالعه اول (p<۰/۰۰۱) و مطالعه دوم (p=۰/۰۴۸) داشت. ارتباط معنی‌داری در رابطه با کاهش میانگین تعداد اسپرم بین گروه‌های مورد مطالعه اول با گروه شاهد(p<۰/۰۵) مشاهده شد، هرچند کاهش تعداد اسپرم در گروه مورد مطالعه دوم (p<۰/۰۵) در مقایسه با گروه شاهد نیز معنی‌دار بود.

نتیجه حاصل از آنالیز مقایسه میانگین درصد قابلیت حیاتی اسپرم: مقایسه آنالیز میانگین درصد قابلیت اسپرم‌ها بین گروه‌های مختلف به‌کمک برنامه ANOVA، تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف نشان داد (p<۰/۰۰۱). در این میان گروه مورد مطالعه دوم و سوم کم‌ترین درصد اسپرم‌های زنده را در مقایسه با گروه شاهد داشتند (به‌ترتیب با ارزش p برابر با p=۰/۰۱ و p<۰/۰۰۱). البته تفاوت معنی داری بین درصد اسپرم‌های زنده در گروه شاهد و گروه اول مشاهده نگردید (p=۰/۰۹).

نتیجه حاصل از آنالیز مقایسه میانگین درصد حرکات اسپرم: مقایسه آنالیز میانگین درصد اسپرم‌های متحرک بین گروه‌های مختلف به‌کمک برنامه ANOVA، تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان داد (p<۰/۰۰۱). میانگین درصد اسپرم‌های متحرک در گروه مورد مطالعه ۳ به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سایر گروه‌ها بود(p<۰/۰۱). ازطرفی درصد حرکت در گروه مورد مطالعه ۱ در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشت (p=۰/۲۴).

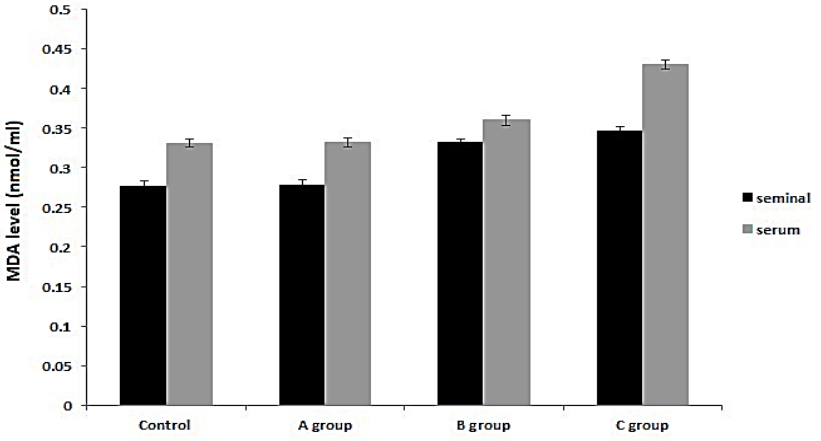
نتیجه حاصل از آنالیز مورفولوژی اسپرم: مقایسه آنالیز میانگین درصد مورفولوژی اسپرم‌ها بین گروه‌های مختلف نشان داد که درصد اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه‌های مورد مطالعه، به‌ویژه گروه‌های دریافت کننده دوزهای بالاتر سم دیازینون بیش‌تر بوده است (p<۰/۰۰۱).

نتیجه حاصل از آنالیز میانگین غلظت MDA سرم و مایع سمینال: میانگین غلظت MDA در نمونه‌های مایع سمینال و سرم تمام گروه‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. نتیجه حاصل از میانگین غلظت MDA سرم بین گروه‌ها به‌طور معنی‌داری متفاوت بود (p=۰/۰۰۱) و از طرفی غلظت MDA سرم از گروه شاهد به گروه ۳ رو به افزایش بوده است. میانگین غلظت MDA سرم در گروه مورد مطالعه ۳ در مقایسه با گروه‌های شاهد و گروه ۱ (p<۰/۰۰۱) و گروه ۲ (p=۰/۰۰۸) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بوده است. تفاوت معنی‌داری بین سایر گروه‌ها مشاهده نگردید(شکل ۱). نتیجه حاصل از میانگین غلظت MDA مایع سمینال بین گروه‌ها نیز به‌طور معنی‌داری متفاوت بود (p<۰/۰۰۱) و از طرفی غلظت MDA مایع سمینال از گروه شاهد به گروه ۳ رو به افزایش بوده است. میانگین غلظت MDA مایع سمینال در گروه مورد مطالعه ۳ در مقایسه با گروه‌های شاهد و گروه ۱ (p<۰/۰۰۱) و گروه ۲ (p=۰/۰۵) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بوده است. میانگین غلظت MDA

www.SID.ir

Archive of SID

مایع سمینال در گروه مورد مطالعه ۲ نیز در مقایسه با گروه‌های شاهد و گروه ۱ ($p<0/001$) بیش‌تر بود. تفاوت معنی‌داری بین گروه ۱ و گروه شاهد از لحاظ مقایسه غلظت MDA مایع سمینال وجود نداشت (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه میانگین غلظت MDA در نمونه‌های مایع سمینال و سرم در گروه‌های مختلف

بحث

در این تحقیق اثر پاتولوژیک دیازینون بر روی استرس اکسیداتیو در مایع سمینال و خون موش و هم‌چنین کیفیت پارامترهای اسپرمی ازجمله تعداد، حرکت و مورفولوژی اسپرم مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین اثر غلظت‌های مختلف دیازینون بر روی کیفیت پارامترهای اسپرم و سطح پراکسیداتیوی مایع سمینال و سرم موش ها مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز حاصل از کیفیت اسپرم در این تحقیق نشان داد که موش‌های دریافت‌کننده دیازینون در مقایسه با گروه شاهد به‌طور چشمگیری دارای کیفیت اسپرم پائین‌تری بودند. به‌طوری‌که با افزایش دوزهای بیش‌تر سم دیازینون، کیفیت پارامترهای اسپرم، به‌ویژه درصد مورفولوژی طبیعی، تعداد اسپرم‌های زنده و درصد اسپرم‌های متحرکت کم‌تر شد. بنابراین نه تنها دیازینون بر روی کیفیت پارامترهای اسپرم اثرات مخرب داشت بلکه این اثرات وابسته به دوز بوده و با افزایش دوز مصرفی این اثرات پاتولوژیک شدیدتر می‌شد. به‌نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های اثر دیازینون بر روی کاهش کیفیت اسپرم، تشدید استرس اکسیداتیو، به‌ویژه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم ها، می‌باشد. تحقیق اخیر نشان داد که سطح مالون دی آلدئید در سرم و مایع سمینال موش‌های دریافت‌کننده نانوذرات نقره به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد می‌باشد. به‌طوری‌که با افزایش دوز بیش‌تر دیازینون، این اثرات اکسیداتیوی بیش‌تر می‌گردد. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق، دیازینون یکی از عوامل تشدیدکننده اثرات اکسیداتیوی در سرم و مایع سمینال محسوب می‌شود که با کاهش سیالیت غشاء اسپرم و پارامترهای اسپرمی همراه می‌باشد. بنابراین اثرات اکسیداتیوی دیازینون و اثرات پاتولوژیک آن بر روی بدن، به‌ویژه بر روی کیفیت اسپرم و توانایی باروری مردان باید مورد توجه و بررسی بیش‌تر قرار گیرد. تاکنون اثرات سمی دیازینون تا حدودی ثابت شده و همین مسئله استفاده از آن‌ها را تا حدودی محدود کرده است. برخی مطالعات اثر سمی دیازینون بر روی کاهش اسپرماتوژنز در موش را نشان دادند (Sarabia و همکاران، ۲۰۰۹؛ Toman و همکاران، ۲۰۰۹). برای مثال در مطالعه Jorsaraei و همکاران (۲۰۱۰)، اثر غلظت‌های مختلف دیازینون بر روی اسپرماتوژنز مورد بررسی قرار گرفت که نتایج مطالعات آن‌ها گویای تاثیر دیازینون بر روی تخریب سلول‌های زایا و هم‌چنین کاهش اسپرماتوژنز بوده است. Jorsaraei و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر سم دیازینون بر روی سطح هورمون‌های LH و FSH در موش را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که دیازینون سبب آسیب شدید اسپرماتوژنز شده که احتمالاً یکی از مکانیسم‌های احتمالی آن تغییر در سطح هورمون‌های LH و FSH می‌باشد (Fattahi و همکاران، ۲۰۰۹). در مطالعه دیگری محققین نشان دادند که دیازینون حتی در غلظت‌های پایین منجر به کاهش کیفیت اسپرم و مشکل ناباروری می‌گردد (Adamkovicova و همکاران، ۲۰۱۶). آن‌ها هم‌چنین نشان دادند که دیازینون سبب تغییر در مورفولوژی طبیعی اسپرم و ناهنجاری‌هایی در حرکت اسپرم می‌گردد، به‌طوری‌که با افزایش غلظت یا دوز مصرفی دیازینون این اثرات بیش‌تر می‌شد (Adamkovicova و همکاران، ۲۰۱۶). در تحقیق دیگری تاثیر سم دیازینون بر روی کروماتین اسپرم موش مورد بررسی قرار گرفت و نتایج این تحقیق نشان داد که سم دیازینون با فسفریلاسیون پروتامین‌های هسته‌ای منجر به آسیب پروتامین و نهایتاً کاهش کیفیت پاراترهای اسپرمی از قبیل تعداد، مورفولوژی و حیات آن‌ها می‌گردد (Pina-Guzman و همکاران، ۲۰۰۵). آسیب DNA اسپرم توسط سم دیازینون نیز در مطالعات قبلی نشان داده شده است. در یک مطالعه

