

تأثیر دیازینون بر روی سلول های لایدیگ و سطح هورمون های جنسی در موش سفید کوچک

اسماعیل فتاحی^{۱*}، کاظم پریور^۲، سید غلامعلی جورسرای^۳، علی اکبر مقدم نیا^۴

۱- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد آیت اله آملی و دانشجوی دکترای زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات ۲- استاد گروه زیست شناسی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات ۳- استادیار گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی بابل ۴- استاد گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی بابل

سابقه و هدف: دیازینون از سموم ارگانوفسفره است که در اثر تماس، باعث تخریب بافت های بدن می شود. با توجه به مصرف فراوان این سم در مزارع برنج و باغ مرکبات و ضرر احتمالی آنها، تأثیر دیازینون بر روی سلول های لایدیگ بیضه و سطح هورمونی در موش سفید کوچک مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها: این مطالعه به روش آزمایشگاهی، بر روی ۳۵ سر موش از نژاد NMRI در سه گروه آزمایشی، کنترل و شم، انجام پذیرفت. گروه آزمایشی به مدت یک ماه (پنج روز متوالی و دو روز استراحت) به میزان ۳۰ mg/kg دیازینون بصورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه شم تنها آب مقطر دریافت کرده و گروه شاهد تزریقی نداشتند. هورمونهای FSH.LH و تستوسترون، با روش Radioimmunoassay اندازه گیری شد. با تهیه برش های بافتی، سلول های لایدیگ در واحد سطح با استفاده از eye piece شمارش شدند.

یافته ها: تعداد سلول های لایدیگ در گروه آزمایشی (۶/۲۹۵±۰/۳۶۱) نسبت به گروه کنترل (۱۱/۳۷±۰/۷۶۹) و شم (۱۱/۲۶±۰/۳۴۷) پایین تر بود (p=۰/۰۰۱). میزان هورمون تستوسترون نیز در گروه آزمایشی (۳/۶۸±۰/۹۱) نسبت به گروه کنترل (۱۵/۲±۱/۲۱) و شم (۱۵/۱۲±۰/۸۴) کمتر بوده است (p=۰/۰۰۱). هورمونهای FSH و LH در گروه آزمایشی نسبت به گروه های دیگر افزایش نشان داد.

بحث و نتیجه گیری: در این بررسی، تأثیر منفی دیازینون بر روی بافت بیضه موش به خصوص کاهش تعداد سلول های لایدیگ و هورمون تستوسترون و افزایش در هورمونهای FSH و LH مشخص گردید، که می تواند احتمال ناباروری را افزایش دهد. بنابراین مدیریت صحیح استفاده از این گونه سموم پیشنهاد می شود.

واژه های کلیدی: دیازینون، سلول های لایدیگ، تستوسترون، FSH، LH

مقدمه

عصبی، عوارض پوستی، مشکلات کبدی و کلیوی و حتی تشنج و مرگ، از جمله موارد گزارش شده است (۷). همچنین بر روی اعصاب مرکزی اثر مخرب بر جای گذاشته و می تواند باعث مرگ جنین، در مراحل اولیه بارداری شود (۸-۱۰). این گونه سموم پس از استفاده معمولاً به مدت ۱۴-۱۲ هفته در خاک، بصورت فعال باقی می ماند و در برخورد با پوست و مخاط، به آسانی جذب شده و علاوه بر ایجاد عوارض مختلف عصبی و هورمونی در کبد هم به متابولیت های فعال تبدیل می شوند (۱۱ و ۱۲). گرچه مقدار زیادی از

دیازینون از سموم ارگانوفسفره است که معمولاً به صورت امولسیون ۰/۱ تا ۰/۲ درصد در مزارع کشاورزی و باغ مرکبات، برای از بین بردن آفات و کرم ساقه خوار، مورد استفاده قرار می گیرد (۳ و ۵). مکانیسم اثر آن، بیشتر مهار آنزیم کولین استراز است (۳-۵). در الکل واستون حل شده و در آب، امولسیون تشکیل می دهد (۶). عوارض گوناگونی از این گونه سموم، در مطالعات مختلف گزارش شده است که عموماً کشاورزان، باغ داران و ساکنین مجاور درگیر آن می باشند. سردرد، تهوع، استفراغ، مشکلات گوارشی، تنفسی و

سیستم عصبی مرکزی و محیطی است و ممکن است استیل کولین استراز را مهار کرده و در سیتیم هورمونی بدن اختلال ایجاد کند (۲۶). بنابراین این مطالعه با هدف بررسی اثر سم دیازینون در حالت *in vivo* بر روی سلولهای لایدیگ بیضه و تغییرات هورمونی در موش سفید کوچک، انجام شد.

مواد و روشها

مطالعه به روش آزمایشگاهی بر روی ۳۵ سر موش نر بالغ با وزن متوسط ۲۵ تا ۳۰ گرم و سن متوسط ۱۰ تا ۱۲ هفته، از نژاد NMRI، که از انستیتو پاستور تهران تهیه شده بودند، انجام شد. موشها بطور تصادفی به ۳ گروه آزمایشی، کنترل و شم تقسیم گردیدند. موشها در قفس های استاندارد در شرایط ۲۵ درجه و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

با اضافه کردن ۰/۲ میلی لیتر سم دیازینون به ۱۰ میلی لیتر آب ۲۵ درجه، امولسیون آن تهیه گردید (۲۷). بعد از تعیین LD50، دوز تزریقی برابر ۳۰ mg/kg تعیین شد. گروه آزمایشی به مدت یک ماه (پنج روز متوالی در هفته و دو روز استراحت) به میزان ۳۰ mg/kg دیازینون (تهیه شده از شرکت شیمی کشاورز) بصورت داخل صفاقی دریافت کردند. به گروه کنترل تنها آب مقطر ۲۵ درجه تزریق شد و گروه شاهد نیز هیچگونه تزریقی نداشتند. بعد از گذشت یک ماه، به مدت یک هفته موشها در شرایط اپتیمم قرار گرفته، سپس نمونه برداری برای هر سه گروه انجام پذیرفت.

برای ارزیابی سلولهای لایدیگ، بیضه ها خارج شده و در داخل فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. پس از انجام مراحل تهیه بافت، برش هایی به ضخامت پنج میکرون تهیه گردید. لام های تهیه شده با همتوکسیلین و انوزین رنگ آمیزی شدند. سپس سلول های لایدیگ، با استفاده از صفحه چشمی مدرج (eye piece) که بر روی عدسی چشمی میکروسکوپ نوری سوار می گردد، در واحد سطح شمارش شدند. برای اندازه گیری هورمونهای LH، FSH و تستوسترون، تمامی خون موشها از ناحیه زیر بغل جمع آوری و با استفاده از سانتریفیوژ (دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه) سرم خون جدا شد. سپس با استفاده از روش Radioimmunoassay و کیت تهیه شده از شرکت کاوشیار ایران، هورمون ها مورد سنجش قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده ها با آزمون های Turkey's HSD One way - ANOVA انجام شد.

