

مطالعه مورفومتریک و هیستوپاتولوژیک اثرات مزمن کلرید

روی بر بافت بیضه و اسپرماتوژنز در موش

صحرائی بالغ

نویسندگان: * دکتر داود سهرابی ** دکتر کاظم پریور *** دکتر افسانه بقایی (۱)

خلاصه

اثرات مزمن و توکسیک روی (zn)، بر روی بافت بیضه و اسپرماتوژنز موش صحرائی نر بالغ، مورد مطالعه قرار گرفته است. به حیوانات کلرید روی ($zncl_2$) به صورت داخل صفاقی با دوز 10 mg/kg/BW محلول در سرم فیزیولوژی یک روز در میان تزریق شد. همزمان با تجربیات، یک گروه حیوان شاهد نیز در نظر گرفته شد و به آنها سرم فیزیولوژی تزریق گردید. در پایان آنها بوسیله کلروفورم بیهوش شدند بعد از کالبد شکافی بیضه آنها را برداشتیم و در مایع بوئن فیکس کردیم. بعد از آبگیری و شفاف کردن، قالب‌های پارافینی تهیه نمودیم. با میکروتوم روتاری برشهای ۳-۵ میکرونی تهیه گردید و با روش H-E رنگ آمیزی نمودیم. نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد کاهش معنی‌داری در سلولهای ژرمینال ولیدیک وجود دارد. مطالعه از نظر هیستولوژیک نشان می‌دهد که روند اسپرماتوژنز کند گشته و نکروز در بیضه و در بافت بینابینی کاملاً مشهود است. تعداد لوله‌های اسپرم‌ساز کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد؛ علاوه چهار دژنراسانس و آتروفیه هم شده‌اند. وزن بدن حیوانات در گروه تجربی بعد از تزریق، کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. واژه‌های کلیدی: بیضه، کلرید روی (روی)، RAT، مورفومتري

* عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی استان زنجان

** عضو هیأت علمی دانشگاه تربیت معلم تهران

*** عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی استان تهران

مقدمه

فلز روی (zn) بعزت پراکندگی در طبیعت و مصارف صنعتی به مقدار فراوان در محیط زیست اکثر موجودات زنده وجود دارد (۱). با توجه به گسترش کارخانجات صنعتی نیاز مبرمی بر مطالعه اثرات آن بر ارگانیسم احساس می شود. معادن سرب و روی کارخانجات استحصال آن در اطراف زنجان، مارا بر آن داشت که این پژوهش را انجام دهیم. نمکهای روی اکثراً در آب محلول هستند و به همین علت آلودگی آبهای زیرزمینی با این فلز زیاد می باشد (۲) نقش عنصر روی به عنوان Trace Element کاملاً واضح است روی موجب پیشبرد افزایش میتوز و اثر بر روی DNA پلی مر و نسخه برداری معکوس می شود. حیات، بقا و عملکرد ماکروفاژها و پلی مورفونوکلئرها وابسته به عنصر روی است (۶) کمبود روی موجب کاهش اشتها، کاهش حس چشائی و بویائی می شود. از طرفی افزایش بیش از حد روی در بدن می تواند موجب الیگو اسپرمی شود. (۳) کلرید روی یکی از املاح محلول عنصر روی است (۷). در این مطالعه اثرات توکسیک روی بر بافت بیضه و اسپرماتوزن مورد بررسی قرار گرفته است. همانطور که نتایج نشان می دهند اثرات آن بر روی لوله های

اسپرم ساز و اسپرماتوزن معنی دار است.

مواد مورد نیاز و روش اجرا:

بعد از تکثیر موشهای صحرانی از نژاد Wistar، موشهای نر با سن ۱۰ تا ۱۲ هفته جهت مطالعه انتخاب شده اند. سپس آنها را در دو گروه ۱۲ تایی کنترل و تجربی قرار دادیم، به گروه تجربی کلرید روی محلول در سرم فیزیولوژی با دوز ۱۰ mg/kg/BW یک روز در میان به مدت یک ماه به صورت داخل صفاقی تزریق کردیم؛ به گروه کنترل فقط سرم فیزیولوژی تزریق گردید. حیوانات قبل و بعد از تزریق وزن شدند بعد از بیهوشی و کالبدشکافی بیضه آنها برداشته و در مایع بوئن فیکس کردیم.

در گروه بافت شناسی بعد از مراحل پاساژ بافت برشهای ۳-۵ میکرونی تهیه و به روش H-E رنگ آمیزی نمودیم. آنالیز آماری با نرم افزار SPSS و HG انجام شد.

نتایج

وزن حیوانات قبل و بعد از تزریق مورد مقایسه قرار گرفته و همانطور که در جدول شماره (۱) مشاهده می کنید کاهش وزن معنی دار است ($P < 0.05$).

جدول شماره (۱): اثرات کلرید روی در وزن بدن موش ها

RAT	وزن بدن (گرم)	RAT	وزن بدن (گرم)
کنترل Initial	۲۹۰/۹ ± ۲۲/۴	تجربی Initial	۲۸۸/۵ ± ۱۹/۴
کنترل Final	۲۹۵/۵ ± ۲۰/۵	تجربی Final	۲۷۰/۴ ± ۱۸/۲*

* $P < 0.05$

مطالعه بر روی لوله های اسپرم ساز از نظر آتروفیه شده اند. مطالعات کمی نیز کاهش هیستولوژیک نشان می دهد که آنها دژنراسیون و قطر لوله ها و تعداد آنها را معنی دار نشان می دهد ($P < 0.001$). جدول شماره (۲)

جدول شماره (۲): اثرات کلرید روی در لوله های اسپرم ساز موش

RAT	میانگین قطر لوله (میکرو متر)	شکل لوله AXIAL RATIO	مساحت لوله (میکرو متر مربع)	تعداد لوله در هر mm
کنترل	330 ± 103	0.71 ± 0.19	93421 ± 78284	115 ± 39
تجربی	181 ± 27	0.73 ± 0.11	26359 ± 8160	225 ± 50
	***		***	***

*** $P < 0.001$

بعد از کالبد شکافی مشاهده شد، بیضه ها از نظر آناتومیک آتروفیه شده اند. نتایج هیستوپاتولوژیک نیز کند شدن و در مواردی متوقف شدن اسپرماتوژنز را نشان می داد. سلولهای بینابینی (لیدیگ) دچار نکروز شده بودند. نتایج مورفومتریک نیز تفاوت معنی داری را در سلولهای ژرمینال نشان می دهد. (جدول شماره ۳)

جدول شماره ۳ اثرات کلرید روی در سلولهای ژرمینال و اسپرماتوژنز

RAT	اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت (یک)	اسپرماتوسیت (دو)	اسپرماتید	اسپرماتوزا
کنترل	$55/6 \pm 13/1$	$58/3 \pm 11/2$	$84/6 \pm 18/1$	$90/4 \pm 17/4$	$93/4 \pm 21/5$
تجربی	$78/2 \pm 16/5$	$60/8 \pm 15/4$	$97/8 \pm 17/9$	$83/1 \pm 20/9$	$79/8 \pm 15/2$
	***		**		**

*** $P < 0.001$ و ** $P < 0.05$

بحث

در این مطالعه اثرات مزمن و توکسیک روی (zn) بر بافت بیضه و اسپرماتوزن نشان می‌دهد که می‌تواند موجب مرگ سلولهای ژرمینال و توقف اسپرماتوزن گردد. و این مشابه گزارشات Wahba.ZZ. (1994) می‌باشد که می‌گوید فلز روی می‌تواند موجب تخریب لوله‌های اسپرم‌ساز و سلولهای لیدینگ و هیپاتوسیت‌های کبدی گردد (Oldereid. (5). NB.,etal (1993). نیز گزارش می‌دهند که افزایش غلظت روی در خون و بافتها موجب تخریب و نکروز در اندامهای تناسلی، کبد و کلیه می‌شود (۴). با توجه به گزارشات فوق و یافته‌های این پژوهش پیشنهاد می‌شود جهت جلوگیری از اثرات سوء روی (zn) در معادن و کارخانجات نکات ایمنی دقیقاً رعایت شود و در صورت لزوم کارکنان و کارگران جهت آزمایشات پاراکلینیکی معرفی شوند.

سپاسگذاری

از دانشکده پزشکی و معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان به علت فراهم آوردن امکانات مورد نیاز بویژه تامین بودجه این طرح پژوهشی (طرح شماره ۱۷) قدردانی می‌شود.

Reference:

- 1-Fisher GL. Function and hemostasis of coper and zinc in mammalas 1975 sci 4(4) 373-412
- 2-Hidiorglaur M (1984). Zinc in mammalian sperm dai sci 67 1147-1156
- 3-Murphy MB (1988). The effects of zinc on testis and ovary: physiologic and histopathological alterations. cancer res.48(16) 4493-7
- 4-Oldereid .NB.,Thomassen.Y. (1993). concentration of lead, cadmium and zinc in the tissue of Reproductive organs of men.J.Rep.Fertil.99(2) 421-425.
- 5- Wahba.ZZ.,Miller.MS.,waalkes .MP.(1994). Absence of change in metalothianein RNA in the rat testes made refractory to cadmium toxicity by zinc per treatment. Hum.Exp.Toxicology.13(1) 65-67.

۶- پریور.ک. جزوه دانشگاهی تراتولوژی

۷- دافی.ج. ۱. ترجمه صابونچی.ج.، کلیات شیمی مدنی، انتشارات میهن، ۱۳۷۰



عکس شماره ۱: موش صحرایی کنترل (لام شماره

۱۰۲) بزرگنمایی $\times 120$ (بافت بیضه)

لوله‌های اسپرم‌ساز کاملاً طبیعی، غشاء پایه واضح سلولهای ژرمینال و لیدینگ حالت طبیعی دارند و اسپرماتوزوئیدهای بالغ در لومین (lumen) لوله‌های اسپرم‌ساز مشاهده می‌شود.



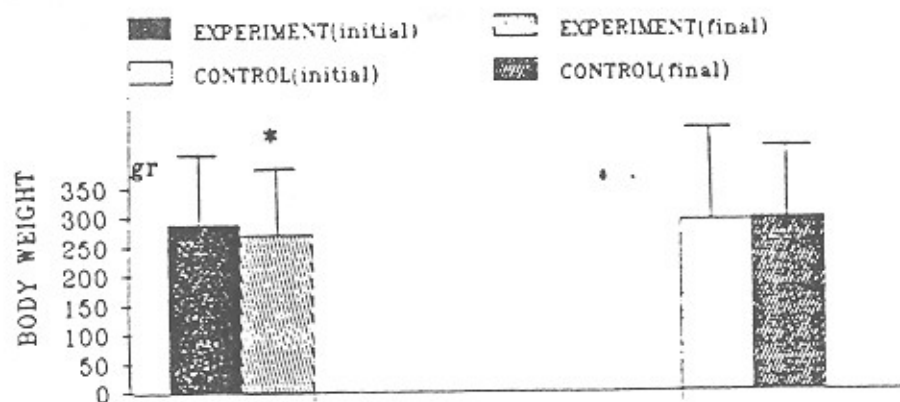
عکس شماره ۲: موش صحرایی تجربی (لام شماره

۱۰۲+) بزرگنمایی $\times 120$ (بافت بیضه)

لوله‌های اسپرم‌ساز حالت غیر طبیعی با غشاء پایه آسیب دیده، سلولهای لیدینگ و بینابینی حالت آتروفیه پیدا کرده‌اند، اسپرماتوزوئید تقریباً متوقف گشته است و اسپرماتوزوئیدهای بالغ در لوله‌ها دیده نمی‌شود.

BODY WEIGHT

effect of zncl₂ on body weight

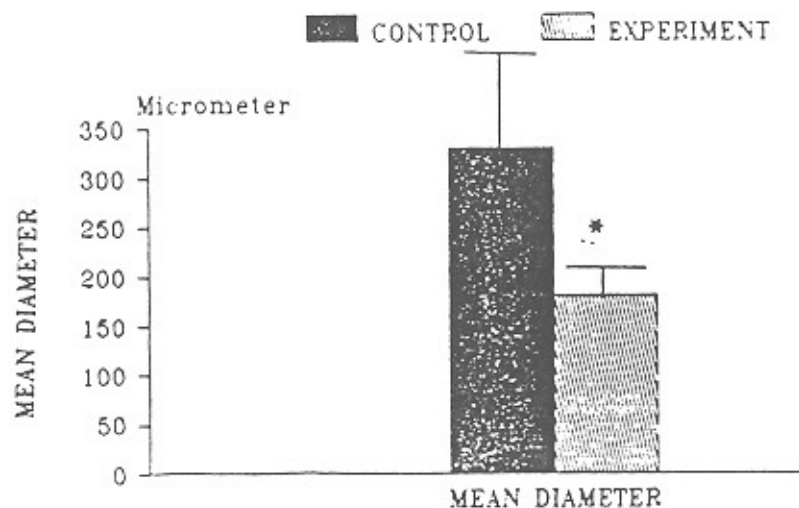


EXPERIMENT(initial)	288.5	*P<0.05
EXPERIMENT(final)	270.4	
CONTROL(initial)	290.9	
CONTROL(final)	295.5	

HISTOGRAM NO.3

SEMINIFEROUS TUBULES

effect of zncl₂ on mean diameter

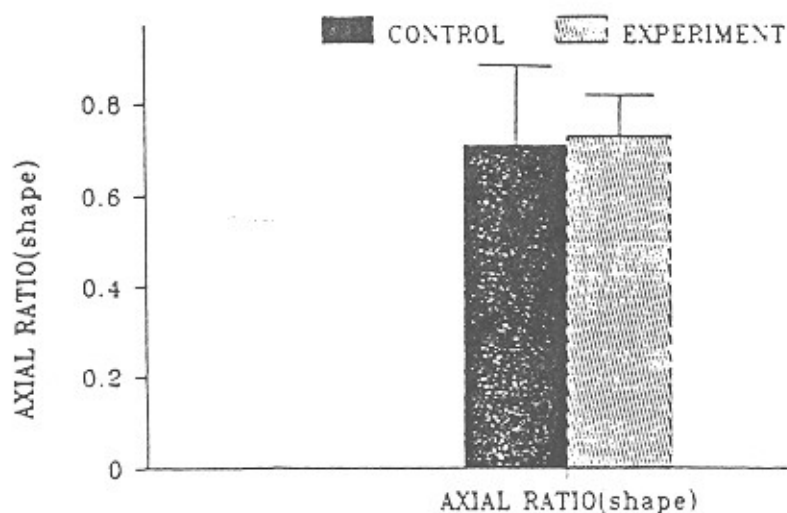


CONTROL	330
EXPERIMENT	181

HISTOGRAM NO.6

*p<0.001

SEMINIFEROUS TUBULES effect of zncl₂ on axial ratio(SHAPE)

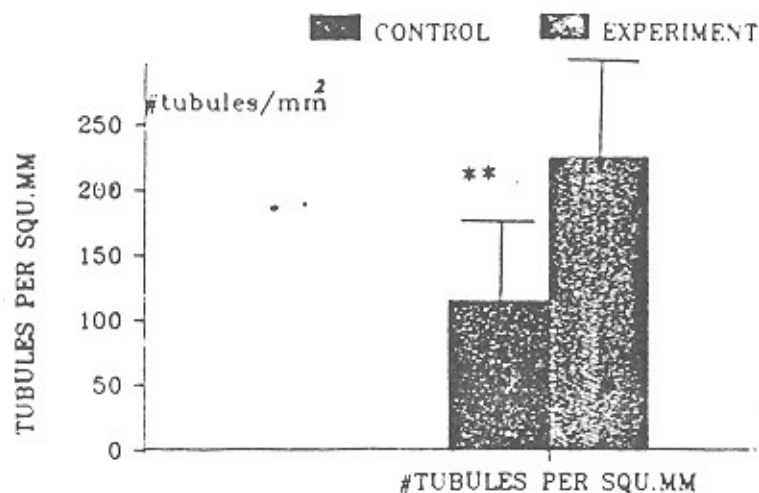


CONTROL
EXPERIMENT

0.71
0.73

HISOGRAMME NO.7

SEMINIFEROUS TUBULES effect of zncl₂ on #tubules/mm²



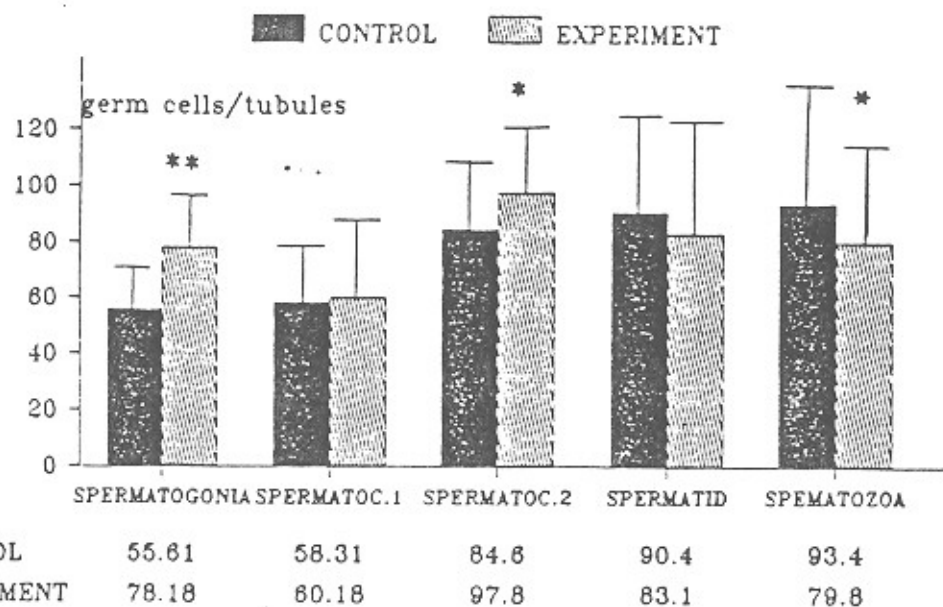
CONTROL
EXPERIMENT

115
225
**P<0.001

HISTOGRAMME NO. 8

GERMINAL CELLS

effect of zncl₂ on germinal cells

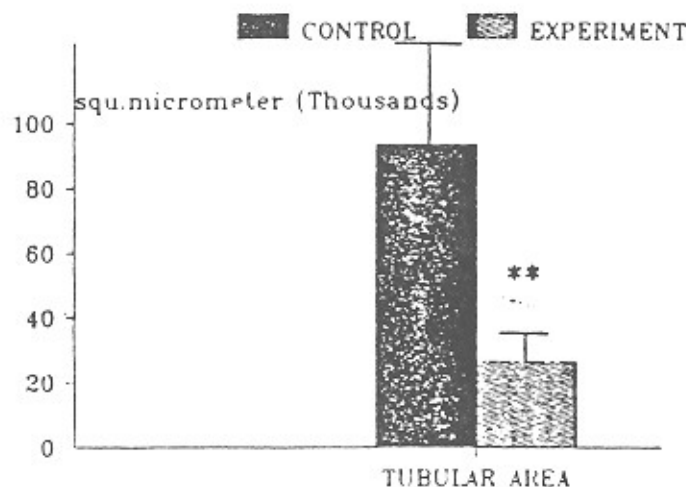


HISTOGRAM NO.9

* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$

SEMINIFEROUS TUBULES

effect of zncl₂ on tubular area



CONTROL
EXPERIMENT

93.421
26.359 ** $P < 0.001$

HISTOGRAM NO.10.