بررسی اثر مکمل خوراکی زینک بر عملکرد بیضه در مدل شبیه‌سازی شده بی‌وزنی (مدل آزمایشگاهی سفرهای فضایی)

مهدی سلیمانی دمابی[۱]، امیر خوشوقتی[۲*]، امیر نظامی اصل[۲]

۱- گروه زیست شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

۲- گروه علوم پایه، دانشکده طب هوا فضا و زیر سطحی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: khoshvaght_a_kh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۷

چکیده

بررسی محیط‌های میکروگرانشی نشان می‌دهد سفرهای فضایی بر فیزیولوژی بیضه تاثیر می گذارد. از مدل تعلیق دم برای تقلید بی‌وزنی(میکروگرانشی یا میکروگراویتی) و اثر آن بر عملکرد بیضه در موش نر بالغ استفاده شد. ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار به چهار گروه شش‌تایی تقسیم شدند. بی‌وزنی به روش آویزان سازی از دم انجام شد و تجویز زینک به صورت محلول در آب صورت گرفت. گروه‌ها شامل مداخله ۱: فقط شبیه‌سازی مایکروگراویتی (TS) و مداخله ۲: مجموع شبیه‌سازی مایکروگراویتی و تجویز زینک یا روی (ZTS) بود که برای هر کدام یک گروه شاهد در نظر گرفته شد، مشتمل بر شاهد ۱: بدون مداخله‌گر (G)، شاهد ۲: بدون مداخله شبیه‌سازی مایکروگراویتی و فقط تجویز زینک (ZG) بود. نمونه اپیدیدیم و اسپرموگرام تهیه شد. زینک، هورمون‌های FSH و LH اندازه گیری شدند. داده‌ها با نرم افزار SPSS 22 آنالیز **شد**. نتایج حاصل تاثیر بی وزنی به همراه زینک و روی سرمی را در ابتدا و انتهای تحقیق بر تستسترون، FSH و LH، حجم مایع سمن، تعداد، تحرک، غلظت اسپرم، وزن بیضه، اسپرم سر سالم، اسپرم‌ها با مورفولوژی طبیعی، طول و وزن بیضه، اسپرم با سر ناهنجار نشان داد. تفاوت FSH و LH گروه‌های تیمار شده با زینک نسبت به سایر گروه ها معنی‌دار نبود اما اثرات منفی بر برخی پارامترهای اسپرم به میزان معنی داری کاهش داد. این بررسی نشان میدهد تجویز زینک برای کسانی که در شرایط مایکروگراویتی و یا مشابه آن قرار می گیرند می تواند مانع از بروز آثار منفی در پارامترهای اسپرم شود.

کلمات کلیدی: بی وزنی، مدل سازی، اسپرم، زینک، رت.

مقدمه

با ورود انسان به عصر فضا توجه بشریت معطوف اثرات سفرهای فضایی از جمله بی‌وزنی (مایکرو گراویتی) بر سلامت انسان شد. بی‌وزنی در سطح زمین در پژوهش‌های متعددی شبیه‌سازی شده است. حیوان آزمایشگاهی در این روش، از ناحیه دم در قفس آویزان می‌شود و شیفت (جابجایی) مایعات بدن به سمت سر و قفسه سینه، حالتی شبیه بی‌وزنی را در حیوان و نیز اعضایی مانند مغز، قلب، کلیه، بیضه و مغز استخوان القا می کند. در نتیجه اثر بی‌وزنی روی سیستم‌های مختلف بدن حیوان، شبیه سازی می‌شود (۱۶).

اثرات پرواکسیدانتی زینک به صورت عملکردهای سایتوتوکسیک، پیش التهابی، و پیش آپوپتوزی بیان می‌شوند در حالی‌که تاثیرات پروآنتی‌اکسیدانی به

شکل عملکردهای حفاظتی از سلول، ضدالتهابی و ضد آپوپتوزی مشخص می‌گردند. با توجه به وظایف مولکولی در بسیاری از پروتئین‌هایی که در این زمینه دخالت دارند قابل درک است که زینک (روی) در پرولیفراسیون، تمایز، و آپاپتوز تمام سلول‌ها در زمینه سلامت، نقش داشته باشد (۳).

از نظر عملکرد، روی دارای سه نقش بیولوژیکی مهم است: نقش کاتالیتیکی، ساختمانی و تنظیمی. در زمینه نقش کاتالیتیکی، روی برای عملکرد بیش از ۳۰۰ آنزیم مورد نیاز بوده و خصوصا به صورت کاتالیزور و کوکاتالیزور مستقیم آنزیم‌ها فعالیت می‌کند و به این وسیله در کنترل بسیاری از پروسه‌های سلولی مثل سنتز DNA، رشد نرمال، تکامل مغز، پاسخ‌های رفتاری، تولید مثل، ثبات غشاها، تشکیل استخوان و ترمیم زخم ها دخالت دارد. عنصر روی به دلیل دارا بودن خصوصیات فیزیکی-شیمیایی خاص در بسیاری از پروتئین‌های دخیل در همانندسازی DNA و رونویسی معکوس، نقش ساختاری و عملکردی داشته و برای فعالیت تعدادی از متالوپروتئین‌ها ضروری است. روی به طرق مختلفی شامل شرکت در ساختار کروماتین و غشاهای بیولوژیکی، همانندسازی DNA، ترجمه RNA از طریق فعالیت فاکتورهای ترجمه و پلیمرازهای DNA و RNA و نیز شرکت در ترمیم DNAو مرگ برنامه ریزی شده سلول، در بیان ژن و ثبات ژنتیکی نقش دارد (۷). کاهش روی در رژیم غذایی موجب افزایش شدید میزان جذب و کاهش دفع روده‌ای آن می‌گردد. مقدار اندکی از روی از طریق ادرار دفع می شود که نسبت به دریافت مقاوم است. انتقال روی به سلول‌ها به صورت متصل به پروتئین، اساساً آلبومین و نیز توسط α_2 ماکروگلوبولین و ترانسفرین است (۱۷)، زیرا یون روی هیدرووفیل بوده و قادر به عبور از غشاهای سلول با روش انتشار ساده نمی‌باشد. هموستاز روی در سطح مولکولی در سلول‌های پستانداران از طریق پروسه‌های عدم جریان ورودی و خروجی روی در داخل وزیکول‌ها) تحت عنوان زینکوزوم و بافر کردن روی توسط پروتیئن‌های متصل شونده به روی (مثل متالوتیونین‌ها) صورت می‌گیرد (۸).

تغییرات در میدان گرانشی اثرات قابل توجهی در تکوین گیاهان و حیوانات داشته است. از این رو، اثرات بالقوه شرایط مایکروگراویتی در تولیدمثل به عنوان موضوع عمده بیولوژیکی در عصر اکتشافات فضایی بوده است. تا کنون، چندین آزمایش بر روی تولیدمثل در چنین شرایطی گزارش شده است که با استفاده از ماهی‌ها، دوزیستان پرندگان و پستانداران بوده است (۱۸).

چالش‌ها و مشکلات متعددی بر سر راه انجام تحقیقات در زمینه سفر فضایی پستانداران وجود دارد. مدلهای زمینی در تحقیقات مختلف با موفقیت مورد استفاده قرار گرفته اند به نحوی که اعتبار آنها تایید شده است و می توان تجربیات فضایی را بوسیله آنها شبیه سازی نمود. از جمله مزایای بهره‌گیری از مدل-های زمینی چنین است که انسان قادر خواهد بود عوامل محیطی را به طرز موثری کنترل نماید. حیوانات نیز به راحتی با چنین مدل‌هایی تطابق خواهند یافت به نحوی که تاثیرات فیزیولوژیک ناشی از استرس به حداقل خواهد رسید. در مجموع، مدل-های زمینی از جمله وسایل و ابزارآلات بالقوه ارزشمند در زمینه تحقیقات درباره تولیدمثل در شرایط مایکروگراویتی هستند (۹).

استراحت در بستر در حالی‌که سر با زاویه ٦ درجه به سمت پایین قرار دارد یکی از مدل‌هایی است که به منظور شبیه‌سازی مواجهه انسان با مایکروگراویتی طراحی شده است (۱۵).