www.SID.ir

Archive of SID

محققین نشان دادند که سم دیازینون با آسیب DNA اسپرم منجر به کاهش پارامترهای اسپرمی و نهایتاً کاهش توانایی باورسازی آن می‌گردد(Salazar-Arredondo وهمکاران، ۲۰۰۸).نتایج‌این تحقیقات تقریباً مشابه با یافته‌های تحقیق حاضر می‌باشد. به‌نظر می‌رسد که استرس‌اکسیداتیو، به‌ویژه پراکسیداسیون‌لیپیدی ناشی از رادیکال‌های آزاد القاء شده توسط سم دیازینون یکی دیگر از مکانیسم‌های تاثیر آن بر روی کیفیت پارامترهای اسپرمی می‌باشد که نیازمند تحقیقات بیش‌تر می‌باشد.

با توجه به موارد ذکر شده، دیازینون از یک‌طرف به‌خاطر ویژگی‌های بدیع و کاربردهای شگفت‌انگیز خود در صنایع کشاورزی و از طرفی دیگر با آسیب رساندن به بدن و ناسازگاری با سلامتی انسان (به‌واسطه نفوذ سریع از طریق پوست و سلول‌های مخاطی و انتقال از طریق رشته‌های عصبی)، همانند یک شمشیر دو لبه عمل می‌کنند. بنابراین با توجه به خطرات و اثرات سمی دیازینون بر روی فرآیند اسپرماتوژنز، در کنار کاربردهای مفید آن‌ها، اثرات سمی سم دیازینون نیز باید به‌طور دقیقی مورد بررسی قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی عزیزانی که در انجام این تحقیق کمک زیادی نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. **Adamkovicova, M.; Toman, R.; Martiniakova, M.; Omelka, R.; Babosova, R.; Krajcovicova, V.; Grosskopf, G. and Massanyi, P., 2016.** Sperm motility and morphology changes in rats exposed to cadmium and diazinon. Reprod Biol Endocrinol. Vol. 14, No. 1, 42 p.

۲. **Boussabbeh, M.; Ben Salem, I.; Hamdi, M.; Ben Fradj, S.; Abid-Essefi, S. and Bacha, H., 2016.** Diazinon, an organophosphate pesticide, induces oxidative stress and genotoxicity in cells deriving from large intestine. Environ Sci Pollut Res Int. Vol. 23, No. 3, pp: 2882-2889.

۳. **Briceno, G.; Schalchli, H.; Rubilar, O.; Tortella, G.R.; Mutis, A.; Benimeli, C.S.; Palma, G. and Diez, M.C., 2016.** Increased diazinon hydrolysis to 2-isopropyl-6-methyl-4 pyrimidinol in liquid medium by a specific Streptomyces mixed culture. Chemosphere. Vol. 156, pp: 195-203.

۴. **Fattahi, E.; Parivar, K.; Jorsaraei, S.G.A. and Moghadamnia, A.A., 2009.** The effects of diazinon on testosterone, FSH and LH levels and testicular tissue in mice. Iranian Journal of Reproductive Medicine. Vol. 7, pp: 59-64.

۵. **Gao, B.; Bian, X.; Mahbub, R. and Lu, K., 2017**. Sex Specific Effects of Organophosphate Diazinon on the Gut Microbiome and Its Metabolic Functions. Environ Health Perspect. Vol. 125, No. 2, pp: 198-206.

۶. **Hosseinzadeh Colagar, A.; Pouramir, M.; Tahmasbpour Marzony, E. and Jorsaraei, S.G.A., 2009.** Relationship between seminal malondialdehyde levels and sperm quality in fertile and infertile men. Braz. arch. biol. Technol. Vol. 52, No. 6, pp:1387-1392.

