مقاله پژوهشی

بررسی اثر سم دیازینون بر سطح سرمی هورمون‌های جنسی و فولیکول‌های تخمدانی در موش‌های صحرایی ماده

اسماعیل فتاحی*

گروه زیست‌شناسی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۰۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۱/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: دیازینون به‌عنوان یک آلاینده محیطی بر سیستم تولیدمثل اثرات مخرب دارد. این مطالعه به‌منظور بررسی اثر دیازینون بر سطح سرمی هورمون‌های جنسی و تغییرات بافت تخمدان موش صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۴۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار به‌طور تصادفی به چهار گروه شامل گروه آزمایشی ۱ و ۲ که سم دیازینون را به ترتیب با دوز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۴ هفته به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. گروه شم روغن‌زیتون دریافت کردند و گروه کنترل تزریقی صورت نگرفت. موش‌ها در مرحله پرواستروس بی‌هوش شده و خون از قلب جمع‌آوری‌شده و هورمون‌های جنسی سرم خون به روش رادیوایمنواسی اندازه‌گیری گردید. علاوه بر آن تخمدان خارج شد و برش‌های بافتی تهیه گردید. داده‌ها با آنالیز واریانس و آزمون دانکن تجزیه‌وتحلیل شدند.

نتایج: یافته‌ها نشان داد سطح هورمون‌های استروژن و پروژسترون، تعداد جسم زرد، تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، در حال رشد، فولیکول گراآف و قطر اووسیت و جسم زرد، ضخامت گرانولوزا و تکا در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل کاهش چشمگیری یافته است ($p<۰/۰۰۱$). همچنین تعداد فولیکول‌های آترتیک نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که دیازینون باعث تغییرات بافت تخمدان و کاهش هورمون‌های استروژن و پروژسترون می‌شود و می‌تواند بر اووژنز اثر نامطلوب داشته باشد.

کلمات کلیدی: دیازینون، تخمدان، اووسیت، فولیکول گراآف، موش صحرایی ماده

مقدمه

ارگانوفسفره‌ها گروهی مهم از حشره‌کش‌ها هستند که در کشورهای درحال‌توسعه برای مبارزه با آفات مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ترکیبات می‌توانند سمیت بالایی برای جانوران و انسان ایجاد کنند (۱ و ۲). یکی از سموم ارگانوفسفره که در مناطق شمالی کشور به‌طور گسترده استفاده می‌شود دیازینون است. دیازینون بانام شیمیایی (O،O-دی اتیل O-۲-ایزوپروپیل-۶- متیل پیرمیدینیل-۴-g-۱-فسفوروتیوات)، معمولاً با امولسیون ۰/۱ تا ۰/۲ درصد در کشاورزی برای کنترل و از بین بردن آفات و کرم ساقه خوار مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳). این‌گونه سموم ماندگاری بالایی در محیط داشته و بعد از تماس باپوست به‌آسانی جذب بدن شده و در کبد به متابولیت‌های فعال تبدیل می‌شود. بخش اعظم این متابولیت‌ها توسط کلیه از بدن دفع می‌شود ولی باقیمانده آن‌ها می‌توانند اندام‌های مختلف ازجمله کبد، سیستم تولیدمثل، ایمنی، دستگاه عصبی و کلیه را تحت تأثیر قرار داده و موجب تغییرات بافتی و بیوشیمیایی گردند (۴ و ۵). باید در نظر داشت عوارض مربوط به این ترکیبات به نوع سم، دوز، مدت تماس و نوع بافت بستگی دارد. مکانیسم اصلی ارگانوفسفره‌ها به‌ویژه دیازینون مهار آنزیم استیل کولین استراز است (۶). ارگانوفسفره‌ها عوامل آلکیله کننده هستند که با ماکرومولکول‌های سلول مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها واکنش داده و باعث تغییر عملکرد آن‌ها می‌شوند (۷). برخی از محققین بر این باورند که دیازینون با ایجاد رادیکال‌های آزاد و اکسیژن‌های واکنش‌پذیر، استرس اکسیداتیو را القا کرده و با افزایش

*نویسنده مسئول: **اسماعیل فتاحی**، گروه زیست‌شناسی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
Email: esmail_fattahy@yahoo.com

