

اثرات مزمن روی (Zn) بر بافت بیضه، تستوسترون و گونادوتروپین‌های هیپوفیزی در

موش صحرایی نر (RAT) بالغ

دکتر داود سهرابی*، محمدرضا غلامی**، دکتر فردین اسدی***

* استادیار بافت شناسی و جنین شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

** مربی علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

*** استادیار کودکان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف

گزارشاتی مبنی بر بسته شدن مجاری غدد چربی و نیز بروز آگزاما و تاول ناشی از مواجهه با عنصر روی (Zn) منتشر شده است. این مطالعه با هدف تعیین اثرات مزمن فلز روی بر بافت بیضه و تستوسترون و گونادوتروپین‌های هیپوفیزی در موش صحرایی نر بالغ انجام گرفت.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی موش‌های صحرایی نر (RAT) از نژاد Wistar انجام شد. محلول کلرید روی به مدت ۳۰ روز (یک‌روز در میان) به صورت درون صفاقی به مقدار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم محلول در سرم فیزیولوژی به گروه تجربی تزریق گردید. به گروه کنترل در همین مدت سرم فیزیولوژی تزریق شد. جهت بررسی‌های هورمونی خونگیری از قلب حیوانات انجام گرفت. بعد از کالبد شکافی، بیضه برداشته شده و در فرمالین ۱۰٪ و گلو تارالدئید تثبیت گردید.

یافته‌ها

مقدار هورمون LH ($P < 0/001$) و تستوسترون ($P < 0/01$) در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد. (به ترتیب $P < 0/001$ و $P < 0/01$). مطالعه فراساختمانی بافت بیضه اتساع میتوکندری‌ها و افزایش واکوئولیزاسیون شبکه آندوپلاسمی صاف و افزایش گرانول‌های لیزوزومی (واکوئول‌های اتوفاژی) را در سیتوزول سلول‌های زاینده نشان داد.

نتیجه‌گیری

گرچه به نظر می‌رسد اکثر تغییرات هورمونی و بافتی در اثر روی می‌تواند برگشت‌پذیر باشد و احتیاج به پژوهش‌های تکمیلی است، ولی باز هم توصیه می‌شود به ویژه در جنس مذکر احتیاط لازم در مصرف بیش از حد ترکیبات روی به عمل آید.

کلید واژه‌ها: کلرید روی؛ بیضه، تستوسترون؛ گونادوتروپین‌ها؛ میکروسکوپ الکترونی.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران؛

آدرس پست الکترونی: sohrabidavood@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۲۳۴۱۵۷۰۷

تاریخ پذیرش: ۸۷/۹/۲۶

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۲۹

بافت بیضه، تستوسترون و گونادوتروپین‌های هیپوفیزی در موش صحرایی نر (RAT) بالغ انجام شد.

روش بررسی

حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق موش‌های صحرایی نر از نژاد Wistar بودند که در اتاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی زنجان تکثیر یافتند. اتاق حیوانات درجه حرارت ۲۴-۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبتی معادل ۵۰ تا ۷۰٪ داشت و به مدت ۱۲ ساعت روشن و ۱۲ ساعت تاریک بود. در موقع شروع پژوهش متوسط وزن حیوانات در گروه کنترل $22/4 \pm 290/9$ و در گروه تجربی $19/4 \pm 288/5$ گرم بود. حیوانات در قفس‌های گالوانیزه نگهداری می‌شدند. موش‌های نر با میانگین سنی ۱۲ - ۱۰ هفته جهت شروع مراحل اصلی آزمایش انتخاب شدند و در گروه ۱۲ تایی به صورت تصادفی قرار گرفتند. به گروه تجربی، کلرید روی از شرکت مرک آلمان به مقدار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم محلول در سرم فیزیولوژی تزریق شد. به گروه کنترل در همان مدت سرم فیزیولوژی تزریق گردید. تزریق در ساعت ۸ صبح و یک‌روز در میان و به مدت یک‌ماه و با سرنگ انسولینی انجام گرفت. در پایان، به حیوانات بیهوشی خفیف با کلروفورم از شرکت مرک آلمان داده شد و بعد از خونگیری از قلب، کشته شده و بعد از کالبد شکافی بیضه آن‌ها برداشته شد و در فرمالین ۱۰٪ و گلوتارالدئید تثبیت شدند. سنجش هورمونی به روش رادیو ایمنواسی (RIA) و با کیت‌های شرکت کاوشیار انجام گرفت و نمونه‌های میکروسکوپ الکترونی جهت تهیه و آماده‌سازی به شرکت دارو پخش تهران منتقل گردید. داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون تی و سطح معنی‌داری ($P < 0/05$) تجزیه و تحلیل گردیدند.

