

## اثر سم پروپیکونازول بر تغییرات بافت بیضه و هورمون تستوسترون در موش‌های آزمایشگاهی نژاد NMRI

اسماعیل فتاحی<sup>۱\*</sup>، شبنم حقیقی اسکى<sup>۲</sup>، نسیم حیاتی رودباری<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۰۵/۲۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۴/۰۷/۲۳

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** پروپیکونازول یک قارچ کش سیستمیک از گروه تریازول هاست که برای کنترل طیف وسیعی از بیماریها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این سم موجب آسیب‌های سلولی، ژنتیکی و متابولیکی در جانوران می‌شود. لذا این مطالعه به منظور تعیین اثر سم پروپیکونازول بر بافت بیضه و هورمون تستوسترون در موش‌های آزمایشگاهی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه آزمایشگاهی، ۲۸ سر موش نر بالغ با میانگین سنی ۱۲ هفته به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل، سم و گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ به ترتیب سم پروپیکونازول با دوز ۰/۵ و ۱/۵ میلی بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت گاوژ و به مدت چهار هفته دریافت کردند. گروه کنترل هیچ ماده‌ای را دریافت نکردند و گروه‌ششم حلال سم را دریافت نمودند. موش‌ها هفت روز بعد کشته شده و بیضه از لحاظ بافت شناسی بررسی گردید. غلظت هورمون تستوسترون با روش رادیوایمنواسی اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** تعداد سلول‌های ژرمینال و قطر لوله‌های سمینifer در گروه آزمایشی ۲ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافته است ( $P < 0/05$ ). همچنین تعداد سلول‌های لیدیگ در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافته است ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد که بافت بیضه به سم پروپیکونازول حساس بوده و اثر آن به دوز وابسته می‌باشد

**کلمات کلیدی:** پروپیکونازول، بافت بیضه، سلول لیدیگ، موش

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره نهم، ص ۷۴۲-۷۳۵، آذر ۱۳۹۴

آدرس مکاتبه: آمل جاده قدیم آمل به بابل، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت ... آملی شماره تلفن: ۰۹۱۱۳۲۵۵۳۱۱، ۰۱۱۴۳۲۱۷۳۲۰

Email: e.fattahi@iauamol.ac.ir

### مقدمه

و بیان ژن بر عملکرد سلول‌ها تأثیر منفی خواهند گذاشت (۴). شدت اثر تخریبی ناشی از تماس سموم به دوز، نحوه، مدت زمان تماس و ساختار بافتی در بدن بستگی دارد (۵، ۶) گرچه مکانیسم دقیق‌تری آزول‌ها مشخص نیست اما به نظر می‌رسد این سموم فعالیت آنزیم سیتوکروم P450 را مهار می‌کنند. این سم همچنین موجب تغییر بیان ژن و فعالیت آنزیم‌های متابولیکی در بافت‌های پستانداران می‌شود. به همین دلیل این سموم را در گروه با سمیت سلولی و ژنتیکی طبقه بندی می‌کنند (۷، ۸). افزایش وزن نسبی بیضه و تخمدان، کاهش در غلظت ۱۷ بتا استرادیول، ویتلوژنین و تولید تخم، تنظیم بالای پروتئین‌های کلیدی استروئید زایی از قبیل CYP19 (آروماتاز)، CYP17 (هیدروکسیلاز/لیاز)، CYP11A از

آفت‌کش‌ها از مهم‌ترین عوامل محیطی هستند که در سالیان اخیر به‌طور گسترده تولید و استفاده می‌شوند و اثرات انکارناپذیری بر محیط زیست و سلامت انسان برجای می‌گذارند (۱، ۲). یکی از آفت‌کش‌هایی که امروزه و بویژه در مناطق شمالی کشور مورد استفاده قرار می‌گیرد پروپیکونازول می‌باشد. پروپیکونازول یک قارچ کش سیستمیک از گروه تریازول‌ها است که برای کنترل طیف وسیعی از بیماریهای قارچی در کشاورزی از قبیل شیت بلایت برنج، بیماری زنگ گندم و فوزاریوم خوشه گندم استفاده می‌گردد (۳). اینگونه سموم در جانوران سمیت ایجاد کرده و در دوزهای زیر کشنده با صدمه مستقیم بر سلول و یا اختلال در فرآیند بیوشیمیایی

<sup>۱</sup> استادیار گروه زیست شناسی، واحد آیت ... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> کارشناسی ارشد تکوینی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۳</sup> استادیار گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری و مراقبت شدند. اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی صورت گرفت.

