



دانشگاه علوم پزشکی

وخدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع دکتری تخصصی (Ph.D) رشته علوم تشریحی

عنوان

تعیین اثر ویتامین های E و C بر سمیت ناشی از مانکوزب بر روی پارامترهای اسپرم، ساختار بیضه، میزان لقاح و لانه گزینی فرزندان نسل اول موش نژاد NMRI

توسط

اسماعیل سعدین

استاد راهنما

دکتر مسعود عزت آبادی پور

استاد مشاور

دکتر طاهره حق پناه

سال تحصیلی: (بهمن ۱۳۹۸)

شماره پایان نامه: (۵۸۰)



دانشگاه علوم پزشکی کرمان  
مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه

بسمه تعالی

صورتجلسه دفاع از پایان نامه

تاریخ: ۹۸/۱۱/۶  
شماره: ۹۹۳/۵۸۰  
کد اخلاق: ۱۳۹۳/۱۳۷

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی آقای اسماعیل سعدین دانشجوی دکتری تخصصی (Ph.D) رشته علوم تشریحی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان " تعیین اثر ویتامین های C و E بر سمیت ناشی از مانکوزب بر روی پارامترهای اسپرم، ساختار بیضه، میزان لقاح و لانه گزینی فرزندان نسل اول موش نژاد NMRI " در ساعت 10 صبح روز یکشنبه مورخ 98/11/6 با حضور اعضای محترم هیات داوران به شرح ذیل:

سمت	نام و نام خانوادگی	اعضا
الف: استاد راهنما	1- جناب آقای دکتر مسعود عزت آبادی پور	
ب: استاد مشاور	2- سرکار خانم دکتر طاهره حق پناه	
ج: عضو هیات داوران (داخلی)	جناب آقای دکتر سید حسن التختار وافی	
ح: عضو هیات داوران (داخلی)	جناب آقای دکتر محسن بصیری	
د: عضو هیات داوران (خارجی)	جناب آقای دکتر همایون بابایی	
ذ: عضو هیات داوران (خارجی)	جناب آقای دکتر بهادر شجاعی	
ه: نماینده تحصیلات تکمیلی	جناب آقای دکتر علی شمس آرا	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه عالی و نمره ۱۹.۹۳ مورد تأیید قرار گرفت.

مهر و امضاء معاون آموزشی



فهرست مندرجات

د ..... فهرست مطالب

..... فهرست جداول

ض

ط ..... فهرست تصاویر

ظ ..... فهرست نمودارها

ع ..... فهرست ضمائم و پیوست ها

۱۶ ..... چکیده

### فصل اول: مقدمه و اهداف

..... ۱-۱- مقدمه

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۱-۱- بیان مسئله و اهمیت موضوع

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۲- اهداف طرح

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۲-۱- هدف کلی طرح

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۲-۲- اهداف اختصاصی طرح

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۲-۳- هدف کاربردی طرح

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۳- فرضیات یا سؤالات طرح

**Error! Bookmark not defined.**

### فصل دوم: بررسی متون

..... ۲-۱-۲- آفت کش ها، اهمیت و اثرات حاصل از آنها

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۱-۲- گروه های در معرض خطر مواجهه با آفت کش ها

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۲-۱-۲- اثرات سمی آفت کش ها بر سیستم تولید مثل مذکر

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۳-۱-۲- اثرات سمی آفت کش ها بر سیستم تولید مثل مؤنث

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۴-۱-۲- اثرات سمی آفت کش ها بر لقاح

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۵-۱-۲- اثرات سمی آفت کش ها بر سیستم آندوکراین و لانه گزینی

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۶-۱-۲- اثرات سمی آفت کش ها بر تکامل

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۷-۱-۲- اثرات سمی آفت کش ها بر تکامل قبل از تولد

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۸-۱-۲- اثرات سمی آفت کش ها بر تکامل بعد از تولد

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۲-۲- قارچ کش ها و دسته بندی آنها

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۲-۲- قارچ کش های معدنی

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۲-۲-۲- قارچ کش های آلی

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۲-۳- مانکوزب

**Error! Bookmark not defined.**

- ..... ۱-۳-۲- خصوصیات فیزیکی مانکوزب  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۳-۲- متابولیسم مانکوزب  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۳-۲- افراد در معرض خطر مواجهه با مانکوزب  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۳-۲- اثر مانکوزب بر سیستم تولید مثل مذکر  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۵-۳-۲- اثر مانکوزب بر سیستم تولید مثل مؤنث  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۶-۳-۲- اثر مانکوزب بر بارداری، زندگی داخل رحمی و شیرخوارگی  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۴- آنتی اکسیدان  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۱-۴-۲- ویتامین E  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۴-۲- ویتامین E و سیستم تولیدمثل  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۴-۲- نقش ویتامین E در برابر سموم و آفت کش های مؤثر بر سیستم تولیدمثل .  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۴-۲- نقش ویتامین E در دوران بارداری و شیردهی  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۵-۴-۲- نقش ویتامین E بر سیستم تولیدمثل فرزندان پس از مواجهه با سموم در دوران بارداری و شیردهی  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۶-۴-۲- ویتامین C  
**Error! Bookmark not defined.**

- ..... ۷-۴-۲- ویتامین C و سیستم تولیدمثل  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۸-۴-۲- نقش ویتامین C در برابر سموم و آفت کش های مؤثر بر سیستم تولیدمثل.  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۹-۴-۲- نقش ویتامین C در دوران بارداری و شیردهی  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۱۰-۴-۲- نقش ویتامین C بر سیستم تولیدمثل فرزندان پس از مواجهه با سموم در دوران بارداری و شیردهی  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۱۱-۴-۲- نقش مصرف توأم ویتامین های E و C بر سیستم تولیدمثل فرد و نیز فرزندان پس از مواجهه با سموم در دوران بارداری و شیردهی  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۵- آناتومی و فیزیولوژی سیستم تولید مثل  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۱-۵-۲- سیستم تولید مثل مذکر  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۵-۲- آناتومی و بافت شناسی بیضه  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۵-۲- سیستم تولید مثل مؤنث  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۵-۲- آناتومی و بافت شناسی تخمدان  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۵-۵-۲- رشد و نمو اولیه تخمدان  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۶-۵-۲- تنظیم فیزیولوژیکی دستگاه تولید مثل  
**Error! Bookmark not defined.**

- ..... ۷-۵-۲ تخمک گذاری  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۶ لقاح، رشد و تکامل جنین  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۷ لانه‌گزینی  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... فصل سوم: مواد و روش های تحقیق
- ..... ۳-۱ نوع مطالعه  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۲ جامعه مورد مطالعه  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۳ روش اجرای مطالعه  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۱-۳-۳ ایجاد بارداری در موش های آزمایشگاهی  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۳-۳ گروه های مورد آزمایش  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۳-۳ گروه بندی فرزندان نر  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۳-۳ گروه بندی فرزندان ماده  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۵-۳-۳ بررسی پارامتر های اسپرم بر اساس WHO  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۱-۵-۳-۳ استحصال اسپرم  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۵-۳-۳ بررسی تعداد اسپرم بر اساس WHO  
**Error! Bookmark not defined.**

..... WHO ۳-۵-۳-۳ بررسی حیات اسپرم بر اساس WHO  
**Error! Bookmark not defined.**

..... WHO ۴-۵-۳-۳ بررسی تحرک اسپرم بر اساس WHO  
**Error! Bookmark not defined.**

..... WHO ۵-۵-۳-۳ گرید بندی حرکت اسپرم بر اساس WHO  
**Error! Bookmark not defined.**

..... WHO ۶-۵-۳-۳ بررسی مورفولوژی اسپرم بر اساس WHO  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۶-۳-۳ مطالعات مورفومتریک و بافت شناسی بیضه  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۶-۳-۳ مطالعات مورفومتریک بیضه  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۲-۶-۳-۳ مطالعات بافت شناسی بیضه  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۳-۳-۷ ارزیابی کمی لوله اسپرم ساز  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۳-۳-۸ ارزیابی کیفی لوله اسپرم ساز  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۳-۳-۹ شمارش سلول های زایا  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۱-۹-۳-۳ اسپرماتوگونی  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۲-۹-۳-۳ اسپرماتوسیت  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۳-۹-۳-۳ اسپرماتید  
**Error! Bookmark not defined.**