یافته‌ها

بعد از اتمام مداخله میانگین تغییرات وزن بدن حیوانات در گروه تجربی $2/25 \pm 6/15$ و گروه شاهد $2/12 \pm 7/19$ گرم بود. چنین اختلافی به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. میانگین وزن بیضه گروه تجربی $2/72 \pm 4/61$ و گروه شاهد $2/64 \pm 10/31$ گرم بود ($P < 0/001$).

مقادیر به دست آمده از آنالیز هورمون‌های LH، FSH، تستوسترون و DHEA در سرم گروه‌های تجربی و کنترل در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. مقدار LH و تستوسترون در گروه تجربی کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/001$ ، $P < 0/01$). در حالی‌که تغییرات FSH و DHEA در دو گروه معنی‌داری نبود.

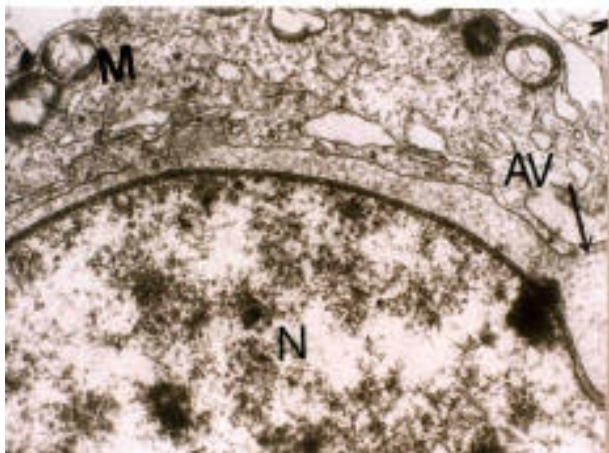
رشد روزافزون صنایع و آلودگی بی‌رویه محیط زیست به مواد شیمیایی موجب گردیده است که زندگی بشر و سایر موجودات زنده مورد تهدید قرار گیرد. یکی از این عناصر آلوده‌کننده فلز روی (Zn) از گروه عناصر کمیاب (Trace Elements) است. معادن روی در ژاپن، کانادا، روسیه، آمریکا و از جمله ایران و اطراف زنجان بسیار فراوان است (۱). عناصر کمیاب در بدن با وجود مقادیر بسیار اندک، تأثیرات فیزیولوژیک قابل ملاحظه‌ای ایجاد می‌کنند. کمبود یا افزایش این عناصر باعث بروز بیماری‌های متعدد می‌شود. فلز روی یکی از این عناصر کمیاب بدن محسوب می‌گردد، که مسمومیت با آن آثار متعددی در اندام‌های مختلف بدن به جای می‌گذارد (۲). اثر سمی حاد آن که به شکل Fever Metal Fume خود را نشان می‌دهد، کاملاً به اثبات رسیده است (۳). ولی در مورد عوارض تماس مزمن با این فلز تحقیقات مختلف نظرات گوناگونی را مطرح کرده‌اند. یکی از گزارش‌ها حاکی از آن است که املاح روی از طریق استنشاق، پوست و دستگاه گوارش وارد بدن می‌شود و می‌تواند موجب تهوع، مسمومیت، استفراغ و آسیب‌های پوستی و ریوی گردد (۴). گزارش دیگری می‌گوید بلع یا استنشاق فسفید روی موجب مرگ نیز شده است. گزارش دیگری اضافه می‌کند، کلرید روی موجب زخم‌های پوستی نیز می‌شود (۵). مطالعه دیگری نشان می‌دهد روی قادر به عبور از سد خونی مغزی می‌باشد و در فضای خونی مویرگ‌های مغزی می‌تواند ظاهر شود و این می‌تواند در بروز عوارض ناشی از عنصر روی در مغز مؤثر باشد (۶). در پژوهشی تزریق ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید روی در موش صحرایی نر، وزن پروستات را به صورت معنی‌داری کاهش داده، وزن بیضه‌ها و ساختمان بافتی آن‌ها را نیز دچار تغییراتی کرده بود (۷). مطالعه دیگری آسیب منتشر آلوتولی را در کارگرانی که با بخارات اکسید روی در تماس می‌باشند، گزارش کرده است (۸). اثرات کوتاه مدت استنشاق اکسید روی نیز تأثیر مختصری بر بافت ریه دارد (۹). در مطالعه‌ای آسیب‌های ریوی ناشی از استنشاق اکسید روی را در اثر افزایش سیتوکین‌های پیش‌تهابی و پلی‌مورفونوکلئرها در ریه دانسته‌اند (۱۰). مطالعه دیگری نشان می‌دهد بعد از ۸ سال تماس استنشاقی در معادن روی، سیستم قلبی - عروقی و سپس سیستم ریوی بیش از سایر اندام‌ها در معرض آسیب قرار می‌گیرد و افزایش میزان فشار خون و آسیب پارانشیم ریه از نشانه‌های آن است (۱۱). مطالعات دیگر حاکی از اثرات تخریبی سولفات روی بر بافت‌ها و اندام‌های ماهی کپور است (۱۲). به علت اندک بودن گزارشات که گاه نیز متناقض هستند و نیز اهمیت سلول‌های جنسی، این مطالعه با هدف تعیین اثرات مزمن روی (Zn) بر

جدول شماره ۱: مقادیر هورمون‌های پلازما در موش‌های گروه کنترل و تجربی بعد از دریافت یک‌ماه کلریدروی

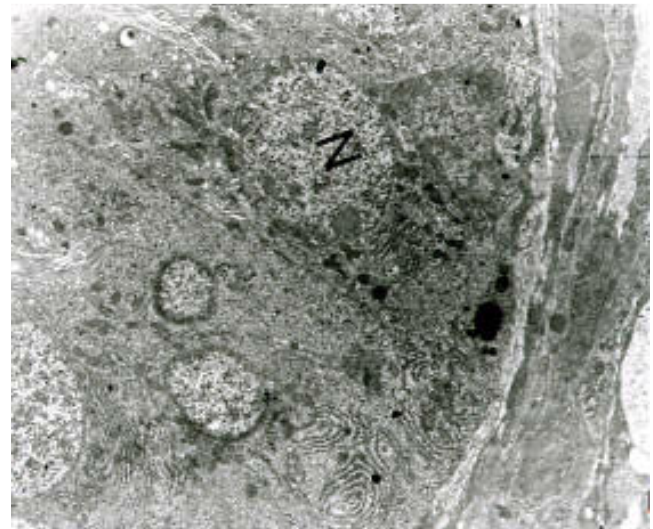
DHEA($\mu\text{g/ml}$)	تستوسترون(ng/ml)	LH(mIU/ml)	FSH(mIU/ml)	های آزمایشی گروه
$10/84 \pm 3/12$	$1/78 \pm 0/69$	$10/31 \pm 2/64$	$15/2 \pm 3/01$	شاهد (Group I)
$8/09 \pm 3/22$	$0/77 \pm 0/74^{***}$	$4/61 \pm 2/72^{***}$	$12/7 \pm 3/58$	۱۰ (Group II) mg/kg تجربی،
T-Test				$** P < 0/01$ $*** P < 0/001$

گرانول‌های لیزوزومی که احتمالاً واکوئول‌های اتوفاژی بودند نیز مشاهده شد. وزیکول‌های متسع حاصل از شبکه سیتوپلاسمی صاف نیز به تعداد کمی در میکروگراف‌ها وجود داشت (میکروگراف‌های الکترونی ۱ تا ۳).

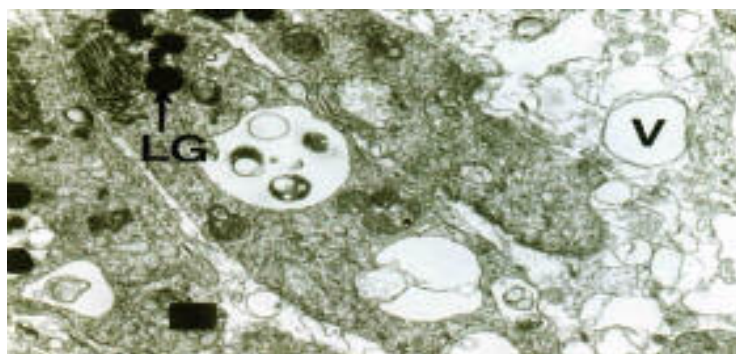
یافته‌های میکروسکوپ الکترونی حاکی از تغییرات مختصری در ارگانل‌های سلول‌های ژرمینال بود که مربوط به عامل ثانویه یعنی کلرید روی است. از جمله این تغییرات می‌توان تغییرات میتوکندری‌ها را نام برد که متسع و به هم ریخته بودند. افزایش در



شکل شماره ۲: میکروگراف ۲، بخشی از یک اسپرماتید زودرس در موش‌های تجربی در شکل دیده می‌شود، میتوکندری‌های متسع (M) در سیتوپلاسم دیده می‌شوند. در شکل وزیکول آکروزومی (AV) در اطراف هسته در حال شکل‌گیری است که کاملاً نرمال است (بزرگنمایی ۵۴۰۰۰ برابر)



شکل شماره ۱: میکروگراف ۱، بخشی از لوله اسپرم‌ساز در موش‌های کنترل در شکل دیده می‌شود، در شکل هسته اسپرماتوگونی کاملاً طبیعی است (بزرگنمایی ۴۰۰۰۰ برابر)



تجربی در شکل دیده می‌شود، همان‌طور که مشاهده می‌کنید افزایش در گرانول‌های لیزوزومی (LG) و واکوئول‌های سیتوپلاسمی در شبکه آندوپلاسمی وجود دارد (V). بزرگنمایی ۸۰۰۰۰ برابر)

مشاهده می‌گردد که می‌تواند حاصل از بین رفتن سلول‌های زایا باشند. مواد دیگری نیز به طور مشابهی می‌توانند باعث ایجاد واکوئل در ضخامت اپی‌تلیوم ژرمینال بشوند (۱۷). مطالعه حاضر نشان داد که مابین سلول‌های اسپرماتوگونی و سرتولی فضاهایی به‌وجود می‌آید که نشان‌دهنده از دست دادن اتصالات سلولی است و به عنوان یکی از علایم مرگ سلولی مطرح است که با یافته‌های پژوهش بالا هم‌خوانی دارد. تحقیقات Santamaria نشان می‌دهد در اثر ضخیم شدن غشای پایه لوله‌های اسپرم‌ساز، اسپرماتوژنز دچار اختلال می‌گردد که حتی ممکن است به عقیمی منجر شود و آزمایشات در ارتباط با این زمینه نشان داده‌اند که اتصال بین سلول‌های سرتولی و سلول‌های زایا موجب افزایش بقای سلول زایا می‌شود و پروتئین‌های خارجی سلولی بافت همبند نقش مهمی در برقراری اتصالات بین سلول‌ها دارند (۱۸). نتایج میکروگراف‌های الکترونی مطالعه حاضر نشان می‌دهد که شبکه آندوپلاسمی صاف آسیب دیده و با اتساع اولیه آن‌ها همراه است. غشای پایه لوله‌های اسپرم‌ساز نیز بیش از حد ضخیم شده است و با یافته‌های مطالعه بالا هم‌خوانی دارد. Hudson نیز در سال ۱۹۸۸ این‌گونه آسیب‌ها را گزارش کرده و آن را مربوط به تغییرات هورمونی از جمله کاهش آندروژنی دانسته است (۱۹). با کاهش هورمون تستوسترون در این مطالعه می‌توان گفت احتمالاً ضخیم‌شدگی غشای پایه لوله‌های اسپرم‌ساز که در میکروگراف‌ها دیده می‌شود مربوط به عامل آندروژنی است که موافق یافته‌های فوق است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه و دیگران می‌توان گفت افزایش فلز روی در محیط زیست و بدن می‌تواند به بافت بیضه آسیب برساند گرچه برای اثبات این موارد احتیاج به مطالعات تکمیلی بیشتری است، اما باز هم پیشنهاد می‌شود در مصرف بیش از اندازه املاح روی به ویژه به عنوان مکمل‌ها رعایت دقت و احتیاط صورت گیرد.

باتوجه به مطالعات اندک در مورد اثرات مزمن فلز روی بر بافت بیضه، در این پژوهش اثرات مزمن فلز روی بر بافت بیضه، تستوسترون و گونادوتروپین‌ها مطالعه شده است. FSH هورمونی است که در شروع اسپرماتوژنز در مرد و حیوانات نر نقش مهمی دارد و موجب پیشبرد تشکیل اسپرم در بیضه می‌شود. گونادوتروپین دیگری به نام LH در سنتز و ترشح تستوسترون توسط سلول‌های لیدیگ نقش مهمی دارد. تستوسترون نیز در شروع و ابقای اسپرماتوژنز نقش اصلی را ایفا می‌کند (۱۳). Lui و همکاران که اثرات روی (Zn) را در موش بررسی کرده‌اند گزارش می‌دهند روی موجب کاهش تستوسترون می‌شود و علت آن را آسیب جدی سلول‌های لیدیگ می‌دانند (۱۴). مطالعه دیگری نیز گزارش می‌دهد که روی و ترکیبات آن می‌توانند موجب کاهش تستوسترون بشوند (۱۵). در تفسیر موارد فوق می‌توان گفت روی احتمالاً به دو صورت مستقیم و غیرمستقیم بر روی سلول‌های ژرمینال اثر می‌کند. در روش مستقیم از طریق تأثیر بر روی بیان ژن‌ها باعث اختلال در روند اسپرماتوژنز می‌گردد و در روش غیرمستقیم از طریق تخریب سلول‌های لیدیگ و کاهش سطح تستوسترون سلول‌های ژرمینال را تحت تأثیر قرار می‌دهد. روی با اثرات سویی که بر سلول‌های لیدیگ دارد موجب کاهش تستوسترون می‌شود، اما با توجه به فیدبک منفی بین LH و تستوسترون به نظر می‌رسد با کاهش تستوسترون مقدار LH افزایشی را نشان دهد ولی چون روی از سد خونی مغزی می‌تواند عبور کند، بر روی سلول‌های گونادوتروف هیپوفیزی نیز اثر تخریبی می‌تواند داشته باشد که موجب کاهش هورمون LH می‌شود. در مطالعه حاضر نیز گرچه تستوسترون کاهش یافته است، اما موجب کاهش LH نیز شده است که حاکی از اثر روی بر سلول‌های لیدیگ و گونادوتروف‌های هیپوفیزی است. یافته‌های این پژوهش با مطالعات مذکور هم‌خوانی دارد. مطالعه Lau بر روی مرغ نشان می‌دهد سولفات روی موجب تحلیل رفتن سلول‌های گرانولوزا و فولیکول‌های تخمدانی می‌شود و مقدار ترشح LH کاهش می‌یابد ولی مقدار FSH تغییر معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (۱۶). در پژوهش حاضر تغییرات هورمون‌های FSH و DHEA معنی‌دار نبود. با توجه به این‌که منبع اصلی ترشح هورمون DHEA از غده فوق کلیه است می‌توان گفت اثرات سوء Zn بر غده فوق کلیه کمتر است. مطالعه Kumar و همکاران نشان می‌دهد عنصر روی موجب اتساع مویرگ‌های بیضوی شده و نکروز در لوله‌های منی‌ساز دیده می‌شود و واکوئل‌هایی در ضخامت اپی‌تلیوم ژرمینال

References:

1. DG. Zinc. *J Clin Toxicol* 1999;37(2):279-92.
2. MS, Wang M, Sutcu MF, Fahim Z, Youngquist RS. Sterilization of Dogs with Intra-Epididymal Injection of Zinc Arginine. *Contraception* 1993;47(1):107-122.
3. H, Dursun N, Ozkul Y, Demiratas H. Increased Sister Chromatid Exchange in Workers Exposed to Occupational Lead and Zinc. *Biol Trace Elem Res* 1993;61(1):105-109.
4. N, Nehru B, Bansal MP. Reproductive Potential of Male Portan Rats Exposed to Various Levels of Lead with Regard to Zinc Status. *Br J Nutr* 2004;91(3):387-391.
5. JL, Cartier A, Dolovich J. Acute Lung Reaction Due to Zinc Inhalation. *Eur Respir J* 1990;3(1):111-114.
6. H. 65 Zn Uptake from Blood in to Brain and Other Tissues in the Rat. *Neurochem Res* 1990;15(10):1003-1008.
7. N, Nehru B, Bansal MP. Influence of Lead and Zinc on Rat Male Reproduction at, Biochemical and Histopathological Levels. *JAppl Toxicol* 2002;1(6):507-512.
8. H, Suzaki K, Fujisaka S. Diffuse Alveolar Damage after Inhalation of Zinc Oxide Fumes. *Nihon Kogyuki* 2003;41(7):447-450.
9. WG, D'Alessandro A, Wintermeyer SF, Wong H. Pulmonary Responses to Purified Zinc Oxide Fume. *J Investig Med* 1995;43(4):371-378.
10. L, Ren WH, Zhu SL, Gao W, Zhou J, Jiang YZ, Gu Y. Effects of Chronic Cadmium Loading on the Testis and Endocrine Function of Reproduction in Male Rats. *Sheng Li Xue Bao* 2002;54(3):258-262.

11. M, Moshtaghi SAA, Chnghi Z, Takhty M, Saadat SH. Effect of Zinc on Body Organs. *Yafteh* 2003;19(5):51-55. [Full Text in Persian]
12. Beshman M, Solatti M, Sassani F. Study of Histopathological Effect of Heavy Metals (Cu SO₄, ZnSO₄, HgSO₄, CdCl) on Fish Tissues. *Vet Med* 1999;15(14):27-35. [Full Text in Persian]
13. JM, Weinbauer GF, Nieschlag E. Differential Effects of FSH and Testosterone on the Maintenance of Spermatogenesis in Adult Rat. *J Endocrinology* 1989;121:49-58.
14. JY, Stemer KL. Interaction Between Aluminium and Zinc or Copper and its Effects on the Pituitary Testicular Axis. *Biol Env Sci* 1990;3(1):10-15.
15. JD, Habeebu SS, Klaassen CD. Testicular Toxicity of Di-(2-Ethylhexyl) Phthalate in Young Sprague-Dawley Rats. *Toxicology* 2002;171(2):105-115.
16. YF. Zinc in Duced Moth Evidence for Adrenal Inhibitory Effect on Granulose Cells. *Poult Sci* 1998;7(1):161-167.

17.S, Pant SC. Comparative Effects of the Sublethal Poisoning Zinc, Copper and Lead on the Gonads of the Teleost *Puntius Conchonus* Ham. *Toxicol Let* 1984;23(2):189-194.

18.L. The Peritubular Myoid Cell in the Testes for Men with Varicocele. *Histopathology* 1992;21:423 -433.

19.Hudson RW. The Endocrinology of Varicocele. *Fertil Steril* 1988; 49:199- 2