پراکسیداسیون لیپیدها موجب القای مرگ سلولی در موجودات می‌شود (۸). گسترش استفاده از ارگانوفسفره‌ها به‌ویژه دیازینون و گزارش‌های متعددی که در سال‌های اخیر در مورد اثرات ناهنجاری زایی این سموم بر فرایندهای مختلف رشدونمو وجود دارد باعث بروز نگرانی‌های بسیاری در ارتباط با اثرات زیان‌بار این‌گونه سموم بر سلامت انسان شده است. به نظر می‌رسد ارگانوفسفره‌ها باعث تغییر در عملکرد سلول‌ها، جهش در ژن‌ها، توقف تقسیم میتوز، ناهنجاری در جنین، توقف سنتز DNA و القای مرگ می‌گردند. لذا با توجه به اثرات گزارش‌شده ازاین‌گونه سموم، آن‌ها را در گروه سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک طبقه‌بندی می‌کنند (۱۱-۹). یکی از اندام‌هایی که می‌تواند تحت تأثیر سموم ارگانوفسفره قرار گیرد تخمدان است. تخمدان با سنتز هورمون‌ها و تولید اووسیت نقش مهمی در عملکرد تولیدمثلی انسان و جانوران را بر عهده دارد. گزارشات ضدونقیضی از اثرات این‌گونه سموم بر بافت تخمدان مطرح شده است. برخی از محققان معتقدند که دیازینون تعداد فولیکول گراآف را در تخمدان تغییر نداده (۱۲) و برخی دیگر بر این باورند که دیازینون موجب افزایش تعداد فولیکول‌های گراآف می‌شود (۱۳). البته این‌گونه عوارض به جنس ماده اختصاص ندارد، بلکه در جنس نر قطر بیضه، لوله‌های اسپرم‌ساز، تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک، لیدیگ و سرتولی را کاهش داده و با کاهش در میزان هورمون تستوسترون و افزایش در هورمون‌های گنادوتروپین LH و FSH باعث اختلال در سیستم تولیدمثلی موش نر می‌گردد (۱۴). با توجه به اعلام سازمان بهداشت جهانی (WHO) مبنی برافزایش میزان ناباروری و به دلیل ساختار حساس بافت‌های زاینده ازجمله تخمدان به عوامل خارجی از قبیل سموم کشاورزی به‌ویژه دیازینون و مصرف گسترده و پایداری بالای این سم در خاک و آب و از سوئی مطالعه اندک در این خصوص در ایران، هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات دیازینون بر ساختار بافت تخمدان و هورمون‌های گنادوتروپین و استروژن و پروژسترون در موش صحرایی ماده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با میانگین سنی ۱۴-۱۲ هفته و وزن تقریبی ۱۵ ± ۲۵۰ از دانشگاه مازندران تهیه گردید. این حیوانات جهت سازگاری با محیط یک هفته قبل از آزمایش در اتاق حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بابل نگهداری گردیدند. جهت تغذیه حیوانات از غذای فشرده‌شده که از شرکت خوراک دام پارس تهیه شده استفاده گردید. حیوانات در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و در شرایط دمایی ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵-۵۰ درصد و دوره نوری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) قرار گرفتند. در راستای این تحقیق کلیه نکات مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

طراحی مطالعه

در این مطالعه سم دیازینون از شرکت غزال شیمی بابل تهیه گردید. سپس محلول دیازینون با غلظت‌های موردنظر در روغن‌زیتون آماده و روزانه در یک ساعت معین به حیوانات تزریق گردید. حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه مساوی (n=۱۰) کنترل، شم و گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ تقسیم شدند. به موش‌ها در گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ به ترتیب دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۱۵) وزن بدن سم دیازینون به مدت چهار هفته (پنج روز در هفته و دو روز استراحت) و به‌صورت درون صفاقی تزریق گردید. گروه شم روغن‌زیتون (حلال) را به میزان ۱ میلی‌لیتر و به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند. حیوانات گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکردند. پس از گذشت دوره‌ی تزریق موش‌ها در سیکل پرواستروس با اتر بی‌هوش شده و از قلب آن‌ها عمل خون‌گیری صورت گرفت و سپس تخمدان برای مطالعات بافتی از بدن خارج گردید. نمونه‌های خون جمع‌آوری‌شده با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و سرم آن‌ها جدا گردید. سپس با استفاده از روش رادیوایمنواسی (RIA) میزان هورمون‌های استروژن، پروژسترون، LH و FSH مورد سنجش قرار گرفت.

مطالعه بافتی

پس از خون‌گیری، موش‌ها تشریح و تخمدان‌ها از بدن موش خارج شده و پس از شستشو و خشک‌کردن و توزین در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند. برای همسانی در مطالعه از تخمدان‌های راست آنان استفاده گردید. سپس مراحل روتین تهیه بافت شامل مراحل آب‌گیری، الکل زدایی، نفوذ دادن پارافین و قالب‌گیری انجام گرفت و از بلوک‌های پارافینی، برش‌های بافتی به ضخامت ۵ میکرون و به‌صورت سریالی تهیه و با هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی گردید.

