

تأثیر تری سیکلازول بر تغییرات هورمون تستوسترون و ساختار بیضه در موش های کوچک

اسماعیل فتاحی (PhD)*، مهدی موسوی مقدم (MSc)^۲، رضاعلی خان بابایی (PhD)^۲

۱- گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی

۲- گروه زیست شناسی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی

دریافت: ۹۲/۱۲/۲۱، اصلاح: ۹۳/۲/۲۰، پذیرش: ۹۳/۵/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: تری سیکلازول یک قارچ کش سیستمیک است که برای از بین بردن بیماری بلاست برنج به کار می رود و جایگزین آفت کش هینوزان شده است. بنظر می رسد بر بافت های تولید مثلی و سطح هورمون ها تاثیر منفی داشته باشند. با توجه به استفاده گسترده آن در کشاورزی، تاثیر این سم بر تغییرات بافت بیضه و هورمون تستوسترون در موش های آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه آزمایشگاهی ۳۰ سر موش نر بالغ نژاد NMRI با وزن 33 ± 3 گرم انتخاب شده و به سه گروه مساوی کنترل، آزمایشی ۱ و ۲ تقسیم شدند. موش ها در گروه های آزمایشی ۱ و ۲، سم تری سیکلازول را به ترتیب با دوز 20 mg/kg و 40 به صورت گاواژ و به مدت دو هفته، هر هفته ۵ روز متوالی دریافت کردند و گروه کنترل سمی دریافت نکردند. حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق با اتر کشته شدند و سپس نمونه گیری از تمام گروه ها انجام پذیرفت. با تهیه برش های بافتی از بیضه، رده های مختلف سلول های اسپرماتوژنیک، سلولهای لایدیگ و قطر لوله های اسپرم ساز با استفاده از عدسی چشمی مدرج اندازه گیری شدند. هورمون تستوسترون با استفاده از روش رادیوایمنوآسی، اندازه گیری شد. سپس داده ها تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: میزان تستوسترون در گروه آزمایشی ۱ $1/26 \pm 0/44 \text{ ng/ml}$ و در گروه آزمایشی ۲ $1/12 \pm 0/46 \text{ ng/ml}$ در مقابل گروه کنترل $0/16 \pm 0/059 \text{ ng/ml}$ بود ($p < 0/05$). وزن نسبی بیضه، قطر لوله های اسپرم ساز، تعداد سلول های لایدیگ و تعداد رگ های خونی در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری پیدا کرد ($p < 0/05$). همچنین قطر فضای لومن در گروه آزمایشی ۲ ($93/94 \pm 1/70$ میکرومتر) نسبت به گروه کنترل ($82/32 \pm 1/71$ میکرومتر) افزایش معنی داری نشان داد ($p < 0/05$).

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که سم تری سیکلازول می تواند با اختلال در بافت بیضه و ترشح هورمون تستوسترون، بر روند تولید اسپرم تاثیر منفی بر جای بگذارد.

واژه های کلیدی: تری سیکلازول، بیضه، اسپرماتوژنز، تستوسترون.

مقدمه

گروه آفت کش های با آسیب متوسط طبقه می شود. مطالعات نشان می دهد که این سم و متابولیت های آن در موجودات آبی نسبت به پستانداران آسیب بیشتری را ایجاد می کنند (۷۸). تریازول ها به سرعت جذب بدن می شوند و حدود ۷۰ درصد از این ترکیبات در کبد تجزیه و به متابولیت های فعال تبدیل می شوند و حداکثر ۲۴ ساعت بعد از طریق کلیه از بدن دفع می شوند. ولی باقیمانده های این سم ممکن است در بافت های بدن آسیب هایی را ایجاد کنند (۹۱۰). میزان آسیب سموم در بافت های بدن به دوز، ساختار سلولی، نوع متابولیت، مدت زمان تماس بستگی دارد (۱۱). اکثر آفت کش ها با نسبت های متفاوت روی تعدادی از موجودات، اندام ها و فرایندهای حیاتی انسان اثرات سمی و