در تحقیقات بر روی حیوانات (بویژه جوندگان) از مدل آویزان‌سازی اندام تحتانی به نام Morey-

Holton hindlimb suspension model استفاده شده است تا اثرات فیزیولوژیک عمده مایکروگراویتی را شبیه‌سازی نمایند (۹). بیضه مهمترین عضو سیستم تناسلی جنس نر با وظیفه دوگانه اسپرماتوژنز و استروئیدوژنز است. هورمون تستوسترون به عنوان اصلی‌ترین هورمون آندروژن، باعث تداوم عملکرد تناسلی بیضه شده و تولید اسپرم را در مردان بالغ، تحریک می‌کند (۱۳).

موارد متعددی از کاهش وزن بیضه و مقدار تستوسترون گزارش شده است (۱۰، ۱۱، ١٤).

نتایج تستوسترون در مطالعات انجام شده با مدل مایکروگراویتی شبیه‌سازی شده (آویزان‌سازی حیوان) را مشکل بتوان تفسیر نمود زیرا استانداردسازی درباره روش‌های خونگیری و اندازه‌گیری هورمون وجود ندارد (۵).

مطالعات مشخص کرده‌اند مایکروگراویتی می‌تواند تاثیرات چشمگیری بر فرآیندهای تولیدمثل جنس نر داشته باشد. لذا در پژوهش حاضر با استفاده از قفس-های مخصوص Hind Limb Suspension Cage و انجام شبیه‌سازی مایکروگراویتی به بررسی اثر بی-وزنی بر بیضه پرداختیم.

مواد و روش کار

تحقیق حاضر، یک مطالعه تجربی مداخله‌ای بود که در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران و با سوپروایزری دانشکده طب هوافضا و زیرسطحی انجام گرفت. جامعه مورد بررسی شامل رت‌های نر نژاد ویستار می‌باشد. رت‌های مورد مطالعه به صورت تصادفی به چهار گروه حاوی شش سر رت تقسیم شدند و به مدت یک هفته در شرایط نگهداری یکسان (چرخه نور و تاریکی۱۲-۱۲ ساعته، رطوبت ۱۰ ± ٦۰ درصد. درجه حرارت ۲ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد) بدون محدودیت آب و غذایی، قرار گرفتند. سپس دو گروه مداخله به شیوه آویزان شدن از دم (Tail suspension) در قفس‌های مخصوص (به منظور حذف جاذبه) و دو گروه شاهد در قفس-های معمولی در شرایط یکسان آزمایشگاهی به مدت ۳ هفته قرار داده شدند. مداخله اصلی، شبیه سازی مایکروگراویتی به روش آویزان سازی از دم و مداخله دوم، تجویز زینک (روی) به صورت محلول در آب خوراکی بود.

گروه‌ها شامل:

مداخله ۱: فقط شبیه‌سازی مایکروگراویتی (Tail Suspension=TS) و مداخله ۲: مجموع شبیه سازی مایکروگراویتی و تجویز زینک یا روی (Zinc + Tail Suspension=ZTS) بود که برای هر کدام یک گروه شاهد مشتمل بر شاهد ۱: بدون هر گونه مداخله، (Normal Gravity=G) و شاهد ۲: بدون مداخله شبیه سازی مایکروگراویتی و فقط تجویز زینک (Zinc + Normal Gravity=ZG) بود.

میزان مناسب روی (بر اساس مطالعات قبلی ۲۲۷ میلی گرم در لیتر سولفات روی خوراکی تهیه شده از شرکت مرک آلمان با شماره ارجاع ۱/۰۸۸۸۳/۰۲۵۰-) در آب آشامیدنی حیوان گروه‌های مربوطه اضافه شد (٦).

القای شرایط بی وزنی: ابتدا رتها را با تزریق داخل پریتونئال ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین (شرکت Alfasan، هلند) و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین (شرکت Alfasan -٪ ، هلند) بیهوش نموده و دم به فاصله حدود ۱ سانتی‌متر از پیوستگاه با تنه رت با الکل ۷۰٪ (شرکت کیمیاگران بدره، ایلام) ضد عفونی شد. محل مورد نظر از عرض با یک سرسوزن استریل شماره ۲۰ سوراخ گردید تا وریدهای دمی حیوان آسیب نبیند. سپس یک سیم با طول ۳۰ سانتی‌متر را از داخل سوزن رد کرده و سوزن را خم نمودیم تا بتوان دو رشته سیمی را که از دو طرف سوزن بیرون بود به

دور هم پیچاند. بدین ترتیب حلقه متصل به دم و حلقه انتهای سیم جهت اتصال به قفس مهیا گردید. رتها را به پشت روی تخت مخصوص آزمایشگاه قرار دادیم. ابتدا بیضه سمت راست را از روی پوست مشخص ساخته و با انگشت و به ملایمت در داخل اسکروتوم به پایین راندیم به نحوی که تقریبا فیکس شده و امکان تحرک نداشتند. سپس مسیر کانال اینگوئینال را در انتهای سوپریور بیضه بوسیله نخ سیلک ۲- صفر و با یک بخیه کمی شل مسدود نمودیم به صورتی که بیضه از محل خود در انتهای کانال، تکان- نخورده و در ضمن، بافت‌های محل بخیه دچار نکروز نشوند. رت‌ها را پس از به هوش آمدن در قفس‌های مربوطه قرار دادیم تا (Hind Limb Unloading) به درستی اعمال گردد.

خونگیری در روز اول نیم سی‌سی از دم و در روز پایانی از قلب انجام شد، در لوله‌های آزمایش فاقد ماده ضد انعقاد جمع‌آوری شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند.

سرم در هر نمونه از لخته جدا و تا زمان سنجش سطح زینک (روی) و هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، سپس اندازه‌گیری میزان هورمون‌ها به روش ساندویچ و با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال انجام شد و سنجش هورمون تستوسترون به روش الایزای ساندویچ انجام شد (Ag Capture یا Ab) Sandwich پس از خونگیری، با انجام یک برش طولی در شکم، بیضه‌ها خارج شده لام هیستولوژی تهیه و نمونه‌ها رنگ آمیزی شدند و در نهایت تحرک اسپرم پس از شمارش اسپرم‌ها، روی لام نئوبار از رابطه زیر، محاسبه گردید: تعداد کل اسپرم‌ها منهای تعداد اسپرم‌های بی‌حرکت ضربدر ۱۰۰ تقسیم بر تعداد کل اسپرم‌ها.

تحلیل آماری: برای تحلیل داده‌ها از بسته نرم‌افزاری SPSS استفاده شد. داده‌های بدست آمده کمی، به صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و آزمون کروسکالوالیس و آنالیز واریانس مورد بررسی قرار گرفت. اختلافات در سطح $p<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی شدند.

نتایج

مقایسه میانگین هورمون تستوسترون: در مورد فاکتور تستوسترون سرمی، طبق آزمون آنالیز واریانس، بین گروه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری دیده شد (p=۰/۰۰۰). همانطور که مشاهده می‌شود، گروه ZF و F دارای بالاترین میزان و گروه‌های M و ZM به ترتیب پایین‌ترین میزان را به خود اختصاص داده‌اند (نمودار ۱).

مقایسه میانگین هورمون LH: در آزمون آنالیز واریانس، میزان LH سرمی گروه‌های مورد مطالعه از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. در این متغیر بیشترین میزان به گروه F و کمترین میزان به گروه ZM اختصاص یافته است (نمودار ۲).

مقایسه میانگین هورمون FSH: میزان FSH سرمی گروه‌های مورد مطالعه بین گروه‌ها طبق آزمون کروسکالوالیس، معنی‌دار بوده و گروه F بالاترین میزان و گروه ZM پایین‌ترین میزان را به خود اختصاص داده اند (نمودار ۳).

مقایسه میانگین وزن بین گروه‌های مورد مطالعه در انتهای تحقیق: در آزمون آنالیز واریانس وزن رت‌های گروه‌های مورد مطالعه مقایسه شد و معنی‌دار بودن اختلاف آماری بین گروه‌ها مشخص گردید. همچنین مشخص گردید بیشترین و کمترین وزن مربوط به گروه‌های F و M می‌باشد (نمودار ٤).

مقایسه میانگین وزن بیضه: در مورد وزن بیضه رت‌ها بین گروه‌های مورد مطالعه با آزمون کروسکالوالیس مقایسه شد و اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه‌ها مشاهده گردید (p=۰/۰۰۱) بالاترین میزان نیز مربوط به گروه ZF و پایین‌ترین میزان مربوط به گروه M بود (نمودار ۵).

مقایسه میانگین طول بیضه: طبق آزمون آنالیز واریانس طول بیضه رت‌های گروه‌های مطالعه مقایسه شده و مشخص گردید بین گروه‌ها، اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (*p*=۰/۰۰۰) و گروه ZF بالاترین میزان و گروه M دارای پایین‌ترین میزان در این متغیر بوده است (نمودار ٦).

مقایسه میانگین زینک (روی): در روش آزمون آنالیز واریانس با مقایسه متغیر زینک (روی) سرمی بین گروه‌های مطالعه در ابتدای تحقیق اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (*p*=۰/۳۵۵). بالاترین میزان سرمی این متغیر مربوط به گروه ZM بوده و پایین‌ترین میزان موبوط به گروهF بود (نمودار۷).

مقایسه میانگین زینک (روی): در مورد متغیر میزان زینک (روی) سرمی گروه‌های مطالعه در انتهای تحقیق که با آزمون کروسکالوالیس مقایسه شد، بین گروه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری مشخص شد (*p*=۰/۰۰۲) و گروه ZF دارای بالاترین میزان و همینطور گروه M پایین‌ترین میزان را به خود اختصاص داده بود (نمودار ۸).

مقایسه میانگین حجم مایع سمن: آزمون آنالیز واریانس در مورد متغیر حجم مایع سمن گروه‌های مطالعه، اختلاف آماری معنی دار را بین گروه‌ها نشان داد (p=۰/۰۰۰). گروه ZF بیشترین میزان و گروه M دارای کمترین میزان در این متغیر بود (نمودار ۹).

مقایسه میانگین غلظت اسپرم مایع سمن: با مقایسه متغیر غلظت اسپرم مایع سمن بین گروه‌های مطالعه در آزمون کروسکالوالیس مشخص گردید بین گروه‌ها، اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد (*p*=۰/۰۰۱). بیشترین و کمترین میزان به ترتیب متعلق به گروه‌های ZF و M می‌باشد (نمودار ۱۰).

مقایسه میانگین تعداد اسپرم: در مورد متغیر تعداد اسپرم مایع سمن که با آزمون کروسکالوالیس مقایسه شد، اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه‌ها مشخص گردید (*p*=۰/۰۰۱). گروه F دارای بالاترین میزان و گروه M کمترین میزان را دار بود (نمودار ۱۱).

مقایسه میانگین درصد تحرک اسپرم‌ها: درصد تحرک اسپرم‌ها با آزمون کروسکالوالیس بین گروه‌ها مقایسه شد و اختلاف معنی‌دار آماری مشخص شد. (*p*=۰/۰۰۱). به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین میزان این متغیر مربوط به گروه‌های ZF و M می‌باشد (نمودار ۱۲).

مقایسه میانگین تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی: در آزمون کروسکالوالیس در مورد متغیر تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی، بین گروه‌ها اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد (*p*=۰/۰۰۲) گروه F دارای بیشترین میزان و گروه M دارای کمترین میزان بوده است (نمودار ۱۳).

مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی: در مورد متغیر درصد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی که با آزمون کروسکالوالیس مقایسه گردید، مشخص گردید بین گروه‌ها، اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (*p*=۰/۰۰۱). گروه‌های F و ZF دارای بالاترین میزان بوده و پایین‌ترین میزان مربوط به گروه M می‌باشد (نمودار ١٤).

مقایسه میانگین تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی: در آزمون آنالیز واریانس تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی بین گروه‌های مطالعه مقایسه شده و اختلاف معنی دار آماری بین گروه‌ها مشخص

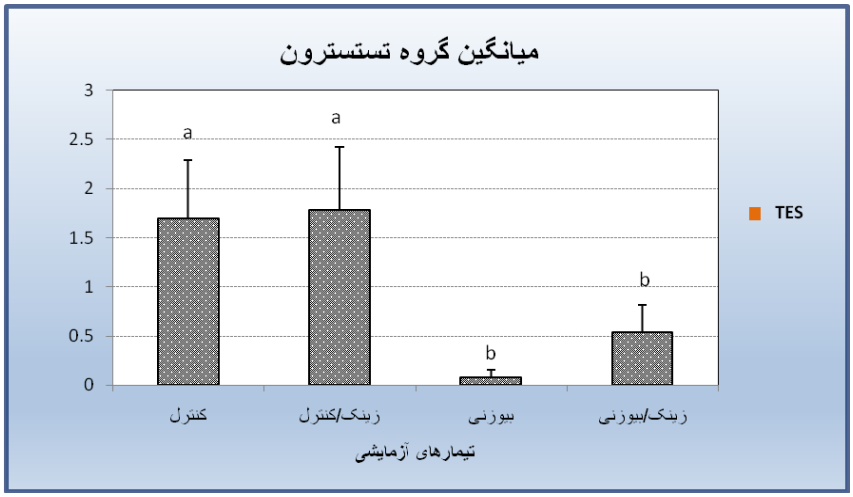
گردید (p=۰/۰۰۰). گروه ZM و F به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان بوده اند (نمودار ۱۵).

مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی: در مورد متغیر درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی، آزمون کروسکالوالیس اختلاف معنی‌دار آماری را بین گروه‌ها نشان داد (p=۰/۰۰۱). بیشترین میزان متعلق به گروه M بوده و گروه F دارای کمترین میزان می‌باشد (نمودار ۱۶).

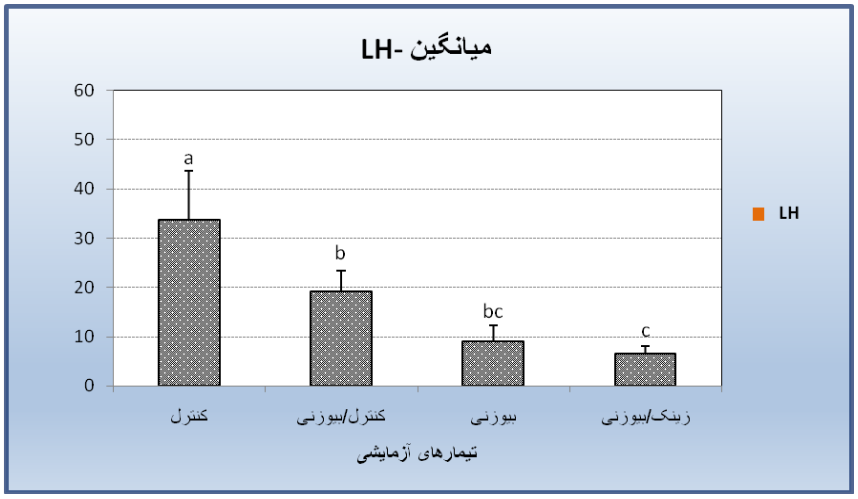
مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های بدون دم: درصد اسپرم‌های بدون دم با آزمون کروسکالوالیس مقایسه شد و اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه‌ها نشان داده شد (p=۰/۰۱۶). گروه ZM دارای بیشترین میزان بوده و گروه F دارای کمترین میزان می‌باشد (نمودار ۱۷).

مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های با سر سالم و دم ناهنجار: متغیر درصد اسپرم‌های با سر سالم و دم ناهنجار که با آزمون کروسکالوالیس مقایسه شد، نشان داد بین گروه‌ها، اختلاف معنی‌دار آماری وجود ندارد (p=۰/۳۷٤) (نمودار ۱۸).