انتخاب برش‌ها به شکلی طراحی شد تا از تمامی قسمت‌های بافت تخمدان حدود ۸۰ برش برای هر گروه مورد ارزیابی قرار گیرد. قطر جسم زرد، اندازه قطر اووسیت، ضخامت لایه‌های گرانولوزا و تکا در فولیکول گراآف توسط گراتیکول مدرج و شمارش تعداد سلول‌های جسم زرد با استفاده از گراتیکول مشبک صورت گرفت. تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، در حال رشد، گراآف و آترتیک با استفاده از عدسی چشمی با درشت‌نمایی ×۴۰ صورت گرفت (۱۳).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

داده‌ها به‌صورت Mean±SE گزارش شدند و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) و آزمون تکمیلی دانکن مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. اختلافات در سطح ($p<0/05$) معنی‌دار شناخته شدند.

نتایج

بررسی‌ها نشان داد که وزن تخمدان (جدول ۱)، میزان LH و FSH (جدول۲) در گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشته است ($P>0/05$). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که میزان هورمون‌های استروژن و پروژسترون (جدول۲)، تعداد جسم زرد، تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، در حال رشد، فولیکول گراآف (جدول ۱) و قطر اووسیت و جسم زرد (جدول ۳ و شکل۱) در گروه‌های آزمایشی

جدول ۱- میانگین وزن تخمدان و تعداد فولیکول‌های مختلف در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل

پارامتر / گروه	کنترل	شاهد	آزمایشی ۱ (۵mg/kg)	آزمایشی ۲ (۱۰mg/kg)
وزن تخمدان (گرم)	۰/۰۲۸۷ ±۰/۰۰۳۹^{a}	۰/۰۲۸ ±۰/۰۰۴^{a}	۰/۰۲۸ ±۰/۰۰۳۵^{a}	۰/۰۲۷۸ ±۰/۰۰۴۱^{a}
تعداد فولیکول بدوی	۱۶/۶۵ ±۱/۵۶^{a}	۱۵/۸ ±۱/۷۴^{a}	۱۰/۶۳ ±۱/۳۹^{b}	۷/۳۲ ±۱/۸۳^{c}
تعداد فولیکول اولیه	۷/۵۸ ±۰/۹۵^{a}	۷/۳۲ ±۱/۰۵^{a}	۶/۳۳ ±۰/۷۸^{b}	۵/۶۲ ±۰/۹۱^{b}
تعداد فولیکول در حال رشد	۶/۲۳ ±۰/۷۵^{a}	۶/۱۲ ±۰/۶۳^{a}	۴/۲۸ ±۰/۶۸^{b}	۴/۲۷ ±۰/۷۴^{b}
تعداد فولیکول گراآف	۲/۳۹ ±۰/۳۴^{a}	۲/۲۵ ±۰/۲۹^{a}	۱/۶۵ ±۰/۴۲^{b}	۰/۷۹ ±۰/۲۱^{c}
تعداد فولیکول آترتیک	۰/۸۴ ±۰/۱^{c}	۰/۸۹ ±۰/۱۵^{c}	۱/۵۴ ±۰/۱۲^{b}	۲/۲۳ ±۰/۱۵^{a}
تعداد جسم زرد	۴/۲۴ ±۰/۵۱^{a}	۴/۱۳ ±۰/۴۸^{a}	۲/۱۶ ±۰/۳۳^{b}	۱/۶۱ ±۰/۳۷^{b}

حروف مشابه در هر ردیف بیانگر عدم معنی‌داری بین گروه‌ها و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها در سطح ($p<0/05$) است.

جدول ۲- میانگین هورمون‌های جنسی در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل

پارامتر / گروه	کنترل	شم	آزمایشی ۱ (۵mg/kg)	آزمایشی ۲ (۱۰mg/kg)
استروژن (IU/L)	۴۵/۱۲ ۰±/۹۲^{a}	۴۳/۳۷۵ ۰±/۸۷^{a}	۳۴/۳ ۰±/۹^{b}	۳۲/۴۳ ۰±/۹۲^{b}
پروژسترون (IU/L)	۲۸/۴۷ ۰±/۹^{a}	۲۷/۷۶ ۰±/۸۳^{a}	۱۶/۲ ۰±/۸۵^{b}	۱۲/۶۵ ۰±/۹^{c}
LH(pg/ml)	۰/۳۳ ۰±/۰۲^{a}	۰/۳۱ ۰±/۰۲۲^{a}	۰/۲۹ ۰±/۰۲^{a}	۰/۲۷ ۰±/۰۲۱^{a}
FSH(pg/ml)	۰/۲۸ ۰±/۰۰۸^{a}	۰/۲۷۵ ۰±/۰۰۶^{a}	۰/۲۶۹ ۰±/۰۰۸^{a}	۰/۲۷ ۰±/۰۰۷^{a}

حروف مشابه در هر ردیف بیانگر عدم معنی‌داری بین گروه‌ها و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها در سطح ($p<0/05$) است.