آفت کش های شیمیایی، مواد سنتزی هستند که در تولید مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرند و اثرات سوء انکارناپذیری بر سلامت تولید کننده، مصرف کننده و محیط زیست برجای می گذارند (۱۲). از میان آلاینده های گوناگون، قارچ کش ها یکی از مهمترین آنها هستند، که برای از بین بردن بیماری ها، آفات و افزایش تولید محصول مورد استفاده قرار می گیرند (۳۴). تری سیکلازول با نام تجاری بیم یک قارچ کش سیستمیک از گروه تری آزولونیترازول است و برای مبارزه با بیماری بلاست برنج در کشورهای آسیایی به ویژه در ایران مورد استفاده قرار می گیرد. این سم در آب و خاک ماندگاری نسبتا بالایی دارد و تماس با آن می تواند مشکلات بهداشتی را به دنبال داشته باشد (۵۰). تری سیکلازول در

این مقاله حاصل پایان نامه مهدی موسوی مقدم دانشجوی کارشناسی ارشد تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر اسماعیل فتاحی

آدرس: تهران، پونک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی. تلفن: ۴۴۸۰۴۱۵۱-۰۲۱

E-mail: esmail_fattahy@yahoo.com

سرنگ انسولینی خونگیری انجام گرفت. نمونه های خون جمع آوری شده با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سرم آن جدا گردید. نمونه های سرمی جهت بررسی بعدی در داخل فریزر نگهداری شدند. در مراحل بعد سطح هورمون تستوسترون به روش رادیوایمنواسی و کیت Diasource تهیه شده از شرکت آریافارم، تعیین گردید. پس از خونگیری، موش ها تشریح و بیضه ها از بدن خارج شدند. وزن بیضه ها توسط ترازوی دیجیتالی مدل AND ساخت ژاپن با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری گردید و پس از شستشو و خشک کردن، در محلول فیکساتیو ده درصد فرمالین قرار گرفتند. پس از انجام مراحل روتین تهیه بافت، برش هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. سپس رده های مختلف سلولی شامل اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت ها و اسپرماتید و سلول های لیدیگ و همچنین قطر با استفاده گراتیکول یا صفحه چشمی (eye piece)، در واحد سطح و با Interval سه، شمارش و اندازه گیری شدند. قطر بیضه نیز از طریق ریزسنج اندازه گیری شد. داده های به دست آمده، به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و دانکن، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و $p < 0.05$ سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

وزن نسبی و قطر بیضه: وزن نسبی بیضه در گروه های آزمایشی دریافت کننده سم تری سیکلازول با دوز ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم، در مقایسه با گروه کنترل افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). قطر بیضه در گروه های آزمایشی نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد ولی این کاهش معنی دار نبود (جدول ۱).

قطر لوله های اسپرم ساز و فضای لومن: قطر لوله های اسپرم ساز در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی داری پیدا کرد ($p < 0.05$). قطر لوله های اسپرم ساز در گروه آزمایشی ۲ نسبت به گروه آزمایشی ۱، افزایش بیشتری را نشان داد. همچنین در این بررسی ها مشخص شد که قطر فضای لومن در گروه آزمایشی ۲ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری پیدا کرده است ($p < 0.05$). در حالیکه قطر فضای لومن در گروه آزمایشی ۱ نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داده ولی از لحاظ آماری معنی دار نبوده است (جدول ۱).

تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت ها و اسپرماتیدها: تعداد سلول های اسپرماتوگونی در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده ولی از لحاظ آماری معنی دار نبوده است. همچنین تعداد سلول های اسپرماتوسیت و اسپرماتیدها در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داده است ولی اختلاف معنی دار نبوده است (جدول ۲).

سلول های لیدیگ و عروق خونی: بررسی میکروسکوپی مقاطع بافت بیضه نشان داد که تعداد سلول های لیدیگ در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشته است ($p < 0.05$). افزایش این سلول ها در گروه آزمایشی ۲ که نمونه برداری شده بودند، بیشتر از حالتی بود که از گروه آزمایشی ۱ بدست آمد. همچنین تعداد عروق خونی در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرده است ($p < 0.05$)، (جدول ۲).

اندازه گیری هورمون تستوسترون: با اندازه گیری هورمون تستوسترون سرم خون، مشخص گردید که میانگین این هورمون در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ در مقایسه

مضر دارند. امروزه به خوبی شناخته شده است، یکی از اندام هایی که در انسان و جانوران تحت تاثیر ترکیبات شیمیایی محیطی قرار می گیرد، دستگاه تولید مثل می باشد (۱۳ و ۱۲). گرچه مکانیسم دقیق مربوط به تاثیر سم تری سیکلازول در بدن شناخته نشده است. ولی برخی از محققین تولید رادیکال های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها در غشاء سلولی را به عنوان مکانیسم اصلی در تخریب سلول و بافت های مختلف بدن پیشنهاد می کنند (۱۴). اینگونه ترکیبات را به دلیل نقص در عمل کرد سلول و بیان ژن در گروه ترکیبات با سمیت سلولی و ژنتیکی طبقه بندی می کنند (۱۵).

مطالعات نشان می دهد تریازول ها موجب نقص های اسکلتی مانند بدشکلی سر و صورت، هیدروسفالی و تغییر در رشد و تمایز سلولی با تحریک و مهار بیان ژن می شوند (۱۶). همچنین این سموم موجب افزایش تستوسترون خون، افزایش فاصله آنجنیتال، افزایش وزن بیضه، هیپاتومگالی و کاهش لقاح می شوند (۱۷ و ۱۸). برخی از محققین اعتقاد دارند که تریازول بر وزن بیضه اثری ندارند ولی باعث هیپرتروفی کبد و مهار بیان ژن های سیتوکروم از جمله سیتوکروم P_{450} در کبد و بیضه می شوند (۱۹). سم تری سیکلازول، در روند تولید برخی از ترکیبات در بدن اختلال ایجاد کرده و گاهی اوقات باعث افزایش تری گلیسرید، کلسترول، گلوکز و لاکتات خون می شود. همچنین افزایش سطح آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز و کاهش آلکالین فسفاتاز از آسیب های شدید در خصوص این سم است که گزارش شده است (۲۰). عده ای بر این باورند که مصرف طولانی مدت برخی از تریازول ها موجب کاهش وزن بیضه، قطر لوله های اسپرم ساز، تعداد و تحرک اسپرم می شوند (۲۱) با توجه به نتایج ذکر شده و افزایش روز افزون استفاده از ترکیبات شیمیایی سنتتیک در محیط زیست و کاهش تعداد اسپرم در مردان در پنجاه سال اخیر به دلیل ساختار فعال و بسیار حساس بافت های زاینده از جمله بیضه و دستگاه تولید مثلی به عوامل خارجی، این مطالعه به منظور تعیین اثر سم تری سیکلازول بر تغییرات سطح هورمون تستوسترون خون و ساختار بیضه انجام شد.

مواد و روشها

در این مطالعه آزمایشگاهی از تعداد ۳۰ سر موش سفید آزمایشگاهی از نژاد NMRI با وزن متوسط 3 ± 33 گرم و حدود سنی ۱۲-۱۰ هفته، از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات انستیتو پاستور ایران، پژوهشکده شمال کشور (آمل) استفاده شد. موش ها در قفس های استاندارد و در شرایط 22 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. همگی تحت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. حیوانات به طور تصادفی در سه گروه مساوی کنترل، گروه آزمایشی ۱ و ۲ قرار گرفتند. سم تری سیکلازول مورد استفاده در این مطالعه با درجه خلوص ۹۵ درصد از شرکت گل سم گرگان تهیه گردید.

