مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۱، فروردین ۱۳۹۴(شماره پی در پی۹۶)

تغییرات آسیب القا شده به وسیله قارچ کش پروپیکونازول بر بافت بیضه و فرآیند اسپرماتوژنز و اثرات حفاظتی سلنیوم در موش صحرایی

هما محسنی کوچصفهانی[۱]، عبدالحمید انگجی[۲]، سمیرا رشیدی پویا[۱*]، پریا عبدالهی[۱]، تانیا گواهی[۳]

[۱]گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران ،[۲]گروه علوم سلولی مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران،[۳]گروه علوم سلولی مولکولی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۹/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: پروپیکونازول قارچ کشی گیاهی است که به صورت موضعی و سیستمیک برای عفونت‌های قارچی و در کشاورزی برای حفاظت و نگهداری میوه‌ها، سبزی‌جات و غلات استفاده می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر قارچ کش پروپیکونازول بر بافت بیضه و نیز اثرحفاظتی احتمالی سلنیوم بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش صحرایی به ۱۰ گروه ۴ تایی شامل؛ کنترل ، شم دریافت کننده حلال پروپیکونازول و آب مقطر و گروه سوم دریافت کننده نرمال سالین و هفت گروه تجربی شامل: گروه یک دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم، گروه ۲، ۳ و ۴ به ترتیب دوزهای ۱۰ ، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروپیکونازول و گروه‌های ۵ ، ۶ و ۷ که به ترتیب دوزهای ۱۰ ،۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروپیکونازول به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم دریافت کردند. تزریق به مدت ۲ هفته، یک روز در میان به صورت درون صفاقی انجام شد. بعد از تعیین سطوح سه هورمون لوتئینی کننده، محرک فولیکولی و تستوسترون، شمارش اسپرم با لام هموسیتومتر انجام شد و داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس به روش تست آنووا تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: اختلاف‌معنی‌داری درسطوح هورمون‌ها در گروه‌های تجربی ۲ تا ۷ در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد، اما سلول‌های سرتولی، اسپرماتوگونی ،اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و اسپرم در گروه‌های تجربی ۲ تا ۷ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشتند ($p< ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: کاهش تعداد اسپرم‌های شمارش شده و سلول‌های پیش‌ساز آن بیانگر نقش اختلالی پروپیکونازول در روند تولید این سلول‌ها و عدم تأثیر حفاظتی سلنیوم بوده است.

واژه‌های کلیدی: اسپرماتژنز، پروپیکونازول، سلنیوم، هیستوپاتولوژی

***نویسنده مسئول: سمیرا رشیدی پویا** ، تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم جانوری
Email: s.rashidipouya@yahoo.com

مقدمه

قارچ کش پروپیکونازول از خانواده کونازول‌ها می‌باشد که به عنوان دارو به صورت موضعی و سیستمیک برای عفونت‌های قارچی و هم‌چنین به عنوان مواد شیمیایی کشاورزی برای محافظت و نگهداری میوه‌های مختلف، سبزی‌جات، غلات و دانه‌های قلیایی استفاده می‌شود(۱)، پروپیکونازول علاوه بر بلع از طریق تنفس و استنشاق پوستی می‌تواند وارد بدن شود.

مطالعه‌های متابولیکی نشان می‌دهد که پروپیکونازول سطح متابولیت‌های کلسترول کبدی و اسیدهای صفراوی را افزایش می‌دهد، از آنجایی که کلسترول پیش‌ساز هورمون‌های گنادی است بنابر این هر گونه تغییر در آن‌ها می‌تواند بر روی گنادها مؤثر باشد(۲).

مطالعه‌های بافت‌شناسی اندکی در زمینه تأثیر قارچ کش پروپیکونازول بر بافت بیضه وجود دارد، اما نتایجی که از تأثیر مایکلوبوتانیل (عضوی دیگر از خانواده کونازول‌ها) بر روی بافت بیضه موش صحرایی نژاد اسپراگ داولی به دست آمده دیده شده است که در دوز ۸۴/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث آتروفی بیضه می‌شود و در دوز ۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم علاوه بر آتروفی بیضه، آتروفی پروستات و ناباروری را نیز ایجاد می‌کند، هم‌چنین بر اساس تحقیقاتی که انجام گرفته است نقش سرطان‌زای پروپیکونازول را دریافت کبد نشان داده‌اند، که با فعال کردن یک‌سری از گیرنده‌های هسته‌ای که منجر به القا ستوکروم‌های خاصی در بافت هدف می‌شوند افزایش استرس اکسیداتیو را منجر می‌شود(۵-۳).

سلنیوم یک عنصر کمیاب در بدن است که در سلامتی بسیار اهمیت دارد، چندین سلنوپروتئین وجود دارند که همگی در رشد و تکوین مهم هستند(۶)، از بین اندام‌های تولید مثلی بیضه بیشترین مقدار سلنیوم را داراست و حتی از کبد نیز پیشی گرفته است. سلنیوم از اجزای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله گلوتاتیون پراکسیداز به شمار می‌رود که در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و رفع استرس اکسیداتیو نقش دارد(۷). نقش محافظتی این عنصر در تحقیق‌های مختلف بیان شده است که از آن جمله می‌توان به تأثیر آن بر نقش مهاری کادمیوم روی بیضه اشاره کرد(۸).

نقش حفاظتی سلنیوم به شدت وابسته به دوز می‌باشد به طوری که در دوزها و مدت زمان‌های مختلف می‌تواند اثرات متفاوت و گاه منفی ایجاد نماید، لذا هدف از تحقیق تجربی حاضر بررسی اثر سلنیوم بر تغییرات ایجاد شده به وسیله قارچ کش پروپیکونازول بر بافت بیضه و روند اسپرماتوژنز در موش صحرایی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ داولی از موسسه سرم‌سازی رازی کرج خریداری شد و به مدت ۱۰ روز قبل از شروع تزریق دوز، تحت شرایط آزمایشگاهی نگه داشته شدند تا با شرایط خود را وفق دهند . این موش‌های صحرایی در قفس‌های پلی‌کربنات تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی، تحت دمای کنترل شده ۲۲ درجه سانتی‌گراد و دسترسی آسان به آب و غذا

نگهداری شدند. سپس به ۱۰ گروه ۴ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل؛ کنترل، شم(حلال پروپیکونازول، آب مقطر)، نرمال سالین(حلال سلنیوم) و هفت گروه تجربی شامل؛ گروه ۱ تجربی دریافت کننده دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم، گروه ۲، ۳ و ۴ که به ترتیب دریافت کننده دوزهای ۱۰ ، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروپیکونازول و گروه تجربی ۵، ۶، ۷ که به ترتیب دوزهای ۱۰ ، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروپیکونازول را به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم دریافت کردند می‌باشند. به کلیه گروه‌ها (به غیر از گروه کنترل) به مدت ۱۴ روز یک روز در میان هر روز صبح به صورت درون صفاقی تزریق صورت گرفت.

پس از تعیین دوز کشنده (LD_{50}) که در این تحقیق بالاتر از دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد دوزهای تجربی ۱۰ ، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم جهت بررسی و آزمایش انتخاب شدند. بدین صورت که با تزریق دوز ۱۰۰، حیوانات بعد از گذشت ۲۴ ساعت دچار سستی عضلانی و عدم توانایی در حرکت شدند و بعد از تزریق دوز ۱۵۰ نیمی از حیوانات بعد از گذشت ۲۴ ساعت تلف شدند، لذا دوزهای مورد آزمایش پایین‌تر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انتخاب شدند.

قارچ‌کش پروپیکونازول از شرکت آریا شیمی و سلنیوم مصرفی به صورت سلنیت سدیم (Na2Seo3) از شرکت سیگما آلمان خریداری شد و از نرمال سالین به عنوان حلال سلنیوم و آب مقطر به عنوان حلال پروپیکونازول استفاده شد.

پس از گذشت ۲۸ روز(این مدت برای طی نیم دوره از روند اسپرماتوژنز و دو چرخه از اپیتلیوم اسپرم‌ساز و دو چرخه عبور سلول‌های جنسی از طریق اپیدیدیم است)(۹) از شروع تزریقات حیوانات وزن شده و با استفاده از ماده بیهوشی کلروفرم کشته شدند و جهت سنجش سطوح هورمونی با استفاده از سرنگ ۵ سی سی از بطن چپ قلب حیوان خون‌گیری انجام شد. سرم خون با استفاده از سانتریفیوژ جداسازی شد ونمونه‌ها برای تعیین سطوح سه هورمون لوتئینی کننده(LH)، محرک فولیکولی(FSH) و تستوسترون در فریزر در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس در زمان مناسب با استفاده از کیت الایزا سطوح آن‌ها اندازه‌گیری شد.

در شرایط استریل با ایجاد شکافی در ناحیه تحتانی شکم، بیضه راست و اپیدیدیم راست آنها خارج گردید. بیضه با استفاده از ترازوی سارتوریس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شد و سپس به منظور بررسی مطالعه‌های بافت‌شناسی به مدت ۲۴ ساعت در فیکساتیو بوئن قرار داده شد. پس از پردازش بافتی، قالب پارافینی تهیه شد و با استفاده از میکروتوم مقاطع ۵ میکرونی ایجاد و با رنگ هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شدند، سپس با استفاده از لام مدرج مخصوص اندازه‌گیری (گراتیکول)، تعداد سلول‌های سرتولی، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید بین گروه‌های تجربی و کنترل در مطالعه‌های بافتی به وسیله میکروسکوپ نوری تعیین گردید.

یک سانتی‌متر ناحیه انتهایی اپیدیدیم راست بلافاصله پس از خارج کردن از بدن در محلول ایزوتونیک(۳ میلی‌لیتر بافر نرمال سالین) با قیچی استریل برش داده شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفت. این زمان جهت خروج کامل اسپرم‌ها از مجرا لازم است. قطره‌ای(۱۵ میکرولیتر) از سوسپانسیون اسپرمی که در مرحله قبل به دست آمده روی لام هموسیتومتر(نئوبار) قرار داده شد. تعداد کل اسپرم‌ها را در ۴ خانه بزرگ لام (چهار خانه مربوط به شمارش گلبول‌های سفید) شمارش و سپس میانگین تعداد اسپرم‌ها در یک خانه به دست آمد. در نهایت تعداد کل اسپرم‌های خارج شده از ۱ سانتی‌متر انتهایی مجرای اپیدیدیم از فرمول زیر محاسبه شد، A=BC + D که در این فرمول A تعداد کل اسپرم‌های خارج شده از یک سانتی‌متر مجرای اپیدیدیم، B تعداد اسپرم‌های شمارش شده در ۱ میلی‌متر مکعب از محلول. با ابعاد ۱ میلی‌متر طول، ۱ میلی‌متر عرض و۰/۱ میلی‌متر عمق . در نتیجه حجم محلولی که یک خانه بزرگ را پر می‌کند ۰/۱ میلی‌متر مکعب است)، C فاکتور عمق، ۱۰ می‌باشد و D فاکتور رقت که ۳۰۰۰ می‌باشد، چون اسپرم‌های موجود در۳ میلی‌لیتر محلول بافر نرمال سالین انتشار یافتند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش آماری آنالیز واریانس و به روش تست آنووا تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

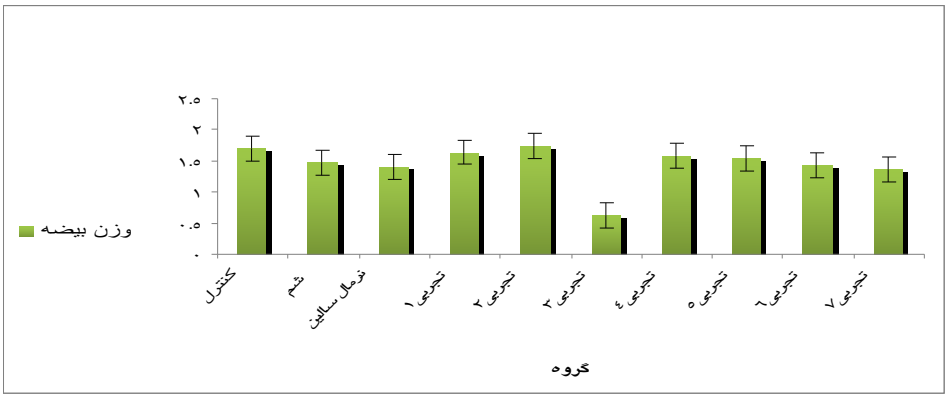
قارچ کش پروپیکونازول در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنی‌دار وزن بیضه(۰/۰۱ >p) در مقایسه با کنترل شد، اما در سایر گروه‌های تجربی تغییر معنی داری بر روی وزن بیضه‌ها نسبت به گروه کنترل وشم نداشته است(نمودار ۱). تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های شم، نرمال سالین و تجربی۱ (سلنیوم) با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشته، ولی استفاده از قارچ کش پروپیکونازول در گروه‌های تجربی۲ ، تجربی۳ و تجربی۴ و هم‌چنین استفاده از قارچ‌کش پروپیکونازول به همراه سلنیوم در گروه‌های تجربی۵ ، تجربی ۶ و تجربی ۷ (p< ۰/۰۰۱) با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نشان دادند وسبب کاهش درتعداد این سلول در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل شدند(نمودار۲). از مقایسه تعداد اسپرماتوگونی گروه‌های شم، نرمال‌سالین و تجربی۱ با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری به دست نیامد، ولی از مقایسه تعداد اسپرماتوگونی‌ها در گروه‌های تیمار با پروپیکونازول تجربی ۲، تجربی ۳، تجربی ۴ و نیز گروه‌های تیمار با پروپیکونازول و سلنیوم تجربی۵ ، تجربی ۶ و تجربی ۷ (p< ۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان دادند(نمودار ۲). از مقایسه تعداد اسپرماتوسیت اولیه گروه‌های شم، نرمال سالین ، تجربی۱ با گروه کنترل اختلاف معنی داری بدست نیامد، ولی استفاده از دوزهای۱۰ ، ۵۰ و ۷۵ از قارچ‌کش در گروه‌های تجربی۲ (p< ۰/۰۱) و تجربی۳ (p< ۰/۰۰۱) و تجربی۴ (p< ۰/۰۰۱)، هم‌چنین استفاده از قارچ‌کش به همراه سلنیوم در گروه‌های

تجربی۵(p< ۰/۰۰۱)، تجربی۶(p< ۰/۰۰۱) و تجربی ۷(p< ۰/۰۵)سبب کاهش معنی‌دار تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه در این گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل شد(نمودار ۳). از مقایسه تعداد اسپرماتید گروه‌های شم، نرمال سالین و تجربی ۱ با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری به دست نیامد، ولی استفاده از قارچ کش پروپیکونازول در گروه‌های تجربی ۲، تجربی۳، تجربی۴ و هم‌چنین استفاده از قارچ‌کش به همراه سلنیوم در گروه‌های تجربی۵، تجربی ۶ و تجربی۷ سبب کاهش معنی‌دار تعداد اسپرماتیدها نسبت به گروه کنترل شد(p<۰/۰۰۱)(نمودار ۳).