جدول ۳- میانگین قطر اووسیت و جسم زرد و ضخامت گرانولوزا و تکا در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل

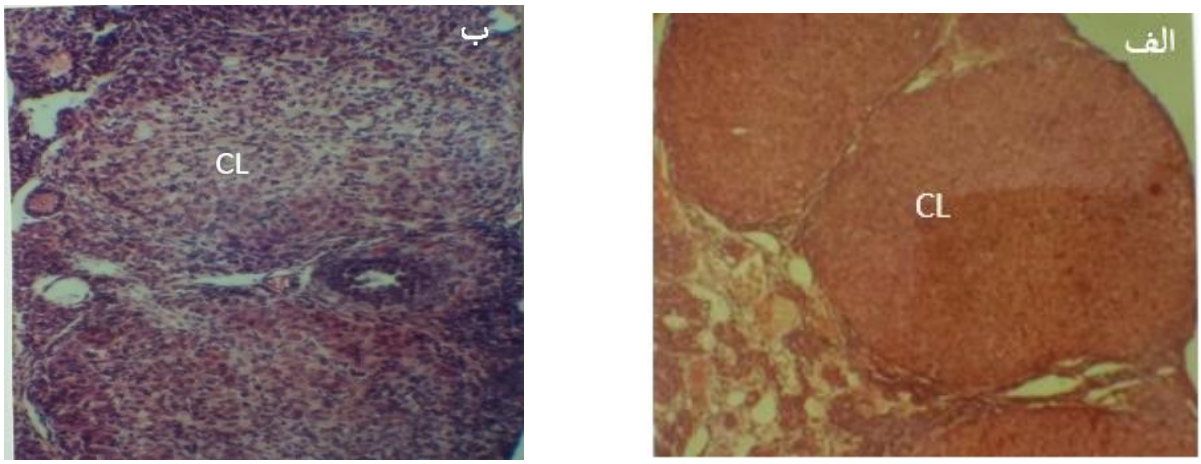
پارامتر / گروه	کنترل	شم	آزمایشی ۱ (۵mg/kg)	آزمایشی ۲ (۱۰mg/kg)
قطر اووسیت (میکرون)	۶۵/۲ ±۲/۳۶^{a}	۶۳/۸۵ ±۲/۸۵^{a}	۵۱/۳۶ ±۲/۳۲^{b}	۴۶/۱۵ ±۳/۱۶^{c}
قطر جسم زرد (میکرون)	۴۸۳/۶۴ ±۸/۳۵^{a}	۴۷۸/۳۲ ±۱۰/۴۳^{a}	۴۴۸/۲۵ ±۸/۶۳^{b}	۴۳۲/۱۷ ±۸/۷۸^{c}
ضخامت گرانولوزا (میکرون)	۴۸/۷۵ ±۱/۳۲^{a}	۴۶/۵۸ ±۱/۲۵^{a}	۳۱/۴۳ ±۱/۲۸^{b}	۲۵/۳۵ ±۰/۹۵^{c}
ضخامت تکا (میکرون)	۲۱/۳۴ ±۰/۸۵^{a}	۲۰/۸۷ ±۰/۹۳^{a}	۱۷/۳۵ ±۰/۷۵^{b}	۱۵/۶۹ ±۰/۷۹^{b}

حروف مشابه در هر ردیف بیانگر عدم معنی‌داری بین گروه‌ها و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها در سطح ($p<0/05$) است.

