

تأثیر بخار فرمالدئید بر گنادوتروپین ها و آپوتوز سلول های زاینده بیضه در موش های صحرایی بالغ

*دکتر ابراهیم نصیری (PhD)^{۱،۲} - ملیحه سلطانی (MSc)^۱ - دکتر روح اله گازر (PhD)^۱ - دکتر فهیمه محمدقاسمی (PhD)^۱ - فریده حسینی (MSc)^۱

^۱نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

پست الکترونیک: enasiri@gums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۲/۰۴/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۷/۰۹

چکیده:

مقدمه: فرمالدئید (HCHO) گاز بی رنگی است که از آن به عنوان تثبیت کننده بافتی در حفظ بافت های تشریحی استفاده می شود. پژوهش های جدید نشان می دهد که بخار فرمالدئید در موش ها منجر به افزایش اپیوئیدهای درون ساز در پلازما می شود. اپیوئیدهای درون ساز ترشح گنادوتروپین ها را مهار هورمون آزادکننده گنادوتروپین مترشحه از هیپوتالاموس کاهش می دهد. بقای سلول های زاینده بیضه، وابسته به حضور گنادوتروپین است و کاهش آن منجر به آپوتوز سلول های زاینده می شود.

هدف: این مطالعه تعیین تغییر احتمالی هورمون های گنادوتروپین و آپوتوز سلول های زاینده در موش های صحرایی پس از قرارگیری در معرض بخار فرمالدئید بوده است. **مواد و روش ها:** این مطالعه تجربی بر ۲۴ سر موش صحرایی از نژاد Albino wistar با سن ۷ هفته انجام شد. حیوانات به طور تصادفی (بر اساس زمان مواجهه) به طور مساوی به دو گروه آزمایشی شامل: E1 (چهار روز در هفته روزی دو ساعت) و E2 (چهار روز در هفته روزی چهار ساعت) و یک گروه شاهد (بدون مواجهه) تقسیم شدند. موش های صحرایی گروه آزمایشی و شاهد پس از ۱۸ هفته زیر بیهوشی کشته شدند. غلظت سرمی هورمون های FSH و LH و تستوسترون با روش آزمایش ایمونو رادیومتری (IRMA) و آپوتوز سلول های زاینده بیضه موش به روش TUNEL اندازه گیری شد.

نتایج: کاهش معنی دار هورمون های FSH و LH و تستوسترون در گروه E2 نسبت به گروه کنترل وجود داشت ($P < 0.001$) ولی تغییر معنی دار در شاخص آپوتوز سلول های زاینده گروه E2 نسبت به گروه کنترل دیده نشد ($P = 0.31$).

نتیجه گیری: گرچه بخار فرمالدئید در غلظت و شرایط موجود در این مطالعه باعث کاهش معنی دار هورمون های گنادوتروپین در موش های صحرایی شد اما تأثیر معنی داری بر آپوتوز سلول های زاینده بیضه ندارد لذا به نظر می رسد آپوتوز سلول های زاینده بیضه موش های بالغ تنها وابسته به هورمون های گنادوتروپین نیست و امکان دخالت عوامل دیگر نیز در این خصوص وجود داشت.

کلیدواژه ها: آپوتوزیس / بیضه / فرمالدئید / موش های صحرایی / ویتامین سی

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و سوم شماره ۸۹، صفحات: ۷-۱

مقدمه

پوست، دهان و تنفس جذب می شود و سرعت توسط فرمالدئید دهیدروژناز موجود در کبد و اریتروسیت ها متابولیزه شده و متابولیت آن یعنی اسید فورمیک توسط جریان خون به بیشتر جاهای بدن برده می شود (۷). پژوهش های جدید نشان می دهد بخار فرمالدئید در موش ها منجر به افزایش اپیوئیدهای درون ساز، نیتریک اکساید و سیتوکین ها در پلازما می شود و بر فعالیت جنسی اثر می گذارد (۸-۱۰). اپیوئیدهای درون ساز ترشح گنادوتروپین ها را مهار و هورمون آزادکننده گنادوتروپین مترشحه از هیپوتالاموس را کاهش می دهد (۱۱ و ۱۲). نیتریک اکساید اگر وزن محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد را مهار می کند (۱۳ و ۱۴) که تأثیر آن بر آپوتوز،

فرمالدئید (HCHO) گازی است بی رنگ با بوی تند و تراکم نسبی ۱/۰۴ که در ۲۵ درجه سانتی گراد بیشترین انحلال را در آب دارد (۱ و ۲). فرمالدئید به عنوان تثبیت کننده بافتی در حفظ یافته های تشریحی استفاده می شود (۳). منابع حاوی فرمالدئید شامل سیگار، مواد قابل سوختن، الیاف بافتنی، پوشاک و پلاستیک، رزین مواد آرایشی، بهداشتی و مواد ضد عفونی کننده است (۴). مواجهه حاد با بخار فرمالدئید به طور عمده سبب سوزش مخاط چشم و دستگاه تنفسی فوقانی در انسان می شود (۲). این در حالی است که مواجهه طولانی تر به ایجاد تغییر هیستوپاتولوژی در مخاط تنفسی و نیز ایجاد تومور بینی در جوندگان منجر شده است (۵ و ۶). بخار فرمالدئید از راه

۱. گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

از اتمام مدت مواجهه هر یک از رت‌های گروه‌های آزمایش با کلروفورم بیهوش و سپس قطع نخاع شدند. ۵ سی‌سی خون با استفاده از سرنگ استریل از قلب استخراج شد و سپس با سانتریفوژ نمونه‌ها در ۱۵۰۰ rpm بمدت ۱۰ دقیقه، سرم جدا شد. همزمان بیضه‌های حیوان برداشته و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی برای ارزیابی آپوپتوز سلول‌های زاینده در محلول ثابت‌کننده بوئن نگهداری شد. مقدار LH, FSH و تستوسترون پلاسما با روش آزمایش ایمونورادیومتری (IRMA) بر اساس دستورکار شرکت تولیدکننده کیت (Serotec) و با استفاده از گاما کاتر اندازه شد. ارزیابی آپوپتوز سلول‌های زاینده به روش تانل با استفاده از کیت‌های شرکت Roch انجام شد. شاخص آپوپتوز با شمارش سلول‌های تانل مثبت در ۱۵۰ برش عرضی از مناطق لوله‌های منی‌ساز محاسبه شد. سلول‌های آپوپتوتیک در میکروسکوپ نوری با این رنگ‌آمیزی به رنگ قهوه‌ای تیره و سلول‌های غیرآپوپتوتیک، بنفش دیده می‌شدند. پس از شمارش سلول‌های اسپرمااتوگونیای آپوپتوتیک و غیرآپوپتوتیک شاخص آپوپتوز برای هر لوله منی‌ساز با فرمول زیر تعیین شد:

$$\text{شاخص آپوپتوز} = \frac{\text{تعداد سلولهای آپوپتوتیک}}{\text{تعداد کل سلولها}} \times 100$$

آنالیز آماری

مقادیر به‌صورت میانگین و خطای انحراف استاندارد نشان داده شده‌است. ارزیابی آماری داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام و در صورت معنی‌دار بودن اختلاف‌ها، مقایسه‌های دوگانه به روش Tukey بررسی شد. ارزش P کمتر از ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار فرض شد.

نتایج

الف) فرمالدئید موجب کاهش معنی‌دار هورمون‌های FSH, LH، و تستوسترون می‌شود (جدول ۱).
در این مطالعه میزان سرمی هورمون‌های FSH, LH و تستوسترون بین گروه‌ها از نظر آماری بررسی شد (بر اساس آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA) مقدار P محاسبه شد بدین ترتیب که :

بر اساس مقدار آن در نوع بافت و سلول متفاوت است و در برخی شرایط باعث القای آپوپتوز می‌شود. بقای سلول‌های زاینده بیضه وابسته به حضور گنادوتروپین است و کاهش آن منجر به آپوپتوز سلول‌های زاینده می‌شود (۱۶ و ۱۵). بنابراین، به‌نظر می‌رسد در مواجهه با بخار فرمالدئید احتمال تغییر در ترشح گنادوتروپین و تستوسترون وجود داشته باشد. هدف این مطالعه بررسی تغییر احتمالی هورمون‌های گنادوتروپین، تستوسترون و میزان آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه در موش‌های صحرایی در مواجهه با بخار فرمالدئید است.

مواد و روش‌ها

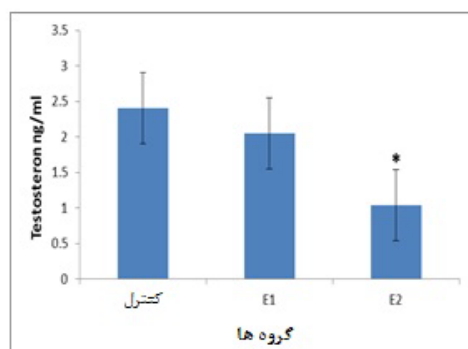
این مطالعه تجربی بر ۲۴ سر رت ۷ هفته‌ای از نژاد Albino Wistar که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده‌بود انجام شد. این حیوانات به طور تصادفی و به تعداد مساوی بر اساس زمان مواجهه با بخار فرمالدئید به دو گروه آزمایشی شامل: E1 (چهار روز در هفته روزی دو ساعت) و E2 (چهار روز در هفته روزی چهار ساعت) و یک گروه شاهد (بدون مواجهه) تقسیم شدند. میانگین غلظت بخار فرمالدئید موجود در سالن تشریح برای مواجهه گروه‌های آزمایشی، روزانه توسط دستگاه سنجش فرمالدئید (مدل sv-8312 ساخت کشور سوئیس) در ابتدا، اواسط و انتهای مطالعه اندازه‌گیری و تنظیم شد. غلظت بخار فرمالدئید در حالت تهویه روشن ۱/۱۵ppm تا ۱/۹ و در حال تهویه خاموش ۱/۵ ppm تا ۱/۹ است که ۱/۹-۱ ppm در نظر گرفته شد. دمای سالن ۲۰ تا ۲۶ درجه سانتیگراد و فشار هوای داخل سالن نیز ۷۶۰ تا ۷۶۳ atm بود. تمام گروه‌ها در ساعت‌های غیرمواجهه در اتاق مخصوص نگهداری حیوانات آزمایشگاهی به دور از محل مواجهه که در آن غلظت فرمالدئید صفر ppm و حرارت ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتیگراد بود، در نور کافی و تهویه مناسب نگهداری می‌شدند. رژیم غذایی تمام گروه‌ها یکسان بود که در دو نوبت صبح و عصر در اختیار آنها قرار می‌گرفت. کلیه گروه‌ها آب مورد نیاز خود را به صورت ۲۴ ساعته در اختیار داشتند. قفسه‌های گروه‌های آزمایشی به مدت ۱۸ هفته و بر اساس زمان‌بندی یاد شده هر بار روی میزی در ارتفاعی هم سطح اجساد و به فاصله ۱۵ سانتی‌متری قرار داده می‌شد. پس

- تغییر سطح سرمی LH (ng/ml) در گروه E2 (۰/۹۱۲۵±۰/۱۸۸۴۵) نسبت به گروه کنترل (۰/۲۴۲۳۴±۰/۱۲۵) معنی‌دار بود (P=۰/۱۳).

در نمودار ۲ میانگین سطح سرمی LH به تفکیک گروه‌ها آمده است.

- تغییرات سطح سرمی تستوسترون (ng/ml) در گروه E2 (۱/۴۵±۰/۱۸۶۱۳) نسبت به گروه کنترل (۲/۴±۰/۴۷۰۹۴) معنی‌دار بوده است (P=۰/۰۴۷).

در نمودار ۳ میانگین سطح سرمی تستوسترون به تفکیک گروه‌ها آمده است.

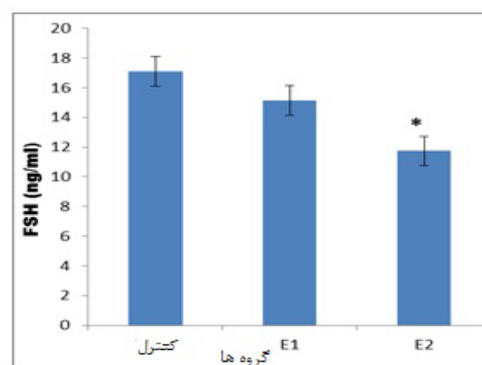


نمودار ۳. تأثیر بخار فرمالدئید روی سطح سرمی تستوسترون در سلول‌های زاینده بیضه در موش صحرایی بالغ. E1 (چهار روز در هفته روزی دو ساعت) و E2 (چهار روز در هفته روزی چهار ساعت) و یک گروه شاهد بدون مواجهه با فرمالدئید. علامت (*) نشانگر معنی‌دار بودن (P<۰/۰۵) اختلاف میانگین گروه E2 با گروه کنترل می‌باشد.

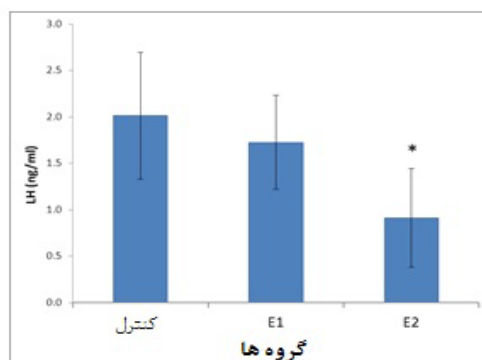
E1 (چهار روز در هفته روزی دو ساعت) و E2 (چهار روز در هفته روزی چهار ساعت) و یک گروه شاهد بدون مواجهه با فرمالدئید. علامت (*) نشانگر معنی‌دار بودن (P<۰/۰۵) اختلاف میانگین گروه E2 با گروه کنترل می‌باشد.

- تغییر میزان سرمی FSH (ng/ml) در گروه E2 (۱/۲۰۲۶۷±۱۲/۸۶۲۵) نسبت به گروه کنترل (۱۷/۱۱۲۵±۰/۵۶۲۶۶) معنی‌دار بود (P=۰/۰۳۶).

در نمودار ۱ میانگین سطح سرمی FSH به تفکیک گروه‌ها آمده است.



نمودار ۱. تأثیر بخار فرمالدئید روی سطح سرمی FSH در سلول‌های زاینده بیضه در موش صحرایی بالغ. E1 (چهار روز در هفته روزی دو ساعت) و E2 (چهار روز در هفته روزی چهار ساعت) و یک گروه شاهد بدون مواجهه با فرمالدئید. علامت (*) نشانگر معنی‌دار بودن (P<۰/۰۵) اختلاف میانگین گروه E2 با گروه کنترل می‌باشد.

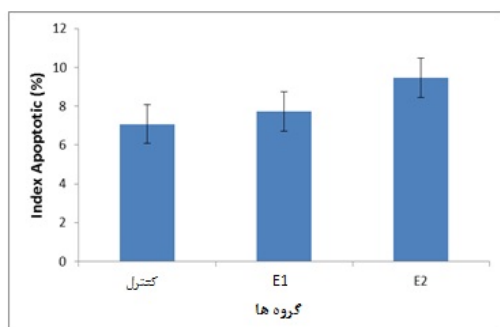


نمودار ۲. تأثیر بخار فرمالدئید روی سطح سرمی LH در سلول‌های زاینده بیضه در موش صحرایی بالغ. E1 (چهار روز در هفته روزی دو ساعت) و E2 (چهار روز در هفته روزی چهار ساعت) و یک گروه شاهد بدون مواجهه با فرمالدئید. علامت (*) نشانگر معنی‌دار بودن (P<۰/۰۵) اختلاف میانگین گروه E2 با گروه کنترل می‌باشد.

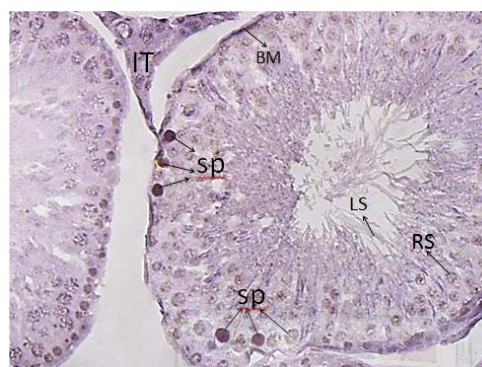
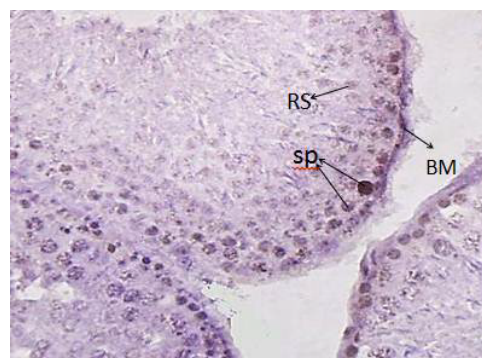
جدول ۱. اثر فرمالدئید بر سطح سرمی FSH LH و تستوسترون رت بالغ

گروه‌های مورد مطالعه	سطح سرمی FSH (ng/ml)	سطح سرمی LH (ng/ml)	سطح سرمی تستوسترون (ng/ml)
کنترل	۱۷/۱۱۲۵±۰/۵۶۲۶۶	۲/۰۱۲۵±۰/۲۴۲۳۴	۲/۴±۰/۴۷۰۹۴
E1	۱۵/۱۲۵±۱/۳۷۹۰۲	۱/۷۲۵±۰/۱۷۹۰۴	۲/۰۵±۰/۳۸۲۶۶
E2	۱۲/۸۶۲۵±۱/۲۰۲۶۷*	۰/۹۱۲۵±۰/۱۸۸۴۵*	۱/۴۵±۰/۱۸۶۱۳

ب) تأثیر نداشتن فرمالین بر آپوپتوز سلول‌های زاینده (شکل ۱)



نمودار ۴. تاثیر فرمالدئید بر آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه در موش صحرایی بالغ. E1 (چهار روز در هفته روزی دو ساعت) و E2 (چهار روز در هفته روزی چهار ساعت) و گروه شاهد بدون مواجهه با بخار فرمالدئید.



شکل ۱. رنگ آمیزی تانل سلول‌های زاینده مجرای منی ساز بیضه در سه گروه کنترل (شکل بالا)، E1 (شکل وسط) و E2 (شکل پایین). سلول‌های آپوپتوتیک تانل مثبت، به رنگ قهوه‌ای تیره نشان داده شده است. اسپرماتوگونی SP، اسپرماتید دراز نابالغ LS اسپرماتید گرد RS، غشای پایه BM، بافت بینابینی IT.

E1 (چهار روز در هفته روزی دو ساعت) و E2 (چهار روز در هفته روزی چهار ساعت) و یک گروه شاهد بدون مواجهه با فرمالدئید. علامت (*) نشانگر معنی دار بودن ($P < 0.05$) اختلاف میانگین گروه E2 با گروه کنترل است.

جدول ۲. اثر فرمالدئید بر آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه	
گروه‌های مورد مطالعه	اندیکس آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه \pm خطای استاندارد
کنترل	۷/۰۸۱۲ \pm ۰/۹۱۰۸۴
E1	۷/۷۲۴ \pm ۱/۱۰۱۴
E2	۹/۴۶۰۸ \pm ۱/۸۷

نتیجه گیری

نتایج این بررسی نشان داد که در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید، کاهش معنی‌داری در ترشح FSH، LH و تستوسترون در پلازما ایجاد می‌شود. چون در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید چندین عامل شامل: اویپوئیدها، اکسید نیتریک و رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابند (۸-۱۰) احتمال می‌رود که افزایش این عامل‌ها دلیلی برای کاهش میزان FSH، LH و تستوسترون در پلازما موش‌های تیمار شده با فرمالدئید باشد.

کاهش گنادوتروپین‌ها در موش‌های معتاد دیده شده است و تجویز اویپوئیدهای اگزورژن همانند مرفین باعث کاهش میزان سرمی تستوسترون می‌شود. به نظر می‌رسد اویپوئیدهای اندوزن ترشح گنادوتروپین را با مهار GnRH از هیپوتالاموس

تغییر اندیکس آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه بین گروه‌ها از نظر آماری بررسی شد (بر اساس آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA) و مقدار P محاسبه شد. افزایش آپوپتوز در گروه‌های آزمایش نسبت به گروه کنترل وجود داشت اما نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

در نمودار ۴ تغییر اندکس آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه به تفکیک گروه‌ها آورده شده است.

کاهش می‌دهد (۱۲ و ۱۱).

بنابراین، ممکن است افزایش اویپوئید در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید در کاهش گنادوتروپین‌ها نقش داشته باشد. در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید افزایش بیش از حد نیتریک اکساید اتفاق می‌افتد که مقدار زیاد آن برای بسیاری از سلول‌ها، عوارض سمی (Cytotoxic) دارد (۱۲). در مطالعاتی با نیتریک اکساید اگزوزن، این ماده باعث مهار محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد (HPG) شده است (۱۳ و ۱۴) و تجویز آزادکننده نیتریک اکساید (DETO/NO) باعث مهار فرآیند استروئیدوزنیز در سلول‌های لایدیگ شد (۱۷)، لذا این احتمال وجود دارد که افزایش نیتریک اکساید ناشی از فرمالدئید بر کاهش گنادوتروپین‌ها و تستوسترون دخالت داشته باشد.

در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید، سیتوکین‌ها (همچون IL-1, IL-6, TNF) افزایش می‌یابد (۱۰-۸). مطالعات نشان داد که سیتوکین‌ها از طریق مهار فرآیند استروئیدوزنیز در سلول‌های لایدیگ باعث کاهش تستوسترون می‌شوند (۱۸) و این احتمال وجود دارد که سیتوکین‌ها در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید در کاهش گنادوتروپین‌ها و تستوسترون بی‌تأثیر نباشند. بقای سلول‌های زاینده بیضه وابسته به گنادوتروپین‌هاست، هیپوفیزکتومی در موش علاوه بر تشدید آپوپتوز سلول‌های زاینده، باعث تغییر مورفولوژی در سلول‌های سوماتیک بیضه نیز شده و تجویز گنادوتروپین‌ها باعث مهار آپوپتوز شده است (۱۵). در این پژوهش کاهش گنادوتروپین‌ها و تستوسترون در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید دیده شد ولی افزایش معنی‌داری در آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه نسبت به گروه شاهد بروز نکرد که احتمالاً علت آن، بالغ بودن موش‌ها باشد زیرا در مطالعات Billig و همکاران، در تجویز آنتاگونیست‌های گنادوتروپین به موش‌های بالغ و نابالغ نشان داده شد که آپوپتوز در موش‌های نابالغ افزایش یافته ولی در موش‌های بالغ به‌رغم کاهش گنادوتروپین‌ها تا مرز ۸۰٪، تغییر در آپوپتوز سلول‌های زاینده دیده نشد (۱۵). بنابراین، می‌توان احتمال داد که عامل سن یکی از عوامل مؤثر در بقای سلول‌های زاینده باشد و هورمون‌های گنادوتروپین و تستوسترون در زمان بلوغ

تنظیم‌کننده اصلی آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه نباشند (۱۹). علاوه بر این، تنظیم آپوپتوز سلول‌های زاینده توسط یک سری ژن‌های مختلف کنترل می‌شود از جمله آنها پروتئین‌های خانواده BCL-2 است که بر دو دسته‌اند: پروآپوپتوتیک و آنتی‌آپوپتوتیک که ظاهراً با هم تعادل دینامیک دارند. عمل رقابتی پرو و آنتی‌آپوپتوتیک فعالیت پروتازها (Caspases) را که مخرب سلولی هستند کنترل می‌کند (۲۰). آپوپتوز سلول‌های بیضه تنها وابسته به عوامل هورمونی نیست بلکه بسیاری از عامل‌های غیرهورمونی که هنوز بسیاری از آنها ناشناخته هستند دخالت دارند (۲۱). روند اسپرماتوزن در مجاری منی‌ساز روندی پیچیده است و توسط عامل‌های داخلی مترشح از سلول‌های بافت بیضه بخصوص سلول سرتولی و عامل‌های خارجی تنظیم می‌شود. هر عاملی که سبب تغییر در فعالیت طبیعی سلول‌های بافت بیضه و نقش طبیعی عامل‌های داخلی و خارجی شود می‌تواند در روند اسپرماتوزن اختلال ایجاد کند.

جمع‌بندی نتایج حاصل از مطالعات نامبرده نشان می‌دهد که در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید کاهش هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون بروز می‌کند و این کاهش ممکن است به دلیل افزایش تون اویپوئیدها، اکسید نیتریک یا رادیکال‌های آزاد دیگر در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید باشد. تیمار با فرمالدئید در موش تأثیر معنی‌داری بر آپوپتوز سلول‌های زاینده اسپرماتوگونی در بیضه آنها ندارد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد عوامل افزایش یافته در جریان‌های تیمار با فرمالدئید، به‌رغم کاهش هورمون‌های گنادوتروپینی و تستوسترون نتواند منجر به تغییر ریخت‌شناسی و افزایش آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه شود. بنابراین، به‌نظر می‌رسد اختلال در محور هورمونی هیپوفیز-بیضه‌ای به تنهایی نتواند عامل آپوپتوز سلول‌های زاینده و اختلال در روند اسپرماتوزن باشد. احتمالاً عامل‌های هنوز ناشناخته همراه اختلال هورمونی بر آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه تأثیر داشته باشند. بررسی‌های آینده در مورد شناخت عوامل دیگر، عوامل بقاء سلول‌های زاینده در موش‌های تیمار شده با فرمالدئید می‌تواند دانش ما را در مورد تظاهرات فرمالدئید کامل‌تر کند.

این مقاله با استفاده از داده‌های یک پایان‌نامه در دانشگاه علوم

منابع

1. Golalipour M J, Azarhoush R, Ghafari S, Gharravi A M, Fazeli S A, Davarian A: Formaldehyde Exposure Induces Histopathological and Morphometric Changes in the Rat Testis. *Folia Morphol* 2007; 66(3) : 167-171.
2. WHO Formaldehyde. Copenhagen; WHO, 2001: 1-25.
3. Niels H, Sabine L, Christine F, Ingo B. Substitution of Formaldehyde in Cross Anatomy Is Possible. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2011; 103 (7): 610-611.
4. Sullivan JBJ, Krieger GR. Hazardous Materials Toxicology-Clinical. Principles of Environmental Health, Baltimore; Williams and Wilkins, 1992:917.
5. Kerns WD, Pavkov KL, Donofrio DJ, et al. Carcinogenicity of Formaldehyde in Rats and Mice after Long-Term Inhalation Exposure. *Cancer Res* 1983; 43: 4382-4392.
6. Conolly RB, Kimbell JS, Janszen D, Schlosser DM, Kalisak D, Preston J, Miller. Human Respiratory Tract Cancer Risks of Inhaled Formaldehyde: Dose-Response Predictions Derived From Biologically-Motivated Computational Modeling of a Combined Rodent and Human Dataset. *Toxicol Sci* 2004; 82(1): 279-296.
7. Schmid K, Schaller KH, Angerer J, Lehnert G. The Importance of Formic acid Excretion in the Urine for Environmental and Occupational Medicine Questions. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1994; 196(2):139-52.
8. Vosoughi SH, Khavanin A, Salehnia M, Mahabadi H, Soleimanian A. Effects of Simultaneous Exposure to Formaldehyde Vapor and Noise on Mouse Testicular Tissue and Sperm Parameters. *Health Scope* 2012; 1(3):110-117.
9. Coggon D, Harris EC, Poole J, Palmer KT. Extended Follow-up of a Cohort of British Chemical Workers Exposed to Formaldehyde. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1608-1615.
10. Dmitrienko NP, Holian A. Effect of the Interaction of Formaldehyde and Nitric Oxide Metabolism Pathways in Mechanism of their Toxic Action. I. Exo- and Endogenous Sources of Formaldehyde And nitric Oxide. Toxic Action of Formaldehyde. *Ukr Biokhim Zh* 2005; 77(1) :22-31.
11. Snowden EU, Khan-Dawood FS, Yusoff MD. The Effect of Naloxone on Endogenous Opioid Regulation of Pituitary Gonadotropins and Prolactin During the Menstrual Cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1984; 59(2): 298-30.
12. Colameco S, Coren JS. Opioid-induced Endocrinopathy. *J Am Osteopath Assoc* 2009; 1: 20-25.
13. Barnes MJ, Lapanowski K, Rafols JA, Lawson DM, Dunbar JC. GnRH and Gonadotropin Release is Decreased in Chronic nitric Oxide Deficiency. *Exp Biol Med* (Maywood) 2001; 226(7):701-6.
14. Aguilar E, Tena-Sempere M, Gonzalez D, Pinilla L. Control of Gonadotropin Secretion in Prepubertal Male rats by Excitatory Amino Acids. *Andrologia* 1996; 28(3):163-9.
15. Billig H, Furuta I, Rivier C, Tapanainen J, Parvinen M, Hsueh AJ. Apoptosis in Testis Germ Cells: Developmental Changes in Gonadotropin Dependence and Localization to Selective Tubule Stages. *Endocrinology* 1995; 136(1):5-12.
16. Koçak I, Dndar M, Hekimgil M, Okyay P. Assessment of Germ cell Apoptosis in Cryptorchid Rats. *Asian J Androl* 2002; 4: 183-186.
17. Wu TP, Huang BM, Tsai HC, Lui MC, Liu MY. Effects of Nitric Oxide on Human Spermatozoa Activity, Fertilization and Mouse Embryonic Development. *Arch Androl.* 2004; 50(3) :173-9.
18. Tsigos C, Papanicolaou DA, Kyrou I, Raptis SA, Chrousos GP. Dose-dependent Effects of Recombinant Human Interleukin-6 on the Pituitary-testicular Axis. *J Interferon Cytokine Res* 1999; 19(1): 1271-6.
19. Fujisawa M, Hiramane C, Tanaka H, Okada H, Arakawa S, Kamidono S. Decrease in Apoptosis of Germ Cells in the Testes of Infertile Men with Varicocele. *World J Urol* 1999; 17(5):296-300.
20. Yan W, Samson M, Jégou B, Toppari J. Bcl-w Forms Complexes with Bax and Bak, and Elevated Ratios of Bax/Bcl-w and Bak/Bcl-w Correspond to Spermatogonial and Spermatocyte Apoptosis in the Testis. *Mol Endocrinol* 2000; 14(5):682-99.
21. Sinha Hikim AP, Swerdloff RS. Hormonal and Genetic Control of Germ cell Apoptosis in the Testis. *Rev Reprod.* 1999; 4(1):38-47.

Effect of Formaldehyde Gas on Gonadotropins and Apoptosis of Testicular Germ Cells in Adult Rats

*Nasiri E.(PhD)^{1,2}-Soltani M.(MSc)¹-Gazor R.(PhD)¹-Mohammad-Ghasemi F.(PhD)¹- Houseni F.(MSc)¹

*Corresponding Address: Research Center for Cellular & Molecular, Guilan University of Medical Sciences, Guilan, Rasht, Iran

Email: enasiri@gums.ac.ir

Received: 20 Jul/2013 Accepted: 01 Oct/2013

Abstract

Introduction: Formaldehyde (HCHO) is a colorless gas used as a tissue fixative to preserve cadaver. New research shows formaldehyde in rats leads to an increase in plasma opioid internalized, which inhibits gonadotropin secretion and reduces Gonadotropin releasing hormone secreted from the hypothalamus. Survival of testicular germ cells is dependent on the presence of gonadotropin and its decrease leads to apoptosis of the cells.

Objective: Evaluation of possible changes in gonadotropins and apoptosis of testicular germ cells in rats after formaldehyde gas exposure.

Materials and Methods: This experimental study was performed on 24 male adult, 7 -week -old Albino Wistar Rats. The rats (based on exposure time) were divided equally into two experimental groups consisting of: E1(4 days a week, 2 hours daily) and E2(4 days a week, 4 hours daily) and a control group. Rats in experimental and control groups were killed under anesthetic conditions after 18 weeks. Serum concentration of FSH, LH and testosterone and apoptosis of testicular germ cells were measured by Immunoradiometric assay(IRMA) and TUNEL assay, respectively.

Results: Results showed significant decrease of FSH, LH and testosterone in E2 group, in comparison with that in control group($p<0.05$), while no significant difference was observed in apoptosis of testicular germ cells index in comparison with control group ($p=0.31$).

Conclusion: Although formaldehyde gas in the above mentioned concentration and conditions led to a significant decrease of gonadotropin hormones in rats, it has no significant effect on the apoptosis of testicular germ cells. Thus, it seems that apoptosis of testicular germ cells in adult males rats isn't just related to gonadotropin hormones and other factors may be influential in this process.

Conflict of interest: non declared

Keywords: Apoptosis/ Formaldehyde/ Rats/ Testis/ Vitamin C.

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 89, Pages: 1-7

Please cite this article as: Nasiri E, Soltani M, Gazor R, Mohammad-Ghasemi F, Houseni F. Effect of formaldehyde gas on gonadotropins and apoptosis of testicular germ cells in adult Rats. J of Guilan University of Med Sci 2014; 23(89):1-7. [Text in Persian]

1. Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Science, Rasht, Iran

2. Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran