

## بررسی اثر تجویز «روی» بر قدرت باروری موش صحرایی نر قرار گرفته در معرض استرس صوتی

قاسم ساکی<sup>1\*</sup>، مریم السادات جلالی<sup>1</sup>، علی رضا سرکاکی<sup>1</sup>، خدابخش کرمی<sup>2</sup>

(1) مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه جندی شاپور اهواز

(2) گروه آموزش بهداشت، دانشکده بهداشت، دانشگاه جندی شاپور اهواز

تاریخ پذیرش: 91/6/27

تاریخ دریافت: 90/7/17

### چکیده

**مقدمه:** هدف از این مطالعه، بررسی اثرات حمایتی عنصر روی (Zn) به عنوان یکی از عناصر حیاتی که ارتباط نزدیکی با فعالیت ادوکرینی دارد، در جهت کاهش اثرات جانبی آلودگی صوتی بر میزان هورمون های تستوسترون، LH و FSH و هم چنین قدرت باروری موش صحرایی نر نژاد ویستار می باشد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه 40 سر موش صحرایی به صورت تصادفی به 4 گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول (گروه کنترل): در معرض آلودگی صوتی قرار نگرفتند. گروه دوم: به مدت 50 روز در معرض صوت با شدت 90-120 دسی بل و فرکانس 300-350 هرتز قرار گرفتند. گروه های سوم و چهارم: علاوه بر این که در معرض آلودگی صوتی قرار گرفتند، روزانه به مقدار 200 و 500 ppm روی، از راه آب آشامیدنی دریافت کردند. بعد از خون گیری که به منظور تست هورمون ها انجام شد، موش های نر هر گروه با موش های ماده همان نژاد در یک قفس جهت انجام جفت گیری نگه داشته شدند. هر روز صبح موش های ماده دارای پلاک واژینال مثبت را از قفس ها جدا کرده و بعد از گذشت 19 روز کشته شده و شاخ رحم هر موش به منظور شمارش جنین های زنده، غیرزنده و جذب شده بررسی شدند. داده ها با استفاده از آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی توکی و دانکن تجزیه و تحلیل شدند و  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی داری آزمون ها در نظر گرفته شد.

**یافته های پژوهش:** نتایج این مطالعه نشان داد که ترشح هورمون تستوسترون، LH و FSH در موش های صحرایی نر تحت صوت در مقایسه با سه گروه دیگر کاهش معنی داری داشت. هم چنین تعداد جنین های مرده و جذب شده در گروه تحت صوت در مقایسه با سه گروه دیگر افزایش معنی داری داشته است. در این مطالعه مشخص گردید که در گروه های دریافت کننده روی میزان هورمون های فوق و هم چنین تعداد جنین های زنده به دست آمده نسبت به گروه دریافت کننده صوت تنها، به طور معنی داری افزایش یافته است. ( $P < 0.05$ )

**بحث و نتیجه گیری:** با توجه به اثرات بسیار خوب مصرف روی در کاهش اثرات مخرب آلودگی صوتی در موش صحرایی پیشنهاد می شود که به منظور بررسی اثر تجویز عنصر روی بر نمونه های انسانی مطالعات دیگری صورت گیرد.

واژه های کلیدی: استرس صوتی، تستوسترون، FSH، LH، روی

\* نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه جندی شاپور اهواز

Email: ghasemsaki@yahoo.com

## مقدمه

استرس واکنش طبیعی موجود زنده در مقابل اثر محرک های خارجی و داخلی است که سبب بهم خوردن تعادل حیاتی شده و منجر به جریان های بیوفیزیولوژیک و روانی می گردد. به عبارت دیگر استرس پاسخ غیراختصاصی بدن به هر نوع نیروی تحمیلی می باشد که ممکن است در نتیجه اثرات روانی یا جسمی باشد. استرس بدن را به واکنش های دفاعی مانند دفاع بیولوژیکی و دفاع های روانی و اجتماعی بر می انگیزد. استرس انواع مختلفی دارد و روی قسمت های مختلف بدن اثرات منفی دارند. مطالعات زیادی در زمینه تاثیر استرس های مختلف بر روی سیستم هورمونی جنسی و دستگاه تولید مثل انجام شده است، از جمله تاثیر استرس حرارت و هورمون های تزریقی، که باعث کاهش میزان تستوسترون و اسپرماتوژنز شده اند. (1)

تاثیر استرس جا به جایی به این معنی که موش ها به طور مکرر از اتاقی به اتاق دیگر جا به جا شوند، نشان داد، ترشح پرولاکتین افزایش و هورمون رشد کاهش می یابد، (2). تاثیر استرس اشعه های رادیویی باعث افزایش مرگ سلول های جنسی، (3)، و شنای اجباری سبب کاهش چشم گیر تولید اسپرماتید می شود، (4). اثر استرس گرما روی باروری باعث اختلال در روند اسپرماتوژنز، بلوغ تخمک و تکامل اووسیت می شود، (5). شواهد زیادی وجود دارد که آلودگی صوتی به دستگاه های قلبی و عروقی، عصبی، شنوایی و اندوکراین آسیب می رساند، (6-9). سر و صدا حتی بر ترشح انسولین مورفولوژی سلول های بیضه عملکرد درون ریزی بیضه ها تاثیر می گذارد، (10، 11). از سویی غلظت روی در اعضای مانند پروستات، بیضه و مایع سمینال بالاست و این مطلب نشان دهنده نقش روی در دستگاه تولید مثل می باشد که به صورت تقویت اسپرماتوژنز، بلوغ اسپرماتوزوا و حفظ اپی تلوم زاینده می باشد، (12، 13). هم چنین روی یک عنصر آنتی اکسیدان است و نقش مهم و محافظت کننده ای در برابر رادیکال های آزاد دارد، (14). بر اساس بررسی های صورت گرفته معلوم شده است که عنصر روی بر تعداد، تحرک، قدرت و ظرفیت لقاح

اسپرماتوزوا نقش موثری دارد، (15). هدف از این مطالعه، بررسی اثرات حمایتی عنصر روی (zn) به عنوان یکی از عناصر حیاتی که ارتباط نزدیکی با فعالیت ادوکرینی دارد، در جهت کاهش اثرات جانبی آلودگی صوتی بر میزان هورمون های تستوسترون، LH و FSH و هم چنین قدرت باروری موش صحرایی در نژاد ویستار می باشد.

## مواد و روش ها

تعداد 40 سر موش صحرایی در نژاد ویستار با سن 70 روز از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه جندی شاپور اهواز خریداری و بعد از وزن کردن و مطمئن شدن از وزن آن ها (20±250 گرم) به طور کاملاً تصادفی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول (گروه کنترل) در معرض آلودگی صوتی قرار نگرفتند. گروه دوم: به مدت 50 روز در معرض صوت با شدت 120-90 دسی بل و فرکانس 300-350 هرتز قرار گرفتند. گروه سوم، مشابه گروه دوم در معرض آلودگی صوتی قرار گرفتند و روزانه به مقدار 200 ppm، روی از راه آب آشامیدنی دریافت کردند و گروه چهارم، مشابه گروه سوم تحت تاثیر صوت قرار گرفته و روزانه به مقدار 500 ppm روی دریافت کردند. موش ها در حرارت 2±25 درجه سانتی گراد و سیکل نوری 12 ساعت روشنایی 12 ساعت تاریکی نگهداری شدند. (16)

### روش اعمال استرس (تحت صوت قرار دادن)

قفس گروه های تجربی به درون اتاقی به ابعاد 3×4×3 متر که قبلاً با چوب ها و قطعات آکوستیک (ضد صدا) عایق شده بود، و قفس گروه شاهد به اتاق معمولی منتقل شدند. گروه های تجربی به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول تنها در معرض صوت قرار گرفتند. گروه دوم هم در معرض صوت قرار گرفتند و هم روزانه محلول 200 ppm روی از راه آب آشامیدنی دریافت کردند. گروه سوم مشابه گروه قبلی بوده اما روزانه محلول 500 ppm روی از راه آب آشامیدنی دریافت کردند. در اتاقی که گروه های تجربی قرار داده شدند، دستگاه تولید کننده صدای WHITE NOISE برای ساعت 19 روی فرکانس 300-350 هرتز و شدت 90 تا 120 دسی بل تنظیم شد، (17)، تایمر دستگاه به شکلی قرار داده شد که بعد

شدند تا رسوب ها کاملاً شسته شد. در این مرحله  $200 \mu\text{L}$  ماده استاندارد سلوشن (STANDARD SOLUTION) اضافه و پس از 15 دقیقه انکوبه کردن  $100 \mu\text{L}$  استاپ سلوشن (STOP SOLUTION) برای متوقف کردن فعالیت ها اضافه گردید. سپس  $450 \pm 10 \text{ nm}$  ماده جذب کننده به هر کدام اضافه کرد. و بعد از 10 دقیقه مقادیر هر هورمون توسط دستگاه READER خوانده شد. برای سنجش میزان هورمون FSH در تمام حفرات صفحه آزمایش کیت به جز یک حفره (BLANK)  $25 \mu\text{L}$  کالیبراتور (استاندارد) و  $25 \mu\text{L}$  از نمونه ها ریخته شد، سپس 15 دقیقه انکوبه و  $100 \mu\text{L}$  آنزیم کونژوگه به تمام حفرات به جز BLANK اضافه گردید بعد از 30 دقیقه انکوبه محتویات دور ریخته شد و با  $200 \mu\text{L}$  آب مقطر شسته شدند. در این مرحله  $100 \mu\text{L}$  سوبسترا سلوشن در همه حفرات اضافه شد و بعد از 10 دقیقه  $100 \mu\text{L}$  با استاپ سلوشن هر حفره شسته شد. سنجش هورمون LH هم مشابه هورمون FSH بود، با این تفاوت که در مرحله ای که کالیبراتور و نمونه در حفرات اضافه شد، زمان انکوبه کردن آن 10 دقیقه بود. تفاوت دیگر این که اضافه کردن کونژوگه 4 بار تکرار شد و با  $300 \mu\text{L}$  آب مقطر شسته شد و بعد از گذشت 30 دقیقه که تغییر رنگ در حفرات مشخص شد توسط دستگاه READER خوانده شد.

#### جفت گیری و بررسی جنین های حاصل

هر یک از گروه های موش های نر، با موش های ماده به نسبت 2:1 (دو ماده و یک نر) در یک قفس قرار داده شدند. هر روز موش های ماده ای که دارای پلاک واژینال مثبت بودند را جدا نموده و در قفس جداگانه قرار داده شدند، (16). بعد از گذشت 19 روز (از 21 روز که طول دوره حاملگی موش صحرایی ماده است) قبل از این که زایمان صورت بگیرد، موش ها را با استفاده از اتر بی هوش کرده و سپس با استفاده از دررفتگی نخاع (Cervical dislocation) کشته شدند. آن گاه موش ها به کمر خوابانده و در قسمت پایین شکم، پوست را بالا کشیده و با قیچی برش زده شدند. از نقطه پارگی، یک برش به سمت

از یک ساعت روشن بودن و پخش صدا توسط بلندگو، چند دقیقه (از 15 تا 60 دقیقه) خاموش و دوباره شروع به کار می کرد. این کار باعث می شود که از هر گونه سازش حیوان با شرایط استرس زا جلوگیری شود. البته لازم به ذکر است که خود دستگاه در دوره های زمانی 2-3 دقیقه ای، شدت و فرکانس صدای تولید شده را به طور اتوماتیک در محدوده حداقل و حداکثر تولید شده تغییر می دهد که این امر به عدم تطابق کمک می کند، (18). برای اطمینان از میزان و شدت صوت، از دستگاه Noise level meter استفاده شد. روشن کردن دستگاه در ساعت 19 و خاموش کردن آن در ساعت 7 صبح تا 50 روز که معادل طول دوره اسپرماتوزن موش های صحرایی است، ادامه پیدا کرد، (19). بعد از گذشت این مدت از موش های هر چهار گروه مورد مطالعه خون گیری به عمل آمد. (16)

#### خون گیری

خون گیری از راه دم انجام شد. برای این منظور بعد از تزریق 5 میلی گرم مخلوط گزیلازین-کتامین (هر کدام  $2/5$  میلی گرم) موش ها در مقید کننده قرار داده شده و دم در ظرفی حاوی آب گرم قرار گرفته و مالش داده شد. بعد از مشخص تر شدن رگ ها خون گیری انجام شد. خون هر موش به درون یک اپندروف که حاوی ماده ضد انعقاد EDTA بود، جمع آوری شد. بعد از اتمام کار خون گیری نمونه ها در دستگاه سانتریفیوژ با دور 3000 در مدت 12-15 دقیقه قرار داده شدند. سرم های خون جدا شده در اپندروف های دیگری قرار داده شده سپس با استفاده از کیت های آزمایش (شرکت Merk آلمان) FSH, LH و تستوسترون تعداد هر یک از این هورمون ها به روش الایزا اندازه گیری شد. (20، 21)

#### تست

برای سنجش میزان هورمون تستوسترون ابتدا  $25 \mu\text{L}$  از ماده استاندارد و نمونه در هر کدام از حفرات صفحه آزمایش کیت ریخته شد و بعد مقدار  $200 \mu\text{L}$  آنزیم کونژوگه اضافه شد. پس از 10 ثانیه مخلوط کردن به مدت 60 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند و بعد حفره ها را خالی نموده و سه بار با محلول شستشو

راست و یک برش به سمت چپ زده شد به نوعی که اندام های داخل شکم مشخص شدند. بعد از آن رحم را جدا کرده و وضعیت جنین ها در هر شاخ رحم بررسی شد. برای وزن کردن جنین ها، مقدار مشخصی آب در یک بشر ریخته و توزین انجام شد. سپس یک جنین در آب انداخته و بعد از وزن کردن آن از اختلاف دو عدد حاصل، وزن جنین به دست می آید. لکه زرد بدون جنین در رحم نشان دهنده جنین جذب شده است. نهایتاً داده ها با استفاده از آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی توکی و دانکن تجزیه و تحلیل شدند و  $P < 0.05$  برای سطح معنی داری آزمون ها در نظر گرفته شد.

### یافته های پژوهشی

میانگین و انحراف معیار هورمون تستوسترون، در دو گروه کنترل و تحت صوت به ترتیب برابر  $13/12 \pm 0/39$  و  $10/16 \pm 0/74$  بود. هم چنین در دو گروه دریافت کننده روی به میزان  $200 \text{ ppm}$  برابر  $10/10 \pm 0/21$  و در گروه دیگر که به میزان  $500 \text{ ppm}$  روی دریافت کرده بود، برابر  $11/09 \pm 0/47$  بود. نتایج نشان داد که در سه گروه تحت صوت میزان هورمون تستوسترون نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است. ( $P < 0.03$ ) میزان هورمون تستوسترون در دو گروه دریافت کننده روی نسبت به تحت صوت افزایش یافته و اختلاف معنی دار ( $P < 0.01$ ) بود. مقایسه بین دو گروه دریافت کننده روی نشان داد که اختلاف بین دو گروه دریافت کننده روی معنی دار نمی باشد. ( $P > 0.09$ )

میانگین و انحراف معیار هورمون LH در گروه های کنترل، تحت صوت و دریافت کننده روی به میزان  $200 \text{ ppm}$  و  $500 \text{ ppm}$  به ترتیب برابر  $23/59 \pm 1/27$ ،  $12/17 \pm 1/23$ ،  $17/37 \pm 1/68$  و  $21/09 \pm 1/97$  بود. آنالیز آماری انجام شده نشان داد که در سه گروه تحت صوت، میزان هورمون نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری ( $P < 0.004$ ) کاهش یافته است. میزان هورمون LH در دو گروه دریافت کننده روی نسبت به تحت صوت افزایش یافته و اختلاف معنی دار بود. ( $P < 0.02$ ) مقایسه بین دو گروه دریافت کننده روی نشان می دهد که اختلاف بین دو گروه دریافت کننده روی معنی دار است. ( $P < 0.001$ )

میانگین و انحراف معیار هورمون FSH در دو گروه کنترل و تحت صوت به ترتیب  $19/56 \pm 1/04$  و  $10/47 \pm 1/14$  بود. هم چنین در گروه دریافت کننده روی به میزان  $200 \text{ ppm}$  برابر  $11/35 \pm 1/01$  و در گروه دیگر که به میزان  $5000 \text{ ppm}$  روی دریافت کرده بود برابر با  $17/19 \pm 1/09$  بود. نتایج مطالعه نشان داد که در سه گروه تحت صوت میزان هورمون LH نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری ( $P < 0.006$ ) کاهش یافته است. میزان هورمون LH در دو گروه دریافت کننده روی نسبت به تحت صوت افزایش یافته و اختلاف معنی دار است. ( $P < 0.01$ ) مقایسه بین دو گروه دریافت کننده روی نشان می دهد که اختلاف بین دو گروه دریافت کننده روی معنی دار است. ( $P < 0.003$ )

جدول شماره 1. میانگین و انحراف معیار غلظت هورمون های تستوسترون، LH و FSH در موش های صحرایی مورد مطالعه

هورمون (IU/I) FSH	هورمون (IU/I) LH	هورمون تستوسترون (Nmol/l)	غلظت هورمون
M±SD	M±SD	M±SD	گروه مورد مطالعه
19/56±1/04	23/59±1/27	15/12±0/39	گروه کنترل
10/47±1/14	12/17±1/23	7/16±0/74	گروه تحت صوت
11/35±1/01	17/37±1/68	10/10±0/21	گروه تحت صوت + 200ppm روی
17/19±1/09	21/09±1/97	11/09±0/47	گروه تحت صوت + 500ppm روی

جفت گیری موش های ماده با موش های نر گروه کنترل برابر  $6/2 \pm 2/2$  گرم بود. هم چنین وزن جنین های حاصله از جفت گیری موش های ماده با موش های نر قرار گرفته تحت صوت و گروه های دریافت کننده روی به میزان 200 و 500 ppm به ترتیب برابر  $3/1 \pm 1/3$ ،  $5/5 \pm 1/9$ ،  $5/9 \pm 1/6$  گرم است. مطالعات بر اساس نتایج جنین های حاصل از جفت گیری موش های ماده با موش های نر قرار گرفته در معرض صوت به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. ( $P < 0.01$ ) وزن جنین های حاصله از جفت گیری موش های ماده با موش های دریافت کننده روی با گروه کنترل اختلاف معنی داری نشان نداد. ( $P > 0.05$ )

مقایسه تعداد جنین های مرده حاصل از بارداری موش های ماده با موش های نر چهار گروه مورد مطالعه:

میانگین و انحراف تعداد جنین های مرده از هر موش ماده جفت گیری کرده با موش های نر گروه کنترل و تحت صوت به ترتیب  $0/11 \pm 0/3$  و  $0/57 \pm 0/4$  محاسبه شد. اختلاف معنی داری بین گروه های کنترل و تحت صوت وجود دارد. ( $P < 0.004$ ) اما این اختلاف بین گروه های دریافت کننده روی و گروه کنترل معنی دار نیست. ( $P > 0.05$ )

مقایسه تعداد جنین های جذب شده در موش های ماده جفت گیری کرده با موش های نر چهار گروه مورد مطالعه:

میانگین و انحراف معیار تعداد جنین های جذب شده در موش های ماده جفت گیری کرده با دو گروه کنترل و تحت صوت به ترتیب  $0/17 \pm 0/2$  و  $2/1 \pm 0/3$  محاسبه شد. بین گروه های کنترل و تحت صوت اختلاف معنی داری مشاهده شد. ( $P < 0.003$ ) اختلاف بین گروه های دریافت کننده روی با دو غلظت متفاوت و گروه کنترل معنی دار وجود نداشت. ( $P > 0.05$ )

همان طوری که در جدول شماره 2 نشان داده شده است، در این تحقیق 20 سر موش صحرایی ماده با هر گروه از موش های نر مورد مطالعه جفت گیری کردند که میزان باروری در هر گروه نشان دهنده این موضوع است که قدرت باروری در موش های نر تحت صوت به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. ( $P < 0.001$ ) هم چنین میزان بارداری در گروه های دریافت کننده روی نسبت به گروه تحت صوت افزایش معنی داری نشان می دهد. ( $P < 0.008$ ) تفاوت بین قدرت باروری در دو گروه دریافت کننده روی معنی دار است و در گروه دریافت کننده روی به میزان 500 ppm بیشتر است. ( $P < 0.03$ ) نتایج بررسی ها جنین های حاصل از بارداری در روز 19 دوره حاملگی به شرح زیر است:

مقایسه تعداد کل جنین های زنده حاصل از بارداری موش های ماده با موش های نر چهار گروه مورد مطالعه:

میانگین و انحراف معیار تعداد جنین های حاصل از هر موش در دو گروه کنترل و تحت صوت به ترتیب  $6/4 \pm 0/5$  و  $3/1 \pm 0/3$  بود. اختلاف بین گروه های کنترل و تحت صوت وجود دارد. ( $P < 0.001$ ) هم چنین در گروه دریافت کننده روی به میزان 200 ppm برابر  $4/7 \pm 0/7$  و در گروه دریافت کننده روی به میزان 500 ppm برابر  $5/3 \pm 0/5$  است. نتایج مطالعه نشان داد که مصرف روی به طور معنی داری میزان جنین های زنده حاصله از هر موش قرار گرفته در معرض صوت را افزایش می دهد. اختلاف معنی داری بین دو گروه دریافت کننده روی مشاهده نشد. ( $P > 0.08$ )

مقایسه وزن جنین های زنده حاصل در بارداری موش های ماده با موش های نر چهار گروه مورد مطالعه:

میانگین و انحراف معیار وزن جنین های حاصل از

جدول شماره 2. نتایج باروری حاصل از آمیزش موش های صحرایی مورد مطالعه با موش های ماده

نتایج باروری	گروه مورد مطالعه	گروه کنترل	گروه تحت صوت	دریافت کننده 200 ppm روی	دریافت کننده 500 ppm روی
تعداد موش ماده	20	20	20	20	20
موش های باردار شده (%)	17(85%)	7(35%)	13(65%)	15(75%)	
تعداد کل جنین زنده	110	22	62	80	
(جنین از هر موش) M±SD	(6/4±0/5)	(3/1±0/3)	(4/7±0/7)	(5/3±0/5)	
وزن جنین های زنده (گرم)	6/2±2/2	3/1±1/3	5/5±1/9	5/9±1/6	
تعداد جنین های مرده	2	4	2	0	
(جنین از هر موش) M±SD	(0/11±0/3)	(0/57±0/4)	(0/15±0/6)	(0/0)	
میزان جنین های جذب شده	3	15	2	3	
(جنین از هر موش) M±SD	(0/17±0/2)	(2/1±0/3)	(0/15±0/1)	(0/20±0/3)	

### بحث و نتیجه گیری

پژوهش حاضر نیز به دست آمد می تواند به همین علت باشد.

در مطالعه دیگری که روی سلول های لایدیگ انجام شده، مشخص شده است که در معرض صوت بودن موش ها در حالت مزمن (Chronic) سبب توقف بلوغ در سلول های جنسی و کاهش تستوسترون می شود و از سویی برای جبران این موضوع ازدیاد تعداد سلول های لایدیگ با یک مکانیسم جبرانی برای افزایش استروئید تستیکولار از طریق نارسایی تستوسترون انجام شد، (23). مشخص شده است که در طول استرس محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال فعال می شود و ترشح گلیکوکورتیکوئید در سلول های لایدیگ کاهش می یابد. کاهش میزان تستوسترون در این مطالعه به دلیل در معرض صوت بودن که نوعی استرس محسوب می شود با نتایج حاصل از مطالعه تاثیر استرس عدم جا به جایی، مشترک است البته میزان هورمون LH هم در این مطالعه تغییری نیافته بود ولی سطح تستوسترون به اندازه 82 درصد کاهش یافته بود، (23). که نتایج این مطالعه در مورد هورمون تستوسترون با نتایج پژوهش حاضر مشابه ولی در مورد هورمون LH نتایج متفاوت است. تحقیق Babino و Hsueh (سال 1981) با نتایج مطالعه قبلی هم خوانی داشت، (24). در مطالعات دیگر مشخص شده که در طول هر دوره استرس صوتی کاهش موقتی در میزان تستوسترون دیده می شود و این نتایج با نتایج مطالعه

یافته های به دست آمده از تحقیق حاضر نشان می دهد که میزان هورمون های تستوسترون، FSH و LH در گروه هایی که در معرض صوت به مدت 50 روز و با شدت 90-120 دسی بل و فرکانس 300-350 هرتز قرار داشته اند، در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان می دهد. سهم عمده ای از کنترل اعمال جنسی در مردان با ترشح هورمون آزادکننده گونادوتروپین GnRH توسط هیپوتالاموس انجام می شود. این هورمون به نوبه خود غده هیپوفیز قدامی را تحریک و وادار به ترشح دو هورمون دیگر به نام های LH, FSH می نماید. هورمون LH یا هورمون لوتهینی محرک اصلی برای ترشح تستوسترون توسط بیضه بوده و هورمون FSH یا هورمون محرک فولیکولی به طور عمده اسپرما توژنز را تحریک می کند. در مطالعات قبلی نشان داده شد که در اثر استفاده از صدای ترافیک با شدت 100 دسی بل، میزان هورمون تستوسترون در موش های صحرایی آلبینو نر با وزن 200-250 گرم کاهش چشم گیری داشته است. در این بررسی به مطالعه هیستولوژی (بافت شناسی) سلول های لایدیگ نیز پرداخته شده است و مشخص شده است که این سلول ها در اثر در معرض صوت قرار گرفتن میزان واکنش پذیری آن ها به شدت کم می شود و این موضوع باعث می شود که حتی اگر میزان LH هم افزایش یابد باز هم میزان تستوسترون تولیدی کم می شود، (21). نتایج مشابهی نیز که در

باعث کاهش این هورمون می شود ولی بعد از مدتی هیچ گونه تغییری نسبت به حد نرمال نداشت. این مطالعات در مورد هورمون های FSH هم انجام شد که نتایج این هورمون بعد از در معرض صوت بودن به این صورت است که FSH تحت تاثیر این عامل استرس دهنده قرار نگرفت سایر هورمون هایی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت کورتیکوسترون و هومون رشد بود که نتایج مشابهی با نتایج LH دارد. در مورد هورمون FSH و LH نتایج این مطالعه با نتایج ما هم خوانی ندارد. که علت می تواند به میزان زمان استرس دادن مربوط باشد،(11). از طرف دیگر مطالعات مختلفی در مورد نقش روی در اسپرماتوژنیز صورت گرفته است. در یک مطالعه که توسط کریش نامورتی و همکاران در سال 1998 در مورد نقش محافظتی روی بر اسپرماتوژن موش صحرایی صورت گرفته است نشان داده شده که استفاده از اسپارات روی می تواند سلول های اسپرماتوگونی را در برابر مرگ سلولی ناشی از تابش اشعه محافظت کند،(30). در مطالعه ای دیگر که توسط اونین ماچی و همکارانش صورت گرفته نشان داده شده است که مصرف روی می تواند از آسیب بیضه و توکسیستی ناشی از کرومیوم جلوگیری کند،(31)، و یا در مطالعه دیگری که توسط اولیورا و همکاران صورت گرفته نشان داده شده است که روی یک عنصر حیاتی جهت حفظ خصوصیات اسپرم می باشد،(14). در یک مطالعه دیگر نشان داده شده است که روی در حفظ سلامتی اسپرم دارای نقش اساسی است و سبب حفظ ساختمان اسپرم و کروماتین هسته، افزایش فعالیت اسپرم و حرکت رو به جلوی اسپرم می شود و کمبود آن سبب از بین رفتن واکنش آکروزومی و اختلال در قدرت باروری تخمک می شود،(32). در مطالعه ای دیگر مشخص شد که روی می تواند اثر مخرب امواج الکترومغناطیس را کم کند به طوری که با تجویز سولفات روی به میزان 500 ppm و 200 ppm به صورت خوراکی به موش ها مشاهده شد که هم تعداد و هم حرکات رو به جلو به طور قابل ملاحظه ای بهبود یافته اند،(34). یافته های به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که با مصرف روی توسط موش های نر، قدرت باروری

حاضر هم خوانی دارد و البته با مشاهده سلول های جنسی و بررسی آن ها معلوم شده که افزایش مرگ سلولی هم در این سلول ها به وضوح قابل رویت است،(25-27)، که نتایج این مطالعه در مورد هورمون تستوسترون با نتایج پژوهش حاضر مشابه است. مطالعات نشان می دهد کاهش سطح تستوسترون در موش های تحت صوت هم چنین با کاهش چشم گیر و مشخص تعداد اسپرم های اپیدیدیم همراه است،(21). به علاوه در طی مطالعات بافت شناسی مشخص شده است که اسپرم های اپیدیدیم در گروهی از موش ها که به صورت مزمن تحت تاثیر صوت بودند، آگلوتینه شدند و تعداد اسپرم های مرده افزایش یافت و بلوغ در سلول های جنسی متوقف شد،(27). در مطالعه دیگری که در سال 1984 انجام شده معلوم گشته که استرس صوتی از نوع حاد روی میزان تستوسترون در موش رات نر نژاد ویستار بالغ باعث افزایش میزان تستوسترون می شود که این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد. همین طور در این مطالعه معلوم شده که استرس مزمن صوتی به همراه نور منجر به آسیب عملکرد درون ریزی بیضه ها در رات ها نمی شود. شاید اثر نور باعث این اثر محافظتی شده باشد،(28). ولی طبق مطالعه حاضر سر و صدا باعث کاهش میزان تستوسترون می شود. در مطالعه دیگر گذشته نگری، افزایش هورمون کورتیزول نیز در مواجهه با آلودگی صوتی با شدت 40 دسی بل و فرکانس 1100 هرتز در طی 90 روز به اثبات رسیده است. با توجه به این که معمولاً در جوامع صنعتی ترکیبی از آلودگی ها و استرس های مختلف از جمله آلودگی هوا، آلودگی صوتی، تنش های روزمره و غیره موجب افزایش کورتیزول می شوند، این مطالعه افزایش کورتیزول را به علت استرس ناشی از آلودگی صوتی به طور مشخص و اختصاصی به اثبات رسانده است،(19) بر اساس پژوهشی دیگر نیز مشخص شده که استرس صوتی روی هورمون LH موثر است. بر طبق نتایج این پژوهش که در سال 1984 صورت گرفته مشخص شده که اثر استرس صوتی حاد روی میزان هورمون LH به صورت افزایش این هورمون است ولی همین استرس به طور مزمن روی این هورمون در ابتدا

آن‌ها نسبت به گروه تحت صوت افزایش معنی داری می‌یابد. هم‌چنین تعداد و وزن جنین‌های زنده استخراج شده از موش‌های ماده جفت‌گیری کرده با موش‌های نر دریافت‌کننده روی به طور معنی داری نسبت به گروه قرار گرفته در معرض صوت افزایش یافت. در این مطالعه به وضوح مشخص گردید که میزان جنین‌های مرده و حتی جذب شده با مصرف روی کاهش می‌یابد. بر اساس مطالعات انجام شده در این زمینه، مشخص شده که نوع دیگری از استرس به نام استرس شنای اجباری در موش‌های صحرایی نر باعث کاهش تعداد جنین‌های زنده و وزن آن‌ها و افزایش تعداد جنین‌های جذب شده و مرده، شده است که این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مشابه است، (15). در مطالعات قبلی دیگر نشان داده شده که استرس‌های اثرات منفی روی هورمون‌های جنسی، رفتار جنسی و هم‌چنین کیفیت مایع منی می‌گذارد، (34)، در مطالعه‌ای دیگر مشخص شده است که استرس بی‌حرکتی (عدم جا به جایی) باعث کاهش اندازه و وزن بیضه‌ها و همین‌طور سبب اختلال در روند اسپرماتوزن و تقسیم سلولی می‌شود، (35). که نتایج این مطالعه می‌تواند از دلایل مربوط به پژوهش حاضر باشد. در مطالعه‌ای دیگر مشخص شده است که حیوانات بالغی که به صورت متناوب در معرض استرس عدم تحرک قرار می‌گیرند دارای سرعت لقاح و لانه‌گزینی پایین‌اند و این‌حالت حتی در فرزندان حاصل از آن‌ها نیز دیده می‌شود، (36). بر اساس پژوهش‌های انجام شده علت ظهور این حالات احتمالاً به خاطر این است که یک تخمک با یک اسپرم آسیب دیده و ضعیف لقاح می‌یابد، (۳۴، ۳۷، ۳۸). نکته مهم دیگر این که مرگ و میر نوزادان هم در بین آن‌ها که در محیط استرس‌زا بودند به مراتب بیشتر بوده و همین‌طور جذب شدن جنین‌ها قبل از کامل شدن دوره جنینی در گروه‌های استرس دیده مشهود بود که اگر این نتایج در مطالعات بعدی هم مورد تأیید قرار بگیرد باید موضوع سر و صدا را به عنوان یک عامل بیماری‌زای محیطی خطرناک به حساب آورد. چرا که یکی از معیارهای مهم در بررسی توسعه یک کشور میزان مرگ میر مادران و نوزادان می‌باشد که به این

امر هم باید توجه خاص شود. یکی از مهم‌ترین عواملی که باعث مرگ و میر نوزادان می‌شود، کم‌وزنی است که حدود 12 تا 15 درصد تولدها را شامل می‌شود که احتمال مرگ و میر آن‌ها در این دوره سه برابر کودکان دارای وزن طبیعی می‌باشد و هم‌چنین میزان آسیب‌پذیری و موارد ابتلا آن‌ها نسبت به بیماری‌ها افزایش پیدا کند. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که وزن هنگام تولد نوزادانی که در محیط پر سر و صدا رشد کرده و متولد شده به طور معنی داری نسبت به آن‌ها که در محیط طبیعی بوده اند کمتر است. این نتایج با نتایج مطالعه دیگر که توسط سرکاکی انجام شده هم خوانی دارد و مشابه است، (16) طی مطالعه دیگری که در سال 1379 به انجام رسیده نقش آلودگی صوتی را در بروز حاملگی بررسی کردند، مشخص شده که در معرض صوت بودن هر دو جنس باعث افزایش مرگ مادران می‌شود که این موضوع با نتایج حاضر هم خوانی دارد همین‌طور در آن مطالعه معلوم شد که وزن نوزادان و تعدادشان در گروه تحت صوت نسبت به گروه کنترل کاهش می‌یابد. در صورتی که این نتایج با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی ندارد، (20)

بررسی دیگری که در زمینه صوت صورت گرفته، تاثیر سر و صدا را روی میزان دوقلو زایی مطالعه کرده‌اند و مشخص شده است که میزان دوقلو زایی در موش‌هایی که در معرض سر و صدا بودند نسبت به موش‌هایی که در محیط آرام رشد کرده‌اند بیشتر است و همین موضوع دلیلی برای کاهش وزن نوزادان است، (16). این مطالعه نشان داده است که سر و صدا در میزان باروری، چندقلو زایی، مرگ و میر مادران، مرگ و میر نوزادان و وزن هنگام تولد موش‌ها تاثیر دارد.

در نهایت می‌توان چنین استنباط کرد با توجه به اثرات بسیار خوب مصرف روی در کاهش اثرات مخرب آلودگی صوت در موش صحرایی پیشنهاد می‌شود که به منظور بررسی اثر تجویز عنصر روی بر نمونه‌های انسانی مطالعات دیگری طراحی شود.



## سپاسگزاری

نگارندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت

تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز اعلام می دارند.

## References

- 1-Lue Y, Hikim AP, Wang C, Im M, Leung A, Swerdloff RS. Testicular heat exposure enhances the suppression of spermatogenesis by testosterone in rats: the "two-hit" approach to male contraceptive development. *Endocrinology* 2000;141:1414-24.
- 2-Krulich L, Hefco E, Illner P, Read CB. The effects of acute stress on the secretion of LH, FSH, prolactin and GH in the normal male rat, with comments on their statistical evaluation. *Neuroendocrinology* 1974;16:293-311.
- 3-Yu C, Yao Y, Yang Y, Li D. [Changes of rat testicular germ cell apoptosis after high power microwave radiation]. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2004;10:407-10.
- 4-Mingoti GZ, Pereira RN, Monteiro CM. Fertility of male adult rats submitted to forced swimming stress. *Braz J Med Biol Res* 2003;36:677-81.
- 5-Hansen PJ. Effect of heat stress on mammalian reproduction. *Philops Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2009; 364:3341-50.
- 6-Gloag D. Noise :Hearing loss and psychological effect. *Br Med J*1980;281:1325-7.
- 7-Alario P, Gamallo A, Beato MJ, Tranco G. Body weight gain, food intake and adrenal development in chronic noise stressed rats. *Physiol Behav* 1987;40:29-32.
- 8-Spreng M. Central nervous system activation by noise. *Noise Health* 2000;2:49-58.
- 9-Babisch W. Stress hormones in the research on cardiovascular effects of noise. *Noise Health* 2003;5:1-11.
- 10-Armario A, Castellanos JM, Balasch J. Chronic noise stress and insulin secretion in male rats. *Physiol Behav* 1985;34:359-61.
- 11-Chandralekha GS, Jeganathan R, Charan JC. Noiseexposure effect on testicular histology morphology and on male steroidogenic hormone. *Malaysian J Med Sci* 2007;14:28-35.
- 12-Fournier GR, Macaninch JW. Sonography in the staging of testicular trauma. In: *Traumatic and reconstructive urology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1996.P.727-32.
- 13-David GM, Fels HE. Effect of zinc supplementation on reproductive performance of grazing Merion ewes. *Biol Trace Elem Res* 1980;4:281-90.
- 14-Olivera CEA, Badu CA, Ferreira WM, Lana AMQ. Effect of dietary zinc supplementation on spermatic characteristics of Rabbit Breeders. *Proce World Rabbit Congr* 2005;7-10.
- 15-Saki G, Rahim F. Effect of supplementation of zinc on count, motility and in vitro fertilization capacity of spermatozoa of magnetic field exposed Rats. *J Biol Sci* 2010;10:174-7.
- 16-Karami K, Sarkaki AR. The effect of noise on fertility outcomes of white rats. *Sci Med J* 2002;33:45-9.
- 17-Helmstetter FJ, Bellgowan PS. Hypoalgesia in response to sensitization during acute noise stress. *Behav Neurosci* 1994; 108:177-85.
- 18-Sarkaki, AR, Heydari A, Shahraki M. Effects of noise stress during fetal life on pain threshold in rats. *J Kerman Univ Med Sci* 2000;7:53-9.
- 19-Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev* 1993;3:79-118.
- 20-Sabahi, AR, Moradi I. A study of effects of noise pollution on weight and blood pressure of rat. *J Isfahan Med School* 2003;20: 53-5.
- 21-Noguchi J, Yoshida M, Ikadai H, Imamichi T, Watanabe G, Taya K. Age-related changes in blood concentrations of FSH, LH and testosterone and testicular morphology in a new rat sterile mutant with hereditary aspermia. *J Reprod Fertil* 1993; 97:433-9.
- 22-Mylchreest E, Sar M, Wallace DG, Foster PM. Fetal testosterone insufficiency and abnormal proliferation of Leydig cells and gonocytes in rats exposed to di(n-butyl) phthalate. *Reprod Toxicol* 2002;16:19-28.
- 23-Orr TE, Taylor MF, Bhattacharyya AK, Collins DC, Mann DR. Acute immobiliza-

- tion stress disrupts testicular steroidogenesis in adult male rats by inhibiting the activities of 17 alpha-hydroxylase and 17, 20-lyase without affecting the binding of LH/hCG receptors. *J Androl* 1994;15:302-8.
- 24-Bambino TH, Hsueh AJ. Direct inhibitory effect of glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis in vivo and in vitro. *Endocrinology*. 1981;108:2142-8.
- 25-Srivastava RK, Taylor MF, Mann DR. Effect of immobilization stress on plasma luteinizing hormone, testosterone, and corticosterone concentrations and on 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in the testes of adult rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1993;204:231-5.
- 26-Yazawa H, Sasagawa I, Ishigooka M, Nakada T. Effect of immobilization stress on testicular germ cell apoptosis in rats. *Hum Reprod* 1999;14:1806-10.
- 27-Pellegrini A, Soldani P, Gesi M, Lenzi P, Natale G, Martini F, et al. Diazepam reduces ultrastructural changes induced by noise stress in rat adrenal gland. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1998;30:385-91.
- 28-Oakes DJ, Webster WS, Brown-Woodman PD, Ritchie HE. Testicular changes induced by chronic exposure to the herbicide formulation, Tordon 75D (2, 4-dichlorophenoxyacetic acid and picloram) in rats. *Reprod Toxicol* 2002;16:281-9.
- 29-Ozguner M, Koyu A, Cesur G, Ural M, Ozguner F, Gokcimen A, Delibas N. Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Med J* 2005;26:405-10.
- 30-Krishnamurthy H, Jagetia GC, Jyothi P. Radioprotective effect of zinc aspartate on mouse spermatogenesis: a flow cytometric evaluation. *Mutat Res* 1998;401:111-20.
- 31-Onyenmachi J, Afonne OJ, Orisakwe OE, EkanemIOA, Akumka DD. Zinc protects chromium-Induced testicular injury in mice. *Indian J Pharmacol* 2002;34:26-31.
- 32-Saksena S, White MJ, Mertzluft J, Lau I. Prevention of cadmium-induced sterility by zinc in the male rat. *Contraception* 1983;27:521-30.
- 33-Jasemi M, Kheradmand A, Saki G, Zaynali M. The effect of electromagnetic field and protective effect of zinc sulfate on count and motility of adult rats sperm. *Scientific J Hamadan Univ of Med Sci* 2009;16:11-15.
- 34-Almeida AS, Kempinas WG, Lamano Carvalho TL. Sexual behavior and fertility of male rats submitted to prolonged immobilization-induced stress. *Braz J Med Biol Res* 2000;33:1105-9.
- 35-Rai, J, Pandey SN, Srivastava RK. Effect of immobilization stress on spermatogenesis of albino rats. *J Anat Soc India* 2003;52:52-7.
- 36-Almeida SA, Anselmo-Franci JA, Rosa e Silva AA, Carvalho TL. Chronic intermittent immobilization of male rats throughout sexual development: A stress protocol. *Exp Physiol* 1998;83:701-4.
- 37-Giblin PT, Poland ML, Moghissi KS, Ager JW, Olson JM. Effect of stress and characteristic adaptability on semen quality in healthy men. *Fertil Steril* 1988;49:127-32.
- 38-Steinberger E. The etiology and pathophysiology of testicular dysfunction in man. *Fertil Steril* 1978;29:481-91.



## Effect of Supplementation of Zinc on Fertilization Capacity of Male Rats Exposed to Noise Stress

Saki Gh<sup>\*1</sup>, Jalali M.S<sup>1</sup>, Sarkaki A.R<sup>1</sup>, Karami Kh<sup>2</sup>

(Received: 9 Oct. 2011

Accepted: 17 Sep. 2012)

### Abstract

**Introduction:** Considering the harmful effects of noise stress on the fertility and sex hormones, it is trying to minimize the effects of stress. In this study, it was decided to use zinc and study the protective effects of zinc supplementation on fertilization capacity of male rats exposed to noise stress.

**Materials & Methods:** In this experimental study 40 male Wistar rats with weight of  $225 \pm 25$  grams were divided randomly into four equal groups (n=10). Control group: No exposed to noise stress, Group 2: Exposed to noise with intensity of 90-120 db. And frequency of 300-350HZ and an ordinary one for 50 days at night times. Rats in groups 3 & 4: Exposed to noise stress as mention above and received 300 and 500 ppm of zinc respectively. After 50 days the blood samples of rats in four groups were collected and the plasma level of testosterone, LH and FSH was calculated. Afterwards any group of male rats with ratio of 2:1 coupled with female ones and

after 19 days the pregnant mice scarified and produced fetuses was assessed. Data were analyzed using ANOVA, Tukey and Duncan's tests and p value of  $<0.05$  was considered as statistically significant.

**Findings:** This study showed that the plasma concentration of testosterone, LH and FSH significantly decrease in rate exposed to noise stress. The number of alive fetuses and weight of them also decreases and the rate of dead and absorb fetuses increased in rate exposed to noise. In this study the role of zinc as a protective agent was well understood.

**Discussion & Conclusion:** we recommend that the living environment of human being to be less affected to this physical pollution. It is suggested that people who live in noisy places a value of zinc uses.

**Keywords:** noise stress, testosterone, LH, FSH, zinc

1. Physiology Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

2. Dept of Health, Faculty of Health Education, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

\*(corresponding author)