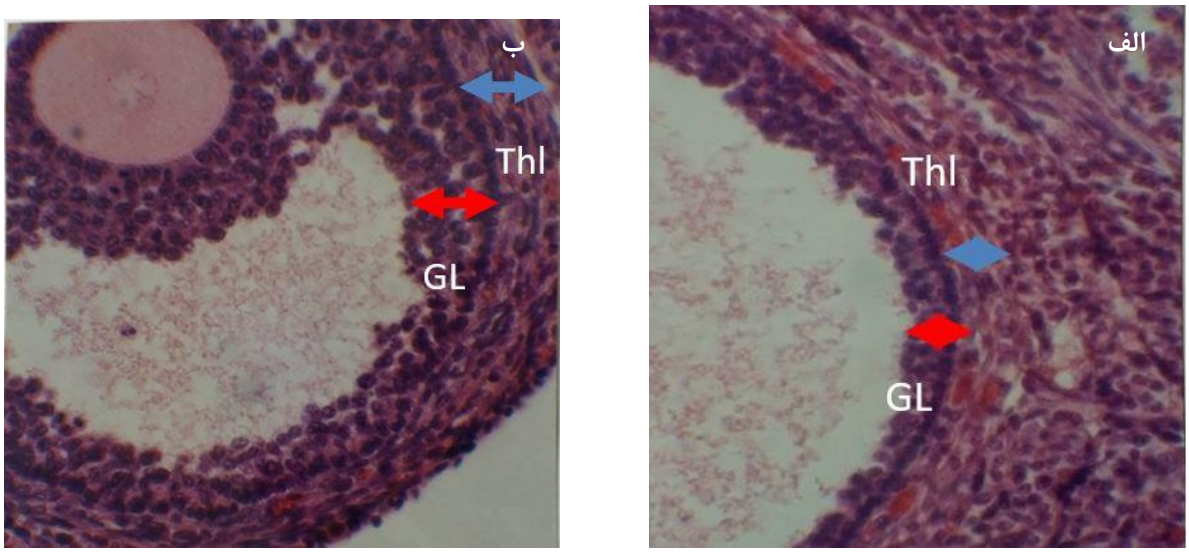
۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل کاهش چشمگیری را نشان داده است (P= ۰/۰۰۱)؛ اما تعداد فولیکول‌های آترتیک نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است (p= ۰/۰۰۱ ، جدول ۱). ضخامت گرانولوزا و تکا در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داده است (P= ۰/۰۰۱؛ جدول ۲ و شکل ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه نشان می‌دهد که تزریق داخل صفاقی دیازینون، تعداد و قطر جسم زرد، ضخامت گرانوزا، تکا، تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، در حال رشد و گراآف و قطر اووسیت را در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل کاهش داده است. همچنین میزان هورمون‌های استروژن و پروژسترون سرم



شکل ۱- تصویر از جسم زرد گروه کنترل (الف)، تصویر از جسم زرد گروه آزمایشی (دریافت‌کننده دیازینون)، رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین- ائوزین (×۴۰۰).



شکل ۲- تصویر از فولیکول گراآف گروه کنترل (الف)، تصویر از فولیکول گراآف گروه آزمایشی (دریافت‌کننده دیازینون) (ب)، رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین- ائوزین (×۴۰۰). ضخامت لایه گرانولوزا (GL، فلش قرمز) و ضخامت تکا (Thl، فلش آبی) در گروه آزمایشی نسبت گروه کنترل کاهش نشان داده است.

خون کاهش معنی‌داری داشته ولی مقدار هورمون‌های LH و FSH تغییر معنی‌داری نیافت. علاوه بر آن تعداد فولیکول‌های آترتیک در گروه‌های آزمایشی افزایش یافته است. کاهش این پارامترها در گروه آزمایشی نسبت به گروه کنترل می‌تواند به نقش دیازینون در واکنش با ماکرومولکول‌های سلول همانند اسیدهای نوکلئیک و مهار همانندسازی DNA توسط آن تلقی گردد. لذا با فرض بر دستیابی به این نتیجه، تقسیم میتوز مهار شده و روند طبیعی جایگزینی سلول‌های زاینده، صورت نگرفته و یا اینکه به تأخیر می‌افتد (۸ و ۱۴). بعضی از مطالعات نشان می‌دهند که ارگانوفسفره‌ها دارای خاصیت آلکیله کنندگی و الکتروفیلی هستند که می‌توانند بر اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌های سلول اثر گذاشته و از این طریق باعث تغییر در عملکرد سلول‌ها و القای مرگ سلولی شوند (۱۶ و ۱۷). از نتایج این مطالعه کاهش در تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، در حال رشد و گراآف است. تحقیقات نشان می‌دهد سموم ارگانوفسفره با تولید رادیکال‌های آزاد و انواع اکسیژن‌های واکنش‌پذیر و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها باعث از بین رفتن غشای سلول و القای مرگ سلولی می‌شوند (۱۸). به نظر می‌رسد کاهش در تعداد فولیکول‌های تخمدان به دو دلیل رخ داده باشد: یا به دلیل اثر مستقیم دیازینون و متابولیت‌های حاصل از این سم بر رشد و نمو این فولیکول‌ها یا با اثر بر هورمون‌ها و اختلال در تولید آنان سبب کاهش تعداد فولیکول‌ها (به‌جز فولیکول آترتیک) گردیدند. باید در نظر داشت که ورود دیازینون به بافت‌های بدن می‌تواند باعث تولید اکسیژن واکنش‌پذیر و اکسیده شدن لیپیدها و تخریب غشاء سلول گردد. این عوامل درمجموع می‌توانند سبب کاهش در تعداد و قطر جسم زرد شوند (۱۸ و ۱۹). جوهری و همکاران گزارش دادند (۱۲) که دیازینون با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز به‌صورت گاواژ بر تعداد فولیکول‌های اولیه، ثانویه و گراآف تغییر معناداری ایجاد نکرده که با نتایج این مطالعه متفاوت است و علت آن ممکن است به روش تزریق این سم مربوط باشد که در این مطالعه به‌صورت داخل صفاقی بوده و همچنین ممکن است مدت‌زمان تزریق نیز مؤثر باشد که در این مطالعه چهار هفته است. باید در نظر داشت که عوارض ایجادشده از طریق سموم به دوز، مدت‌زمان و نحوه تزریق بستگی دارد (۶). مطالعه Dutta و Maxwell نشان می‌دهد که دیازینون موجب افزایش تعداد فولیکول آترتیک، فضای بین فولیکولی، نکروز و واکوئله شده سیتوپلاسم و تغییرات ساختاری و بافتی در تخمدان خواهد گردید (۱۶). محسنی کوچصفهانی و همکاران گزارش دادند که سم دیازینون با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت تزریق داخل صفاقی باعث کاهش در فولیکول‌های بدوی، اولیه و درحال رشد گردیده و تعداد فولیکول‌های گراآف را افزایش می‌دهد (۱۳)؛ که با نتایج مطالعه ما در مورد تعداد فولیکول‌ها مختلف تخمدانی (به‌جز فولیکول گراآف)، تعداد و قطر جسم زرد، تعداد آترتیک و قطر اووسیت مطابقت دارد. چنانکه در این مطالعه نیز به آن دست یافتیم، علاوه بر اینکه قطر جسم زرد کاهش پیدا کرده بود، تعداد آن نیز کاهش یافته است که می‌تواند دال بر دژنره شدن آن‌ها باشد. ازآنجایی‌که تعداد جسم زرد رابطه مستقیمی با تعداد اووسیت آزاد شده دارد لذا، کاهش تعداد آن، باعث کاهش در تخمک‌های به‌دست‌آمده خواهد داشت. همچنین در این مطالعه مشخص گردید تعداد سلول‌های گرانولوزا و تکا در گروه آزمایشی که دیازینون دریافت کرده بودند، کاهش معنی‌داری یافته است. کاهش در تعداد این سلول‌ها ممکن است به تولید رادیکال‌های آزاد و انواع اکسیژن‌های واکنش‌پذیر، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و نهایتاً القای مرگ سلولی ناشی از دیازینون ارتباط داشته باشد. همچنین مطالعات نشان می‌دهند دیازینون می‌تواند با ماکرومولکول‌های سلول همانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش داده و باعث مهار همانندسازی DNA و توقف تقسیم میتوز گردند که این عوامل احتمالاً سبب کاهش در سلول‌های گرانولوزا و تکا گردیده‌اند. از نتایج دیگر این مطالعه کاهش میزان استروژن سرم خون است. Maxwell و Dutta گزارش دادند، دیازینون با دوز ۶۰ میکروگرم/ لیتر تا ۱ هفته باعث کاهش استروژن خواهد شد (۲۰) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. سلول‌های گرانولوزا و تکا با کمک یکدیگر استروژن تولید می‌کنند. لذا باید بعد از کاهش سلول‌های گرانولوزا و تکا که مسئول ترشح هورمون استروژن در جنس ماده هستند، این انتظار را داشت که متعاقب آن میزان این هورمون نیز در سرم خون کاهش یابد. درواقع با کاهش یافتن سطح استروژن، اولین موضوعی که مطرح می‌شود تغییراتی است که باید در سلول‌های گرانولوزا اتفاق افتاده باشد. به نظر می‌رسد که این سلول‌ها یا باید دژنره شده باشند یا اینکه در اثر آتروفی، قابلیت ترشح هورمون استروژن را از دست داده باشند. گرچه در مطالعه ما به هر یک از این دو حالت