سم پروپیکونازول با درجه خلوص ۹۸ درصد از شرکت غزال شیمی بابل تهیه و سپس در آب مقطر حل گردید. حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه مساوی (n=۷) به شرح ذیل تقسیم شدند:

گروه کنترل: موش‌ها هیچگونه سمی را دریافت نکردند و در شرایط اپتیموم نگهداری شدند.

گروه ۱: موش‌ها آب مقطر را به صورت گاوژ دریافت نمودند. گروه آزمایشی ۱: سم پروپیکونازول را با دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلو گرم به صورت گاوژ دریافت کردند.

گروه آزمایشی ۲: سم را با دوز ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت گاوژ به مدت چهار هفته (پنج روز در هفته) دریافت کردند. یک هفته بعد از آخرین تزریق، موش‌ها وزن شده و با اتر بیهوش شدند. تمامی خون موشها از ناحیه زیر بغل و از طریق باز کردن رگ‌های اگزیلاری جمع‌آوری شده و سپس سرم خون با استفاده از سانتریفیوژ، به مدت ۱۵ دقیقه و با دور ۳۰۰۰، جدا گردید. سپس هورمون تستوسترون با روش رادیو ایمنواسی اندازه‌گیری شدند. سپس برای مطالعات بافتی، بیضه‌ها با دقت از بدن خارج شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیکی و خشک کردن، وزن گردید و در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. بعد از مراحل مختلف پاساژ بافتی و قالب گیری، برش‌هایی به ضخامت پنج میکرون تهیه و با هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی گردید. رده‌های مختلف سلولی شامل سلول‌های ژرمینال، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها و سلول‌های لایدیگ و سرتولی با استفاده از صفحه چشمی شطرنجی (eye piece) با Interval سه شمارش شدند. در هر مقطع از برش بافت، دو ناحیه انتخاب گردید و در مجموع حدود ۱۰۰ فیلد مورد ارزیابی قرار گرفت. قطر لوله‌های اسپرم ساز با صفحه چشمی مدرج خط کش دار و قطر بیضه با ریز سنج اندازه‌گیری گردید. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس و سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

## یافته‌ها

نتایج حاصل از وزن بدن نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ با گروه کنترل و شم وجود ندارد (جدول ۱).

### وزن نسبی و قطر بیضه:

وزن نسبی بیضه در گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ (به ترتیب ۰/۰۰۱ ± ۰/۰۷۳ و ۰/۰۰۳ ± ۰/۰۷۴) نسبت به گروه کنترل

اثرات منفی پروپیکونازول می‌باشد (۹). بافت‌های بدن نسبت به پروپیکونازول پاسخ‌های متفاوتی نشان می‌دهند. برخی از بافت‌ها حساسیت بیشتری به اثرات مزمن این سم دارند. اثرات منفی فقط به جنس ماده اختصاص ندارد بلکه جنس نر، بافت بیضه و عملکرد آن را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۲-۱۰). مطالعات متابولیکی، بیوشیمیایی، ژنومیکی نشان می‌دهد که پروپیکونازول با تولید رادیکال‌های آزاد و اکسیژن‌های واکنش پذیر سبب القای استرس اکسیداتیو در جانوران شده و از این طریق بر گلیکولیز، زنجیره تنفسی میتوکندری، تولید ATP، متابولیسم اسید آمینه، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و سم زدایی سلولی اثر می‌گذارد (۱۴، ۱۳). اثرات سموم تریازولی در شرایط *In Vitro* و *In Vivo* متفاوت می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که سموم پروپیکونازول، تریادیمفن و میکلوبوتانیل در شرایط *In Vitro* سبب کاهش سطح استرادیول، پروژسترون و تستوسترون می‌شود اما تریادیمفن سطح تستوسترون بیضه‌ای و سرمی را در شرایط *In Vivo* افزایش می‌دهد (۱۶، ۱۵). افزایش فاصله آنوجینیتال (anogenital)، وزن نسبی کبد، وزن بیضه، پروستات و هیپرتروفی سلول‌های کبدی از دیگر آثار اکثر قارچ کش‌های تری آزولی از جمله پروپیکونازول می‌باشد (۱۷). مطالعات *In Vivo* همکاران نشان می‌دهد که اثر طولانی مدت سم پروپیکونازول باعث مهار فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز و کاهش نسبت RNA/DNA می‌شود (۱۸). گزارشات مختلفی از اثرات سموم آزولی بر سیستم آندوکرینی و تولید مثلی ارائه شده است. برخی بر این باورند که این ترکیب بر سیستم تولید مثلی و عملکرد آن اثری ندارد ولی برخی از محققین اعتقاد دارند که این سم می‌تواند بر سیستم آندوکرین و فرآیند رشد و نمو و عملکرد تولید مثلی اثر منفی داشته باشد (۱۹). بنابراین با توجه به گزارشات مختلف در خصوص شیوع بالای اختلالات تولید مثلی و همچنین به دلیل ساختار فعال و بسیار حساس بافتهای زاینده از جمله بیضه و دستگاه تولید مثلی به عوامل خارجی و استفاده گسترده از اینگونه سموم در کشاورزی، در مطالعه حاضر به بررسی تأثیر سم پروپیکونازول بر تغییرات هورمون تستوسترون و ساختار بافت بیضه در موش‌های آزمایشگاهی پرداخته شده است.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش نر بالغ نژاد NMRI با وزن تقریبی ۳۰ تا ۳۵ گرم و میانگین سنی ۱۲ هفته از انستیتو پاستور شمال کشور تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. موش‌ها جهت سازگاری با محیط حدود یک هفته در قفس‌های مجزا نگهداری شدند. حیوانات تحت شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵-۵۰ درصد و دوره نوری، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی

اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ششم و کنترل مشاهده نشده است. با اندازه‌گیری قطر لوله‌های اسپرم‌ساز مشخص گردید که در گروه‌های آزمایشی ۲ قطر لوله‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار داشته ولی بین گروه آزمایشی ۱ و ششم با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نبوده است (جدول ۱).

#### تعداد سلول‌های لایدیگ و سرتولی:

تعداد سلول‌های لایدیگ در گروه‌های آزمایشی ۱ ( $0.695 \pm$ ) و ۲ ( $0.72 \pm$ ) و گروه آزمایشی ۳ ( $0.860 \pm$ ) نسبت به گروه کنترل ( $0.731 \pm$ ) کاهش معنی‌داری پیدا کرده است. بررسی میکروسکوپی نشان می‌دهد که سلول‌های سرتولی در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشته است (جدول ۱).

#### میزان تستوسترون سرم خون:

میزان غلظت هورمون تستوسترون در گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ (به ترتیب  $4.472 \pm 0.65$  و  $4.142 \pm 0.14$ ) نسبت به گروه کنترل ( $3.032 \pm 0.88$ ) کاهش معنی‌داری نشان نداد. همچنین بین گروه ششم ( $2.142 \pm 0.8$ ) و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (نمودار ۲).

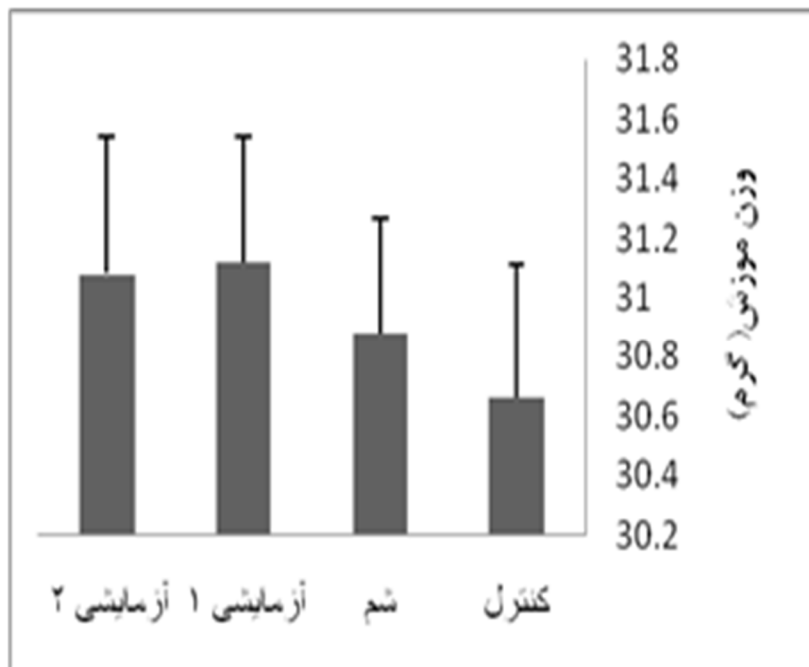
وگروه ششم ( $0.076 \pm 0.004$ ) اختلاف معنی‌داری نشان نداده است. قطر بیضه در گروه‌های دریافت‌کننده سم در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته و ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است (جدول ۱).

