

## بررسی اثر تزریقی فرمالدیید بر ساختار بافتی بیضه در موش سوری

دکتر زهرا طوطیان<sup>۱</sup>، دکتر محمد تقی شیبانی<sup>۱</sup>، دکتر سیمین فاضلی‌پور<sup>۲</sup>، دکتر مهدی تقی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

<sup>۲</sup> استادیار گروه آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

<sup>۳</sup> مریبی دانشکده تربیت بدنی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی

### چکیده

سابقه و هدف: فرمالدیید از جمله مواد شیمیایی است که بطور وسیع و در موارد مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به این که مصرف این ماده می‌تواند موجب کاهش تحرک و زنده ماندن اسپرم‌ها و یا غیرطبیعی شدن آنها گردد و تاکنون مطالعه دقیقی بر روی آن انجام نگرفته است، مطالعه ساختار بافتی بیضه که تولید اسپرم را به عهده دارد ضروری خواهد بود.

روش بررسی: در این تحقیق تجربی-کیفی، ۳۰ سر موش سوری پس از تعیین وزن به چهار گروه مداخله تجربی و یک گروه شاهد (کنترل) تقسیم شدند. در این مطالعه، فرمالدیید با دوزهای مختلف به مدت ۴۰ روز به روش داخل‌صفاقی (IP) مورد استفاده قرار گرفت. جهت تهیه نمونه‌های بافتی قبل از بیهوده نمودن، موشهای را وزن کرده و پس از خارج نمودن بیضه‌ها و انجام مراحل بافتی و رنگ‌آمیزی به روش H&E، مقاطع تهیه شده از بافت بیضه بوسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: در مقایسه گروه‌های تجربی با گروه شاهد، نامنظمی در برخی از لوله‌های اسپرم‌ساز، بهم‌خوردگی نظم سلولی، کاهش تراکم سلولهای اسپرم‌ساز، افزایش فاصله بین لوله‌های اسپرم‌ساز، نامنظمی در بافت بینایی‌بین لوله‌ها، بینگی و واکوئله شدن سیتوپلاسم سلولهای لیدیگ و ضخیم شدگی غشاء پایه اپیتلیوم اسپرماتوژنیک مشاهده گردید. همچنین تفاوت وزن اولیه و ثانویه موشهای در مقایسه گروه‌های تجربی با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که فرمالدیید تزریقی، علاوه بر کاهش وزن بدن می‌تواند موجب تغییراتی در بافت بیضه و احتمالاً افزایش عقیمی گردد.

واژگان کلیدی: فرمالدیید، بافت بیضه، اسپرم، ناباروری.

### مقدمه

گردیده است (۲، ۳). محققان دیگر ضمن بررسی بافت بیضه، تخریب هسته سلولهای لیدیگ را متعاقب استنشاق فرمالدیید گزارش نمودند (۴). همچنین نشان داده شده است که مصرف فرمالدیید همراه آب مصرفی در رت (rat) می‌تواند موجب تغییراتی در مخاط معده گردد (۵، ۶). تحقیقات دیگری در زمینه اثر خوارکی فرمالدیید در بلدرچین بر کاهش وزن بدن و بیضه انجام گرفته است (۷). محققان دیگر نیز کاهش وزن بدن، در اثر تزریق داخل صفاقی فرمالدیید را گزارش نموده‌اند (۸). گزارش‌هایی نیز در دست است که حکایت از اثر فرمالدیید تزریقی بر کاهش تستوسترون در رت دارد (۴، ۸). همچنین فرمالدیید تزریقی در موش نر توانسته است موجب افزایش اسپرم‌های غیرطبیعی شود (۹). با توجه به مصرف

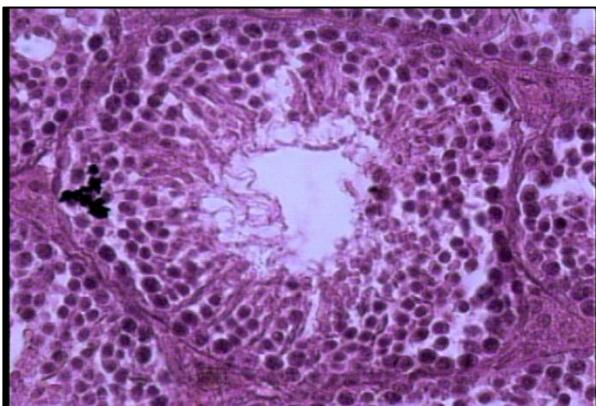
فرمالدیید به عنوان یکی از مهمترین مواد شیمیایی تجاری به فرمول شیمیایی HCHO است که در ساخت بعضی از وسایل مصرفی انسان، مواد ضدعفونی‌کننده و استریل‌کننده و فیکس‌نمودن اجسام (کاداور) و بافت‌های بدن بکار می‌رود (۱). مطالعاتی بر روی اثر استنشاقی فرمالدیید بر مخاط بینی، صورت گرفته و تغییرات هیستولوژیکی در اپیتلیوم تنفسی و بویایی مخاط بینی، نای و برونشیول‌های ریوی مشاهده

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، گروه علوم پایه،

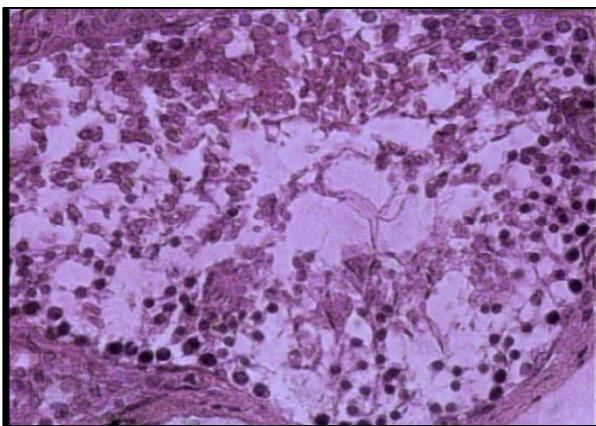
دکتر زهرا طوطیان (email: tootianz@ut.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۸۵/۳/۴

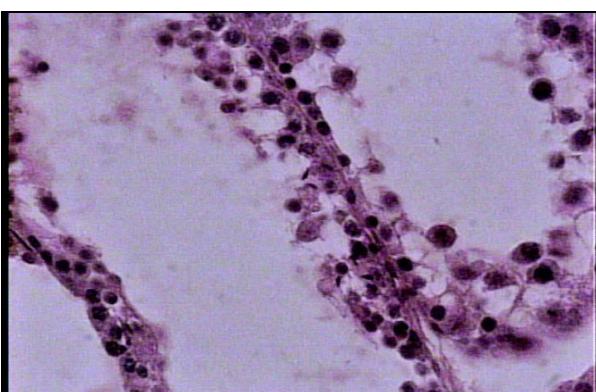
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۵/۷/۱۶



شکل ۱- بخشی از مقطع بافتی بیضه موش سوری نژاد Balb/c (گروه شاهد). در این تصویر یک لوله اسپرم‌ساز طبیعی با نظم خاص سلول‌های جنسی یا دودمان منوی دیده می‌شود (بزرگنمایی ۴۰ برابر).



شکل ۲- بخشی از مقطع بافتی بیضه موش سوری نژاد Balb/c (گروه تجربی II). در این تصویر در همه ریختگی نظم سلولی در سلول دودمان منوی و دُنره شدن اسپرماتوسیت‌های اولیه دیده می‌شود (بزرگنمایی ۴۰ برابر).



شکل ۳- بخشی از مقطع بافتی بیضه موش سوری نژاد Balb/c (گروه تجربی II). در این تصویر کاسته شدن تعداد سلولهای اسپرماتید و اسپرماتوزویید در قسمت‌های مرکزی لوله‌های اسپرم‌ساز مشاهده می‌شود. (بزرگنمایی ۴۰ برابر).

فرمالدیید به طرق مختلف و ایجاد تغییراتی در بعضی از ساختارهای بدن، مطالعه بر روی بافت بیضه که در باروری نقش بسزایی دارد و تاکنون مطالعه دقیقی هم بر روی آن انجام نگرفته است، ضروری خواهد بود.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی-کیفی، تعداد ۳۰ سر موش سوری نر بالغ نژاد Balb/c، در فروردین ماه از مرکز سرم‌سازی حصارک تهیه و به آزمایشگاه دامپزشکی دانشگاه تهران انتقال یافت. ابتدا وزن موش‌ها که توسط فیکساتیوبوئن شناسنامه‌دار شده بودند، تعیین گردید و سپس به یک گروه شاهد (کنترل) و ۴ گروه مداخله تجربی (I ، II ، III ، IV) تقسیم شدند. گروه شاهد تنها سرم فیزیولوژی، گروه تجربی I فرمالدیید به میزان ۲/۵ mg/kg، گروه تجربی II فرمالدیید به میزان ۷/۵ mg/kg، گروه تجربی III فرمالدیید به میزان ۱۰ mg/kg و گروه تجربی IV فرمالدیید به میزان ۱۰ mg/kg به روش داخل صفاتی (IP) و به مدت ۴۰ روز دریافت نمودند. قبل از پیهosh نمودن موش‌ها بوسیله کلروفرم، وزن آنها تعیین و جهت مطالعه ساختار بافتی، بیضه چپ از بدن خارج شد و پس از شستشو توسط سرم فیزیولوژی در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. پس از انجام مراحل آمادش بافتی و رنگ‌آمیزی به روش H&E، مقطع تهیه شده با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. جهت تعیین نسبت پارامترهای مورد نظر از هر گروه ۶ حیوان و از بیضه هر حیوان ۶ مقطع بصورت تصادفی (رندهم) انتخاب و از هر مقطع سه میدان دید مورد مشاهده قرار گرفت و پارامترهای مورد نظر تعیین و بین گروه‌ها مقایسه شد (۱۰).

## یافته‌ها

نتایج بدست آمده نشان داد که در اثر تزریق دوزهای مختلف فرمالدیید، اختلاف معنی‌داری بین وزن بدن گروه شاهد با گروه‌های مداخله تجربی وجود دارد (جدول ۱). در مقایسه بافت بیضه بین گروه‌های تجربی با گروه شاهد، تفاوت‌های آشکاری وجود داشت، بطوری که در گروه تجربی I در دو پنجم (۴۰٪)، در گروه تجربی II در سه پنجم (۶۰٪)، در گروه تجربی III در چهار پنجم (۸۰٪) و در گروه تجربی IV در سه پنجم (۶۰٪) لوله‌های اسپرم‌ساز به مریختگی در نظم سلولی و کاهش تراکم آنها در مقایسه با گروه شاهد (تصویر ۱) مشاهده گردید (تصاویر ۲ و ۳).

به علاوه در گروه تجربی I در یک پنجم (۲۰٪)، در گروه تجربی II در دو پنجم (۴۰٪)، در گروه تجربی III در سه پنجم (۶۰٪) و در گروه تجربی IV در دو پنجم (۴۰٪) لوله‌های اسپرم‌ساز و محتویات آنها دژنراسیون دیده شد (تصویر ۲). همچنین در گروه تجربی I در یک پنجم (۲۰٪)، در گروه تجربی II در دو پنجم (۴۰٪)، در گروه تجربی III در سه پنجم (۶۰٪) و در گروه تجربی IV در دو پنجم (۴۰٪) فضای بین لوله‌های اسپرم‌ساز، واکوئله شدن سلولهای لیدیگ وجود داشت (تصویر ۴). در گروه تجربی I، تغییر قابل ذکر در ضخامت غشاء پایه مشاهده نشد. در صورتی که در گروه تجربی II در یک پنجم (۲۰٪) و در گروه تجربی III و IV در دو پنجم (۴۰٪) غشاء‌های پایه در اپیتیلیوم ژرمنیال، ضخیم‌شدنگی مشاهده گردید (تصویر ۵). از مشاهدات دیگر این مطالعه افزایش فاصله و پراکندگی بین لوله‌های اسپرم‌ساز بود که در گروه تجربی I در دو پنجم (۴۰٪)، در گروه تجربی II و III در سه پنجم (۶۰٪) و در گروه تجربی IV در چهار پنجم (۸۰٪) لوله‌های اسپرم‌ساز نسبت به گروه شاهد (تصویر ۱) دیده می‌شد (تصویر ۶).

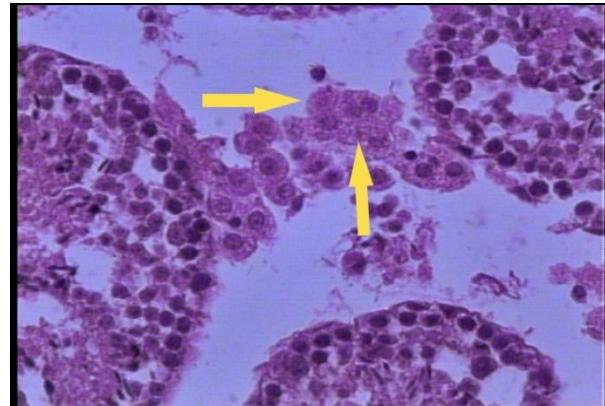
جدول ۱- اثر دوزهای مختلف فرمالدیید بصورت تزریق داخل صفاقی (IP) بر وزن بدن در موش سوری نزاد Balb/c

دوز فرمالدیید (mg/kg)	تغییر وزن بدن	صفر	۲/۵	۵	۷/۵	۱۰
13.83		12.17	8.50	5.92	7/5	14.58
±.44		±2.50	±2.20	±.821	±.76	

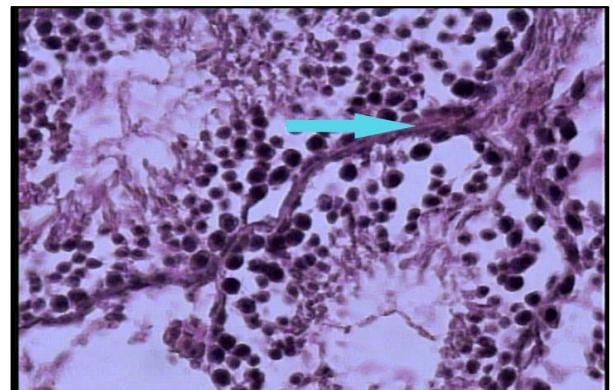
### بحث

در این مطالعه اختلاف معنی‌داری بین وزن بدن گروه‌های تجربی و گروه شاهد وجود داشت. محققین دیگر نیز کاهش وزن بدن را در اثر تزریق داخل صفاقی فرمالدیید (به میزان ۱۵ mg/Kg، ۱، ۵، ۱۰، ۱۵ mg/kg در روز طی یک دوره بالای ۳۰ روز) گزارش نموده‌اند (۸).

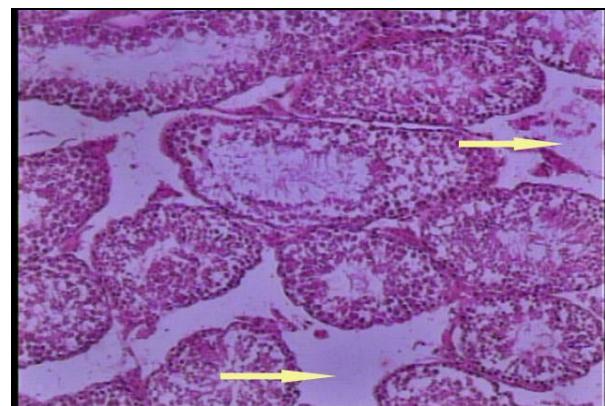
همچنین فرمالدیید می‌تواند موجب دژنراسیون لوله‌های اسپرم‌ساز شود. محققان دیگر نشان داده‌اند که مصرف فرمالدیید به میزان ۵-۱۵ mg/kg بمدت ۳۰ روز می‌تواند موجب تغییراتی در بافت بیضه و سلولهای لیدیگ گردد (۴). بعلاوه در مورد اثر فرمالدیید تزریقی در کوتاه مدت در موش مطالعه‌ای صورت گرفته و تغییرات پاتولوژیک در بافت بیضه و Germ cells را نشان داده است (۹). مطالعه دیگری نیز در ارتباط با اثر فرمالدیید در رت انجام گرفته و در آن تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت بیضه مشاهده شده است (۱۱). همچنین در این بررسی مشخص گردید که فرمالدیید می‌تواند



شکل ۴- بخشی از مقطع بافتی بیضه موش سوری نزاد (گروه تجربی IV). در این تصویر تغییراتی در سلولهای لیدیگ، بافت بینابینی لوله‌های اسپرم‌ساز از قبیل واکوئله شدن و کاهش رنگ اسیدوفیلیک سیتوپلاسم در مقایسه با گروه شاهد دیده می‌شود (پیکان) (بزرگنمایی ۴۰ برابر).



شکل ۵- بخشی از مقطع بافتی بیضه موش سوری نزاد (گروه تجربی II). در این تصویر ضخیم‌شدنگی غشاء پایه در اپیتیلیوم ژرمنیال دیده می‌شود (پیکان) (بزرگنمایی ۴۰ برابر).



شکل ۶ - بخشی از مقطع بافتی بیضه موش سوری نزاد (گروه تجربی II). در این تصویر افزایش فاصله بین برخی از لوله‌های اسپرم‌ساز دیده می‌شود (پیکان) (بزرگنمایی ۴۰ برابر).

با توجه به اینکه فرمالدئید به عنوان مهم‌ترین ماده فیکساتیو در سالن تشریح و آزمایشگاه‌های آسیب‌شناسی و بافت‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند هشداری برای کارکنان در این بخش‌ها باشد. لذا رعایت نکات ایمنی مانند نصب تهویه مناسب و استفاده از ماسک‌های تنفسی و دستکش ضروری به نظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

لازم است مراتب قدردانی و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران که بودجه این طرح را در اختیار اینجانب قرار دادند، اعلام نمایم.

محبوب به هم‌خوردگی نظم سلولی در لوله‌های اسپریم‌ساز و دزنه شدن آنها گردد. سایر محققان نشان داده‌اند که مصرف فرمالدئید استنشاقی و بعضی از داروها مانند ۵-هیدروکسی‌تریپتامین می‌تواند موجب آتروفی لوله‌های اسپریم‌ساز گردد (۱۲، ۱۳). واکوئله شدن سلولهای لیدیگ یکی از مشاهدات دیگر این مطالعه بود. در این رابطه بررسی اثر فرمالدئید بر ساختار و عملکرد سلولهای لیدیگ گزارش شده است (۴). یکی دیگر از نتایج این تحقیق، ضخیم شدن غشاء پایه اپیتلیوم ژرمینال بود. در این زمینه، هرووین نیز توانسته است تغییرات مشابهی را در بافت بیضه ایجاد نماید (۱۴) که این تغییرات می‌توانند موجب کاهش باروری گردد.

## REFERENCES

- Korpan YI, Gonchar MV, Sibirny AA, Martelet C, El skaya AV, Gibson TD, Soldatkin AP. Development of highly selective and stable potentiometric sensors for formaldehyde determination. *Biosensors and Bioelectronics*. 2000; 15: 77-83.
- Dubreuil A, Bouley G, Godin J, Boudene C, Girard F. Continuous inhalation of small amounts of formaldehyde: experimental study in the rat. *European Journal of Toxicology and Environmental hygiene (Journal European De Toxicologie)*. 1976; 9: 245-50.
- Wilmer JW, Wouterson RA, Appeiman LW, Leeman WR. Subchronic (13 week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8 hour, intermittent versus 8 hour continuous exposure. *Toxicol – Lett*. 1989; 47(3): 287-93.
- Chowdhury AR, Gautam AK, Patel KG, Trivedi HS. Steroidogenic inhibition in testicular tissue of formaldehyde exposed rats. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1992; 36(3): 162-8.
- Til HP, Woutersen RA, Feron VJ, Holanders VHM, Falke. Two-year drinking-water study of formaldehyde in rats. *Food Chemistry and Toxicology* 1989; 27: 77-87.
- Tobe M, Naito K, Kurokawa Y. Chronic toxicity study of formaldehyde administered orally to rats. *Toxicology* 1989; 56: 79-86.
- Anwar MI, Khan MZ, Muhammad G, Bachaya A, Babar AM. Effect of dietary formalin on the health and testicular pathology of male Japanese quails (*Coturnix Coturnix Japonica*). *Vet Hum Toxicol*. 2001, 43(6): 330-3.
- Chowdhury AR, Gautam Ak, Patel KG, Trivedi HS. Steroidogenic inhibition in testicular tissue of formaldehyde exposed rats. *Indian Journal of Physiol, Pharmacol*. 1992; 36(3): 162-8.
- Tang M, Xie Y, Yi Y, Wang W. Effects of formaldehyde on germ cells of male mice. *Wei Sheng Yan Jiu* 2003; 32(6):544-8.
- Shankar E, Vaidya VS, Wang T, Bucci T, Mehendale HM. Streptozotocin-induced diabetic mice are resistant to lethal effects of thioacetamide hepatotoxicity. *Toxicol and Applied Pharmacol*. 2003; 188(2): 122-34.
- Zhou DX, Qiu SD, Zhang J, Tian H, Wang HX. The protective effect of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats. *Asian J Androl*. 2006; 8(5): 584-8.
- Anderson ME, Paparo AA, Martan J. Paraformaldehyde-induced fluorescence as a histochemical test for 5-hydroxytryptamine in the epididymis of the opossum. *J Anat*. 1979; 129(1):141-9.
- Ozen OA, Akpolat N, Singur A, Kus I, Zararsiz I, Ozacmak VH, Sarsilmaz M. Effect of formaldehyde inhalation on hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: an immunohistochemical study. *Toxicol Ind Health*. 2005; 21(10): 249-54.
- فاضلی پور سیمین، شکور عباس، طوطیان زهرا. مطالعه تغییرات هیستولوژیک بیضه موش سوری نژاد c Balb/c در اثر مصرف هرووین. چاپ مجله دانشکده پزشکی، ۱۳۸۵؛ سال ۲۱ شماره ۳: صفحات ۱۷-۱۲.