..... سرتولی ۳-۳-۹-۴

**Error! Bookmark not defined.**

..... ارزیابی کیفی بافت بیضه ۳-۳-۱۰

**Error! Bookmark not defined.**

..... مطالعات جنین شناسی ۳-۳-۱۱

**Error! Bookmark not defined.**

..... تهیه و بررسی تخمک ۳-۳-۱۱-۱

**Error! Bookmark not defined.**

..... قطره گذاری جهت استحصال تخمک ۳-۳-۱۱-۲

**Error! Bookmark not defined.**

..... استحصال تخمک ۳-۳-۱۱-۳

**Error! Bookmark not defined.**

..... بررسی تخمک از لحاظ مورفولوژی ۳-۳-۱۱-۴

**Error! Bookmark not defined.**

..... شرایط انجام لقاح آزمایشگاهی در موش ۳-۳-۱۱-۵

**Error! Bookmark not defined.**

..... (invitro fertilization) IVF جهت قطره گذاری ۳-۳-۱۱-۶

**Error! Bookmark not defined.**

..... قطره گذاری جهت تکوین جنین ۳-۳-۱۱-۷

**Error! Bookmark not defined.**

..... لقاح آزمایشگاهی ۳-۳-۱۱-۸

**Error! Bookmark not defined.**

..... تشکیل زیگوت با پیش هسته های نر و ماده ۳-۳-۱۱-۹

**Error! Bookmark not defined.**

..... بررسی میزان قدرت باروری و لانه گزینی ۳-۳-۱۱-۱۰

**Error! Bookmark not defined.**

- ..... ۳-۴- روش تجزیه و تحلیل آماری  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۵- اصول اخلاقی مطالعه  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۶- مکان انجام مطالعه  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۷- مشکلات و محدودیت ها و راهکارهای کاهش آنها  
**Error! Bookmark not defined.**
- فصل چهارم: یافته ها**
- ..... ۴-۱- نتایج بررسی آنالیز اسپرم  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۱-۱- نتایج بررسی تعداد اسپرم  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۱-۲- نتایج بررسی حیات اسپرم  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۱-۳- نتایج بررسی تحرک اسپرم  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۱-۴- نتایج بررسی تحرک اسپرم پیشرونده  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۱-۵- نتایج بررسی تحرک اسپرم غیر پیشرونده  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۱-۶- نتایج بررسی اسپرم بی تحرک  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۱-۷- نتایج بررسی مورفولوژی اسپرم  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۲- نتایج بررسی مورفومتریک بافت بیضه  
**Error! Bookmark not defined.**

- ..... ۱-۲-۴- نتایج بررسی ابعاد بیضه  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۳- نتایج بررسی وزن  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۱-۳-۴- نتایج بررسی وزن بدن  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۳-۴- نتایج بررسی وزن بیضه راست  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۳-۴- نتایج بررسی وزن بیضه چپ  
**Error! Bookmark not defined.**
- Gonadosomatic Index نسبت وزن بیضه به وزن بدن (GSI)  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۴- نتایج بررسی مورفومتربیک لوله های اسپرم ساز  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۱-۴-۴- نتایج بررسی قطر لوله اسپرم ساز  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۲-۴-۴- نتایج بررسی قطر مجرای لوله اسپرم ساز  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۳-۴-۴- نتایج بررسی قطر اپیتلیوم ژرمینال لوله اسپرم ساز  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۴-۴-۴- نتایج بررسی بلوغ و کیفیت لوله های اسپرم ساز (johnsen's score)  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۵-۴-۴- نتایج بررسی کمی و تعداد سلول های رده اسپرماتوژنیک  
**Error! Bookmark not defined.**
- ..... ۶-۴-۴- نتایج بررسی شکل ظاهری و ساختار کیفی بافت بیضه  
**Error! Bookmark not defined.**

..... ۴-۵- نتایج بررسی کمی و کیفی تخمک های حاصل از تحریک تخمک گذاری

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۴-۶- نتایج بررسی لقاح آزمایشگاهی

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۴-۷- نتایج بررسی کمی و کیفی جنین های حاصل از لقاح

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۴-۸- نتایج بررسی میزان باروری، تعداد مکان کاشت و توزیع جنین در شاخ های رحم

**Error! Bookmark not defined.**

**فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری**

..... ۱-۵- تأثیر مصرف مانکوزب در طی دوران بارداری و شیردهی بر تعداد، حیات، تحرک و مورفولوژی اسپرم

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۲-۵- تأثیر مصرف همزمان ویتامین های E، C و مانکوزب در طی بارداری و شیردهی بر تعداد، حیات، تحرک

..... و مورفولوژی اسپرم

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۳-۵- تأثیر مصرف مانکوزب در طی دوران بارداری و شیردهی بر وزن بدن **Error!**

**Bookmark not defined.**

..... ۴-۵- تأثیر مصرف همزمان ویتامین های E، C و مانکوزب در طی بارداری و شیردهی بر وزن بدن

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۵-۵- تأثیر مصرف مانکوزب در طی دوران بارداری و شیردهی بر وزن و ابعاد بیضه **Error!**

**Bookmark not defined.**

..... ۶-۵- تأثیر مصرف همزمان ویتامین های E، C و مانکوزب در طی بارداری و شیردهی بر ابعاد و وزن بیضه

**Error! Bookmark not defined.**

..... ۷-۵- تأثیر مصرف مانکوزب در طی دوران بارداری و شیردهی بر ساختار مورفومتريک لوله های اسپرم ساز،

..... ۱۲۰ کمیت سلول های رده اسپرماتوزنيک و سرتولی بافت بیضه

ش

۸-۵- تأثیر مصرف همزمان ویتامین های E، C و مانکوزب در طی بارداری و شیردهی بر ساختار مورفومتریک لوله های اسپرم ساز، کمیت سلول های رده اسپرماتوژنیک و سرتولی بافت بیضه

.....  
**Error! Bookmark not defined.**

۹-۵- تأثیر مصرف مانکوزب در طی دوران بارداری و شیردهی بر کیفیت ساختاری لوله های اسپرم ساز، سلول های رده اسپرماتوژنیک و سرتولی

.....  
**Error! Bookmark not defined.**

۱۰-۵- تأثیر مصرف همزمان ویتامین های E، C و مانکوزب در طی بارداری و شیردهی بر کیفیت ساختاری لوله های اسپرم ساز، سلول های رده اسپرماتوژنیک و سرتولی

.....  
**Error! Bookmark not defined.**

۱۱-۵- تأثیر مصرف مانکوزب در طی دوران بارداری و شیردهی بر کمیت و کیفیت تخمک، لقاح آزمایشگاهی و جنین های حاصل از آن

.....  
**Error! Bookmark not defined.**

۱۲-۵- تأثیر مصرف همزمان ویتامین های E، C و مانکوزب در طی بارداری و شیردهی بر کمیت و کیفیت تخمک، لقاح آزمایشگاهی و جنین های حاصل از آن

.....  
**Error! Bookmark not defined.**

۱۳-۵- تأثیر مصرف مانکوزب در طی دوران بارداری و شیردهی بر باروری و لانه گزین

**Error! Bookmark not defined.**.....

۱۴-۵- تأثیر مصرف همزمان ویتامین های E، C و مانکوزب در طی بارداری و شیردهی بر باروری و لانه گزینی

**Error**.....

**! Bookmark not defined.**

..... نتیجه گیری

**Error! Bookmark not defined.**

..... پیشنهادات

**Error! Bookmark not defined.**

..... فهرست منابع .....  
۱۳۷

..... پیوست ها .....  
**Error! Bookmark not defined.**

### فهرست جداول

صفحه

عنوان

..... جدول ۱-۳- مواد مصرفی مورد استفاده در پایان نامه .....  
**Error! Bookmark not defined.**

..... جدول ۲-۳- مواد غیر مصرفی، تجهیزات و وسایل مورد استفاده در پایان نامه .....  
**Error! Bookmark not defined.**

**Error!** ..... جدول ۳-۳- دستورالعمل تهیه نمونه بافتی از مراحل ثبوت تا قالب گیری .....  
**Bookmark not defined.**

..... جدول ۴-۳- دستورالعمل مراحل رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین .....  
**Error! Bookmark not defined.**

ض

جدول ۱-۴- مقایسه نمره جانسن و تعداد سلول های رده اسپرما توژنیک در بافت بیضه موش نژاد NMRI در  
گروه های مختلف .....

**Error! Bookmark not defined.**

جدول ۲-۴- تعداد و میزان بلوغ تخمک های حاصل از تحریک تخمک گذاری موش نژاد NMRI در گروه های  
مختلف .....

**Bookmark not defined.**

جدول ۳-۴- تعداد و میزان تخمک های لقاح یافته و مراحل تکامل جنین حاصل از لقاح اسپرم و تخمک های  
موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....

**Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۴- میزان باروری، تعداد مکان لانه گزینی و توزیع جنین های لانه گزین شده در هشتمین روز بارداری  
موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....

**Error! Bookmark not defined.**

## فهرست تصاویر

..... تصویر ۱-۲: مانکوزب

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۲-۲: مقاطع بیضه

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۲-۳: مقاطع تخمدان و رحم

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۲-۴: لقاح، رشد و تکامل جنین

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۲-۵: لانه‌گزینی

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۱-۳: الف: انواع سمپلر، ب: ترازوی دیجیتالی، ج: کولیس دیجیتالی

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۲-۳: الف: دستگاه پردازش نمونه، ب: دستگاه ذوب پارافین، ج: میکروتوم دوار

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۳-۳: الف: استریو میکروسکوپ، ب: میکروسکوپ فلورسنت، ج: میکروسکوپ نوری

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۳-۴: الف: دستگاه فور، ب: دستگاه هود، ج: آنکوباتور

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۱-۴: مورفولوژی اسپرم موش نژاد NMRI در گروه‌های مختلف، رنگ آمیزی ائوزین-نگروزین

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۲-۴: فتومیکروگراف بیضه موش نژاد NMRI در گروه‌های مختلف، رنگ آمیزی H&E

**Error! Bookmark not defined.**

..... تصویر ۳-۴: فتومیکروگراف مراحل بلوغ تخمک‌های موش نژاد NMRI ۱۰۱

..... تصویر ۴-۴: فتومیکروگراف جنین‌های ۲ سلولی موش نژاد NMRI در گروه‌های مختلف

**Error! Bookmark not defined.**



تصویر ۵-۴: فتومیکروگراف جنین ها در مراحل ۳ تا ۴ سلولی موش نژاد NMRI در گروه های مختلف با بزرگنمایی ۲۰۰×.....

**Error! Bookmark not defined.**

تصویر ۶-۴: فتوگراف شاخ های رحمی در هشتمین روز بارداری موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....

**Error! Bookmark not defined.**

### فهرست نمودارها

صفحه

عنوان

نمودار ۱-۴: تعداد اسپرم موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....

**Error! Bookmark not defined.**

نمودار ۲-۴: درصد حیات اسپرم موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....

**Error! Bookmark not defined.**

نمودار ۳-۴: درصد تحرک اسپرم موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....

**Error! Bookmark not defined.**

نمودار ۴-۴: درصد تحرک اسپرم پیشرونده موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....

**Error! Bookmark not defined.**

نمودار ۵-۴: درصد تحرک اسپرم غیر پیشرونده موش نژاد NMRI در گروه های مختلف.....

**Error! Bookmark not defined.**

نمودار ۶-۴: درصد اسپرم بی تحرک موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....