این متابولیت ها از بدن دفع می شوند ولی باقیمانده آن در بافت های بدن از جمله در اندام های جنسی ممکن است تاثیر منفی بر جای بگذارند، در بعضی از مطالعات از تأثیر آن بر روی سلولهای جنسی نر و افزایش ناهنجاری در ساختار اسپرم افرادی که در معرض این گونه سموم هستند گزارش شده است (۱۳). همچنین باعث آتروفی شدن سلولهای لایدیگ شده و سطح تستوسترون سرم خون را کاهش می دهد. قطر سلولهای ژرمینال را نیز کاهش داده و روند تولید اسپرم ها را به تاخیر می اندازد، گاهی اوقات نیز باعث افزایش و بعضی مواقع سبب کاهش قطر مجاری اسپرم ساز می گردد (۱۴). البته این گونه عوارض تنها به جنس نر اختصاص ندارد، بلکه در جنس ماده نیز قطر تخمدان را کاهش داده و با ایجاد بافت نکروزه در تخمدان، میزان فولیکولهای آترتیک را نیز زیاد می کند و یا اینکه با کاهش سطح استرادیول، اووسیت های بالغ را تخریب می سازد (۱۵). در بعضی مواقع تقسیم میتوزی را در مراحل اولیه تقسیم سلولی کاهش می دهد و با تخریب میکروفیلانمت ها، اسکلت سلولی را از بین برده و بر روی سنتز DNA اثر منفی می گذارد (۱۶). همچنین ممکن است باعث جهش در ژنها و القاء مرگ سلولی گردد و بر روی تمایز سلولی اثر منفی بگذارد و موجب ناهنجاری هایی در مراحل اولیه تشکیل جنین شود (۱۷ و ۱۸). گرچه مکانیسم اصلی این گونه سموم، مهار آنزیم کولین استراز است، ولی فعالیت آنزیم هایی مثل، آلکالین فسفاتاز و اسید فسفاتاز را نیز کاهش می دهد (۱۹).

دیازینون، در روند تولید بعضی از اسید آمینه ها مثل تریپتوفان و هیستیدین اختلال ایجاد کرده و گاهی اوقات باعث افزایش اسید آمینه های آزاد می گردد (۲۰ و ۲۱). همچنین با افزایش پراکسیداسیون لیپید ها و تولید رادیکالهای آزاد، سلولهای بیضه را تخریب می سازد (۲۲ و ۲۳). دوزهای غیر کشنده بعضی از ارگانوفسفره ها باعث تغییر در ساختار سیستم تولید مثل شده و با فسفریله کردن پروتئین هسته و یا کاهش ترکیبات پروتئینی RNA و DNA و یا آسیب مستقیم به DNA، سبب تغییر در ساختار کروماتین سلول ها می شوند که نهایتاً ناهنجاری در ساختار اسپرم را بدنبال خواهد داشت (۹ و ۱۰ و ۱۹ و ۲۴).

همچنین کاهش فسفولیپیدها و HDL-C و افزایش LDL-C و تری گلیسیریدها از جمله تاثیرات منفی است که در خصوص دیازینون گزارش شده است (۲۵). جایگاه اولیه عمل ارگانوفسفره ها

یافته ها

با شمارش سلولهای لایدیگ در واحد سطح، مشخص گردید که میانگین تعداد سلولهای لایدیگ در گروه آزمایشی $6/295 \pm 0/361$ ، در گروه کنترل $11/37 \pm 0/769$ و در گروه شم $11/26 \pm 0/347$ به دست آمد، که تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشت. ولی گروه آزمایشی نسبت به دو گروه شم و کنترل، به طور معنی داری پایین تر بوده است ($p=0/001$).

میانگین هورمون LH در گروه آزمایشی برابر $4 \pm 0/654$ بود. میزان این هورمون در گروه کنترل، $3 \pm 0/534$ و در گروه شم نیز $3 \pm 0/5$ بود. تفاوت معنی داری بین دو گروه اخیر مشاهده نگردید،

اما با گروه آزمایشی تفاوت معنی داری بود ($p=0/001$). میزان هورمون FSH در گروه کنترل و گروه شم به ترتیب برابر $2/5 \pm 0/537$ و $2/55 \pm 0/527$ بدست آمد ولی هیچگونه تفاوت معنی داری بین این دو گروه مشاهده نشد. همچنین میزان این هورمون در گروه آزمایشی برابر $5/4 \pm 1/05$ بود که تفاوت معنی داری با دو گروه دیگر داشت ($p=0/002$). میزان هورمون تستوسترون در گروه آزمایشی حدود چهار برابر نسبت به گروههای کنترل و شم، کمتر بوده است. میانگین هورمون تستوسترون در گروه آزمایشی برابر با $3/68 \pm 0/91$ ، در گروه کنترل $15/2 \pm 1/21$ و در گروه شم برابر $15/12 \pm 0/84$ بدست آمد ($p=0/001$) (جدول ۱).

جدول ۱. اثر تزریق داخل صفاقی دوز مکرر دیازینون بر تعداد سلول های لایدیگ و سطح هورمون های FSH, LH

و تستوسترون در موش سفید کوچک

پارامتر	تعداد سلولهای لایدیگ	LH(U/L)	FSH (IU/L)	تستوسترون (nMol/L)
گروه ها	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD
کنترل	$11/37 \pm 0/769$	$3 \pm 0/53$	$2/5 \pm 0/53$	$15/2 \pm 1/21$
شم	$11/26 \pm 0/347$	$3 \pm 0/5$	$2/55 \pm 0/527$	$15/12 \pm 0/84$
دiazinon	$6/295 \pm 0/361$	$4 \pm 0/654$	$5/4 \pm 1/05$	$3/68 \pm 0/91$

بحث و نتیجه گیری

مطالعه ما نشان داد که دیازینون میزان سطح تستوسترون سرم را کاهش و سطح LH و FSH را افزایش داده است. و با توجه به اینکه تعداد سلولهای لایدیگ که تولید کننده هورمون تستوسترون هستند، کاهش یافته اند، در نتیجه میزان تولید این هورمون نیز کمتر شده است. بسیاری از مطالعات حاکی از آن است که سم دیازینون به طور مستقیم بر روی بافت ها و سلولهای جنسی اثر گذاشته و سبب آسیب های مختلفی بر روی ساختار بیضه و رده های مختلف سلولی در فرآیند اسپرماتوژنیزس و اختلالات هورمونی می شود (۲۸). گزارشات متعددی در خصوص عوارض آن بر روی دستگاه گوارشی و تناسلی بدن انسان و حیوانات، نیز ذکر شده است (۲۹). در مطالعه ما با توجه به اینکه تعداد سلولهای لایدیگ بافت بیضه، پس از تزریق دوز مکرر دیازینون کاهش یافت تا حدودی می تواند آن را توجیه نماید. لذا به نظر می رسد که اگر این گونه سموم، به مدت طولانی وارد بدن شوند، ممکن است علاوه

بر آسیب به دستگاههای مختلف بدن، بر روی سیستم تناسلی نیز تاثیر بگذارند. این نظریه در مطالعات دیگران نیز به نوعی بیان شده است که دیازینون باعث آتروفی شدن سلولهای لایدیگ و کاهش سطح تستوسترون سرم خون می شود (۱۵). عده ای معتقدند که تزریق داخل صفاقی دیازینون، تعداد سلولهای لایدیگ را در رت ها کاهش داده و دوز مکرر آن، کاهش بیشتری را نسبت به حالت تک دوز ایجاد می کند (۳۰). لذا باید بعد از کاهش سلولهای لایدیگ که مسئول ترشح هورمون تستوسترون در جنس نر هستند، این انتظار را داشت که متعاقب آن میزان این هورمون نیز در سرم خون کاهش یابد. در واقع با کاهش یافتن سطح تستوسترون، اولین موضوعی که مطرح می شود تغییراتی است که باید در سلولهای لایدیگ اتفاق افتاده باشد. به نظر می رسد که این سلولها یا باید دژنره شده باشند یا اینکه در اثر آتروفی، قابلیت ترشح هورمون تستوسترون را از دست داده باشند. گر چه در مطالعه ما به هر یک از این دو حالت می توان استناد نمود ولی به نظر می رسد که کاهش تعداد سلولها، بیشتر

موید این باشد که سلولهای لایدیگ ناشی از تزریق طولانی مدت دیازینون، دژنره شده و از محیط حذف گردیده اند. ترکیبات شیمیایی موجود در محیط، سبب تخریب سیستم آندوکرینی شده و ممکن است فعالیت آنها را مهار کنند (۳۱). این گونه ترکیبات شیمیایی می توانند از راههای مختلف، تمایز جنسی را مختل ساخته و یا آنتاگونیسم گیرنده آندروژن ها باشند و همچنین می توانند مانع تولید، انتقال و یا متابولیسم آندروژنهایی شوند که برای تمایز جنسی ضروری هستند (۳۲ و ۳۳).

مطالعات مختلف نشان داد که سمومی مثل دیمتوات و لیندان مستقیماً با تخریب پروتئین تنظیم کننده (STAR) استروئید، تولید آن را در سلولهای لایدیگ مهار می کنند و سبب کاهش تستوسترون می شوند (۳۴-۳۶). ارگانو فسفره ها سطح هورمونهای استروئیدی سرم را از طریق افزایش کاتابولیسم، کاهش می دهند و بررسی های مختلف نشان می دهد، سمومی مثل دی کلروفوس، دروسبان، دیازینون، فورادان و کلروپیروفوس تولید هورمون استروئیدی را مهار می کنند (۲۶ و ۳۷). بعضی از ارگانو فسفره ها مثل کینولفوس مستقیماً بر روی بافت بیضه اثر گذاشته و باعث کاهش تولید هورمون تستوسترون می شوند (۳۸).

به نظر می رسد روند دفع متابولیت های ارگانو فسفره بیشتر از طریق ادرار باشد (۳۹). در بعضی از انواع آن قبل از اینکه بصورت متابولیت، سریعاً از بدن دفع شود، تاثیر آن بر روی ارگانهای مختلف مخصوصاً سیستم تناسلی، نمود می یابد. در مقابل ارگانو فسفره هایی مثل متیل پاراتیون، تاثیر خاصی بر روی سلولهای جنسی ندارند (۴۰). البته ارگانو فسفره ها عوامل آلکله کننده هستند و باعث آزاد شدن سولفور اتمی از اسید تیوفوسفریک شده و با ماکرومولکولهای اصلی سلول، مثل پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپید واکنش می دهند (۴۱). دیازینون که یکی از ارگانو فسفره ها است، با فسفریلاسیون پروتامین ها و تخریب DNA باعث تغییر در ساختار کروموزوم سلولهای جنسی شده و حتی می تواند پروتئین های غشای پلاسمایی سلولها را نیز فسفوریله کند (۴۲). ترکیبات آلی فسفردار با فسفریله کردن جایگاه فعال آنزیم کولین استراز، اثر آن را غیر فعال ساخته و با پراکسیداسیون لیپیدها، دستگاه تولید مثلی را آسیب می رسانند (۴۳).

یکی دیگر از مواردی که در خصوص عوارض ارگانو فسفره ها ذکر می شود، تاثیر بر روی هورمون های جنسی است. در مطالعه ما،

هورمون های FSH و LH بعد از تزریق دیازینون در دراز مدت افزایش یافتند. باید در نظر داشت، پروتئین StAR که در سلولهای لایدیگ وجود دارند توسط هورمون LH تحریک می شوند و بعضی از ارگانو فسفره ها، مسیر تحریک LH را مهار کرده و سبب کاهش هورمون استروئید می شوند، در صورتی که ارگانو فسفره های دیگری مثل متیل پاراتیون با جلوگیری از مهار برگشتی، باعث افزایش LH می شوند (۴۴ و ۴۵).

لذا به نظر می رسد که در مطالعه حاضر سم دیازینون که باعث افزایش این هورمون شده است، در قالب همین گروه قرار می گیرد و با جلوگیری از مهار برگشتی، هورمون LH را افزایش داده است. البته این هورمون نقش مهمی در شروع و ادامه تخریب مراحل مختلف اسپرماتوژنیز داشته و افزایش آن می تواند سلولهای بافت بیضه را کاهش دهد. در بررسی ما این نظریه قوت می گیرد که همراه با افزایش این هورمون که شاهد کاهش سلولهای ژرمینال و لایدیگ بوده ایم، این امکان وجود دارد که در دراز مدت سمومی مانند دیازینون باعث تغییر در ساختار بیضه و تخریب سلول های جنسی شده و نابرابری ثانویه در فرد ایجاد گردد. البته باید در نظر داشت که ارگانو فسفره ها حالت ضد گنادی داشته و به طور مستقیم عمل بیضه را مهار می کنند و یا اینکه با اثر بر روی هیپوفیز سبب تغییراتی در گنادوتروپین ها و غلظت ناقلین شیمیایی عصبی می شوند (۴۶). دیازینون نیز با اثر بر روی هیپوفیز و آزادسازی گنادوتروپین و ایجاد اختلال در آن، رشد و نمو اسپرماتوژنیز را تحت تاثیر قرار می دهند (۱۵).

بررسی ما نشان داد که دیازینون میزان سطح تستوسترون سرم را کاهش و سطح LH و FSH را افزایش داده است. با توجه به کاهش سلولهای لایدیگ که تولید کننده تستوسترون هستند، میزان تولید این هورمون نیز کاهش یافته است. چرا که این گونه سموم به طور مستقیم یا غیر مستقیم روی سیستم آندو کرینی اثر گذاشته و با کاهش هورمونهای استروئیدی سبب کاهش مقدار اسپرم می شوند (۴۷).

عمل سموم شیمیایی به سطح دوز و زمان تماس آنها بستگی دارد. با افزایش استفاده آفت کش های ارگانو فسفره در مزارع و منازل جهت از بین بردن آفت ها، سلامت تولید مثلی در انسان و جانوران نیز به مخاطره می افتد. غلظت متناسب تستوسترون و گنادو تروپین در فرآیند اسپرماتوژنیز و تمایز جنسی نقش بسیار مهمی

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاری و حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، آقای دکتر ابراهیم سرابی، آقای منصف، آقای جعفری، موسوی صباغ و خانم سوهان فرجی تقدیر و تشکر می شود.

دارند و تغییر در غلظت این هورمونها می تواند در حرکت و بقای اسپرم و همچنین تعداد آنها اثر داشته باشد و سبب نا باروری در انسان شود. با توجه به استفاده این سم در مزارع کشاورزی و باغ مرکبات، پیشنهاد می گردد که مدیریتی صحیح در استفاده بهینه از این گونه سموم صورت پذیرد.

منابع

۱. اسماعیلی م، میر کریمی ا، آزمایش فرد پ. حشره شناسی کشاورزی، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران ۱۳۷۰؛ ص: ۱۱۰-۱۵.
2. Dutta HM, Maxwell LB. Histological examination of sublethal effects of diazinon on ovary of bluegill, *leptomis macrochirus*. Environ Pollut 2003; 121(1): 95-102.
3. Oliveira Silva JJ, Alves SR, Meyer A, Perez F, Sarcinelli PN, Da Costa Mattos RC, Moreira JC. Influence of socioeconomic factors on the pesticides poisoning, Brazil. Rev Saude Publica 2001; 35(2): 130-5.
4. Gallo MA, Lawryk N. Organic phosphorus pesticides. In: Hayes WJ, Laws Jr Er (Eds). Handbook of pesticide toxicology: classes of pesticides, 2nd ed, New York, Academic Press 1991; pp: 917-1123.
5. Wu HX, Evreux-Gros C, Descotes J. Diazinon toxicokinetics, tissue distribution and anticholinesterase activity in the rat. Biomed Environ Sci 1996; 9(4): 359-69.
6. Copping DL, Matthews E. Short-term effects of organophosphate pesticides on cholinesterases of estuarine fishes and pink shrimp. Bull Environ Contam Toxicol 1974; 11(5): 483-8.
7. Vittozzi L, Fabrizi L, Di Consiglio E, Testai E. Mechanistic aspects of organophosphorothionate toxicity in fish and humans. Environ Int 2001; 26(3): 125-9.
8. Hatjian BA, Mutch E, Williams FM, Blain PG, Edwards JW. Cytogenetic response without changes in peripheral cholinesterase enzymes following exposure to a sheep dip containing diazinon in vivo and in vitro. Mutat Res 2000; 427(1-2): 85-92.
9. Pina Guzman B, Solis Heredia MJ, Quintanilla Vega B. Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. Toxicology and Applied Pharmacology 2005; 202(2): 189-98.
10. Sanchez Pena LC, Reyes BE, Lopez Carrillo L, Recio R, Moran Martinez J. Changes on sperm chromatin structure in organophosphorus agriculture works. Toxicol Appl Pharmcol 2004; 196 (1): 108-13.
11. Dahlgren JG, Takhar HS, Ruffalo CA, Zwass M. Health effects of diazinon on a family. J Toxicol Clin Toxicol 2004; 42(5): 579-91.
12. Konda LN, Czinkota I, Fuleky G, Morovjan G. Modeling of single-step and multi-step adsorption isotherms of organic pesticides on soil. J Agric Food Chem 2002; 50(25): 7326-31.
13. Abdel Aziz MI, Sahlab AM, Abdel Khalik M. Influence of diazinon and deltamethrin on reproductive organs and fertility of male rats. Dtsch Tierarztl Wochenschr 1994; 101(6): 230-2.

14. Dutta HM, Meijer HJ. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, *Lepomis macrochirus*: a microscopic analysis. *Environ Pollut* 2003; 125(3): 355-60.
15. Maxwell LB, Dutta HM. Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. *Ecotoxicol Environ Saf* 2005; 60(1): 21-7.
16. 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.
17. Slotkin TA, Seidler FJ. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphates in vivo: Transcriptional responses of pathways for brain cell development, cell signaling, cytotoxicity and neurotransmitter systems. *Brain Res Bull* 2007; 72(4-6): 232-74.
18. Aluigi MG, Angelini C, Falugi C, et al. Interaction between organophosphate compounds and cholinergic functions during development. *Chem Biol Interact* 2005; 157-158, 305-16.
19. Luskova V, Svoboda M, Kolarova J. The effects of diazinon on blood plasma biochemistry in carp. *ACTA Vet Berne* 2002; 71: 117-23.
20. Ansari BA, Kumar K. Diazinon toxicity: effect on protein and nucleic acid metabolism in the liver of zebrafish, *Brachydanio rerio* (Cyprinidae). *Sci Total Environ* 1988; 76(1): 63-8.
21. Kushaba Rugaaju S, Kitos PA. Effects of diazinon on nucleotide and amino acid contents of chick embryos. *Biochem Pharmacol* 1985; 34(11): 1937-43.
22. Contreras HR, Bustos Obregon E. Morphological alterations in mouse testis by single doses of malathion. *J Exp Zool* 1999; 284(3): 355-9.
23. Altuntas I, Kilinc I, Orhan H, Demirel R, Koylu H, Delibas N. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. *Hum Exp Toxicol* 2004; 23(1): 9-13.
24. Recio R, Robins WA, Ocampo Gomez G, Borja-Aburto V. Organophosphorus pesticide exposure increase the frequency of sperm sex null aneuploidy. *Environ Health Perspect* 2001; 109(12): 1237-40.
25. Ibrahim NA, El-Gamal BA. Effect of diazinon, an organophosphate insecticide, on plasma lipid constituents in experimental animals. *J Biochem Mol Biol* 2003; 36(5): 499-504.
26. Civen M, Lirak E, Brown CB. Studies on the mechanism of inhibition of adrenal steroidogenesis by organophosphate and carbamate compounds. *Pesticide Biochem Physiol* 1977; 38(2): 169-82.
27. Kamrin MA. *Pesticide profiles: toxicity environment impact, and fate*, 2nd ed, New York, Lewis 1997; pp: 156-9.
28. Evans D. Factors effecting pituitary gonadotrophs. *The physiology of fishes*. CRC Press LLC 2 1998; pp: 466-83.
29. Howard F, Philip H. *Fate and exposure data for organic chemicals, volume III pesticide*, London, England, Lewis Publishers 1993; 204(3): 245-54.

۳۰. جورسرای س غ، بیگی ع ا، سرابی ا. بررسی اثر تزریقی دیازینون و هینوزان بر بافت بیضه رت و اسپرماتوژنزیس در حالت *in vivo*. پایان

نامه دوره پزشکی عمومی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، دانشکده پزشکی سال ۱۳۸۵.

31. Kelce WR, Gray LE, Wilson EM. Antiandrogens as environmental endocrine disruptors. *Reprod Fertil* 1998; 10(1): 105-11.
32. LeBlanc G, Bain LG, Wilson VS. Pesticides: multiple mechanisms of demasculinization. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 126(1): 1-5.
33. George FW, Wilson JD. Sex determination and differentiation in the physiology of reproduction (E. Knobil and J.D.Neill, eds), 2nd ed, New York, Raven Press 1994; pp: 3-28.
34. Hass PJ, Buck WB, Hixon JE, Shanks RD, Wagner WC, Weston PG, Whitmore HL. Effect of chlorpyrifos on Holstein steers and testosterone-treated Holstein bulls. *Am J Vet Res* 1983; 44(5): 879-81.
35. Krausa W. Influence of DDT, DDVP and malathion on FSH, LH and testosterone serum levels and testosterone concentration in testis. *Bull Environ Contam Toxicol* 1977; 18(2): 231-42.
36. Walsh LP, Webster DR, Stocco DM. Dimethoate inhibits steroidogenesis by disrupting transcription of the steroidogenic acute regulatory (StAR) gene. *J Endocrinol* 2000; 167(2): 253-63.
37. Civen M, Brown CB. The effect of organophosphate insecticides on adrenal corticosterone formation. *Pesticide Biochem Physiol* 1974; 4(3): 254-9.
38. Ray A, Chattarjes S, Ghosh S, Bhattacharya K, Pakrashi A, Deb C. Quinalphos-induced suppression of spermatogenesis, plasma gonadotrophins, testicular testosterone production, and secretion in adult rats. *Environ Res* 1992; 57(2): 181-9.
39. Hill EF, Camardese MB. Toxicity of anticholinesterase insecticides to birds: Technical grade versus granular formulations. *Saf* 1994; 32: 28-41.
40. Andrews P, Freyberger A, Hartmann E, et al. Feasibility and potential gains of enhancing the sub acute rat study protocol (OECD test guideline No. 407) by additional parameters selected to determine endocrine- mediated of the antiandrogenic drug flutamide. *Arch Toxicol* 2001; 75: 65-73.
41. DeMatteis F. Phosphorothioates. In: Darmani LA (Ed), Sulphorcontain drugs and related organic compounds. London, Ellis Horwood 1989; pp: 9-33.
42. Evenson DP, Higgins PH, Grueneberg D, Ballachey BE. Flow cytometric analysis of mouse sprmatogenic function following exposure to ethylnitrosourea. *Cytometry* 1985; 6(3): 238-53.
43. Bustos Obregon E, Gonzalez JR, Espinoza O. Melatonin as protective agent for the cytotoxic effects of diazinon in the spermatogenesis in the earthworm *Eisenia foetida*. *Ital J Anat Embryol* 2005; 110(2 Suppl 1): 159-65.
44. Kelce WR, Monosson E, Gamcsik MP, Laws SC, Gray LE Jr. Environmental hormone disruptors: Evidence that vinclozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994; 126(2): 276-85.
45. Kilarkaje N, Narayan PR, Arunkumar NA, Laxminarayana K, Bairy, Urban JDA. An organophosphate insecticide methyl parathion (0-0-dimethyl 0-4- nitrophenyl phosphorothioate) induces cytotoxic damage and tubular atrophy in the testis despite. Elevated testosterone levels the rat. *The Journal of Toxicology Science* 2006; 31: 177-89.

46. Sarkar R, Mohanakumar KP, Chowdhury M. Effects of an organophosphate pesticide, quinalphos, on the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in adult male rats. J Reprod Fertil 2000; 118(1): 29-38.
47. Betancourt M, Resendiz A, Fierro EC. Effect of two insecticides and two herbicides on the porcine sperm motility patterns using computer-assisted semen analysis (CASA) in vitro. Reprod Toxicol 2006; 22(3): 508-12.