۷. **Jafari, F.; Samadi, S.; Nowroozi, A.; Sadrjavadi, K.; Moradi, S.; Ashrafi-Kooshk, M.R. and Shahlaei, M., 2017.** Experimental and Computational studies on the Binding of Diazinon to Human Serum Albumin. J Biomol Struct Dyn. pp: 1-59.

۸. **Jorsaraei, S.G.A.; Firoozjaee, A.; Pasha, Y.Y.; Tahmasbpour Marzony, E. and Sarabi, E., 2010.** Histopathological Effects of Single Dose Treatment of Diazinon on Testes Structure in Rat. Cell Journal. Vol. 12, No. 1, pp: 39-42.

۹. **Ogasawara, N.; Matsushima, M.; Kawamura, N.; Atsumi, K.; Yamaguchi, T.; Ochi, H.; Kusatsugu, Y.; Hashimoto, N.; Hasegawa, Y.; Ueyama, J. and Kawabe, T., 2017.** Modulation of immunological activity on macrophages induced by diazinon. Toxicology. Vol. 379, pp: 22-30.

۱۰. **Pina-Guzman, B.; Solis-Heredia, M.J, and Quintanilla Vega, B., 2005.** Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. Toxicol Appl Pharmacol. Vol. 202, No. 2, pp: 189-198.

۱۱. **Pirsaheb, M.; Fattahi, N.; Sharafi, K. and Ghaffari, H.R., ۲۰۱۷.** Evaluation of abamectin, diazinon and chlorpyrifos pesticide residues in apple product of Mahabad region gardens: Iran in 2014. Food Chem. Vol. 231, pp: 148-155.

۱۲. **Salazar-Arredondo, E.; de Jesus Solis-Heredia, M.; Rojas-Garcia, E.; Hernandez-Ochoa, I. and Quintanilla Vega, B., 2008.** Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. Reprod Toxicol. Vol. 25, No. 4, pp: 455-460.

۱۳. **Sarabia, L.; Maurer, I. and Bustos-Obregon, E., 2009**. Melatonin prevents damage elicited by the organo phosphorous pesticide diazinon on mouse sperm DNA. Ecotoxicol Environ Saf. Vol. 72, No. 2, pp: 663-668.

۱۴. **Saraei, F.; Sadoughi, M.; Kaka, G.; Sadraie, S.H. and Foaddodini, M., 2016**. Study of the Effects of Diazinon on Fetal Liver in BALB/c Mice. Iran Red Crescent Med J. Vol. 18, No. 4, e28076.

۱۵. **Slotkin, T.A.; Skavicus, S. and Seidler, F.J. 2017.** Diazinon and parathion diverge in their effects on development of noradrenergic systems. Brain Res Bul. Vol. 130, pp: 268-273.

۱۶. **Talebi, A.R.; Khalili, M.A.; Vahidi, S.; Ghasemzadeh, J. and Tabibnejad, N., 2013.** Sperm chromatin condensation, DNA integrity, and apoptosis in men with spinal cord injury." J Spinal Cord Med. Vol. 36, No. 2, pp: 140-146.

۱۷. **Tavilani, H.; Doosti, M. and Saeidi, H., 2005.** Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of asthenozoospermic and its relationship with semen parameters. Clin Chim Acta. Vol. 356, pp: 199-203.

۱۸. **Toman, R.; Hluchy, S.; Cabaj, M.; Massanyi, P.; Roychoudhury, S. and Tunegova, M., 2016.** Effect of separate and combined exposure of selenium and diazinon on rat sperm motility by computer assisted semen analysis. J Trace Elem Med Biol. Vol. 38, pp: 144-149

۱۹. **Torabi, E.; Talebi, K.; Pourbabaei, A. and Ahmadzadeh, M., 2017.** Diazinon dissipation in pesticide-contaminated paddy soil: kinetic modeling and isolation of a degrading mixed bacterial culture. Environ Sci Pollut Res Int. Vol. 24, No. 4, pp: 4117-4133.

۲۰. **Trailovic, S.M.; Marjanovic, D.S.; Uzelac, T.V.; Milovanovic, M. and Trailovic, J.N., 2017.** Two opposite dose-dependent effects of diazinon on the motor activity of the rat ileum. Res Vet Sci. Vol. 112, pp: 18-25.

۲۱. **Velki, M.; Di Paolo, C.; Nelles, J.; Seiler, T.B. and Hollert, H., 2017.** Diuron and diazinon alter the behavior of zebrafish embryos and larvae in the absence of acute toxicity. Chemosphere. Vol. 180, pp: 65-76.

www.SID.ir