**Error! Bookmark not defined.**

- نمودار ۷-۴: درصد مورفولوژی غیر طبیعی اسپرم موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۸-۴: طول بیضه راست موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۹-۴: عرض بیضه راست موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۰-۴: ضخامت بیضه راست موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۱-۴: طول بیضه چپ موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۲-۴: عرض بیضه چپ موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۳-۴: ضخامت بیضه چپ موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۴-۴: وزن بدن موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۵-۴: وزن بیضه راست موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۶-۴: وزن بیضه چپ موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۷-۴: نسبت وزن هر دو بیضه به وزن بدن (GSI) موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۸-۴: قطر لوله اسپرم ساز بیضه موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**
- نمودار ۱۹-۴: قطر مجرای لوله اسپرم ساز بیضه موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....  
**Error! Bookmark not defined.**

نمودار ۲۰-۴: قطر اپیتلیوم ژرمینال لوله اسپرم ساز بیضه موش نژاد NMRI در گروه های مختلف .....

Error! Bookmark not defined.

### فهرست ضمائم و پیوست ها

صفحه	عنوان
۱۶۶ .....	پیوست شماره یک: برگه ی اطلاعات ایمنی مانکوزب
۱۶۸ .....	پیوست شماره دو: مقالات استخراج شده از پایان نامه

## فهرست کوتاه نوشته ها

Abbreviation	
MNZ	Mancozeb
Vit E	Vitamin E
Vit C	Vitamin C
PMSG	Pregnant Mares' Serum Gonadotropin
hCG	human Chorionic Gonadotropin
FSH	Follicle Stimulating Hormone
LH	Luteinizing Hormone
GnRH	Growth hormone Releasing Hormone
F1	First generation
ROS	Reactive Oxygen Species
RNS	Reactive Nitrogen Species
LPO	Lipid Peroxidation
EDCs	Endocrine disrupter chemicals
DTs	dithiocarbamates
ETU	Ethylenethiouria
EBDC	Ethylenebisdithiocarbamate
GSI	Gonadosomatic Index

ق

<b>GV</b>	Germinal Vesicle
<b>MI</b>	Metaphase I
<b>MII</b>	Metaphase II
<b>IVF</b>	In Vitro Fertilization

## چکیده

**مقدمه و اهداف:** مانکوزب به عنوان یک قارچ کش از گروه تیوکرباماتها، اثرات مضرى بر عملکرد دستگاه تولید مثل دارد. زنان باردار و جنین در حال رشدشان از گروه های در معرض خطر نسبت به این قارچ کش و سایر سموم می باشند. از طرفی درمان با ویتامین ها به عنوان آنتی اکسیدانت، باعث کاهش اثرات منفی سموم مختلف بر اعضاء سیستم تولید مثلی می شوند. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثر سمیت ناشی از مانکوزب بر پارامترهای اسپرم، ساختار بیضه، میزان لقاح و لانه گزینی فرزندان نسل اول موش ها و همچنین اثر محافظتی ویتامین های E و C است.

**روشها:** بعد از مشاهده پلاک واژینال (روز اول حاملگی)، موش های ماده حامله بطور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند: (۱) کنترل (سالم؛ Control)، (۲) حامل (دریافت کننده حلال روغن زیتون؛ Vehicle)، (۳) مانکوزب (دریافت کننده ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز؛ MNZ)، (۴) ویتامین E همراه با مانکوزب (دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز؛ Vit E+MNZ)، (۵) ویتامین C همراه با مانکوزب (دریافت کننده ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز؛ Vit C+MNZ) و (۶) دو ویتامین E و C همراه با مانکوزب (Vit E+Vit C+MNZ) و سپس تحت درمان قرار گرفتند. همه درمان ها بصورت گاواژ خوراکی و از روز دوم بارداری تا پایان شیردهی انجام شد. بعد از تولد، فرزندان نسل اول تا سن ۸ هفتگی در شرایط استاندارد خانه حیوانات نگهداری شده و بر اساس جنسیت گروه بندی شدند. پس از وزن کردن و کشتن فرزندان نر بالغ به روش جابجایی مهرهای گردنی، مجرای واژدفران چپ جهت آنالیز پارامترهای اسپرم (تعداد، حیات، تحرک و مورفولوژی) و دم اپیدیدیم چپ جهت انجام لقاح آزمایشگاهی (IVF) جدا شد. سپس ابعاد و وزن هر دو بیضه و شاخص گنادوسوماتیک (GSI) اندازه گیری و ثبت گردید. جهت تعیین پارامترهای بیضه (قطر لوله اسپرم ساز، قطر مجرای لوله اسپرم ساز، ضخامت اپیتلیوم ژرمینال، Johnsen's score، تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و سرتولی، شکل ظاهری و ساختار کیفی لوله اسپرم ساز)، بیضه چپ جدا سازی و پروسه های بافت شناسی و رنگ آمیزی H&E انجام شد.

جهت انجام مطالعات برون تنی، ابتدا موش های ماده بالغ نسل اول تحریک تخمک گذاری شدند، سپس تخمک های بدست آمده از آنها از لحاظ بلوغ هسته ای مورد بررسی قرار گرفتند. پس از تلقیح اسپرم فرزندان نسل اول با تخمک MII و بررسی میزان لقاح، تکامل جنین ها تا ۹۶ ساعت پیگیری شد. همچنین، قدرت باروری و لانه گزینی جنین ها در هشتمین روز بارداری از لحاظ تعداد و وضعیت لانه گزینی بررسی شد.

**یافته ها:** در گروه مانکوزب (MNZ) اختلاف معناداری در پارامتر های اسپرم (تعداد، حیات، تحرک و مورفولوژی) و پارامتر های بیضه (قطر لوله اسپرم ساز، قطر مجرای لوله اسپرم ساز، ضخامت اپیتلیوم ژرمینال، Johnsen's score، تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و سرتولی، شکل ظاهری و ساختار کیفی لوله اسپرم ساز) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ( $P < 0.005$ ،  $P < 0.001$  و  $P < 0.001$ ). همچنین، مانکوزب موجب کاهش معناداری در تعداد تخمک بدست آمده ( $P = 0.006$ )، درصد تخمک متافاز II ( $P = 0.006$ ، MII)، میزان لقاح ( $P = 0.005$ ) و تکامل جنین تا مرحله ۲ سلولی ( $P = 0.005$ ) نسبت به گروه کنترل شد و هیچ کدام از زایگوت ها در این گروه به مرحله ۴ سلولی نرسیدند ( $P = 0.004$ ). از طرفی، تعداد جنین های لانه گزین شده در گروه مانکوزب در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری را نشان داد ( $P = 0.002$ ). در اکثر گروه ها، درمان توسط ویتامین های E و C (بصورت جداگانه و یا توأم) در طی دوران بارداری و شیردهی بطور قابل ملاحظه ای عوارض ناشی از مانکوزب را بر پارامترهای اسپرم، بیضه، تعداد تخمک بدست آمده، میزان لقاح، تکامل جنین، باروری و لانه گزینی کاهش داد.

**نتیجه گیری:** تحقیقات ما نشان داد که مواجهه با مانکوزب در طی دوران بارداری و شیردهی، اثرات نامطلوبی بر سیستم تولید مثلی فرزندان دارد. با این حال، تجویز ویتامین های E و C توانست اثرات مضر مانکوزب را کاهش دهد. از طرفی، مصرف همزمان ویتامین های E و C نسبت به هر یک از ویتامین ها به تنهایی، اثر محافظتی بیشتری بر اکثریت پارامتر ها دارد که بیانگر اثر تقویت کننده این دو ویتامین می باشد.

واژه های کلیدی: مانکوزب، پارامترهای اسپرم، پارامترهای بیضه، ویتامین های E و C، لقاح

آزمایشگاهی، نسل اول، تکامل جنین، باروری، لانه گزینی

## Abstract

**Background and Objectives:** Mancozeb, as a fungicide from thiocarbamates group, has adverse effects on reproductive system performance. Pregnant women and their growing embryos are considered to be at high risk for these fungicides and other toxins. On the other hand, treatment with vitamins as an antioxidant reduces the negative effects of different toxins on the reproductive organs. The aim of this study was to investigate the effect of mancozeb-induced toxicity on sperm parameters, testicular structure, fertilization rate and implantation in the first-generation mice pup's as well as the protective effect of vitamins E and C.

**Methods:** After observing the vaginal plug (considered as gestational day 1), female mice were randomly divided into 6 groups: 1) Control (intact; Control), 2) Vehicle (receiving olive oil; Vehicle), 3) Mancozeb (receiving 500 mg / kg / day; MNZ), 4) Vitamin E plus mancozeb (receiving 200 mg / kg / day; vitamin E + MNZ), 5) Vitamin C plus mancozeb (receiving 100 mg/kg/day; Vitamin C + MNZ) and 6) Vitamins E and C plus mancozeb (Vit E + Vit C + MNZ) and then were treated. All treatments were oral gavage from the second day of gestation until the end of lactation. After birth, the first-generation offspring up to 8 old weeks were kept in the standard condition of the animal house and grouped according to gender. After weighing and killing of adult male offsprings using cervical dislocation method, the left vas deferens duct was isolated for sperm parameters analysis (number, vitality, motility and morphology) and left epididymal tail was isolated



for in-vitro fertilization (IVF). Then dimensions, weight of both testes and gonadosomatic index (GSI) were measured and recorded. To determine the testicular parameters (seminiferous tubule diameter, seminiferous lumen diameter, epithelial thickness, Johnsen's scoring, spermatogonial cell counting, spermatocyte, spermatid and sertoli, appearance and qualitative structure of the seminiferous tubule), the left testis was separated and then histological and staining procedures were performed. For in-vitro study, the first-generation adult female mice pups were superovulated, then their oocytes were evaluated for nuclear maturity. After insemination of the first-generation offsprings' sperm with MII oocytes and assess the fertilization rate, embryos development was monitored up to 96 hours. Also, in order to evaluate the fecundity and implantation capacity, embryos implantation was studied on 8<sup>th</sup> day pregnancy in terms of number and implantation status.

**Results:** In the mancozeb group (MNZ), there was a significant difference in sperm parameters (number, viability, motility and morphology) and testicular parameters (seminiferous tubule diameter, seminiferous lumen diameter, epithelial thickness, Johnson's score, spermatogonial cell counting, spermatocyte, spermatid and sertoli, appearance and qualitative structure of the seminiferous tubule), compared to the control group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ ). Also, mancozeb significantly reduced the oocyte number ( $P = 0.006$ ), metaphase II percent ( $P = 0.006$ , MII), fertilization rate ( $P = 0.005$ ) and embryo development up to 2-cells stage ( $P = 0.005$ ) versus control group, and none of the zygote reached up to 4-cells stage in this group ( $P = 0.004$ ). On the other hand, the number of implanted embryos in the mancozeb group showed a significant decline compared to the control group ( $P = 0.002$ ). In most groups, treatment by vitamins E and C

(individually or in combination) during pregnancy and lactation periods significantly reduced the adverse effects of mancozeb on sperm parameters, testis, obtained oocyte number, fertilization rate, embryo development, fecundity and implantation.

**Conclusions:** Our research was showed that mancozeb exposure during pregnancy and lactation periods has an adverse effect on the first-generation's reproductive organs. Nevertheless, the administration of vitamins E and C could reduce the harmful effects of mancozeb. On the other hand, simultaneous consumption of vitamins E and C has more protective effect on the majority of parameters than either of the vitamins alone, which indicates the synergistic properties of these two vitamins.

**Keywords:** Mancozeb, Sperm parameters, Testis parameters, Vitamins E and C, In-vitro fertilization, First-generation, Embryo development, Fecundity, Implantation.



**Kerman University**

**of Medical Sciences**

**Faculty of Medicine**

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree (Ph. D)

Title

**The effect of vitamins E and C on mancozeb-induced toxicity upon sperm parameters,  
testicular structure, fertilization rate and implantation of the first-generation NMRI  
mice pups**

By

**Esmail Sadein**

Supervisor

**Dr. Massood Ezzatabadipour**

Advisor

**Dr. Tahereh Haghpanah**

Thesis No : (580)

Date (Feb, ۲۰۲۰)