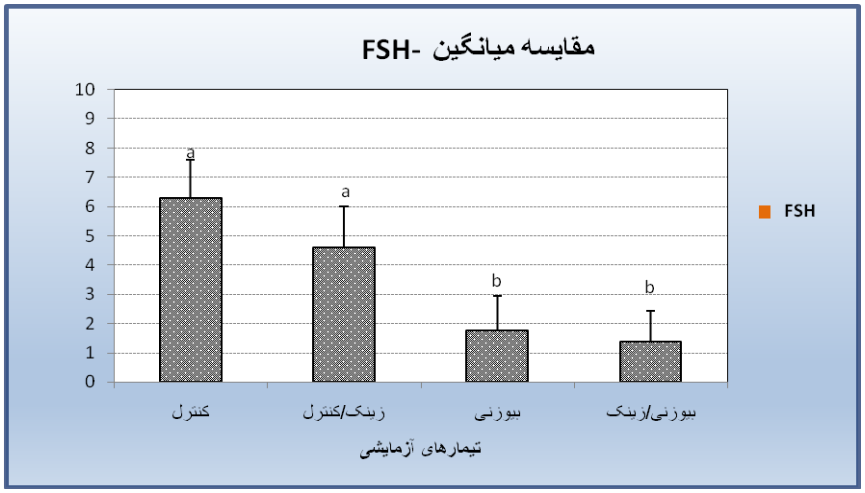
مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های با سر و دم ناهنجار: آزمون کروسکالوالیس اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه‌ها مشخص را نشان داد (p=۰/۰۰۷). همچنین نشان داده شد بیشترین میزان به گروه M و کمترین میزان به گروه ZF تعلق دارد (نمودار ۱۹).



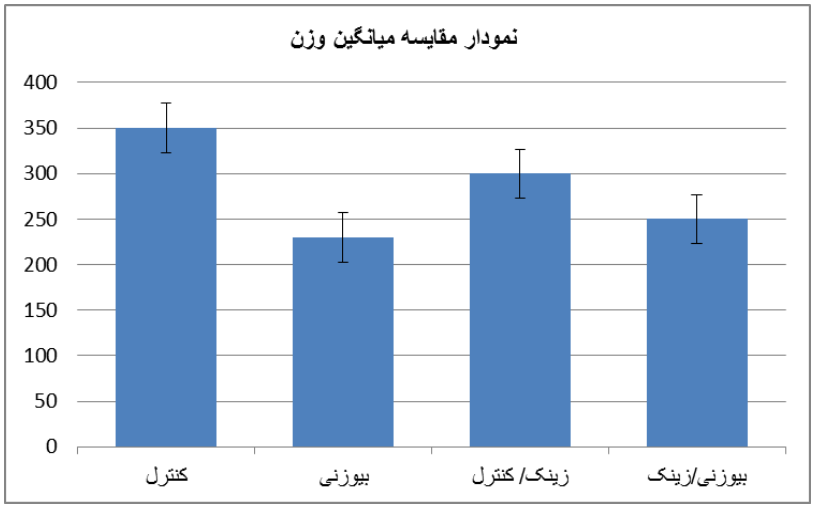
نمودار ۱- مقایسه میانگین تستوسترون بین گروه‌های مورد مطالعه در انتهای تحقیق.



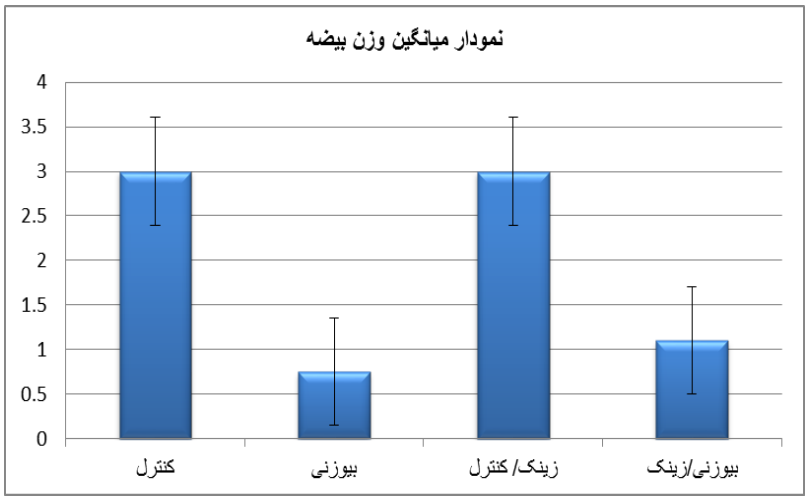
نمودار ۲- مقایسه میانگین هورمون LH بین گروه‌های مورد مطالعه در انتهای تحقیق



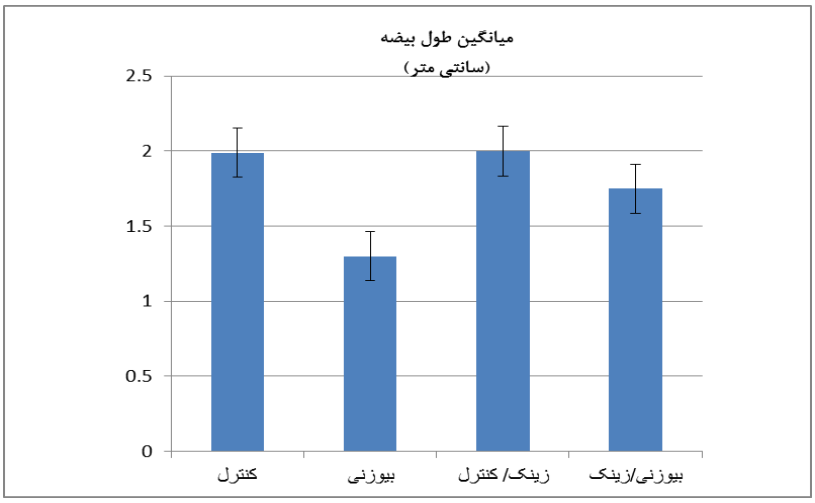
نمودار۳- مقایسه میانگین هورمون FSH بین گروه‌های مورد مطالعه در انتهای تحقیق.



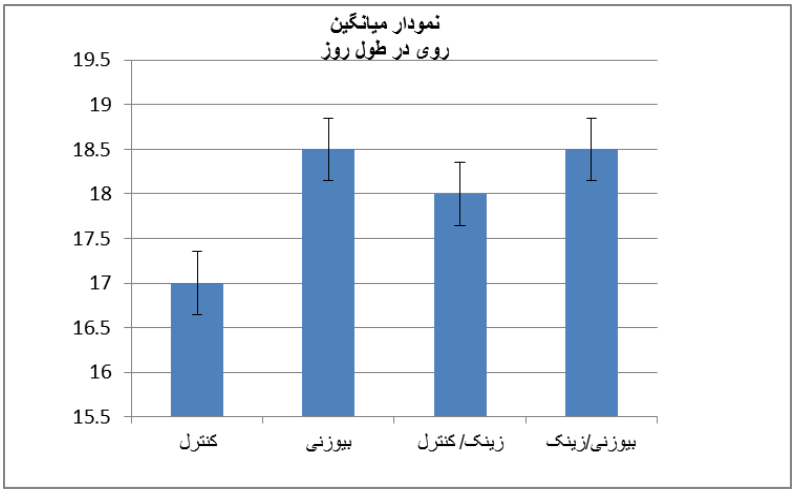
نمودار٤- مقایسه میانگین وزن بین گروه‌های مورد مطالعه در انتهای تحقیق.