سپس محلول تری سیکلازول با غلظت های مختلف در آب مقطر آماده و روزانه در یک ساعت معین و طی دو هفته، هر هفته ۵ روز متوالی به صورت گاوژ مورد استفاده قرار گرفت. موش ها در گروه آزمایشی ۱ و ۲ سم تری سیکلازول را به ترتیب با دوز های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلو گرم دریافت نمودند. گروه کنترل هیچگونه سمی دریافت نکردند. تمام حیوانات در شرایط ایتیموم نگهداری شده و بیست و چهار ساعت پس از آخرین گاوژ بیهوش شده و از قلب آنها به کمک

می رسد علاوه بر بافت بیضه که تحت تاثیر اینگونه سموم قرار می گیرند، اندام های دیگری از بدن، مثل تخمدان، کبد و کلیه را نیز تحت تاثیر قرار داده و موجب تغییرات در وزن آنها می شود (۲۳ و ۱۳). مطالعات محققین نشان می دهد برخی از سموم تری آزولی در بافت های بدن باعث تولید رادیکال های آزاد می شوند که این رادیکال های آزاد با ماکرومولکولها و میکرومولکول ها واکنش می دهند که ممکن است با تغییر در یک مولکول باعث تغییر ژنتیکی شوند. همچنین این تغییرات موجب شکستن پیوندهای شیمیایی شده که می تواند باعث آسیب های زیستی گردد. اینگونه سموم باعث پراکسیداسیون لیپید غشایی و آسیب DNA می شوند. در این مطالعه نیز احتمالاً رادیکال های آزاد ایجاد شده بر اثر گاوآزم سم تری سیکلازول در بدن باعث تاثیر بر بافت بیضه و القای مرگ سلولی در سلول های اسپرماتوژنیک شده است (۲۴ و ۱۴).

از یافته های دیگر در این مطالعه بعد از تزریق تری سیکلازول افزایش قابل ملاحظه تعداد سلولهای لایدیگ می باشد. مطالعه برخی از محققین نشان داده است که برخی از تریازول ها موجب افزایش تقسیم میتوزی و هایپرپلازی سلول های لیدیگ می شوند (۲۱). به نظر می رسد افزایش سلولهای لیدیگ در این مطالعه نیز با افزایش تقسیم میتوزی در ارتباط باشد. همچنین در این مطالعه سطح تستوسترون سرمی خون افزایش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان می دهد. سلولهای لیدیگ مسئول ترشح این هورمون هستند، لذا می بایست بعد از افزایش سلولهای لیدیگ که مسئول ترشح هورمون تستوسترون هستند، این انتظار را داشت که متعاقب آن میزان این هورمون نیز در سرم خون افزایش یابد. این گونه ترکیبات شیمیایی می توانند بر تولید، انتقال و یا متابولیسم آندروژن ها اثر داشته باشند (۲۵ و ۲۰). همچنین این امکان وجود دارد تری سیکلازول سبب مهار آنزیم آروماتاز شود (۲۶).

این آنزیم مسئول تبدیل تستوسترون به استرادیول می باشد. لذا به نظر می رسد این سم همانند سموم خانواده تری آزول ها مانع از تبدیل تستوسترون به استرادیول می شود و نهایتاً سطح این هورمون را در خون افزایش می دهد. حال اگر این موضوع را از جوانب مختلف مورد بررسی قرار دهیم، می بینیم که عوامل زیادی در افزایش هورمون تستوسترون دخیل هستند. با افزایش سنتز استروئیدها، افزایش تعداد سلولهای لایدیگ و مهار آنزیم آروماتاز هورمون تستوسترون افزایش می یابد. با توجه به نتایجی که از مطالعه ما بدست آمد، افزایش هورمون تستوسترون یک ارتباط مستقیمی با افزایش تعداد سلولهای لایدیگ پیدا کرده بود. از دیگر یافته های مطالعه حاضر، افزایش قطر لوله های اسپرم ساز می باشد. با توجه به کاهش ناچیز تعداد سلول های اسپرماتوژنیک در این مطالعه، این انتظار می رفت تا قطر لوله ها کاهش یابد. اما یافته ها نشان از افزایش قطر لوله های اسپرم ساز داده است. مکانیسم اثر سموم مختلف بر بافت بیضه و اثر بر تغییر قطر لوله های اسپرم ساز متفاوت می باشد برخی از ترکیباتی از این دسته باعث افزایش قطر این لوله ها شده (۲۷) و برخی دیگر اثر معکوس داشته، آن را کاهش می دهند (۲۸ و ۱۳).

البته، برخی آفت کش ها با سست نمودن بافت همبند و عضلات صاف اطراف لوله های اسپرم ساز موجب تغییر قطر آن می شوند (۲). نتایج مطالعه حاضر نیز افزایش قطر را نشان می دهد که به نظر می رسد می توان آن را از هم گسیختگی لوله ها تلقی کرد و نشانه آن است که لوله ها در حال تخریب اند (۲۵). اینگونه اختلالات با افزایش دوز سم و مدت زمانی که در معرض آن قرار

با گروه کنترل، افزایش معنی داری پیدا کرده است ($p < 0.05$). اما مقدار این هورمون بین گروههای آزمایشی ۱ و ۲ معنی دار نبوده است (جدول ۲).

جدول ۱. مقایسه میانگین وزن نسبی، قطر بیضه، قطر لوله اسپرم ساز و فضای لومن در گروه های دریافت کننده تری سیکلازول و کنترل

گروه ها	کنترل	آزمایشی ۱ (۲۰ mg/kg)	آزمایشی ۲ (۴۰ mg/kg)
وزن نسبی بیضه (گرم)	0.258 ± 0.034^b	0.2812 ± 0.0694^a	0.2832 ± 0.0663^a
قطر بیضه (میلی متر)	6.375 ± 0.124^a	6.365 ± 0.151^a	6.256 ± 0.228^a
قطر لوله اسپرم ساز (میکرومتر)	99.96 ± 2.697	20.329 ± 1.786^b	21.673 ± 1.32^b
قطر فضای لومن (میکرومتر)	82.32 ± 1.71^b	85.06 ± 1.75^b	93.94 ± 1.70^a

میانگین های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

جدول ۲. مقایسه میانگین تعداد سلول های ژرمینال، سلول های لیدیگ، میزان تستوسترون و تعداد رگ خونی در واحد سطح (میکرومتر مربع) در گروه های دریافت کننده تری سیکلازول و کنترل

گروه ها	کنترل	آزمایشی ۱ (۲۰ mg/kg)	آزمایشی ۲ (۴۰ mg/kg)
تعداد اسپرماتوگونی	9.49 ± 0.257^a	8.86 ± 0.319^a	9.12 ± 0.273^a
تعداد اسپرماتوسیت	19.29 ± 0.77^a	17.62 ± 0.697^a	16.78 ± 0.804^a
تعداد اسپرماتید	6.55 ± 0.4^a	6.42 ± 0.293^a	6.33 ± 0.355^a
تعداد سلول های لیدیگ	45.42 ± 2.617^c	61.29 ± 1.717^b	63.64 ± 2.675^b
میزان تستوسترون خون (Ng/ml)	0.16 ± 0.059^b	1.26 ± 0.442^a	1.12 ± 0.469^a
تعداد رگ خونی	0.7399 ± 0.034^b	1.7 ± 0.272^a	1.6 ± 0.14^a

میانگین های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه، افزایش معنی داری را در تعداد سلول های لیدیگ، عروق خونی، قطر لوله های اسپرم ساز، فضای لومن، وزن نسبی بیضه و هورمون تستوسترون در گروههای آزمایشی نسبت به گروه کنترل نشان می دهد. همچنین یافته های این مطالعه حاکی از کاهش در تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید و قطر بیضه می باشد اما از لحاظ آماری معنی دار نمی باشد. در این مطالعه قطر بیضه کاهش یافته است ولی از لحاظ آماری معنی دار نبوده است. این کاهش به نظر می رسد به تعداد سلول های اسپرماتوژنیک ارتباط داشته باشد که تحت تاثیر این سم در مطالعه حاضر کاهش یافته اند. این نتایج با مطالعات بعضی از محققین، که در آن دریافت تری آزول ها را دلیلی بر اتروپی شدن بافت بیضه تلقی کرده بودند، مطابقت دارد (۲۲). به نظر

می گیرد ارتباط مستقیم دارد. در مطالعه ما نیز افزایش دوز تری سیکلازول، موجب اختلالات بیشتری در بافت بیضه شده و تخریب رده های سلولی، در دوز بالا می تواند حاکی از آن باشد که تاثیر سموم تری آزولی همانند تری سیکلازول وابسته به دوز بوده و در صورتیکه بیشتر از حد مجاز خود در دفع آفات مورد استفاده قرار گیرد، می تواند منشاء بسیاری از آسیب هایی باشد که به نوعی سیستم تناسلی را درگیر می سازد. همچنین افزایش در هورمون تستوسترون، خود دلیل دیگری است که احتمال این آسیب را افزایش می دهد. از نتایج دیگر در مطالعه حاضر، افزایش تعداد عروق خونی می باشد. افزایش و یا کاهش عروق خونی زمانی اتفاق می افتد که قسمتی از بدن دچار صدمه و یا آسیب ناشی از جراحات خاصی باشد. چون سیستم فیزیولوژی بدن برای ترمیم بافت صدمه دیده ابتدا خون زیادی را به آن ناحیه می رساند. اما در خصوص صدمات ناشی از داروها و سموم وضعیت متفاوتی وجود دارد. سموم مختلف وقتی که وارد بدن می شوند ممکن است جذب بافت ها و یا اعضای شوند که باعث تخریب آنها گردند. لذا هجوم عروق خونی ممکن است ابتدا برای ترمیم بافت انجام گیرد. حال با توجه به اینکه در این مطالعه سم تری سیکلازول در رده های سلولی بافت بیضه کاهش

زیادی ایجاد نکرده است ولی به نظر می رسد اگر دوز سم افزایش یابد بر سلول های ژرمینال و تولید اسپرم آسیب های بیشتری ایجاد می کند. مکانیسم هایی که آفت کش ها سبب صدمه و آسیب به سیستم تولید مثلی در موجودات می شوند بسیار پیچیده است. یکی از مکانیسم هایی که ممکن است صورت گیرد اختلال هورمونی می باشد و با توجه به توازن هورمونی و نقش آن در عملکرد تولید مثلی می توان چنین استنباط کرد که این سموم با تغییر در تعادل هورمونی به ویژه هورمون تستوسترون اثرات مخرب بر فرآیند تولید مثلی داشته باشند. مکانیسم دیگری که این گونه سموم می توانند در روند تولید اسپرم اثر بگذارند، تاثیر مستقیم بر روی بافت بیضه و القای مرگ سلولی و کاهش رده های سلولی می باشد که نهایتا افراد جامعه را بسمت یک ناباروری ناخواسته سوق می دهند.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری صمیمانه انستیتو پاستور ایران، پژوهشکده شمال کشور آقایان دکتر آسوری، احمدی، بهزادی و ممتاز تشکر و قدردانی می گردد.

The Effect of Tricyclazole on Testosterone Changes and Testicular Structure in Mice

E. Fattahi (PhD)^{*1}, M. Mosavi Moghaddam (MSc)², R.A. Khanbabaei (PhD)²

1. Department of Biology, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

2. Department of Biology, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, I.R. Iran.

J Babol Univ Med Sci; 17(2); Feb 2015; PP:43-9

Received: Mar 12th 2014, Revised: May 10th 2014, Accepted: Aug 6th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Tricyclazole is a systemic fungicide, used for eradicating rice blast disease. This substance has replaced Hinozan pesticides and appears to have adverse effects on reproductive tissues and hormone levels. Due to its widespread use in agriculture, the effects of this toxin on testosterone changes and the testicular structure of mice were evaluated in this study.

METHODS: In this experimental study, 30 adult male NMRI mice, weighing 33±3g, were selected and divided to equal three groups: control, experimental 1, and experimental 2 groups. The mice in experimental groups 1 and 2 orally received 20 and 40 mg/kg of tricyclazole, respectively for two weeks (5 consecutive days per week), while the control group received no toxins. Twenty-four hours after the last injection, the mice were killed with ether and then samples were taken from all groups. After providing testicular tissue sections, different lines of spermatogenic cells, Leydig cells, and the diameter of seminiferous tubules were measured, using a eye piece. Testosterone level was measured via radioimmunoassay, and finally, the obtained data were analyzed.

FINDINGS: Testosterone level was 1.26±0.44 ng/ml in experimental group 1, 1.12±0.46 ng/ml in experimental group 2, and 0.16±0.059 ng/ml in the control group (p<0.05). The relative weight of the testis, the diameter of seminiferous tubules, the number of Leydig cells, and the number of blood vessels in experimental groups 1 and 2 significantly increased, compared to the control group (p<0.05). Furthermore, the diameter of the lumen area in group 2 (93.94±1.70 mm) showed a significant increase, compared to the control group (82.32±1.71 mm) (p<0.05).

CONCLUSION: The results indicated that tricyclazole toxin can impair testosterone secretion and the testicular structure, leaving an adverse effect on sperm production system.

KEY WORDS: *Tricyclazole, Testis, Spermatogenesis, Testosterone.*

Please cite this article as follows:

Fattahi E, Mosavi Moghaddam M, Khanbabaei RA. The Effect of Tricyclazole on Testosterone Changes and Testicular Structure in Mice. J Babol Univ Med Sci. 2015; 17(2):43-9.

* Corresponding Author; E. Fattahi (PhD)

Address: Department of Biology, Tehran Science and Research Branch of Islamic Azad University, Punak, Tehran, I.R. Iran.

Tel: +98 21 44804151

E-mail: esmail_fattahy@yahoo.com

References

1. Fattahi E, Jorsaraei SGA, Gardaneh M. The effect of Carbaryl on the pituitary-gonad axis in male rats. *Iran J Reprod Med*. 2012; 10(5):419-24.
2. Fattahi E, Parivar K, Jorsaraei SGA, Moghadamnia AA. The effects of diazinon on testosterone, FSH and LH levels and testicular tissue in mice. *Iran J Reprod Med*. 2009; 7(2):59-64.
3. Juraske R, Sanjuán N. Life cycle toxicity assessment of pesticides used in integrated and organic production of oranges in the Comunidad Valenciana, Spain. *Chemosphere*. 2011;82(7):956-62.
4. Krol WJ, Arsenault TL, Pylypiw HM, Mattina MJ. Reduction of pesticide residues on produce by rinsing. *J Agric Food Chem*. 2000;48(10):4666-4670.
5. Padovani L, Capri E, Padovani C, Puglisi E, Trevisan M. Monitoring tricyclazole residues in rice paddy watersheds. *Chemosphere*. 2006;62:303-314.
6. Qiu XQ, Tong CY, Zhong ZQ, Wang WQ, Zuo YW, Huang Y, Zhang L, Zhang XL, Zhang HX, Li RQ, Wang J, Chen H, Li YY, Wu G, Wang H. An engineered multidomain fungicidal peptide against plant fungal pathogens. *Sheng Li Xue Bao*. 2013; 65(4):417-32.
7. Jeong SA, Thapa SP, Park HR, Choi NG, Hur JH. Distribution and Persistence of Tricyclazole in Agricultural Field Soils. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2012; 89(6):1181-5.
8. WHO. The WHO recommended classification of pesticides by hazards and guideline to classification 2004. World Health Organization, Geneva. p:24. Available at:http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_rev_3.pdf.
9. Li J, Sun L, Zuo Z, Chen M, Geng H, Wang C. Exposure to paclobutrazol disrupts spermatogenesis in male *Sebastiscus marmoratus*. *quat Toxicol*. 2012;122-123:120-4.
10. Goetz AK, Rockett JC, Ren H, Thillainadarajah I, Dix DJ. Inhibition of rat and human steroidogenesis by triazole antifungals. *Syst Biol Reprod Med*. 2009; 55(5-6):214-26.
11. Das Gupta R, Chakravorty PP, Kaviraj A. Studies on relative toxicities of six insecticides on epigeic earthworm, *Perionyx excavatus*. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2010; 85(1):83-6.
12. Fattahi E, Jorsaraei SGA, Parivar K, Moghadamnia AA. The Effects of a Single Dosage of Diazinon and Hinosan on the Structure of Testis Tissue and Sexual Hormones in Mice. *Cell J (Yakhteh)*. 2010; 12(3):405-10.[In Persian]
13. Fattahi E, Jorsaraei SGA, Moghadamnia AA. Effects of dursban on sexual hormones and changes of testis tissue in mice. *J Babol Univ Med Sci*. 2013; 15(3):42-50.[In Persian]
14. Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA and Stohs SJ. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides, *Toxicology*. 1995;104:129-140.
15. Hermesen SA, Pronk TE, van den Brandhof EJ, van der Ven LT, Piersma AH. Triazole-induced gene expression in the Zebra fish embryo . *Report toxicol*. 2012; 34(2):216-24.
16. Marotta F, Tiboni G.M. Molecular aspects of azoles-induced teratogenesis. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol*. 2010;6:461-482.
17. Goetz AK, Ren H, Schmid JE, Blystone CR, Thillainadarajah I, Best DS, Nichols HP, Strader LF, Wolf DC, Narotsky MG, Rockett JC, Dix DJ. Disruption of testosterone homeostasis as a mode of action for the reproductive toxicity of triazole fungicides in the male rat. *Toxicol Sci*. 2007; 95(1):227-39.