می‌توان استناد نمود ولی به نظر می‌رسد که کاهش تعداد سلول‌ها، بیشتر مؤید این باشدکه سلول‌های گرانولوزا ناشی از تزریق طولانی‌مدت دیازینون، دژنره شده و از محیط حذف گردیده‌اند. ترکیبات شیمیایی موجود در محیط، سبب تخریب سیستم آندوکرینی شده و ممکن است فعالیت آن‌ها را مهار کنند (۲۱). با توجه به نقش استروژن در رشد و نمو فولیکول‌ها (۲۲)، کاهش میزان این هورمون در گروه آزمایشی دریافت کننده دیازینون، باعث کاهش رشد و نمو یا عمل فولیکول‌ها می‌شود و احتمال می‌رود بر میزان تخمک‌گذاری نیز اثر منفی بگذارد. بعد از تخمک‌گذاری، سلول‌های گرانولوزای باقیمانده در جدار فولیکول پاره شده و سلول‌های تک داخلی به سلول‌های لوتئال تبدیل می‌شوند و این سلول‌ها جسم زرد را می‌سازند و پروژسترون ترشح می‌کنند. کاهش تعداد جسم زرد و قطر آنان در این مطالعه می‌تواند در اثر کاهش سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌ها باشد. با توجه به کاهش تعداد جسم زرد انتظار می‌رود که ترشح پروژسترون نیز کاهش پیدا کند که در این مطالعه نیز نتایج بیانگر همین امر است. همچنین در این مطالعه تغییر معنی‌دار میزان هورمون‌های LH و FSH خون مشاهده نگردید. گنادوتروپین‌ها از هیپوفیز ترشح می‌شوند و هورمون‌های استروژن و پروژسترون که از تخمدان تولید می‌شوند با بازخوردهای مثبت و منفی می‌توانند بر میزان ترشح گنادوتروپین‌ها در سیکل استروس اثر داشته باشند. مطالعات نشان می‌دهد که دیازینون بر میزان گنادوتروپین اثر چشمگیری ندارد (۱۲ و ۱۳) که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. با توجه به اینکه در این مطالعه میزان گنادوتروپین‌ها کاهش یافته ولی ازنظر آماری معنی‌دار نبوده است ممکن است با افزایش دوز و مدت‌زمان تماس با سم میزان این هورمون‌ها تغییرات معنی‌داری را نشان دهد که این امر نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که دیازینون با تغییرات هیستولوژیکی سبب کاهش تعداد سلول‌ها می‌شود به نظر می‌رسد دیازینون از دو مسیر بر روی تخمدان و عملکرد آن تأثیر داشته باشد یک مسیر با اثر مستقیم بر بافت تخمدان و القای استرس اکسیداتیو و کاهش سلول‌ها و فولیکول‌های تخمدانی و نهایتاً باعث کاهش در تخمک‌گذاری می‌شود و در مسیر دیگر با تأثیر بر سیستم آندوکرین و عدم تعادل در ترشح هورمون‌های جنسی موجب اختلال در سیستم تولیدمثلی می‌شود. اثرات مخرب دیازینون در این مطالعه به دوز وابسته است. با توجه به نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌گردد تا در مصرف این سم نظارت و مدیریت صحیحی از سوی سازمان حفظ نباتات و وزارت بهداشت صورت پذیرد تا از اثرات نامطلوب آن بر بافت‌های مختلف کاسته شود.

تشکر و قدرانی

بدین‌وسیله از همکاری آقایان دکتر سید غلامعلی جورسرایی، دکتر علی اصغر بیکی و دکتر اکبر حاجی زاده تشکر و قدرانی می‌گردد. کد طرح این مقاله۵۲۳۹۱۸۵۰۸۲۵۰۰۱ می باشد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

References

1- Shah MD, Iqbal M. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. Food Chem Toxicol. 2010;48(12):3345-53.

2- Anbarkeh FR, Nikravesh MR, Jalali M, Sadeghnia HR, Sargazi Z, Mohammdzadeh L. Single dose effect of diazinon on biochemical parameters in testis tissue of adult rats and the protective effectof vitE. IJRM. 2014;12(11):731-6.

3- Fattahi E, Parivar K, Jorsaraei SGA, Moghadamnia AA. The effect of diazinon in leydig cells and sexual hormones in mice. Babol Uni Med Sci J. 2007;9 (4): 15-22. [In Persian]

4- Fattahi E, Jorsaraei SGA, 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 Med J. 2010; 12(3): 405-410. [In Persian]

5-Yilmaz N, Yilmaz M, Altuntas I. Diazinon induced brain toxicity and protection by vitamins E plus C. Toxicol Ind Health. 2011;28(1):51-7.

