



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته علوم تشریحی

عنوان:

بررسی اثر ویتامین‌های E و C بر میزان آپوپتوز سلول‌های زایا در گندهای نسل اول

موش نژاد NMRI بعد از مصرف مانکوزب در دوران بارداری و شیردهی

توسط: مهدی حیدری

استاد راهنما: دکتر مسعود عزت آبادی پور

استاد مشاور: دکتر طاهره حق پناه

سال تحصیلی: ۱۳۹۷-۱۳۹۸

چکیده

مقدمه: مانکوزب، آفت کش متداولی است که برای محافظت از محصولات زراعی و دانه ها در مقابل طیف وسیعی از آفت ها کاربرد دارد. قرار گرفتن در معرض مانکوزب، به دلیل افزایش رادیکال های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو اثرات مخربی بر ارگان های بدن از جمله تولید مثل دارد. برای مقابله با این اثرات زیانبار، مصرف آنتی اکسیدان هایی مانند ویتامین E و C بسیار مهم است. از آن جا که زنان باردار یکی از گروه های حساس در معرض مانکوزب هستند، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات مصرف همزمان ویتامین های C و E با مانکوزب در طول دوران بارداری و شیردهی بر جلوگیری از آپوپتوز سلول های زایای تخمدان و بیضه نسل اول طراحی و انجام شد.

مواد و روش ها: چهل موش ماده (۲۵-۳۰ گرم / ۸-۱۰ هفته) و ۱۳ نر (۱۰-۱۲ هفته) نژاد NMRI برای جفت گیری استفاده شدند. پس از مشاهده ی پلاک واژینال (به عنوان روز صفر در بارداری)، موش های باردار به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل (CTL)؛ حیوانات دست نخورده بودند ۲- گروه حامل (Veh)؛ روغن زیتون (۱/۰ میلی لیتر/ ۱۰ کیلوگرم وزن بدن) را دریافت نمودند. ۳- گروه مانکوزب (MNZ)؛ مانکوزب محلول در روغن زیتون (۵۰۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن) را دریافت نمودند. سه گروه درمان با ویتامین وجود داشت: ۴- گروه MNZ+ vit E، ویتامین E (۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن)، ۵- گروه MNZ+ vit C، ویتامین C (۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن) و ۶- گروه MNZ+ vit E+C، ویتامین E (۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن) و ویتامین C (۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن) را سی دقیقه قبل از تجویز مانکوزب دریافت می کردند. در تمام گروه ها مواد هر دو روز یکبار و به صورت گاوآذ دریافت کردند. تیمار از روز اول بارداری شروع و تا پایان شیرخوارگی (۲۱ روز پس از زایمان) ادامه داشت. سپس فرزندان بر اساس جنسیت از هم جدا شدند و تا سن بلوغ در قفس های جداگانه نگه داری شدند. پس از آن، بافت بیضه و تخمدان فرزندان نسل اول جدا، فیکس و برش گیری شدند. فولیکولوژنر با رنگ آمیزی H & E و آپوپتوز گنادی با روش TUNEL مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز آماری توسط نرم افزار های SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. همچنین سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: مانکوزب افزایش معناداری را در تعداد سلول های TUNEL مثبت در مقایسه با گروه های کنترل و حامل ایجاد کرد ($P < 0,001$). تجویز هر دو ویتامین E و C به تنهایی و با یکدیگر به طور معنی داری اثر آپوپتوتیک مانکوزب را تخفیف داد ($P < 0,001$). اثر تخفیفی تجویز هر دو ویتامین با یکدیگر بیشتر از تجویز هر یک از ویتامین E ($P < 0,001$) و C ($P < 0,001$) به تنهایی بود. نتایج اثر بهبودی قوی تر ویتامین C در مقایسه با ویتامین E را نشان دادند. همچنین کاهش و افزایش معنی داری در تعداد فولیکول های در حال رشد و آترتیک به ترتیب در گروه MNZ مشاهده شد که تجویز ویتامین های E و C توانست این اثر منفی را کاهش دهد.

نتیجه گیری: یافته های مطالعه حاضر نشان داد که تجویز مانکوزب در دوران بارداری و شیردهی می تواند میزان آپوپتوز سلول های زایای تخمدان و بیضه نسل بعد را افزایش دهد. همچنین مصرف ویتامین های E و C، با کاهش آپوپتوز سلول های زایا می تواند این اثرات منفی را بر روی سیستم تولیدمثلی فرزندان نسل اول موش نژاد NMRI تخفیف دهد.

کلید واژه ها: مانکوزب، ویتامین E، ویتامین C، آپوپتوز، تخمدان، بیضه، نسل اول فرزندان

Abstract

Background: Mancozeb is a common fungicide that used to protect the crops and seeds against a wide range of fungal diseases. Exposure to mancozeb had a series of destructive effects on the reproduction system due to elevating free radicals and induction of oxidative stress. To counteract the destructive effects of oxidants, the consumption of anti-oxidants such as vitamins E and C are very important. Since, pregnant women are one of the most susceptible exposed groups to mancozeb, thus, the aim of this study was evaluation of the effect of simultaneous consumption of vitamins C and E along with mancozeb during pregnancy and lactation on the prevention of apoptosis of the first-generation ovarian and testicular germ cells.

Materials and Methods: forty adult females (8-10 weeks/25-30 gr) and thirteen males (10-12 weeks) NMRI mice used for mating. After observing of vaginal plaque (as gestational day 0), the pregnant NMRI female mice were randomly divided into six groups: 1-control group (CTL); animals were intact, 2- vehicle group (Veh); animals received olive oil (0,1 ml/ 10 kg body

weight; BW) by gavage every 7 days. 7- Mancozeb group (MNZ); animals received mancozeb dissolved in olive oil (0.0 mg/ kg BW) every 7 days orally. There were three vitamin treatment groups that the animals in MNZ+ vit E group, received 200 mg/Kg BW vitamin E, in MNZ+ vit C group, received 100 mg / kg vitamin C and in MNZ+ vit E+ C group, received 100 mg / kg vitamin C and 200 mg / kg vitamin E every 7 days orally, thirty minutes before mancozeb administration. . All treatment started from day 0 of pregnancy and continued until weaning (21 days after parturition). Then, offsprings separated based on gender and were kept in separate cages until puberty. After this time, ovarian and testicular tissue of the first-generation offspring were removed. After fixation and sectioning, folliculogenesis evaluated by H&E and gonadal apoptosis by TUNEL staining. Statistical analysis was performed using SPSS version 22. Also, the significance level was considered less than 0.05.

Results: Compared to control and vehicle groups mancozeb induced a significant increase ($P < 0.001$) in the number of TUNEL-positive cells. Administration of both vitamins E and C alone and together significantly ameliorated ($P < 0.001$) the apoptotic impacts of mancozeb. The ameliorative effect of co-administration of these vitamins was higher than loneliness administration of vitamin E ($P < 0.001$) and C ($P < 0.001$). Meanwhile, the results indicated stronger improving effect of vitamin C compared to Vitamin E ($P < 0.05$). Also, a significant decrease and increase in the number of growing and atretic follicles, respectively, was observed in MNZ group. Consumption of vitamin E and C could ameliorate this negative effect.

Conclusion: The results of present study showed that mancozeb administration in pregnancy and lactation periods could increase the apoptosis rate in ovarian and testicular tissues of further generation. Also, vitamin E and C consumption, by reduction of germ cells apoptosis, could ameliorate this negative effect on reproductive system in F₁ offsprings of NMRI mice.

Keywords: Mancozeb, vitamin E, vitamin C, apoptosis, ovary, testis, F₁ offsprings



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Medicine

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree (MSC)

Title:

**The Effects of Vitamin C&E On Germ Cells Apoptosis of Mice First
Generation After Mancozeb Treatment During Pregnancy and Breast
Feeding**

By:

Mahdi Heydari

Supervisor:

Dr. Masoud Ezzatabadi pour

Advisor:

Dr. Tahereh Haghpanah

Year:

۲۰۱۸