#### سلول‌های ژرمینال و اسپرماتوسیت‌ها:

با شمارش سلول‌های ژرمینال و اسپرماتوسیت‌ها در واحد سطح، میانگین تعداد سلول‌های ژرمینال در گروه آزمایشی ۲ ( $0.120 \pm$ ) نسبت به گروه کنترل ( $0.233 \pm$ ) کاهش معنی‌داری نشان داده ( $P < 0.05$ ) ولی در گروه آزمایشی ۱ (به ترتیب  $0.678 \pm$ ) نسبت به گروه کنترل کاهش یافته ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. تعداد سلول‌های ژرمینال در گروه ششم ( $0.56 \pm$ ) در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نداده است (جدول ۱). همچنین تعداد اسپرماتوسیت‌ها در گروه آزمایشی ۱ و ۲ (به ترتیب  $1.90 \pm 0.50$  و  $1.58 \pm 0.58$ ) نسبت به گروه کنترل ( $1.72 \pm 0.75$ ) کاهش یافته ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

#### تعداد اسپرماتیدها و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز:

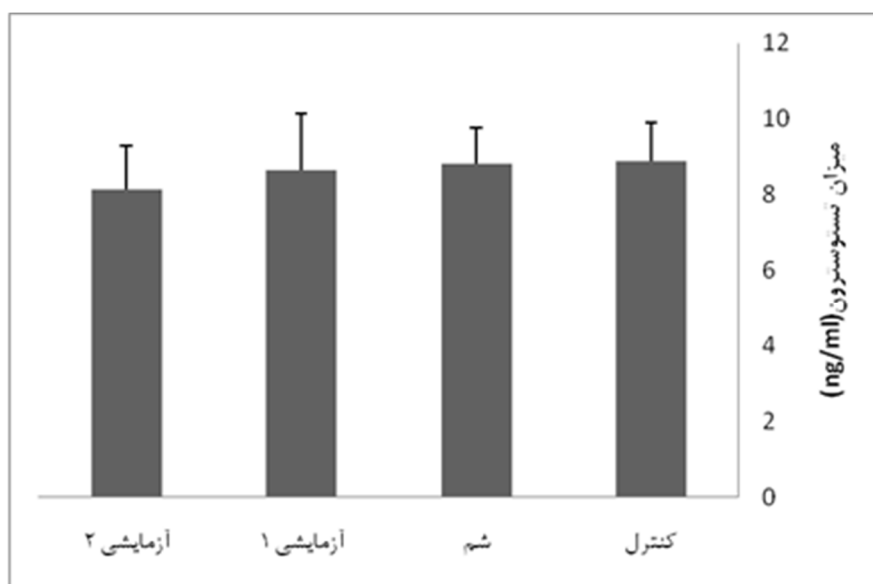
تعداد اسپرماتیدها در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل کاهش یافته ولی از لحاظ آماری معنی‌داری نبوده است. همچنین



نمودار (۱): مقایسه میانگین وزن موش در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

**جدول (۱):** مقایسه میانگین پارامترهای مورد مطالعه در گروه‌های مختلف حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها می‌باشد.