6- Maliji Gh, Jorsaraei SGh, Zabihi E, Fattahi E, Rezaie E, Sohan Faraji A. Diazinon alters sex hormones, Interferon-gamma, Interleukin-4 and 10 in male Wistar rats. Gorgan Uni Med Sci J. 2014;16:22-28[In Persian].
7- Fattahi E, Jorsaraei SGA, Parivar K, Moghadamnia AA. Influence of diazinon on spermatogenesis in mice. Semnan Uni Med Sci J. 2007; 9(1): 75-82. [In Persian]
8- Sargazi Z, Nikravesh MR, Jalali M, Sadeghnia HR, Rahimi Anbarkeh F. Apoptotic Effect of Organophosphorus Insecticide Diazinon on Rat Ovary and Protective Effect of Vitamin E. IJT. 2016;10(2): 37-44.
9- Slotkin TA, Tate CA, Ryde IT, Levin ED, Seidler FJ. Organophosphate insecticides target the serotonergic system in developing rat brain regions: disparate effects of diazinon and parathion at doses spanning the threshold for cholinesterase inhibition. Environ Health Perspect. 2006; 114(10): 1542-6.
10- Pesando D, Huitorel P, Dolcini V, Angelini C, Guidetti P, Falugi C. Biological targets of neurotoxic pesticides analysed by alteration of developmental events in the Mediterranean sea urchin, Paracentrotus lividus. Mar Environ Res. 2003; 55(1): 39-57.
11- Newcomb RD, Gleeson DM, Yong CG, Russell RJ, Oakeshott JG. Multiple mutations and gene duplications conferring organophosphorus insecticide resistance have been selected at the Rop-1 locus of the sheep blowfly, Lucilia cuprina. J Mol Evol. 2005;60(2):207-20.
12- Johari H, Shariati M, Abbasi S, Sharifi E, Askari HM.The effects of diazinon on pituitary–gonad axis and ovarian histological changes in rats. IJRM. 2010;8(3): 125-30.
13- Mohsenikouchesfahani H, Parivar K, Tahamtani Y. Effect of diazinon as a pesticide on oogenesis and ovary structure of Balb/C mice strain. J Sci(Khu Uni). 2008; 8(2):143 - 52. [In Persian]
14- Fattahi E, Parivar K, Jorsaraei SGA, Moghadamnia AA. The effects of diazinon on testosterone, FSH and LH levels and testicular tissue in mice. IJRM. 2009; 7(2): 59-64.
15- Al-Zubaidy MHI, Mohammad FK. Metoclopramide protection of diazinon-induced toxicosis in chickens.J Vet Sci. 2007; 8(3): 249–54.
16- Maxwell LB, Dutta HM. Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, Lepomis macrochirus. Ecotoxicology and environmental safety. 2003; 60(1):21-7.
17- Sokkar SM, Mohammed MA, Soliman FA.Toxic effects of diazinon on the gonads of fowls. Zentralbl Veterinarmed A. 1975;22(7):557-63.
18- Shah MD, Iqbal M. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. Food Chem Toxicol. 2010;48(12):3345-53.
19- Richards Js. Hormonal control of gene expression in the ovary. Endocr Rev. 1994; 15(6):725-51.
20- Dutta HM, Maxwell LB. Histological examination of sublethal effects of diazinon on ovary of bluegill, Lepomis macrochirus. Environ Pollut. 2003;121(1):95-102.
21- Kelce WR, Gray LE, Wilson EM. Antiandrogens as environmental endocrine disruptors. Reprod Fertil. 1998; 10(1):105-11.
22- Fattahi E, Jorsaraei SGA, Gardaneh M, Tahmasbpour Marzony E. The Effect of 8-Methoxypsoralen on Pituitary-Gonad Axis and Ovarian Function in Mice. Cell J. 2013;15(3): 206-11.

Original Article

Investigating the Effect of Diazinon Poison on Sex Hormone Serum Levels and Ovarian Follicle in Female Rats

Fattahi E*

Department of Biology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

Received: 29 Nov 2016 Accepted: 15 Apr 2017

Abstract

Background & Objective: Diazinon (DZN) as an environmental pollutant adversely effects reproductive system. This study was done to investigate the effect of DZN on sex hormone serum levels and ovarian histological changes in rats.

Material & Methods: In this study, 40 female Wistar rats were randomly divided into four groups including experimental groups 1 and 2 that received 5 and 10 mg/kg diazinon intraperitoneally for 4 weeks respectively. The sham group received olive oil, and the control group received no injection. The animals were anesthetized while proestrus phase and blood samples were collected from the heart and the blood serum sex hormones were measured. by Radioimmunoassay (RIA) method. In addition, ovaries were removed and sections were prepared for histological studies. Data were analyzed using one-way ANOVA and Duncan test.

Results: The results showed that the levels of estrogen and progesterone, number of corpus luteum, primordial, primary, growing, Graafian follicles and diameter of oocyte, corpus luteum, theca and granulosa thickness significantly decreased in the experimental groups compared to control group ($p<0.001$). Also, the number of atretic follicles in the experimental groups significantly increased compared to that of the control ($p<0.001$).

Conclusion: The results indicated that diazinon causes changes in ovarian tissue and reduces the estrogen and progesterone hormones and can have adverse effects on oogenesis.

Keywords: Diazinon, Ovary, Oocyte, Graafian follicle, Female Rat

Corresponding Author: Esmail Fattahi, Department of Biology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
Email: esmail_fattahy@yahoo.com

Journal of Fasa University of Medical Sciences 7 (2017): 233-240