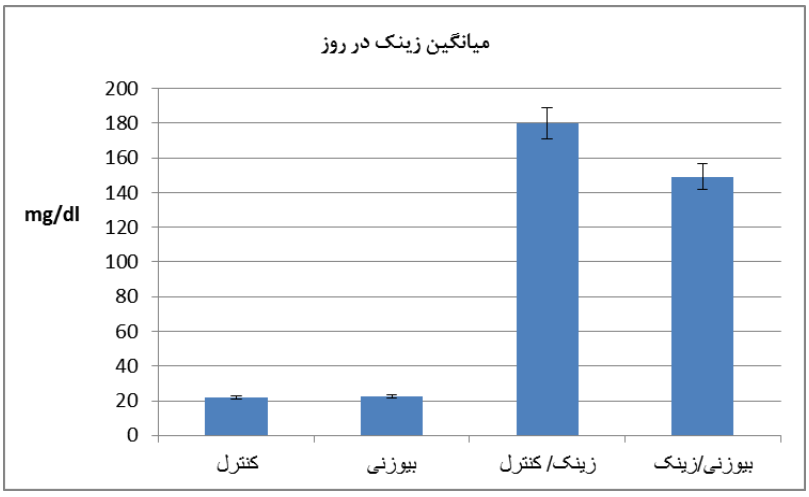
نمودار ۵- مقایسه میانگین وزن بیضه بین گروه‌های مورد مطالعه در انتهای تحقیق.



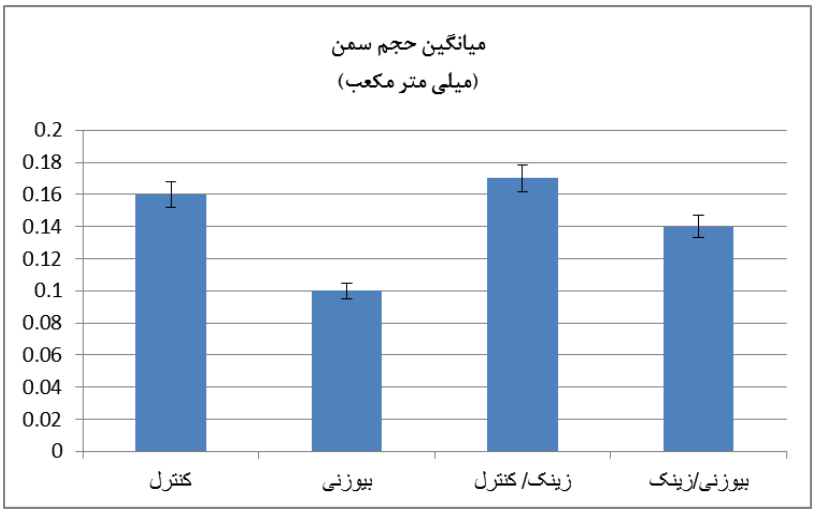
نمودار ٦- مقایسه میانگین طول بیضه بین گروه‌های مورد مطالعه در انتهای تحقیق.



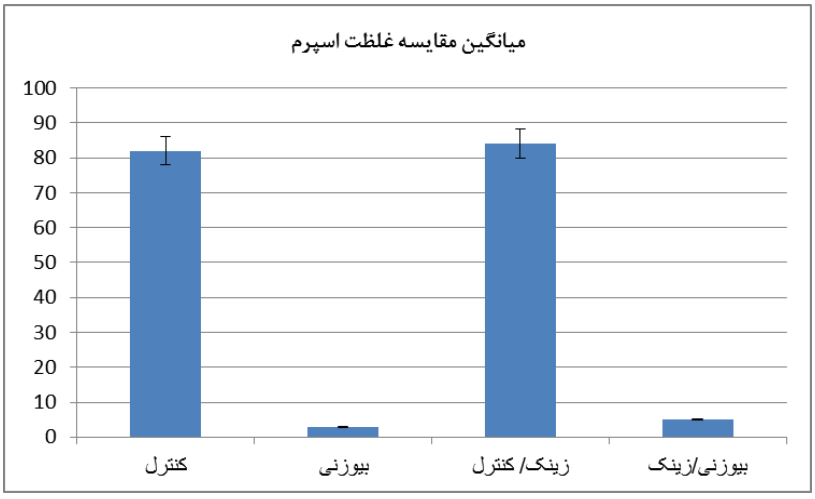
نمودار ۷- مقایسه میانگین زینک (روی) بر حسب میکروگرم بر دسی‌لیتر بین گروه‌های مورد مطالعه در ابتدای تحقیق



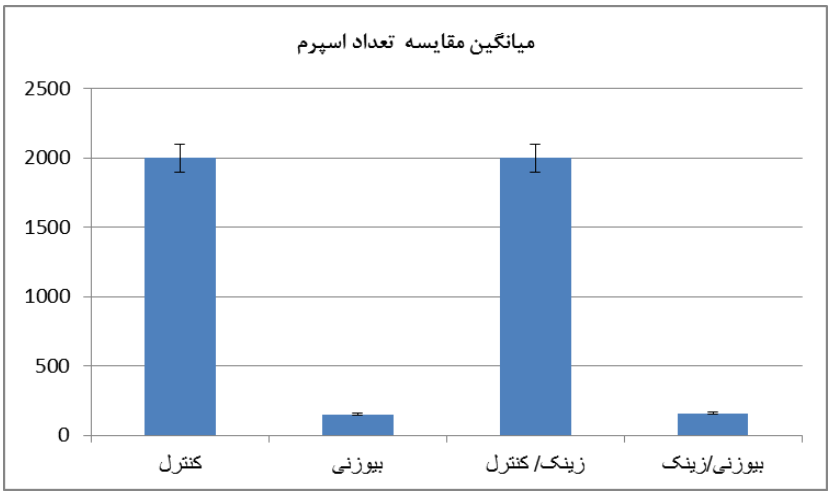
نمودار ۸- مقایسه میانگین زینک (روی) بین گروه‌های مورد مطالعه در انتهای تحقیق



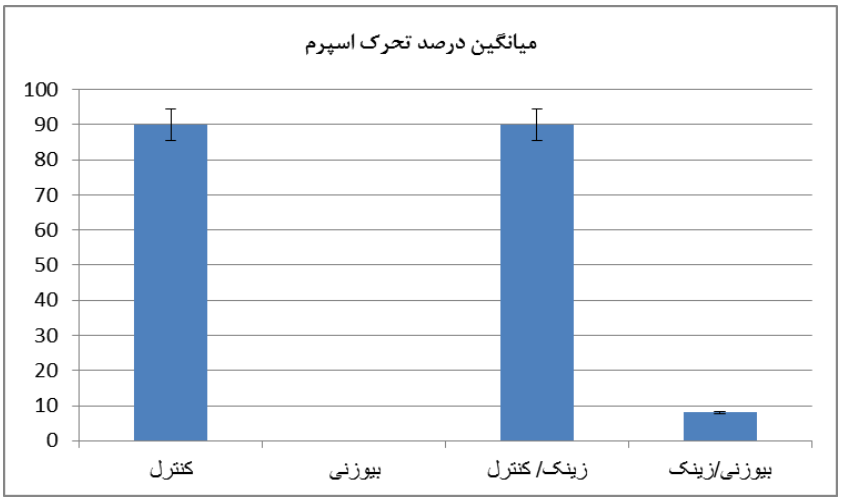
نمودار ۹- مقایسه میانگین حجم مایع سمن بین گروه‌های مورد مطالعه.



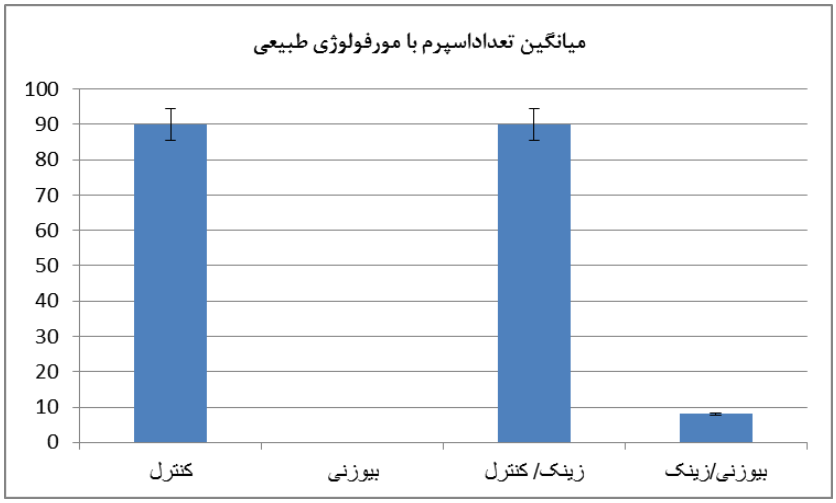
نمودار ۱۰- مقایسه میانگین غلظت اسپرم مایع سمن بین گروه‌های مورد مطالعه (بزرگنمایی x 100).



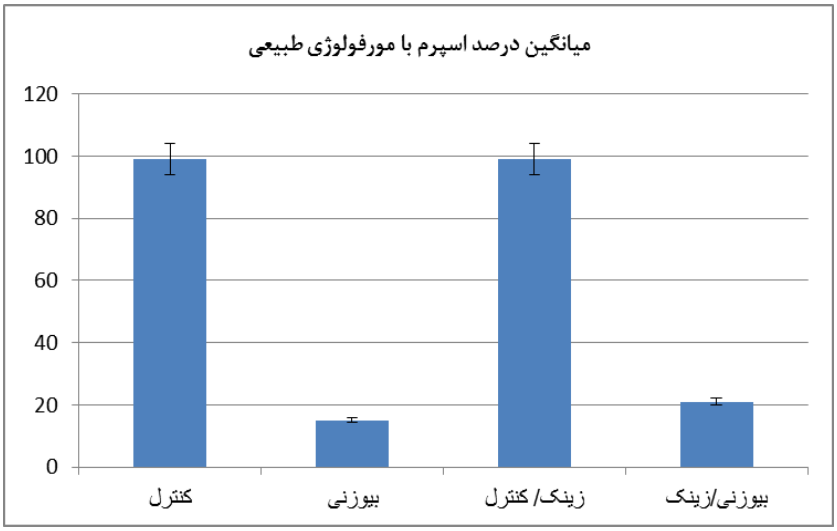
نمودار ۱۱- مقایسه میانگین تعداد اسپرم بین گروه‌های مورد مطالعه (بزرگنمایی x 100).



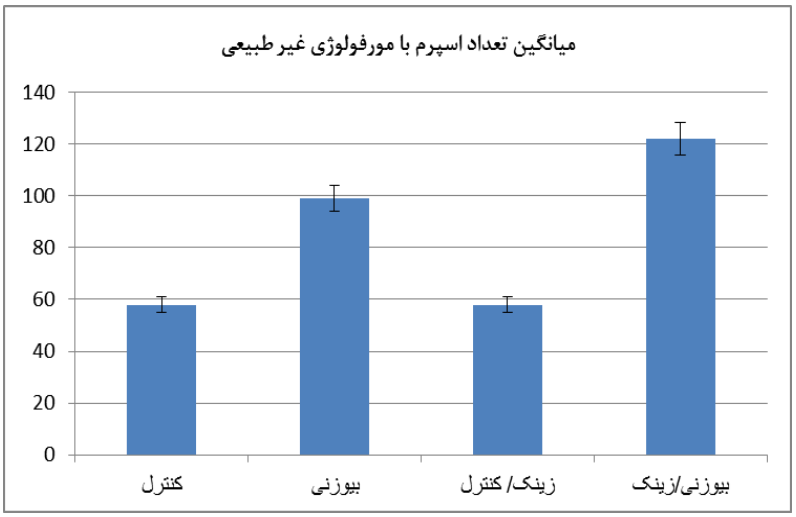
نمودار ۱۲- مقایسه میانگین درصد تحرک اسپرم‌ها بین گروه‌های مورد مطالعه (بزرگنمایی 100 x).



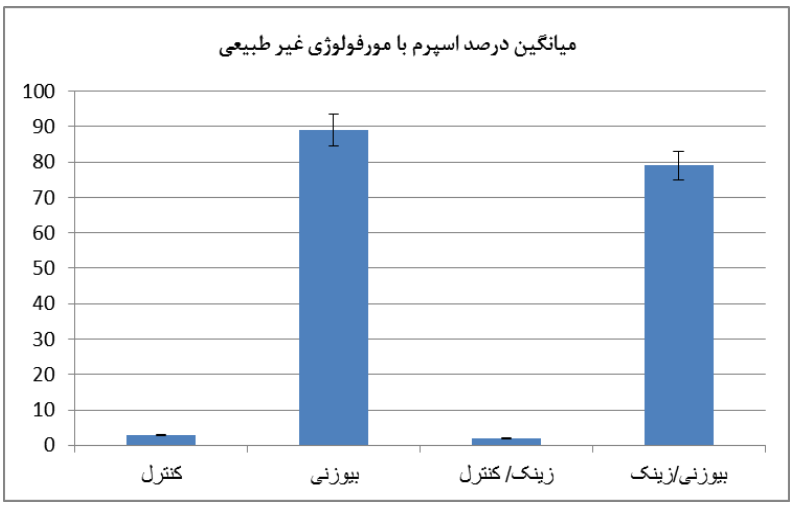
نمودار ۱۳- مقایسه میانگین تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی بین گروه‌های مطالعه (بزرگنمایی 400 x).



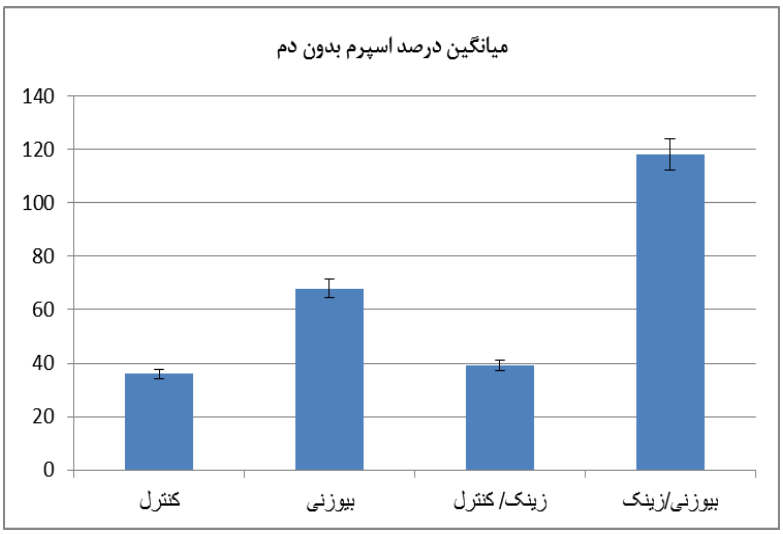
نمودار۱٤- مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی بین گروه‌های مطالعه.



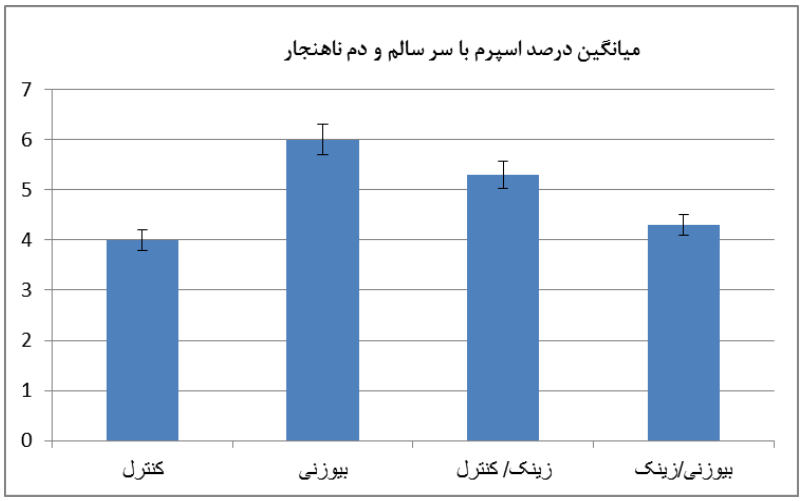
نمودار ۱۵- مقایسه میانگین تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی بین گروه‌های مطالعه (بزرگنمایی 400 x).



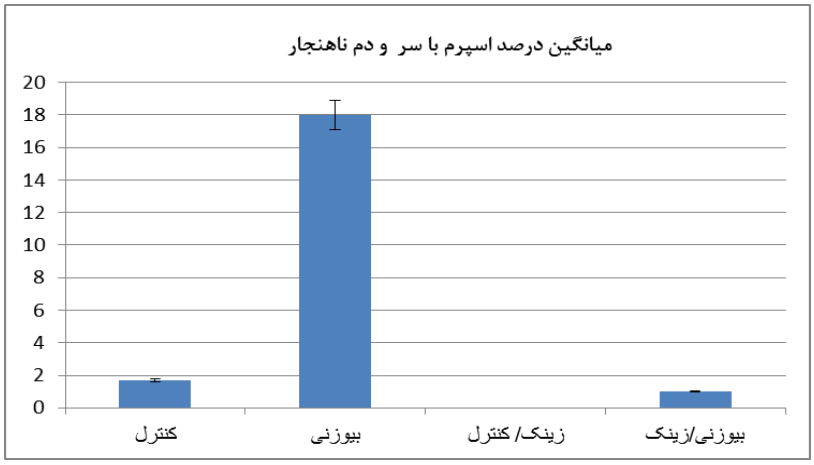
نمودار۱۶- مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی بین گروه‌های مورد مطالعه.



نمودار۱۷- مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های بدون دم بین گروه‌های مورد مطالعه.



نمودار ۱۸- مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های با سر سالم و دم ناهنجار بین گروه‌های مطالعه.



نمودار ۱۹- مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های با سر و دم ناهنجار بین گروه‌های مطالعه.

بحث

در انتهای تحقیق مایکروگراویتی به عنوان عامل عمده زیست محیطی شناخته شده است (۱۹). همچنین مایکروگراویتی موجب آپوپتوز اسپرم و آسیب DNA اسپرم در پستانداران و کاهش باروری در مردان در محیط فضا می‌شود (۲).

در مطالعات نشان داده شده است کمبود مکمل خوراکی زینک در رژیم غذایی افرادسالم از نظر هورمون تستوسترون، باعث کاهش قابل توجهی در میزان این هورمون گردیده است اما تجویز مکمل خوراکی زینک به مقدار کافی در رژیم غذایی افرادی که از نظر میزان هورمون تستوسترون شرایط مناسبی ندارند موجب افزایش میزان هورمون تستوسترون شده است (۱۲). استفاده از مکمل خوراکی یافته‌های تحقیق حاضر در مورد هورمون تستوسترون گویای تاثیرگذار بودن شرایط مایکروگراویتی بر هورمون ذکر شده می‌باشد که با بررسی‌های قیومی و همکاران در سال ۲۰۱۶ ، شرما و همکاران در سال ۲۰۰۸، ، هادلی و همکاران در سال ۱۹۹۲ و همکاران در سال ۱۹۹۲ مطابقت می‌کند. همچنین افزایش میزان هورمون تستوسترون در گروه دریافت‌کننده زینک در شرایط مایکروگراویتی نسبت به گروه مایکروگراویتی دیده شد و این به معنی تاثیر گذار بودن زینک بر هورمون

تستوسترون شرایط مایکروگراویتی بوده و گویای این مهم است که زینک میتواند اثر منفی مایکروگراویتی را در مورد این هورمون به طور معنی‌داری بکاهد که با مطالعات یو و همکارانش در سال ۲۰۱٤ (۲۰) همخوانی دارد.

کاهش معنی دار در مورد فاکتورهای LH و FSH نشان دهنده تاثیرگذار بودن مایکروگراویتی بوده که در مورد فاکتور LH با بررسی‌های و تحقیقات قیومی و همکاران در سال ۲۰۱٦، هادلی و همکاران در سال ۱۹۹۲ همخوانی ندارد (٤، ٥). همچنین نداشتن اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های M و ZM بدین معنی است که زینک نتوانسته اثرات مایکروگراویتی را در مورد فاکتورهای LH و FSH کاهش دهد که در این مورد نیز با مطالعات یو و همکارانش در سال ۲۰۱٤ (۲۰) همخوانی ندارد. در انتهای مطالعه، افزایش معنی‌دار میانگین سطح زینک در رت‌های گروه‌های ZMو ZF (زینک را به صورت محلول در آب خوراکی دریافت کرده بودند) که این امر حاکی از تایید روش کار در این قسمت است. یافته‌ها در مورد وزن رت‌ها به این معنی است که مایکروگراویتی بر وزن بدن رت‌ها تاثیر منفی داشته است. در مورد وزن بیضه رت‌ها، نتایج نشان داد که مایکروگراویتی، بر وزن بیضه رت‌ها تاثیر منفی داشته است که با مطالعه دنیسوا در تضاد قرار دارد، پژوهش وی روی رت‌های یک سفر فضایی حقیقی به مدت ۷ روز بود و به نظر می‌رسد این مدت زمان برای تشخیص تاثیرات منفی مایکروگراویتی بر بیضه کافی نبوده است. البته کاهش وزن بیضه بدست آمده در تحقیق حاضر با مطالعات پلاکوتا پلانکوتینا (۱۱)، فیلپات (۱۰)، سپ (۱٤)، هادلی (۵) و امان (۱) همخوانی دارد که همگی کاهش وزن بیضه رت‌ها را گزارش نمودند. در نهایت مصرف زینک در وزن بیضه توانسته است از اثر منفی مایکروگراویتی بکاهد. در مورد پارامترهای اسپرموگرام، پژوهش حاضر، تاثیر منفی مایکروگراویتی بر حجم مایع سمن رت‌ها را به اثبات رسانید، و زینک در گروه‌های مصرف کننده توانسته است از اثر منفی مایکروگراویتی بکاهد و مانع از کاهش حجم مایع سمن شود.

یافته‌های غلظت اسپرم مایع سمن رت‌ها نشان داد، که مایکروگراویتی، تاثیر منفی بر غلظت اسپرم رت‌ها داشته است. البته زینک توانسته است مانع از کاهش غلظت اسپرم مایع سمن شود و اثر منفی مایکروگراویتی را کاهش دهد.

نتایج در مورد تعداد اسپرم قابل مشاهده رت‌ها در زیر میکروسکوپ نشان داد که مایکروگراویتی، بر تعداد اسپرم قابل مشاهده رت‌ها تاثیر منفی اعمال نموده است البته تعداد اسپرم قابل مشاهده رت‌ها در زیر میکروسکوپ در گروه ZM بصورت معنی‌داری بیش از گروه M بود یعنی زینک توانسته است از اثر منفی مایکروگراویتی بکاهد.

در مورد درصد تحرک اسپرم‌های رت‌ها، تحقیقات نشان داد که مایکروگراویتی، تاثیر منفی بر درصد تحرک اسپرم‌های رت‌ها داشته است. البته درصد تحرک اسپرم‌های رت‌های گروه ZM بصورت معنی-داری بیش از گروه M بود یعنی زینک توانسته است اثر منفی مایکروگراویتی را کاهش داده است. یافته‌ها نشان داد که مایکروگراویتی، بر تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی رت‌ها تاثیر منفی اعمال نموده است در حالی که زینک در گروه‌های مصرف شده توانسته است مانع از کاهش تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی شود و از اثر منفی مایکروگراویتی بکاهد.

در حالی که مایکروگراویتی، تاثیر منفی بر تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی رت‌ها داشته است، البته وجود زینک توانسته است مانع از افزایش تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی شود و اثر

منفی مایکروگراویتی را کاهش دهد. یافته‌ها در مورد درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی رت‌ها نشان داد که مایکروگراویتی، تاثیر منفی بر درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی رت‌ها اعمال نموده است. البته درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی در رت‌های مصرف‌کننده زینک، توانسته است مانع از افزایش درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی شود و از اثر منفی مایکروگراویتی بکاهد. در مورد درصد اسپرم‌های بدون دم رت‌ها، مایکروگراویتی، تاثیر منفی بر درصد اسپرم‌های بدون دم رت‌ها داشته است. البته درصد اسپرم‌های بدون دم رت‌های گروه ZM بصورت معنی‌داری بیشتر از گروه M بود یعنی زینک نتوانسته است اثر منفی مایکروگراویتی را کاهش دهد.

تحقیقات فوق نشان داد که مایکروگراویتی، تاثیر منفی بر درصد اسپرم‌های با دم سالم و سرناهنجار رت‌ها اعمال نمود. البته زینک در گروه مصرف شده توانسته است مانع از کاهش حجم مایع سمن شود و از اثر منفی مایکروگراویتی بکاهد.

یافته‌ها مشخص ساخت مایکروگراویتی، تاثیر منفی بر درصد اسپرم‌های با سر سالم و دم ناهنجار رت‌ها داشته است. البته زینک نتوانسته اثر منفی مایکروگراویتی را در گروه‌های مصرف شده کاهش دهد. همچنین مایکروگراویتی، تاثیر منفی بر درصد اسپرم‌های با سر و دم ناهنجار رت‌ها اعمال نمود. البته زینک توانسته است در گروه‌های مصرف‌شده اثر منفی مایکروگراویتی را بکاهد. یافته‌های ما درباره پارامترهای اسپرموگرام رت‌ها در مدل مایکروگراویتی شبیه‌سازی شده با نتایج مطالعه دنیسوا مطابقت نمی‌کند که ممکن است ناشی از مدت زمان هفت روزه سفر فضایی مورد مطالعه بوده باشد که به نظر می‌رسد برای مشخص شدن تاثیرات منفی مایکروگراویتی بر بیضه این مدت زمان کافی نمی‌باشد. البته نتایج مربوط به پارامترهای اسپرموگرام رت‌ها همچون کاهش مواردی مانند حجم و غلظت اسپرم، تعداد اسپرم‌ها و درصد تحرک آنها، و نیز تعداد و درصد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی، و نیز افزایش پارامترهای دیگر همچون تعداد و درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی که در تحقیق حاضر بدست آمده است با پژوهش‌های قبلی همخوانی دارد.

در نهایت یافته‌های تحقیق در زمینه پارامترهای اسپرموگرام حکایت از تاثیر منفی مایکروگراویتی بر آنها داشت بطوریکه پارامترهایی همچون حجم مایع سمن، غلظت اسپرم مایع سمن، تعداد اسپرم قابل مشاهده زیر میکروسکوپ، درصد تحرک اسپرم‌ها، تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی، درصد اسپرم-های با مورفولوژی طبیعی، و درصد اسپرم‌های با دم سالم و سر ناهنجار در گروه‌های M و ZM در مقایسه با گروه F دچار کاهش معنی‌دار شده بودند و پارامترهای تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی، درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی، درصد اسپرم‌های بدون دم، درصد اسپرم‌های با سر سالم و دم ناهنجار، و درصد اسپرم‌های با سر و دم ناهنجار، افزایش معنی‌داری داشتند. همچنین نتایج حاکی از اثر بازدارنده و مثبت زینک در قبال اثر منفی مایکروگراویتی بود بطوری که پارامترهای دسته اول در رت‌های گروه ZM نسبت به گروه M، افزایش معنی‌داری داشتند و پارامترهای دسته دوم دچار کاهش معنی‌داری شده بودند.

نتیجه‌گیری

در مجموع باید ذکر نمود یافته‌های این تحقیق نشان دهنده اثر بازدارنده، مثبت و معنی دار زینک در قبال اثر منفی مایکروگراویتی بر پارامترهای اسپرموگرام رت‌های گروه‌های مطالعه بود لیکن زینک با آنکه اثر تا حدی مثبت در برابر اثرات کاملاً منفی

مایکروگراویتی بر پارامترهای ساختار بیضه‌های راست و چپ رت‌ها داشت ولی فاقد تاثیر معنی دار بود. پس می‌توان نتیجه گرفت مایکروگراویتی شبیه‌سازی شده (مدل آویزان‌سازی از دم) می‌تواند تاثیر منفی و مخرب بر پارامترهای اسپرموگرام و ساختار بیضه رت‌ها بگذارد که تجویز خوراکی زینک، جلوگیری از اثرات منفی پارامترهای اسپرموگرام را بطور معنی دار و تاثیرات منفی بر پارامترهای ساختار بیضه را بصورت تجربی اما غیرمعنی دار امکانپذیر سازد.

منابع

1. Amann R.P., Deaver D.R., Zirkin B.R., Grills G.S., Sapp W.J., Veeramachaneni D.N., 1992. Effects of microgravity or simulated launch on testicular function in rats. *Journal of Applied Physiology*, 73(2):174S-185S.

2. Chidananda S., Shubhashish S., Adaikkappan P., Prabakaran R., Bindu S., Vani R., 2008. Simulated microgravity activates apoptosis and NF-Kb in mice Testis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 313(1-2): 71-78.

3. Cruz K., Oliveira A., Marreiro N., 2015. Antioxidant role of zinc in diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(2): 333-337.

4. Ghayumi SH., Khoshvaghti A., NurMohammadi A., 2016.The effect of microgravity model (hind limb suspension) on the levels of testosterone and LH in rats. *Ebnesina-IRIAF Health Administration*, 18(1) 54: 4-11.

5. Hadley J., Hall J., O'Brien A., Ball R., 1992. Effects of a simulated microgravity model on cell structure and function in rat testis and epididymis. *Journal of Applied Physiology*, 72: 748-759.

6. Khoshvaghti A., Nezami Asl A., Hashemian S., Ebadi A., Eslami R., Momenzade M., 2014. Supplementary Zinc in Flight Against Microgravity Induced Osteoporosis. *Aviation and Space Environmental Medicine*, 85(3): 372-540.

7. Maham H., Escott-stump S., 2008. Krauses food and nutrition therapy. Pennsylvania: Saunders Co, pp:764-809.

8. Maret W., Vallee BL., 1998. Thiolate ligands in metallothionein confer redox activity on zinc clusters. *Proceeding of Natural Academy of Science USA*, 95: 3478-3482.

9. Morey-Holton E., Globus R., 2002. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. *Journal of Applied Physiology*, 92(4): 1367-1377.

10. Philpott D., Sapp W., Williams C., Stevenson J., Black S., Corbett R., 1985. Reduction of the spermatogonial population in rat testes flown on Space Lab-3. *Physiologist* , 28(6): S211-212.

11. Plakhuta-Plakutina G., Serova L., Dreval A., Tarabrin S., 1976. Effect of 22-dayspace flight factors on the state of the sex glands and reproductive capacity ofrats. *Kosm Biol Aviakosm Medicine*, 10(5): 40-47.

12. Prasad A., Mantzoros C., Beck F., Hess J., Brewer G ., 1996. Zinc status and serum testosterone levels of healthy adults. *Nutrition Burbank, Los Angeles County, California*, 12(5): 344-348.

13. Ronca A., Baker E., Bavendam T., Beck K., Miller V., Tash J. , 2014. Effects of sex and gender on adaptations to space: reproductive health. *Journal of Women's Health.Larchmt*, 23(11): 967-974.

14. Sapp W., Philpott D., Williams C., Kato K., Stevenson J., Vasquez M., Serova L., 1990. Effects of spaceflight on the spermatogonial population of rat seminiferous epithelium. *FASEB J*, 4:102-104.

15. Smith S., Heer M., Wang Z., Huntoon C., Zwart S., 2012. Long-duration space flight and bed rest effects on testosterone and other steroids. *Journal of Clinical*

Endocrinology and Metabolism, 97:270-278.

16. Tou J., Ronca A., Grindeland R., Wade C., 2002. Models to study gravitational biology of Mammalian reproduction. *Biological Reproduction*, 67(6):1681-1687.

17. Vallee BL., Falchuk KF., 1993.The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Review*, 73: 79-118.

18. Wakayama S., Kawahara Y., Li C., Yamagata K., Yuge L., Wakayama T., 2009. Detrimental effects of microgravity on mouse preimplantation development in vitro. *PLoS One*, 254(8): e6753.

19. Wang Y., An L, Jiang Y., Hang H., 2011. Effects of simulated microgravity on embryonic stem cells. *PLoS One*, 6(12): e29214.

20. Yu Z., Chen J., Shou P., Feng L., 2014. Effects of micronutrients on the reproduction of infertility rat model induced by adenine. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 7(9): 2754-276.