گروه‌ها	گروه کنترل	گروه ششم	گروه آزمایشی ۱ (۰/۵ mg/kg)	گروه آزمایشی ۲ (۱/۵ mg/kg)	پارامتر
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE	
وزن نسبی بیضه (گرم)	۰/۰۷۶±۰/۰۰۶a	۰/۰۷۶±۰/۰۰۴a	۰/۰۷۳±۰/۰۰۱ a	۰/۰۷۴±۰/۰۰۳ a	
قطر بیضه (mm)	۵/۴۹±۰/۱۵۵ a	۵/۴۵±۰/۰۳ a	۵/۳۶±۰/۱ a	۵/۳۱±۰/۰۶۵۹ a	
سلول ژرمینال	۹/۰۲±۰/۲۳۳a	۹/۰۱±۰/۵۶ a	۸/۹۶±۰/۶۷۸ a	۸/۲۴±۰/۱۲۰ b	
اسپرمتوسیت‌ها	۲۰/۷۲±۱/۹۰	۲۰/۷۵±۱/۷۲	۲۰/۵۰±۰/۷۶۷	۱۹/۵۸±۱/۷۲	
اسپرمتیدها	۷/۱۴±۰/۶۷۸	۷/۰۶±۰/۲۵	۶/۷۴±۰/۱۵	۶/۶۶±۰/۱۵	
سلول‌های سرتولی	۱/۲±۰/۱۱۴	۱/۲±۰/۰۴	۱/۱۸±۰/۸۰۰	۱/۱۶±۰/۵۰۹	
سلول‌های لیدینگ	۵/۴۳±۰/۲۳۱a	۵/۳۵±۰/۶۷a	۴/۷۲±۰/۶۹۵ b	۴/۴۲±۰/۸۶۰b	
قطر لوله‌های اسپرم ساز (میکرومترمربع)	۱۳۳±۳/۹۱۱a	۱۳۱/۵۲±۴/۲۳۱ a	۱۲۸/۵۶±۴/۱۲۸ a	۱۲۳/۹۶±۲/۲۴۵ b	



**نمودار (۲):** مقایسه میانگین میزان تستوسترون سرم در گروه‌های مختلف.

## بحث

سلول‌های ژرمینال، سلول‌های لیدینگ و قطر لوله‌های اسپرم ساز در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بوده است. این نتایج با مطالعات برخی از محققین، که در آن دریافت سموم تری آزولی را موجب آسیب مستقیم به سلول‌های بیضه یا آسیب

در این مطالعه تعداد سلول‌های ژرمینال، اسپرمتوسیت‌ها، اسپرمتیدها، سلول‌های سرتولی و لیدینگ، قطر لوله‌های اسپرم ساز و میزان تستوسترون سرمی کاهش یافته است. اما کاهش در

غیرمستقیم و با اختلال هورمونی موجب کاهش در سلول‌های اسپرماتوژنیک می‌گردند مطابقت دارد. این اختلالات به صورت کاهش تولید اسپرم، ایجاد اسپرم‌های ناقص و اختلال در تولید آندروژن بروز می‌کند (۲۰،۲۱). در این مطالعه تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک و سلول‌های سرتولی و لیدیگ کاهش یافته است. نتایج بسیاری از مطالعات که در مورد اثر تریازول‌ها بر روی سیستم تناسلی انجام پذیرفته، بیانگر تاثیر قابل ملاحظه‌ای از اینگونه مواد شیمیایی در دوزهای مورد استفاده و طولانی مدت بر روی اسپرم و پارامترهای آن می‌باشد (۹،۲۲). باید توجه داشت که پارامترهای اسپرم تنها به تعداد و یا حرکت آن بر نمی‌گردد، بلکه مورفولوژی اسپرم و ساختار کروموزوم آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بعضی از محققین در مطالعات خود گزارش کرده‌اند که سموم بر DNA، RNA و میزان پروتئین‌ها آثار سوء برجای می‌گذارند و سبب القای آسیب‌های ژنتیکی، سلولی، توقف تقسیم میتوز می‌شوند (۲۳). عده‌ای هم قائل به این هستند که اینگونه سموم تعادل اکسیدانی-آنتی‌اکسیدانی را در بدن برهم می‌زنند و شاید از طریق تولید رادیکال‌های آزاد، اکسیژن‌های واکنش پذیر و القای استرس اکسیداتیو و مهار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز انجام می‌دهند که نهایتاً سبب کاهش تولید ATP و القای مرگ سلولی می‌شوند (۱۲،۱۳،۱۷). به نظر می‌رسد کاهش در سلول‌ها در این مطالعه نیز از این مکانیسم تبعیت می‌کند. هرچند اثرات تخریبی سموم کشاورزی با هم متفاوت است اما در اکثر موارد دوز و زمان در معرض قرار گرفتن میزان اثر سم را تعیین می‌کند (۲۴). در این مطالعه نیز سم پروپیکونازول در غلظت بالاتر اثرات منفی بیشتری بر فاکتورهای مورد بررسی داشته است و این بیانگر آنست که اثرات منفی سم به دوز وابسته می‌باشد. برخی از بافت‌ها و سلول‌ها نسبت به سموم حساسیت بیشتری نشان می‌دهند و در این مطالعه تعداد سلول ژرمینال نسبت به سایر سلول‌های اسپرماتوژنیک بیشتر تحت تأثیر سم قرار گرفته و کاهش معنی‌داری را نشان داده است. در مطالعه ما طی بررسی میکروسکوپی بافت بیضه، مشخص گردید که تعداد سلول‌های اسپرماتید در هر دو گروه آزمایشی، نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده است. از آنجائیکه تعداد اسپرماتیدها به سلول‌های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت وابسته بوده و با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق که بیانگر کاهش تعداد در سلول‌های اسپرماتوژنیک می‌باشد، نهایتاً می‌تواند بر تعداد اسپرماتیدها نیز اثر گذاشته و تعداد آن را کاهش دهد. لذا به نظر می‌رسد که این کاهش گرچه ممکن است در محل آسیب دیده بیشتر دیده شود، ولی در مجموع نشان از کاهش سلول‌های اسپرماتید در کل بافت بیضه است. لذا استنباط این مسئله وجود دارد که پروپیکونازول نیز همانند سایر تری آزول‌ها با مکانیسم‌های

مختلف خود که بعضاً به صورت تخریب پروتئین‌های اسپرم، ایجاد ناهنجاری و یا تخریب کروموزوم دیده می‌شوند، نهایتاً باعث کاهش اسپرم شود (۲۵). اگرچه ممکن است این کاهش در روزها و ماههای اول، مخصوصاً در افرادی که به صورت ژنتیکی و ارثی دارای اسپرم مناسب با کیفیت بالا می‌باشند، اثر منفی قابل ملاحظه‌ای را بر جای نگذارد ولی مطمئناً برای آن گروه از افرادی که از کیفیت پائین پارامترهای اسپرم برخوردار بوده و از نظر کیفیت و کمیت آن در خط مرز باروری و یا ناباروری قرار دارند، بسیار خطر آفرین خواهد بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد سم پروپیکونازول باعث کاهش سلول‌های لیدیگ و قطر لوله‌های اسپرم ساز شده است. تحقیقات نشان می‌دهد که سموم با اثر بر میتوکندری که نیروگاه سلول محسوب می‌شود باعث کاهش یا توقف تولید انرژی شده و از این طریق موجب القای مرگ سلولی می‌شود. همچنین این سم تولید اکسیژن‌های واکنش پذیر را افزایش می‌دهد و شایان ذکر است که این سم با مهار رشد سلول‌ها و همانند سازی DNA نهایتاً با تأثیر منفی بر چرخه سلولی و تقسیم سلول‌ها، باعث کاهش سلول‌های لیدیگ و قطر لوله‌های اسپرم ساز می‌شود (۲۶). از عوامل احتمالی دیگری که باعث کاهش قطر لوله‌های اسپرم ساز شده می‌توان به کاهش رده‌های سلول‌های اسپرماتوژنیک در این لوله‌ها اشاره نمود که از نتایج این مطالعه می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات فتاحی و همکاران (۱۰۲) مطابقت دارد. اثر سموم بر تغییر سلول‌های لیدیگ و قطر لوله‌های اسپرم ساز متفاوت می‌باشد برخی از ترکیباتی از این دسته باعث افزایش شده و برخی دیگر اثر معکوس داشته، آن را کاهش می‌دهند (۱۰۲۰). همچنین در این مطالعه میزان تستوسترون خون کاهش یافته است. این کاهش در گروه آزمایشی ۲ که دوز بیشتری سم مورد استفاده قرار گرفت مشخص تر بود. این نتایج با یافته‌های Taxvig و همکاران (۶) مطابقت دارد. در تحقیق انجام شده توسط این محقق که سم پروپیکونازول را به تنهایی و ترکیب با سموم دیگر بر روی موش انجام گرفته است نتایج هورمونی نشان داد که میزان پروژسترون در تمامی گروه‌های تجربی افزایش ولی میزان تستوسترون کاهش معنی‌داری یافته است. همچنین در این مطالعه تعداد سلول‌های لیدیگ کاهش یافته است. لذا باید بعد از کاهش سلول‌های لیدیگ 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 بعد از کاهش تستوسترون اولین موضوعی که به ذهن می‌رسد تغییرات در سلول‌های لیدیگ باشد. با توجه به اینکه در این مطالعه تعداد سلول‌های لیدیگ کاهش یافته است متعاقب آن تولید این هورمون نیز کم شده است. با توجه به نقش تستوسترون در تمایز جنسی، احتمالاً این سم ایجاد یک ناباروری ثانویه را پایه گذاری می‌کند.

لقاح و روند اسپرماتوژنیزس تأثیر می‌گذارد و تحقیق حاضر هم به نتایج مشابهی رسیده است. البته این بدان معنی نخواهد بود که بلافاصله ناباروری ایجاد خواهد شد. ولی درگیر نمودن افراد جامعه به سمت یک ناباروری ناخواسته، مخصوصاً اگر در سنین جوانی و بلوغ اتفاق بیفتد، ممکن است در درازمدت اثرات منفی خود را نشان دهد.

### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از تمامی افرادی که در طرح تحقیقاتی همکاری داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

حال با بررسی جوانب مختلف به نظر می‌رسد که عواملی از قبیل مهار بیوسنتز استروئیدها، نقص در متابولیسم آندروژن‌ها و یا دژنره شدن سلول‌های لیدینگ در کاهش هورمون تستوسترون دخیل هستند. اما آنچه با نتایج این مطالعه می‌توان استنباط نمود آنست که کاهش تستوسترون بیشتر مربوط به کاهش و دژنره شدن تعداد سلول‌های لیدینگ می‌باشد. به نظر می‌رسد اثرات سوء سموم یاد شده بر روی بافتهای بدن تقریباً به اثبات رسیده است، منتها در افراد مختلف ممکن است با توجه به شرایط لازم تفاوت داشته باشد. گرچه همه محققین به یک نتیجه واحدی دست نیافته‌اند، اما همگی بر این مسئله اتفاق نظر دارند که تریازول‌ها بر روی باروری، شاخصه‌های

### References:

- 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.
- Fattahi E, Jorsaraei SG, Gardaneh M. The effects of carbaryl on the pituitary-gonad axis in male rats. *Iran J Reprod Med* 2012; 10(5):419-24.
- Battaglin W, Sandstrom M, Kuivila K, Kolpin D, Meyer M. Occurrence of azoxystrobin, propiconazole, and selected other fungicides in US streams, 2005–2006. *Water Air Soil Pollut* 2011; 218: 307–22.
- 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: 54–65.
- Allen JW, Wolf DC, George MH, Hester SD, Sun G, Thai SF, et al. Toxicity profiles in mice treated with hepatotumorigenic and non-hepatotumorigenic triazole conazole fungicides: Propiconazole, triadimefon, and myclobutanil. *Toxicol Pathol* 2006;34 (7): 853-62.
- Taxvig C, Hadrup N, Boberg J, Axelstad M, Bossi R, Bonefeld-Jørgensen EC, et al. In vitro-in vivo correlations for endocrine activity of a mixture of currently used pesticides. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013;272(3):757-66.
- Barton HA, Tang J, Sey YM, Stanko JP, Murrell RN, Rockett JC, et al. Metabolism of myclobutanil and triadimefon by human and rat cytochrome P450 enzymes and liver microsomes. *Xenobiotica* 2006; 36: 793–806.
- Tully DB, Bao W, Goetz AK, Ren H, Schmid JE, Strader LF, et al. Gene expression profiling in liver and testis of rat to characterize the toxicity of triazole fungicides. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 2006; 215: 260–73.
- Skolness SC, Blanksma J, Cavallin J, Churchill E, Durhan K, Jensen R, et al. Propiconazole Inhibits Steroidogenesis and Reproduction in the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). *Toxicological Sciences* 2013;132(2), 284–97.
- Li ZH, Zlabek V, Grabic R, Li P, Randak T. Modulation of glutathione-related antioxidant defense system of fish chronically treated by the fungicide propiconazole. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2010;152(3):392-8.
- Rockett JC, Narotsky MG, Thompson KE, Thillainadarajah I, Blystone CR, Goetz AK, et al. Effect of conazole fungicides on reproductive development in the female rat. *Reprod Toxicol* 2006;22(4):647-58.
- Soetaert A, Moens LN, Van DVK, Van LK, Naudts B, Blust R, et al. Molecular impact of