18. Hester S, Moore T, Padgett WT, Murphy L, Wood CE, Nesnow S. The hepatocarcinogenic conazoles: cyproconazole, epoxiconazole, and propiconazole induce a common set of toxicological and transcriptional responses. *Toxicol Sci.* 2012;127(1):54-65.
19. Tully DB, Bao W, Goetz A K, Blystone C R, Ren H, Schmid JE, Strader LF, Wood CR, Best DS, Narotsky MG, et al. Gene expression profiling in liver and testis of rats to characterize the toxicity of triazole fungicides. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006; 215: 260–273.
20. Sancho E, Fernández-Vega C, Villarroel MA, Andreu-Moliner E, Ferrando MA. Physiological effects of tricyclazole on zebrafish (*Danio rerio*) and post-exposure recovery 2009; 150(1):25-32.
21. Ravi Kumar P, Kannian M, Mathuram LN, Selvasubramanian S, Murali Manohar B, Sriram P. Hexaconazole induced change in the histological architecture of male and female reproductive system in rats. *Res J Pharmacol.* 2011;5(2):9-13.
22. Watermann BT, Albanis TA, Dagnac T, Gnass K, Ole Kusk K, Sakkas VA, Wollenberger L. Effects of methyltestosterone, letrozole, triphenyltin and fenarimol on histology of reproductive organs of the copepod *Acartia tonsa*. *Chemosphere.* 2013; 92(5):544-54.
23. Skolness SY, Blanksma CA, Cavallin JE, Churchill JJ, Durhan EJ, Jensen KM, et al. Propiconazole inhibits steroidogenesis and reproduction in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Toxicol Sci.* 2013; 132(2):284-97.
24. Duan YC, Zheng YC, Li XC, Wang MM, Ye XW, Guan YY, et al. Design, synthesis and antiproliferative activity studies of novel 1,2,3-triazole-dithiocarbamate-urea hybrids. *Eur J Med Chem.* 2013; 64:99-110.
25. William H. Walker. Molecular mechanisms of testosterone action in spermatogenesis. *Steroids* 2009; 74(7):602-7.
26. Vinggaard AM, Hnida C, Breinholt V, Larsen JC. Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity in vitro. *Toxicol In Vitro.* 2000;14(3):227-34.
27. Lebaili N, Saadi L, Mosbah R, Mechri N. Exploration of the cytotoxic effects of an insecticide, lambda cyhalothrine, on sexual exocrine function in the white rat. *Commun Agric Appl Biol Sci.* 2008; 73(4):883-9.
28. Kumar V, Majumdar C, Roy P. Effects of endocrine disrupting chemicals from leather industry effluents on male reproductive system. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008;111(3-5):208-16.