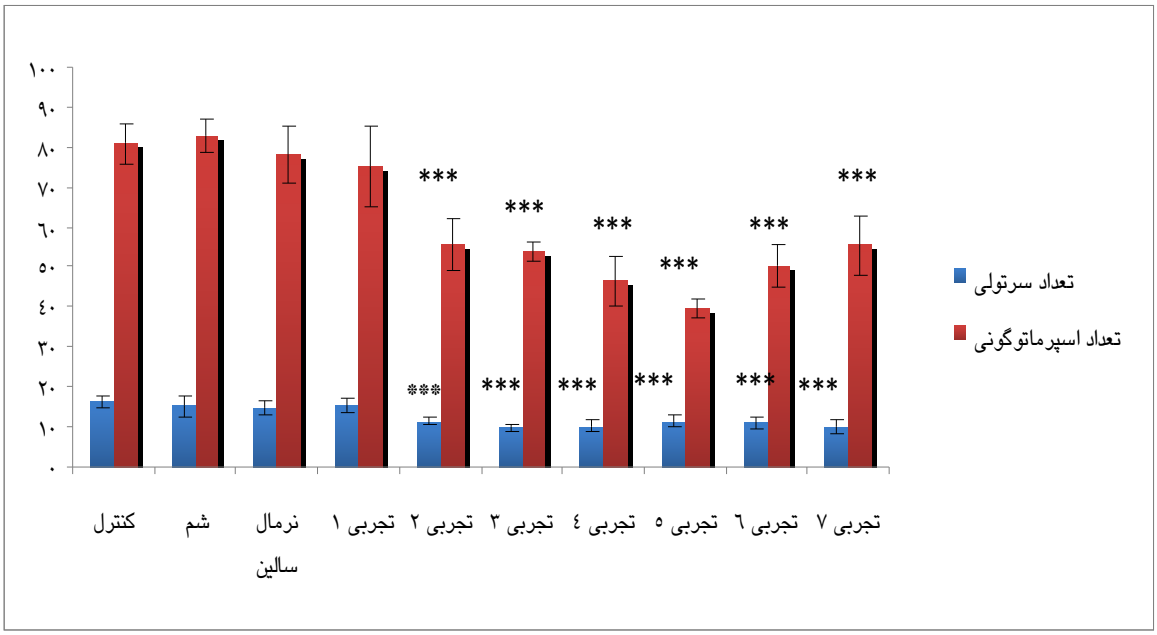
از مقایسه تعداد اسپرم‌های شمارش شده از ۱ سانتی متر انتهایی اپیدیدیم با استفاده از لام نئوبار در گروه‌های شم، نرمال سالین و تجربی ۱ با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری به دست نیامد، ولی در گروه‌های تجربی ۲ (p<۰/۰۱)، گروه تجربی ۳ (p<۰/۰۵)، گروه تجربی ۴ (p< ۰/۰۵)، گروه تجربی ۵ (p<۰/۰۵)، گروه تجربی ۶ (p< ۰/۰۱)، گروه تجربی ۷ (p<۰/۰۵) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده شد(نمودار۴).

از مقایسه میزان سه هورمون لوتئینی کننده (LH)، محرک فولیکولی(FSH) و تستوسترون در سرم خون گروه‌های تجربی و گروه شم و نرمال سالین با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری بدست نیامد(جدول۱)، هم‌چنین در مقاطع بافت‌شناسی گروه‌های تجربی ۲ الی ۷ بی نظمی و بهم ریختگی در سلول‌های داخل لوله‌های منی‌ساز و افزایش فضای لومن لوله‌های منی‌ساز نسبت به کروه کنترل دیده می‌شود که در سایر گروه‌های تجربی ۱ ، شم و نرمال سالین دیده نشد(تصویر ۱) (تصاویر A تا J، بزرگ‌نمایی ۴۰×) .

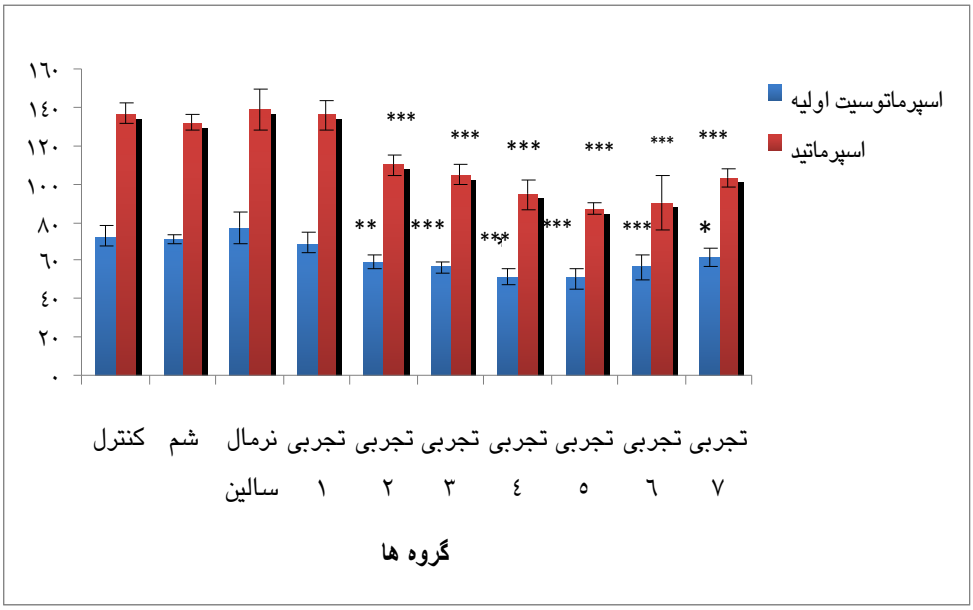
داده‌های به دست آمده برای تمام پارامترهای سنجش شده بین سه گروه تجربی ۲، ۳ و۴ که به ترتیب با دوزهای ۱۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروپیکونازول تیمارشده بودند تجزیه و تحلیل گردید و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند جز در وزن بیضه که گروه تجربی ۳ نسبت به گروه تجربی ۲ (p<۰/۰۰۱) و نسبت به گروه تجربی ۴(p<۰/۰۱) کاهش معنی‌داری نشان داد(نمودار۱).



نمودار۱: مقایسه میانگین وزن بیضه گروه‌های کنترل، شم، نرمال سالین، تجربی۱ الی تجربی ۷. که کاهش معنی داری را در گروه تجربی ۳ در مقایسه با کنترل (p< ۰/۰۱ **)در مقایسه با گروه تجربی ۲ (p<۰/۰۰۱ •••)و در مقایسه با گروه تجربی ۴ (p< ۰/۰۱ ۵۵) نشان می دهد تعداد در هر گروه ۴ سر موش



نمودار۲ : مقایسه میانگین تعداد سلول‌های سرتولی و اسپرماتوگونی گروه‌های کنترل ،شم، نرمال سالین، تجربی۱ الی تجربی ۷ .
کاهش معنی داری را در گروه های تجربی ۲ الی ۷ در مقایسه با کنترل نشان می دهند (۰/۰۰۱ >p ***) تعداد در هر گروه ۴ سر موش



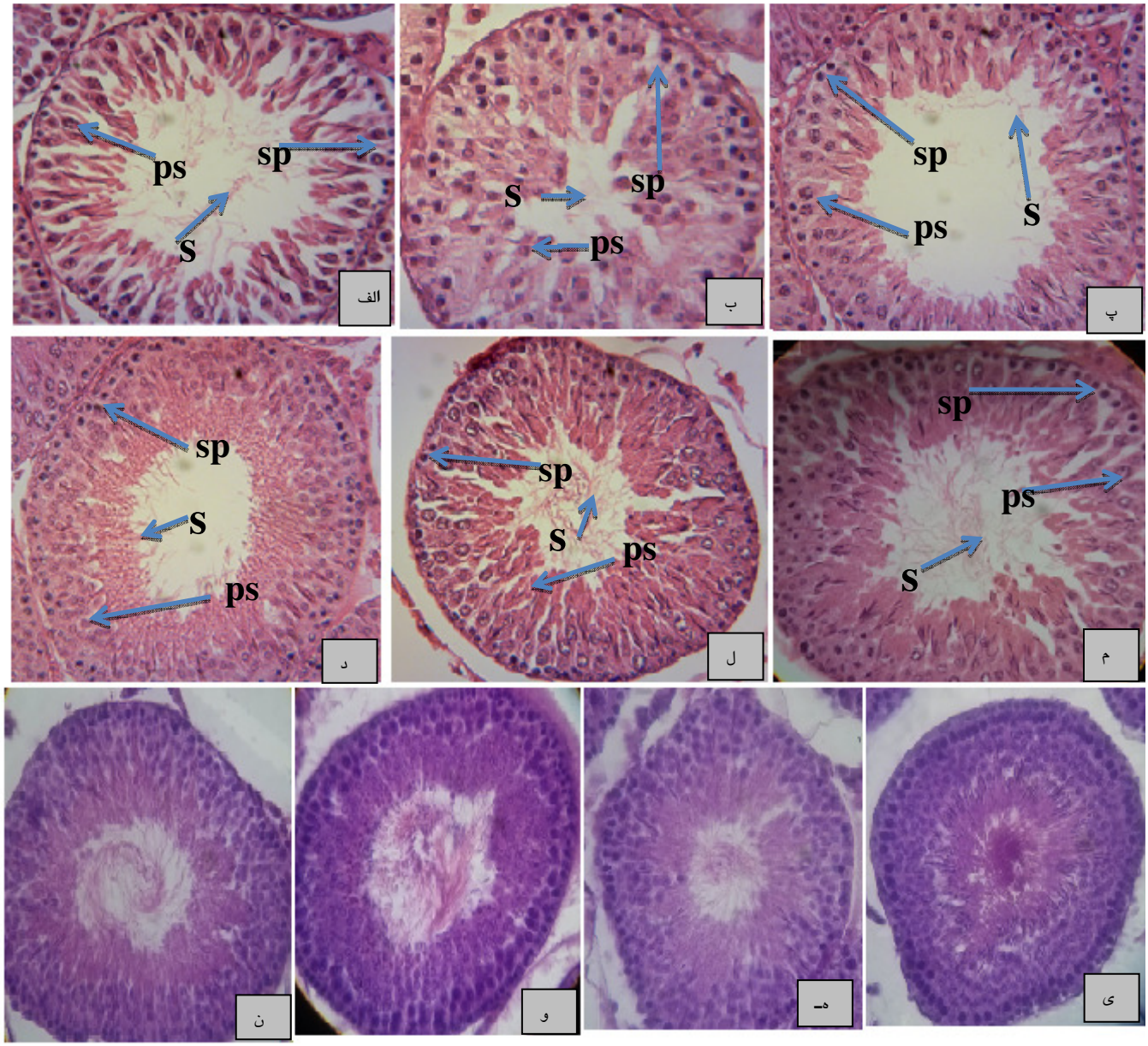
نمودار۳: مقایسه میانگین تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید گروه‌های کنترل ،شم، نرمال سالین، تجربی۱ الی تجربی ۷. که کاهش معنی داری را در گروه های تجربی ۲ الی ۷ در مقایسه با کنترل نشان می دهند (۰/۰۰۱ >p ***) ، (۰/۰۱ >p **) ، (۰/۰۵>p *) تعداد در هر گروه ۴ سر موش

نمودار۴ : مقایسه تعداد اسپرم در گروه‌های کنترل، شم، نرمال سالین، تجربی۱ الی تجربی۷. که کاهش معنا داری را در گروه های تجربی ۲ الی ۷ در مقایسه با کنترل نشان می دهد (۰/۰۱ >p **) ، (۰/۰۵ >p *) تعداد در هر گروه ۴ سر موش

جدول ۱: مقایسه میانگین هورمون های هورمون محرک فولیکولی، هورمون لوتئینی کننده و هورمون تستوسترون ، پس از تأثیر قارچ کش پروپیکونازول در موش صحرایی مورد مطالعه

گروه	غلظت هورمون محرک فولیکولی (نانوگرم بر لیتر)	غلظت هورمون لوتئینی کننده (نانوگرم بر لیتر)	غلظت هورمون تستوسترون (نانوگرم بر لیتر)
کنترل	۵۴/۲±۷۳/۰	۲۵/۵±۳۹/۰	۹۶/۰±۰۷/۰
شم	۴۹/۲±۷۳/۰	۵۵/۴±۰۶/۰	۸۵/۰±۰۴/۰
نرمال سالین	۳۹/۲±۷۳/۰	۶۴/۴±۵۱/۰	۶۸/۰±۱۰/۰
تجربی ۱	۱۷/۲± ۷۲/۰	۶۴/۴±۶۹/۰	۵۷/۰±۰۲/۰
تجربی ۲	۳۲/۲±۷۱/۰	۷۰/۳±۳۶/۰	۸۵/۰±۱۵/۰
تجربی ۳	۶۴/۲±۷۳/۰	۹۱/۴±۳۰/۰	۷۶/۰±۰۳/۰
تجربی ۴	۶۲/۲±۷۲/۰	۰۶/۵±۳۹/۰	۶۸/۰±۱۴/۰
تجربی ۵	۳۷/۲±۷۳/۰	۰۸/۴±۰۱/۰	۷۰/۰±۰۰
تجربی ۶	۹۴/۲±۷۱/۰	۹۱/۳±۲۷/۰	۶۷/۰±۰۴/۰
تجربی ۷	۸۹/۲±۷۳/۰	۶۷/۳±۱۵/۰	۷۸/۰±۱۰/۰

بدون اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل



تصویر ۱: آنالیز بافت‌شناسی،تصاویر الف، ب، پ به ترتیب دوزهای ۱۰، ۵۰، ۷۵ میلی‌گرم برکیلوگرم پرویپکونازول، تصاویر د، ل،م به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰، ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پرویپکونازول+ ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم، تصویر ن مربوط به نمونه شم (آب مقطر)، تصویر و مربوط به نمونه نرمال سالین، تصویر ی مربوط به نمونه۰/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم سلنیوم و تصویر مربوط به نمونه کنترل، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین ، میکروسکوپ نوری ، بزرگنمایی ۴۰×.

علایم اختصاری: sp (اسپرماتوگونی) ، ps (اسپرماتوسیت اولیه) ، s (اسپرماتید)

بحث

در جهان امروز ، توسعه اقتصادی نیاز به جمعیت مناسب با کارآیی بالا دارد. در مزارع کشاورزی از جمله مزارع برنج ، گندم ، ذرت و همچنین برای حفاظت میوه ها و سبزیجات از قارچ‌های گیاهی ، یا درمان آن ها پس از ابتلا، از قارچ کش‌های گیاهی و سموم گیاهی استفاده می شود، لذا هدف از این مطالعه بررسی تأثیر قارچکش

پروپیکونازول روی بافت بیضه و در کنار آن بررسی تأثیر حفاظتی سلنیت سدیم در مقابل آسیب‌های وارده به بافت مذکور بود، که با کاهش تعداد سلول های پیش ساز اسپرم در مراحل مختلف فرآیند اسپرماتوزنز همراه بود. می‌توان نتیجه گرفت که قارچ کش پروپیکونازول بدون تأثیر زیادی بر روی وزن بیضه ، کاهش تعداد اسپرم‌های شمارش شده و سلول‌های پیش‌ساز آن را موجب شده و بیانگر نقش اختلالی آن در روند تولید این سلول‌ها و عدم تأثیر حفاظتی سلنیوم بوده است.

در تحقیقی که به وسیله داگلاس و همکاران در رابطه با اثر قارچ کش پروپیکونازول با سه دوز ۱۰، ۷۵ ، ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز پشت سرهم به صورت گاواژ صورت گرفت تغییر معنی‌داری در وزن بیضه موش‌های تیمار شده در مقایسه با کنترل مشاهده نشد که با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد(۱۰).

در تحقیق حاضر تزریق دوزهای ۱۰ ، ۵۰ ، ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروپیکونازول به مدت ۱۴ روز یک روز در میان تغییر معنی‌داری را در سطوح هورمون‌های لوتئینی کننده، محرک فولیکول و تستوسترون ایجاد نکرد و با نتایج به دست آمده در مورد سطوح به وسیله داگلاس و همکاران، مبنی بر عدم مشاهده تغییر بارزی در سطوح این هورمون‌ها، منطبق است(۱۰).

در مطالعه حاضر تعداد سلول‌های سرتولی، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید و تعداد اسپرم‌ها در تمامی گروه‌های تیمار شده با پروپیکونازول و پروپیکونازول همراه با سلنیوم کاهش یافته بود که نشان دهنده تأثیر منفی پروپیکونازول بر روی فرآیند اسپرماتوژنز است ، تیمار همزمان با سلنیوم نیز نتوانست کاهش ایجاد شده در تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک و نیز سلول‌های سرتولی را بهبود ببخشد به طوری که همچنان کاهش معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده شد که همین نتیجه نیز در مطالعه‌ای که شیراساگار و همکاران مشاهده شد(۱۱).

تحقیق‌ها نشان داده است ترکیب‌هایی که بتوانند روی روند اسپرماتوژنز تأثیر بگذارند می‌توانند باعث مهار تولید اسپرم گردند. این ترکیب‌ها به روش‌های مختلفی عمل می‌کنند. تعدادی باعث مهار سنتز و یا آزاد شدن گنادوتروپین هیپوفیزی می‌گردند و یا دارای اثرات ضد آندروژنیک بوده وبه این ترتیب باعث مهار اسپرماتوژنز می‌گردند. هم‌چنین ممکن است با تأثیر مستقیم بر روی بافت بیضه و یا سایر قسمت‌های دستگاه تناسلی مانع تولید اسپرم گردد. برخی ترکیب‌ها می‌توانند به طور غیر مستقیم بر روی بافت بیضه و یا سایر قسمت‌های دستگاه تناسلی تأثیر کرده و به این ترتیب مانع تولید اسپرم گردند. ترکیب‌های استروئیدی و غیر استروئیدی که مهارکننده گنادوتروپین‌های هیپوفیزی می‌باشند یا مستقیماً بر روی هیپوفیز تأثیر می‌گذارند و یا از طریق مهار محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز نقش خود را ایفاء می‌نمایند(۱۲)، حال با توجه به این که پرپیکونازول

بدون تأثیر بـر روی سـطوح هورمـونی باعـث کـاهش سلول‌های اسپرماتوژنیک شده است می‌توان گفـت کـه اثر خود را به طور مستقیم بر بافـت بیضـه و دسـتگاه تناسلی اعمال کرده است.

وجود بی نظمی در ساختار لوله‌های منی‌سـاز و سلول‌های آن و نیز افزایش فضـای لـومن در درون این لوله‌ها احتمالاً ناشی از تـأثیر قـارچ کـش بـر روی اتصالات سلولی است، زیرا اتصـالات شـبه دسـموزی بین سلول‌های سرتولی و زاینده، کنترل کننـده جـا بـه جایی سلول‌های زاینده از لایه بازال به لومن لوله‌هـای اسپرم‌ساز است(۱۳).

در تحقیقی که به وسیله السان و همکـاران بـر روی تأثیر کمبود سلنیوم در اسـپرم مـوش صـحرایی انجام شده بود مشاهده کردند کـه کمبـود سـلنیوم در رژیم غذایی موش صحرایی باعث آسیب لوله‌های منی ساز، کـاهش تحـرک وتعـداد اسـپرم مـی‌شـود(۱۴) و همچنین گزارش شـده کـه میـزان بـالای سـلنیوم نیـز می‌تواند تأثیر نامطلوبی بر روی اسپرم بگذارد کـه بـه وسیله کائور و همکاران نشان دادند کـه دوز(ppm ۸) سلنیوم به مـدت ۶ هفتـه باعـث کـاهش وزن بیضـه و ایجاد ظاهر غیـر طبیعـی اسـپرم مـی‌شـود(۷). در ایـن مـوارد در واقـع سـلنیوم خـود باعـث ایجـاد اسـترس اکسیداتیو و افزایش(ROS) مـی‌شـود، پـس در واقـع در استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها، دوز و مدت زمان مصـرف آنها بسیار مهم است(۱۵)، که با نتایجی که در مطالعـه حاضر به دست آمد مطابقت دارد به طـوری کـه حتـی می‌تواند تأثیر منفی داشته باشد.

نتیجه‌گیری

با توجـه بـه کـاهش معنـی‌دار در سـلول‌هـای پیش‌ساز اسپرم و تعداد اسپرم‌های شـمارش شـده در گروه‌هـای تجربـی ۲ الـی ۷، نسـبت بـه گـروه کنتـرل می‌توان نتیجه گرفت که قارچ‌کش پروپیکونازول باعث اختلال در رونـد تولیـد سـلول‌هـای اسـپرماتوژنیک و آسیب به این سلول‌ها شده و سـلنیوم در دوز و مـدت زمان به کار رفتـه نتوانسـت نقـش حفـاظتی در برابـر آسیب‌های ایجاد شده به وسیله پروپیکونازول بر بافت بیضه و روند اسپرماتوژنز را اعمال نماید.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه مقطع کارشناسـی ارشد رشته زیست شناسی سـلولی تکـوینی جـانوری دانشگاه خوارزمی می‌باشـد کـه بـا حمایـت مـالی ایـن دانشگاه انجام شد.

REFERENCES

1.Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM. Current and emerging azole antifungal agents. Clinical Microbiology Reviews1999; 12(1): 40–79.
2.Murphy LA, Moore T, Nesnow S. Propiconazole-enhanced hepatic cell proliferation is associated with dysregulation of the cholesterol biosynthesis pathway leading to activation of Erk1/2 through Rasfarnesylation. Toxicology and Applied Pharmacology 2012; 260: 146–54.
3.Nesnow S, Grindstaff RD, Lambert G, Padgett WT, Bruno M, Ge Y. Propiconazole increases reactive oxygen species levels in mouse hepatic cells in culture and in mouse liver by a cytochrome P450 enzyme mediated process. Chemico Biological Interactions 2011; 194(1): 79–81.
4.Nesnow S, Padgett WT, Moore T. Propiconazole induces alterations in the hepatic metabolome of mice: relevance to propiconazole-induced hepatocarcinogenesis. Toxicological Sciences 2011; 120(2): 297–309.
5.Ortiz PA, Bruno ME, Moore T, Nesnow S, Winnik W, Ge Y. Proteomic analysis of propiconazole responses in mouse liver: comparison of genomic and proteomic profiles. Journal of Proteome Research 2010; 9(3): 1268–78.
6.Kehr S, Malinouski M, Finney L, Vogt S, Labunskyy VM, Kasaikina MV, et al. X-Ray Fluorescence Microscopy Reveals the Role of Selenium in Spermatogenesis .Journal of Molecular Biology 2009; 389(5): 808–8.
7.Kaur P, Bansal MP. Effect of selenium-induced oxidative stress on the cell kinetics in testis and reproductive ability of male mice. Basic Nutritional Investigation 2005; 21(3): 351-7.
8.Ren X, Wang G, Xu D, Luo K, Liu Y, Zhong Y, ……., et al. The protection of selenium on cadmium-induced inhibition of spermatogenesis via activating testosterone synthesis in mice. Food and Chemical Toxicology 2012; 50(10): 3521–9.
9.Ostrowska JG, Dziendzikowska K, Lankoff A ,Dobrzynska M, Instanes Ch, Brunborg G, et al. Silver nanoparticles effects on epididymal sperm in rats. Toxicology Letters 2012; 214: 251-8.
10.Douglas BT, Wenjun B, Amber KG, Chad RB, Hongzu R, Judith ES, et al. Gene expression profiling in liver and testis of rats to characterize the toxicity of triazole fungicides. Toxicologyand Applied Pharmacology 2006; 215(3): 260-3.
11.Ksheerasagar RL, Kaliwal BB. Temporal effects of mancozeb on testes, accessory reproductive organs and biochemical constituents in albino mice. Environmental Toxicology and Pharmacology 2003; 15(1): 9–17.
12.Khlkutes S. Effects of hibiscus rosa sinesis on spermatogenesis and accessory reproduction organ in rat. Plant Med 1977; 31(2):127-35.
13.Montanari T, Carvaho J, Dolder H. Antispermatogenic effect of Achilleamillefolium L.Contraception 1998; 58(5): 313-9.
14.Olson GE, Winfrey VP, Hill KE, Burk RF. Sequential development of flagellar defects in spermatids and epididymal spermatozoa of selenium-dificient rats. Journal of the Society for Reproduction and Fertility 2004; 127: 335-42.
15.KaurR, Kaur K. Effects of dietary selenium on morphology of testis and cauda epididymis in rats. Indian Journal of Physiology Pharmacology 2000; 44(3): 265-72.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ) **Original Article**

Study of damages induced by fungicide propiconazole on testicular tissue and process of spermatogenesis and protective effects of selenium in male Sprague Dawley rat

Mohsenikouchesfehani H [1], Angaji A[2], Rashidipouya S[1*], Abdollahi P[1], Govahi T[3]

[1]Department of animal Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran, [2]Department of Cell & Molecular Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran, [3] Department of Cell & Molecular Biology, Science & Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 28 Nov 2014 Accepted: 13 Feb 2015

Abstract

Background & aim: Propiconazole is an herbal fungicide which is used as a tropical and systematic drug for fungal infection and also as an agricultural chemical for protection and preservation of fruits, vegetables and grains. The aim of this study was to assess the efficacy of fungicides propiconazol and possible protective effects of selenium on testes tissue.

Methods: The present expremental trail study was conducted on forty rats which were divided into ten groups of four including control , sham (solvent of propiconazole, distilled water), solvent of selenium (normal saline) and seven experimental groups : group 1 received 0.5 mg/kg/day of selenium, groups 2,3,4 received three doses of 10,50,75 mg/kg/day of Propiconazole, and groups 5,6,7 received three doses of 10, 50, 75 mg/kg/day of propiconazole with 0.5 mg/kg/day of selenium toevaluate. The administration was done intrapritoneal for two weeks in an alternatively fashion. After determining the level of LH, FSH, Testosterone, sperm was counted by hemocitometer. Data were analyzed by the SPSS software using ANOVA test.

Results: No significant differences was observed in the level of hormones in the experimental groups2-7 compared with the control group, but the number of sertoli cells, spermatogonia , primary spermatocyte , spermatid and sperm decreased significantly in comparison with the control group ($p<0.05$).

Conclusion: The decrease in numbers of counted sperm indicates that propiconazole has disrupted the production process of these cells and selenium was unable to improve that.

Keywords: Histopathology, Propiconazole, Selenium, Spermatogenesis

***Corresponding Author:** Rashidipouya S, Department of animal Biology, Faculty of Biological sciences, KharazmiUniversity, Tehran, Iran
Email: s.rashidipouya@yahoo.com

Please cite this article as follows:
Mohsenikouchesfehani H, Angaji A, Rashidipouya S, Abdollahi P, Govahi T. Study of damages induced by fungicide propiconazole on testicular tissue and process of spermatogenesis and protective effects of selenium in male Sprague Dawley rat. Armaghane-danesh 2015; 20 (1): 19-30.