- propiconazole on *Daphnia magna* using a reproduction-related cDNA array. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2006;142(1-2):66-76.
13. Nesnow S, Grindstaff RD, Lambert G, Padgett WT, Bruno M, Ge Y, et al. Propiconazole increases reactive oxygen species levels in mouse hepatic cells in culture and in mouse liver by a cytochrome P450 enzyme mediated process. *Chem Biol Interact* 2011; 194(1):79-89.
  14. Bruno M, Moore T, Nesnow S, Ge Y. Protein carbonyl formation in response to propiconazole-induced oxidative stress. *J Proteome Res* 2009;8(4):2070-8.
  15. 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.
  16. Goetz AK, Dix DJ. Mode of action for reproductive and hepatic toxicity inferred from a genomic study of triazole antifungals. *Toxicol Sci* 2009;110(2):449-62.
  17. Goetz AK, Ren H, Schmid JE, Blystone CR, Thillainadarajah I, Best DS, et al. 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. Li ZH, Zlabek V, Li P, Grabic R, Velisek J, Machova J, Randak T. Biochemical and physiological responses in liver and muscle of rainbow trout after long-term exposure to propiconazole. *Ecotoxicol Environ Saf* 2010;73(6):1391-6.
  19. Taxvig C, Vinggaard AM, Hass U, Axelstad M, Metzдорff S, Nellemann C. Endocrine-disrupting properties in vivo of widely used azole fungicides. *Int J Androl* 2008;31(2):170-7.
  20. Fattahi E, Mosavi Moghaddam M, Khanbabaee RA. Effects of Tricyclazole on changes of testosterone and testes structure in mice. *J Babol Univ Med Sci* 2014; 16(12):78-83. (Persian)
  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. Sancho E, Fernández-Vega C, Villarreal MA, Andreu-Moliner E, Ferrando MA. Physiological effects of tricyclazole on zebrafish (*Danio rerio*) and post-exposure recovery. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2009;150(1):25-32.
  23. Ross JA, Leavitt SA, Schmid JE, Nelson GB. Quantitative changes in endogenous DNA adducts correlate with conazole in vivo mutagenicity and tumorigenicity. *Mutagenesis*. 2012 Sep;27(5):541-9.
  24. Fattahi E. Sublethal effects of tricyclazole fungicide in male mice, the structure of the testis and testosterone levels studies. *Int J Bioscience* 2015;6(4):92-8.
  25. el-Medany AH, Hagar HH. Effect of fluconazole on the fertility of male rabbits. *Arzneimittelforschung* 2002;52(8):636-40.
  26. Slaninova A, Smutna M, Modra H, Svobodova Z. A review: oxidative stress in fish induced by pesticides. *Neuro Endocrinol Lett* 2009; 30(1): 2-12.

## EFFECTS OF PROPICONAZOLE ON TESTIS TISSUE AND TESTOSTERONE HORMONE CHANGES IN NMRI MICE

Esmail Fattahi<sup>1\*</sup>, Shabnam haghghi asky<sup>2</sup>, Nasim Hayati Roodbari<sup>3</sup>

Received: 12 Aug , 2015; Accepted: 15 Oct , 2015

### Abstract

**Background & Aims:** Propiconazole is a systematic fungicide from triazoles that are widely used to control fungal diseases. This toxin causes cellular, genetic, and metabolic damages to animals. This study aimed to determine the effects of propiconazole on testis tissue and levels of testosterone hormone in mice.

**Material & Methods:** In this experimental study, 28 adult male mice with the average age of 12 weeks were randomly divided into four groups including control, sham and experimental one and two groups. Experimental 1 and 2 received 0.5 and 1.5 mg propiconazole/kg bw, respectively, by gavage for 4 weeks. Sham group received solvent and control group received no toxin. The mice were killed 7 days later and the histological appearance of testis was investigated. Testosterone hormone concentration was measured by radioimmunoassay.

**Results:** The number of germ cells and seminiferous diameters in experimental 2 group significantly reduced compared to the control group. Also the number of Leydig cells of the experimental groups significantly reduced compared to the control group. ( $p < 0.05$ )

**Conclusion:** The results suggest that testes are sensitive to propiconazole and their effects are dose-dependent.

**Keywords:** Propiconazole, Testis tissue, Leydig cells, Mouse

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

**Tel:** +98 9113255311

**Email:** e.fattahi@iauamol.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2015; 26(9): 742 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of biology, Ayatollah Amoli branch, Islamic Azad University, Amol, Iran. (Corresponding Author)

<sup>2</sup> MSc of Development biology, Department of biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran