

## تغییرات پارامترهای حرکتی اسپرم در اثر تماس با فلزات سنگین روی و کادمیوم

دکتر منصور ابراهیمی\*

\*استادیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه قم

تاریخ دریافت مقاله: ۸۲/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۸۳/۵/۱

### چکیده

مقدمه: آلودگی منابع مختلف به فلزات سنگین در نتیجه ضایعات حاصله از فعالیت‌های صنعتی و ورود ضایعات فاضلاب‌های شهری به رودخانه‌ها به عنوان یک معضل اساسی در جوامع امروزی مطرح می‌باشد. فلزات سنگین در بستر رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و دریاها تجمع می‌یابند و از طریق مواد غذایی وارد زنجیره غذایی، و در نهایت جذب بدن انسان می‌شوند، و به دلیل تجمع آنها در اندام‌های تولید مثلی، تأثیرات مخربی را بر روی روند تولید اسپرم و ریخت‌شناسی اسپرم تولید شده دارند.

هدف: این مطالعه برای بررسی تغییرات پارامترهای حرکتی اسپرم در اثر تماس با دو فلز سنگین روی (Zinc) و کادمیوم (Cadmium) انجام شده است. مواد و روش‌ها: اسپرم با غلظت‌های مختلف فلزات روی، کادمیوم و ترکیب روی و کادمیوم به مدت زمان‌های مختلف تماس داده شده و سپس پارامترهای حرکتی اسپرم با استفاده از دستگاه ردیاب کامپیوتری اسپرم مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج: کادمیوم حتی در غلظت ۵۰ قسمت در میلیون (ppm) (Part Per Million) باعث اختلال در فاکتورهای حرکتی اسپرم می‌شود در حالی که اثر سمی فلز روی کمتر است و در غلظت بیش از ۱۰۰۰ ppm تأثیر خود را نشان می‌دهد. تکه جالب در آنکوباسیون اسپرم با فلزات روی و کادمیوم به طور هم‌زمان اثر محافظتی فلز روی بر علیه کادمیوم است که تا حدود زیادی اثرات سمی کادمیوم بر علیه اسپرم را جبران نماید.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصله موید این مطلب بود که بخشی از تأثیرات سمی فلزات سنگین روی و کادمیوم بر اسپرم به دلیل اختلال در فاکتورهای حرکتی و توقف فعالیت حرکتی اسپرم است که در نتیجه اسپرم قادر به یافتن و ورود به تخمک و بارور کردن آن نخواهد بود.

واژه‌های کلیدی: حرکت اسپرم / روی / کادمیوم

### مقدمه

موجود در آب آشامیدنی و یا مواد غذایی)، این فلزات به مرور در برخی بافت‌ها از جمله بیضه‌ها تجمع پیدا می‌کنند (۳ و ۲). نشان داده شده که غلظت عناصر کمیاب (روی، کادمیوم، کبالت، کرومیوم، مس، آهن، منگنز، منیزیم، مولیبدن، نیکل، سرب، سلنیم و وانادیوم) در منی بیش از سایر مایعات بدن است (۵ و ۴). و ارتباط این فلزات با فعالیت و حرکات اسپرم نیز مورد بررسی قرار گرفته است (۶). همچنین نشان داده شده که فلز روی نقشی اساسی در تولید مثل دارد، (۷ و ۱۰) و با حرکات اسپرم نیز مرتبط است (۱۰) و برای رشد طبیعی، بلوغ و فرایند تولید اسپرم (۷، ۱۱ و ۱۳) لازم است و توسط پروستات به مقدار زیاد به منی ترشح می‌شود (۱۴ و ۱۶). کادمیوم حتی در مقادیر کم نیز برای اسپرم سمی است (۱۷) و می‌تواند

یکی از پیامدهای ناخوشایند صنعتی شدن و تمایل به کسب درآمد بیشتر در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه، افزایش آلاینده‌گی و در نتیجه بروز فجایع زیست محیطی است. آلودگی آب با فلزات سنگین به دنبال فرآیند ذوب و ریخته‌گری فلزات، سوخت‌های فسیلی و عملیات کشف و استخراج معادن رخ می‌دهد و با گسترش روزافزون صنعت، این آلودگی‌ها رو به افزایش است. بروز مشکلات حاد بهداشتی در انسان به علت تجمع فلزات سنگین در گیاهان و جانوران زنجیره غذایی گزارش شده است (۱). انسان یا جانوران اگر به مدت کوتاه با مقادیر زیاد فلزات سنگین تماس داشته باشند، ایجاد آلودگی حاد باعث مرگ آنان می‌شود. ولی اگر این تماس با مقادیر کم و به مدت طولانی باشد (مانند فلزات سنگین

(2.42 g/l; glycine 3.75 g/l in distilled water, pH 7.5) و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد و پس از فعال کردن اسپرم‌ها (با اضافه کردن آب) از حرکات آنها فیلم تهیه شد و پارامترهای حرکتی آنها نیز آنالیز شدند (روش عمل در پایین توضیح داده شده است).

آزمایش دوم، تماس اسپرم تازه با فلزات سنگین روی، کادمیوم و روی+کادمیوم:

بخشی از اسپرم‌های تهیه شده در محیط نگهدارنده به مدت سه ساعت و درجه حرارت ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و قبل از فعال کردن با غلظت‌های ۰، ۱، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام روی، کادمیوم و روی+کادمیوم (۳۱-۰/۰۱۵) میلی‌مول در لیتر روی، ۱۷/۹ -۰/۰۰۹ میلی‌مول لیتر کادمیوم و کلرید روی + کلرید کادمیوم) تماس قرار دادند و پس از فعال شدن اسپرم‌ها از حرکات آنها فیلم تهیه شد و حرکات آنها مورد آنالیز قرار گرفت. همچنین اسپرم تازه بدون نگهداری در محیط نگهدارنده و بر لام میکروسکوپ با غلظت‌های مشابه فلزات سنگین نامبرده مجاورت داده شد و پارامترهای حرکتی آنها مورد بررسی قرار گرفت.

آزمایش سوم: تماس اسپرم با فلزات سنگین روی، کادمیوم و روی+کادمیوم برای ۲۴ ساعت:

اسپرم‌ها با غلظت‌های ۰، ۱، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام روی، کادمیوم و روی+کادمیوم (۳۱-۰/۰۱۵) میلی‌مول در لیتر روی، ۱۷/۹ -۰/۰۰۹ میلی‌مول لیتر کادمیوم و کلرید روی + کلرید کادمیوم) را انکوبه کردند و ویال‌های حاوی اسپرم در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار دادند. سپس اسپرم را طبق روش ذکر شده فعال کردند پارامترهای حرکتی را در آنها بررسی کردند.

فعال کردن اسپرم‌ها، ثبت حرکات و آنالیز پارامترهای حرکتی آنها:

برای فعال کردن اسپرم، به آنها آب اضافه شد که این کار زیر میکروسکوپ (BX 50 Olympus) دارای فاز کنتراست وبا لنز ۴۰ چشمی و دوربین‌دار (کادمیوم 290-

صورت تماس زیاد با کادمیوم، این فلز قادر است در بیضه تجمع پیدا کند و باعث کاهش فرایند تولید اسپرم و اختلال در فعالیت آنزیم‌های آن بشود (۱۹). در مطالعه دیگری نشان داده شده که کادمیوم حتی در مقادیر کمتر از تجمع آن در بیضه افراد ساکن در مناطق آلوده (به کادمیوم)، می‌تواند باعث کاهش حرکات اسپرم بشود (۲۰). بکارگیری دستگاه آنالیز حرکات اسپرم با کمک کامپیوتر (Computer Assisted Sperm Analysis, CASA) روز به روز بیشتر می‌شود و به دلیل دقت زیاد و قابل تکرار بودن این آزمایش‌ها، استفاده از این دستگاه برای بررسی تاثیر عوامل مختلف بر اسپرم به روشی استاندارد تبدیل شده است (۲۰ و ۲۵). مطالعه‌های قبلی ما، اختلال در برخی از عوامل حرکتی اسپرم را در نتیجه تماس با فلزات سنگین گزارش کرده است (۲۵)، ولی برای مشخص شدن دقیق‌تر اختلال پارامترهای حرکتی اسپرم در تماس با فلزات سنگین روی و کادمیوم این مطالعه طراحی و انجام شد.

## مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تماس اسپرم با فلزات سنگین، به دلیل دسترسی آسان به اسپرم در ماهی‌ها و امکان انکوباسیون آن با فلزات سنگین به مدت طولانی، در محیط نگهدارنده (Extender) بدون فعال شدن اسپرم، اسپرم آنان در بررسی‌های مشابه مورد استفاده قرار گرفته است (۲۵). بر خلاف سایر گونه‌ها، اسپرم ماهیان در درون بیضه بی‌حرکت است و پس از آزاد شدن و تماس با آب به مدت چند دقیقه فعال است و سپس بی‌حرکت می‌شود. بر این اساس، شش عدد گربه ماهی نر آفریقایی (Clarias gariepinus) به وزن  $73 \pm 1018$  گرم (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) تهیه و با قطع سر، اسپرم داخل بیضه‌ای آنها مستقیماً جمع‌آوری شد.

آزمایش اول، بررسی اثر زمان و محیط نگهدارنده بر پارامترهای حرکتی اسپرم:

اسپرم از شش نمونه فوق برای مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در محیط نگهدارنده (NaCl, 5.52 g/l; KCl 2 g/l, tris-HCl

معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان ندادند ولی در گروه ۴۸ ساعته تفاوت معنی‌ار ( $P < 0.05$ ) بود (نمودار ۱).

تغییر فاکتورهای حرکتی اسپرم در اثر انکوباسیون با فلزات سنگین:

تعداد و سرعت حرکت اسپرم‌های متحرک از زمان شروع ثبت حرکات پس از تماس با فلزات سنگین روی و کادمیوم کاهش محسوسی نشان داد. فلز روی فقط در غلظت‌های بیش از ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام فاکتورهای حرکتی اسپرم را تحت تاثیر قرار داده ( $P < 0.0001$ )، ولی اثر کادمیوم بسیار شدیدتر بود و حتی در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام نیز باعث کاهش حرکات اسپرم شد ( $P < 0.0001$ ) و در ۲۰۰ پی‌پی‌ام به بالا باعث توقف کامل حرکات آن شد. نکته جالب در این بررسی، افزایش طول عمر و فعالیت اسپرم و نیز اثر حفاظتی فلز سنگین روی در مقایسه با کادمیوم است. در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام روی + کادمیوم، حرکات اسپرم با گروه کنترل تفاوتی نداشت ( $P > 0.0001$ ) و به طور مشخص، تحرک آن بیش از حالت تماس با فلز کادمیوم در همان غلظت‌ها بود. همه پارامترهای حرکتی اسپرم الگوی مشابهی داشتند ولی فقط اطلاعات مربوط به پارامترهای VAP, VCL, VSL در نمودارهای ۲ تا ۴ ارائه شده است.

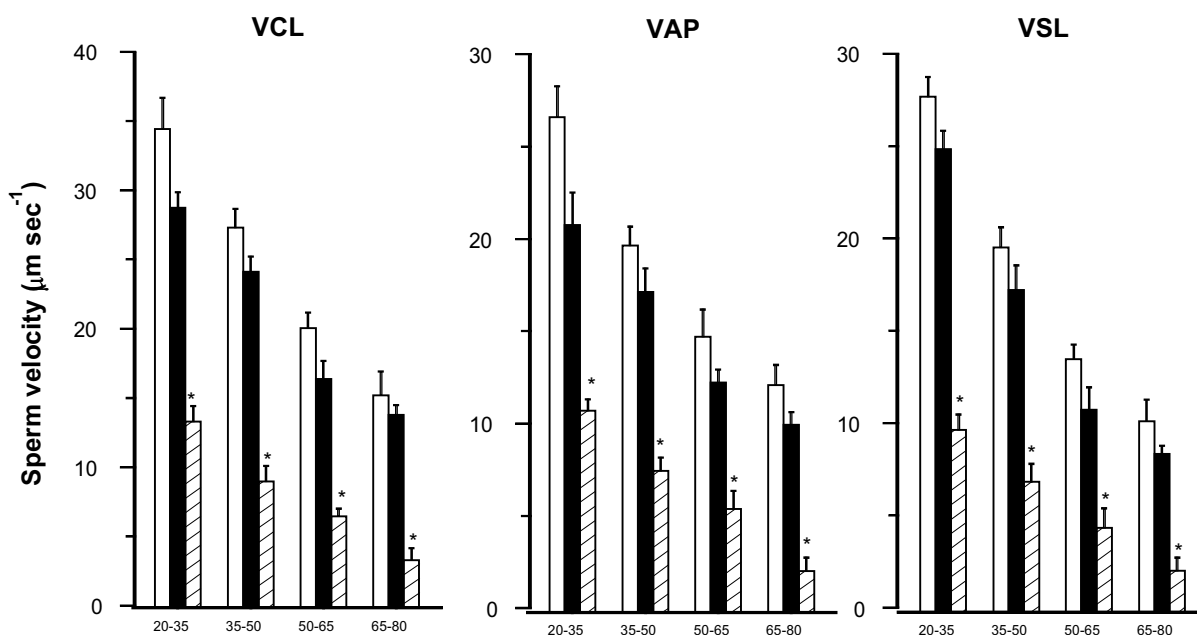
تماس اسپرم تازه با روی و کادمیوم برای بررسی تاثیر فوری فلزات سنگین مذکور بر اسپرم تازه:

در آبی که برای فعال کردن اسپرم‌های تازه بر پلیت میکروسکوپ استفاده شده، مقادیر متفاوتی از غلظت‌های فلزات سنگین روی و کادمیوم با اسپرم‌ها تماس داده شدند. به علت مدت کوتاه تماس اسپرم با این فلزات سنگین، فقط در غلظت‌های زیاد (۲۰۰۰ پی‌پی‌ام روی و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام کادمیوم) پارامترهای حرکتی اسپرم مختل شدند و اثر جبرانی روی در برابر سمیت کادمیوم نیز مشخص بود (نمودارهای مربوط به این آزمایش نشان داده نشده‌اند).

Ikegami) انجام شد واز حرکات آنها تا زمان توقف کامل اسپرم فیلمبرداری شد. چون حتی در گروه‌های کنترل پس از گذشت ۲ دقیقه اسپرم‌ها بی حرکت می‌شوند، فقط مدت زمان دو دقیقه اول فیلمبرداری شده مورد آنالیز قرار گرفت. فیلم‌ها با استفاده از دستگاه ردیاب اسپرم هابسون (Hubson Sperm Tracker) بررسی شد و پارامترهای حرکتی اسپرم‌ها VCL, VSL, VAP, ARE, LIN, MAD, MOC, STR, ALH, BCF, LIM در ۴ بخش متوالی (هر بخش ۱۵ ثانیه) پس از ۲۰ ثانیه از زمان فعال کردن اسپرم‌ها، با دستگاه، اندازه‌گیری و گزارش می‌شد. همه پارامترها الگوی مشابهی داشتند، لذا در این مقاله فقط نمودار مربوط به سرعت زاویه‌ای مسیر (Angular Path Velocity, VAP) و سرعت خط مستقیم (Straight Line Velocity, VSL) و سرعت منحنی خطی (Curvilinear Velocity, VCL) ارائه می‌شود. تنظیم آنالیز تصویر با بزرگنمایی ۲۰ به صورت  $\text{predict} = \text{off}$ ,  $\text{search radius} = 8.50 \mu\text{m}$ ,  $\text{refresh time} = 1 \text{ second}$ ,  $\text{aspect} = 1.49$ ,  $\text{video} = \text{pal}$ ,  $\text{filter weightings } 1 = 2, 2 = 2, 3 = 3, 4 = 3$ ,  $\text{threshold} = +10 / -50$ , و  $\text{immotile process} = \text{normal}$  صورت گرفت. میانگین سرعت حرکت اسپرم‌ها در هر غلظت فلزات سنگین با میانگین سرعت حرکت اسپرم‌ها در گروه کنترل (غلظت صفر فلز سنگین) با T-test و برنامه SPSS (SPSS Inc., 444 N. Michigan Avenue, Chicago, Illinois 60611, USA) مقایسه شد و نتایج در صورت‌بروز اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ )، به شکل نمودار گزارش شد.

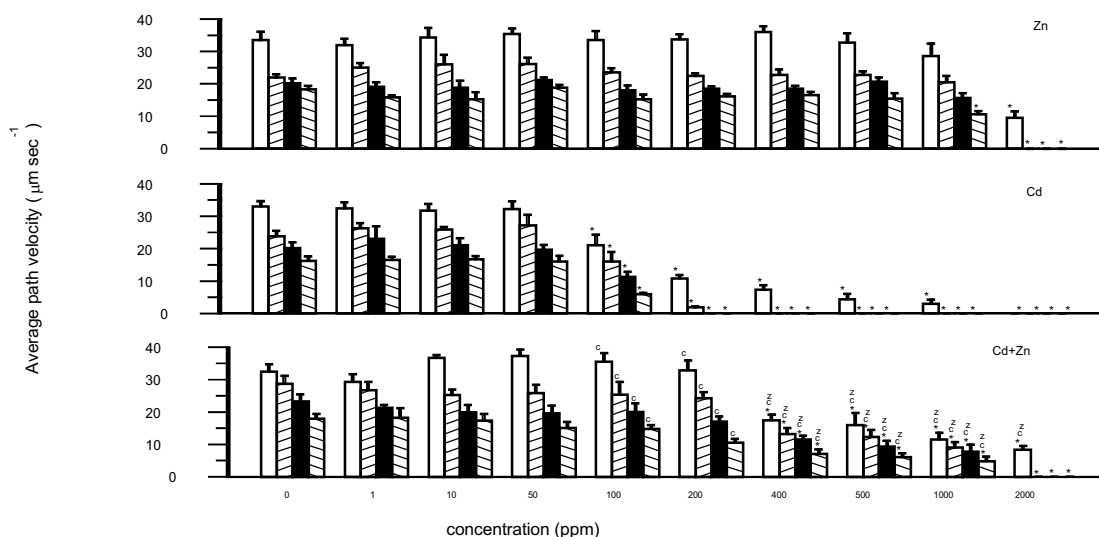
## نتایج

تاثیر نگهداری اسپرم در محیط نگهدارنده بر پارامترهای حرکتی اسپرم، میانگین داده‌های حرکتی اسپرم پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت نگهداری در محیط نگهدارنده و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با میانگین این داده‌ها در گروه کنترل (اسپرم تازه فعال شده) مقایسه شد. نتایج نشان داد که پس از ۲۴ ساعت هیچ یک از پارامترهای حرکتی اسپرم تغییر

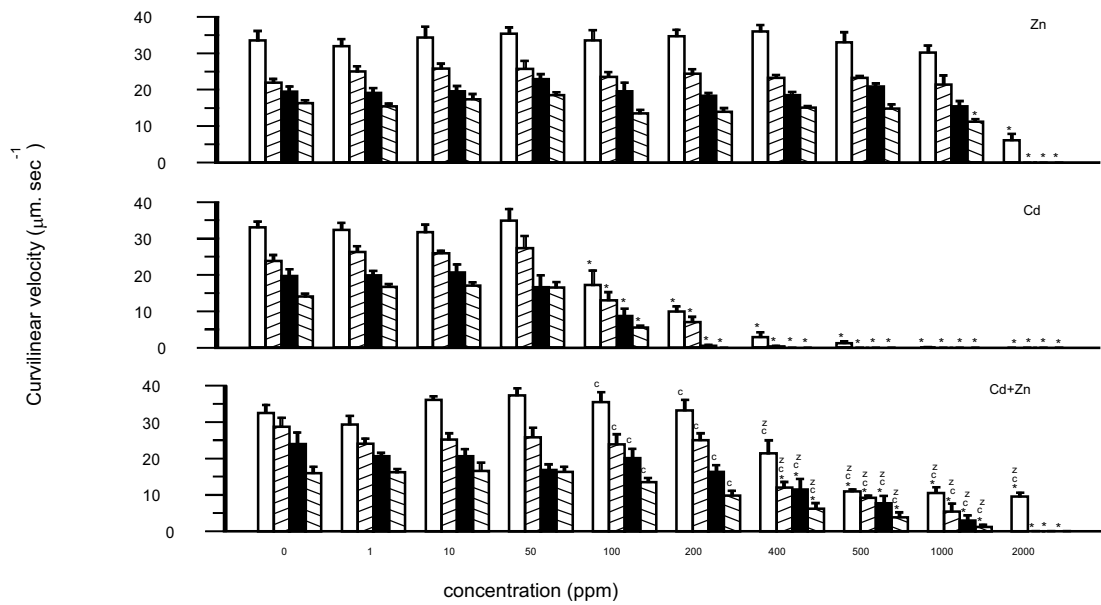


زمان ثبت حرکات اسپرم پس از فعال کردن آنها بر اساس ثانیه

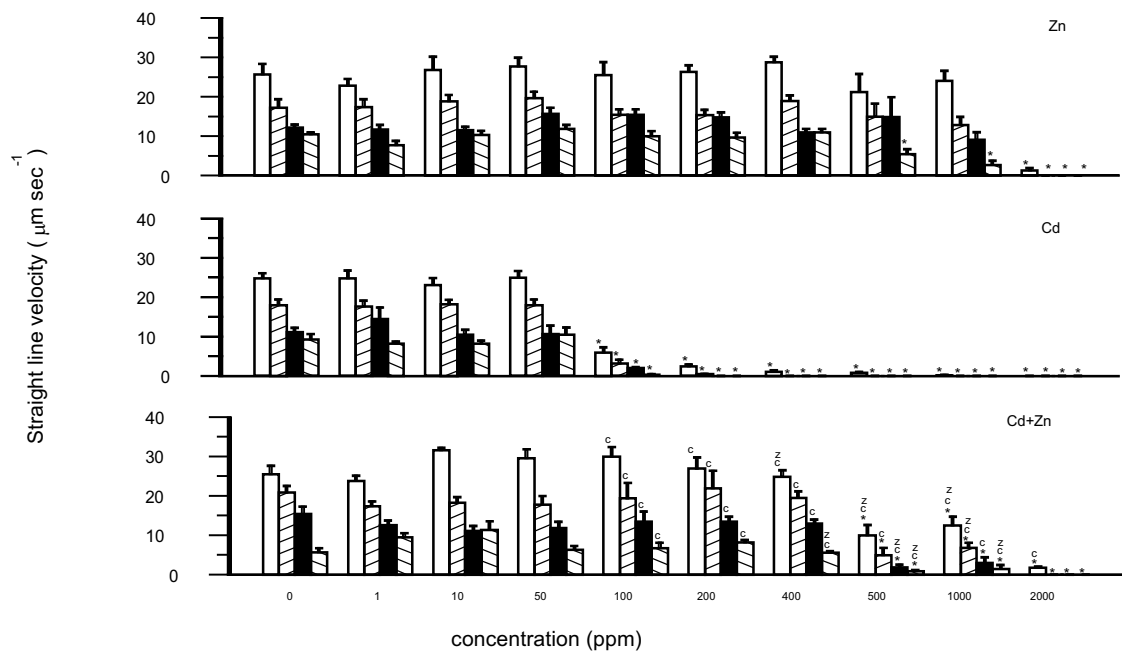
نمودار ۱: اثرات نگهداری اسپرم در محیط نگهدارنده برای ۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت بر پارامترهای حرکت خط مستقیم (VSL)، حرکت منحنی (VCL) و میانگین سرعت اسپرم (VAP). آنالیزها در ثانیه‌های ۲۰-۳۵، ۳۵-۵۰، ۵۰-۶۵ و ۶۵-۸۰ پس از فعال کردن انجام شده است. اسپرم تازه، اسپرم ۲۴ ساعته، اسپرم ۴۸ ساعته. خطوط عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار میانگین (SEMs) بوده و \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) از اسپرم تازه می‌باشد.



نمودار ۲: اثرات تماس ۲۴ ساعته اسپرم با روی، کادمیوم و روی+کادمیوم بر پارامتر  $VAP \mu m s^{-1}$  (میانگین حرکت مستقیم) در ثانیه‌های ۲۰-۳۵، ۳۵-۵۰، ۵۰-۶۵ و ۶۵-۸۰ پس از فعال کردن اسپرم. خطوط عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار میانگین (SEMs) بوده و \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) از گروه شاهد (۰ پی‌پی‌ام)، C تفاوت معنی‌دار از کادمیوم تنها ( $P < 0.0001$ ) و Z تفاوت معنی‌دار از روی تنها ( $P < 0.05$ ) می‌باشد.



نمودار ۳: اثرات تماس ۲۴ ساعته اسپرم با روی، کادمیوم و روی+کادمیوم بر پارامتر  $VCL \mu m s^{-1}$  (حرکت منحنی اسپرم) در ثانیه‌های ۲۰-۳۵ (SEM) پس از فعال کردن اسپرم. خطوط عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار میانگین (SEM) بوده و \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) از گروه شاهد (پی‌پی‌ام)، c تفاوت معنی‌دار از کادمیوم تنها ( $P < 0.0001$ ) و z تفاوت معنی‌دار از روی تنها ( $P < 0.05$ ) می‌باشد.



نمودار ۴: اثرات تماس ۲۴ ساعته اسپرم با روی، کادمیوم و روی+کادمیوم بر پارامتر  $VSL, \mu m s^{-1}$  (حرکت خط مستقیم) در ثانیه‌های ۲۰-۳۵ (SEM) پس از فعال کردن اسپرم. خطوط عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار میانگین (SEM) بوده و \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) از گروه شاهد (پی‌پی‌ام)، c تفاوت معنی‌دار از کادمیوم تنها ( $P < 0.0001$ ) و z تفاوت معنی‌دار از روی تنها ( $P < 0.05$ ) می‌باشد.

**بحث و نتیجه گیری**

برخلاف پستانداران که اسپرم آنها چندین ساعت متحرک می ماند، اسپرم ماهی ها در کمتر از دو دقیقه تمام حرکات خود را از دست می دهد (۲۶). اسپرم ماهی ها در بیضه و لوله های اسپرم بی حرکت است و پس از ورود به محیط آبی، جذب آب و تنظیم اسمولاریته و غلظت یونی، قابلیت حرکت را بدست می آورد (۲۶ و ۲۷). این قابلیت در این گونه ها، شرایط مناسبی برای انجام آزمایش های مربوط به تماس اسپرم با فلزات سنگین را فراهم می نماید زیرا می توان اسپرم را بدون تغییر در پارامترهای حرکتی آن برای مدتی معین در محیط نگهدارنده با فلزات سنگین در خارج از بدن انکوبه کرد و سپس با اضافه کردن آب و ایجاد فعالیت حرکتی در زیر میکروسکوپ دوربین دار، حرکات و آنالیز آنها را ثبت کرد (۲۶). تماس اسپرم به مدت طولانی با مواد آلاینده می تواند نشان دهنده شرایط داخل بیضه باشد به این معنی که اسپرم مدت طولانی به علت پدیده تجمع بافتی (bioaccumulation) با فلزات سنگین در تماس بوده است. علاوه بر آن استفاده از ویدئو و ثبت حرکات اسپرم امکان بازبینی و آنالیز مجدد حرکات اسپرم را فراهم کرده است و با توجه به قابل حمل بودن امکانات فوق، می توان از این گونه تحقیقات در کلیه مراکز پژوهشی و تحقیقاتی استفاده کرد. دستگاه ردیاب اسپرم هابسون قادر است تا در هر فریم ۴۰۰ اسپرم را ردیابی کند و از این نظر نسبت به سایر دستگاه های ردیاب (همچون سیستم هامیلتون) برتری دارد. در این تحقیق با استفاده از دستگاه ردیاب هابسون، اسپرم در سه نوع آزمایش متفاوت، در زمان های (صفر، ۳ و ۲۴ ساعت) در تماس با فلزات سنگین قرار داده شد و در مرحله دوم با اضافه کردن آب در زیر میکروسکوپ و ثبت حرکات آن با دوربین و ویدئو، این اسپرم ها فعال شدند. ثبت حرکات اسپرم ها با دوربین و ویدئو، امکان بررسی مجدد آنها را با توجه به زمان بسیار کوتاه متحرک بودنشان (۲ دقیقه) را فراهم کرد. پس از تنظیم دستگاه ردیاب هابسون، فیلم ضبط شده بازبینی شد و در هر قاب ۴۰۰ اسپرم را دنبال

کرده، ۱۲ پارامتر حرکتی آنها را ثبت نمود. سپس این اطلاعات به کمک برنامه های مبدل به قالب سایر برنامه های کامپیوتری تبدیل شده و آنالیز اطلاعات با استفاده از برنامه SPSS صورت گرفت. اگرچه آنالیز اطلاعات در ۱۵ ثانیه اول پس از فعال کردن اسپرم قابل انجام است ولی استفاده از ۴ زمان متوالی (هر کدام ۱۵ ثانیه) اطلاعات بیشتری را فراهم می سازد.

نتایج نشان داد که این روش بررسی قادر است اطلاعات بسیار با ارزشی درباره حرکات اسپرم ها و تاثیر فلزات سنگین بر فاکتورهای حرکتی آنها فراهم کند. غلظت های فلزات سنگین بکار رفته در این بررسی مشابه بیشتر غلظت های گزارش شده از بافت های بدن (شامل بیضه ها) بود (۱ و ۲). از نواحی صنعتی بسیاری از کشورها، مقادیر بالاتر نیز گزارش شده است (۲۸).

بررسی ها در برخی مطالعات دیگر مؤید این مطلب است که اندازه گیری نمایه های حرکتی اسپرم (مانند سرعت حرکت به جلو و میزان جابجایی کناری سر) با ظرفیت لقاح در شرایط *in vitro* و *in vivo* (۲۹)، و با سرعت حرکت مستقیم اسپرم (۲۴) ارتباط دارد. بروز اختلالات تولید مثلی در بسیاری از گونه ها در اثر تماس با غلظت های ۰/۰۱ تا ۲۲۵ پی پی ام کادمیوم و ۰/۲ تا ۱۱ پی پی ام روی گزارش شده (۳) و با توجه به تجمع این فلزات در بافت های بدن بدنبال تماس مداوم، یافته های این مطالعه کاملاً مشابه یافته ها در بررسی ها بوده است (۱ و ۲).

در این بخش هدف اصلی بررسی اثرات دو فلز سنگین روی و کادمیوم بر پارامترهای حرکتی اسپرم بوده است، ولی نتایج حاصله نشان دهنده آن است که اثرات سمی کادمیوم بر اسپرم در حضور روی کاهش می یابد. چون فلزات روی و کادمیوم خواص شیمیایی مشابه دارند و هر دو برای اتصال به گیرنده پروتئینی و یا متالوتئینین رقابت می کنند، این یافته توجیه شود (۳۰). روی عنصری مورد نیاز است و کمبود آن می تواند باعث اختلال در تولید مثل بشود (۳۱ و ۳۲). بنابراین امکان دارد که کاهش اثرات سمی

غلظت‌های ۰/۶، ۱/۱ یا ۲/۲ میلی‌گرم کلرید کادمیوم در کیلوگرم وزن بدن نشان داده شده است (۴۰). رابطه معنی‌دار بین میزان کادمیوم خون و حجم منی، اختلال قطعه میانی اسپرم، شکل‌های نابالغ اسپرماتوزا و اختلالات تولید اسپرم گزارش شده است (۴۱) و یافته‌های جدید نیز تایید کننده نقش تغییرات ریخت‌شناسی در ایجاد اختلال در فعالیت طبیعی اسپرم‌هاست.

گرچه این مطالعه تنها بروز تغییرات در فاکتورهای حرکتی اسپرم‌ها را در اثر تماس با تعدادی از فلزات سنگین نشان می‌دهد، با کنار هم گذاشتن یافته‌های قبلی ما و این یافته‌ها، می‌توان گفت که حداقل بخشی از ازدست رفتن توان حرکتی اسپرم بدنبال تماس با فلزات سنگین می‌تواند به علت اختلال در فاکتورهای حرکتی و یا تغییرات مرفولوژیک و ساختاری ناشی از تماس مستقیم با این فلزات باشد. علاوه بر این، فلزات سنگین قادرند تا در بافت‌های بدن انسان و جانوران تجمع پیدا کنند و در فرآیند تکامل اسپرم اثر سوء به جا بگذارد (۳). یکی از این بافت‌ها، بافت بیضه است. بنابراین ارتباط نزدیک اسپرم با فلزات سنگین در فرآیند تولید اسپرم متعاقب آن، تغییرات ریخت‌شناسی در آن وجود می‌آورد و بدنبال تماس طولانی مدت انسان با منابع آلوده به این فلزات، آنها به تدریج در بافت‌های مختلف از جمله بیضه‌ها تجمع پیدا می‌کنند و به مرور در روند تولید و تکامل اسپرم اختلال وجود می‌آورند.

کادمیوم در اثر جابجایی و جلوگیری از اتصال آن به اسپرم توسط فلز روی باشد. خوراندن کادمیوم (۵۰ پی‌پی‌ام) یا کادمیوم + سرب (۲۵ پی‌پی‌ام از هر کدام) به موش به مدت ۱۲۰ روز باعث کاهش حرکات اسپرم و کاهش تعداد اسپرم‌ها شد. ولی هنگامی که ۵۰ پی‌پی‌ام فلز روی به موش خوراندند شد خاصیت حفاظتی آن در برابر اثر سمی کادمیوم مشاهده شد (۳۳). بنابراین در هنگام بررسی اثرات مضر فلزات سنگین بر بدن باید به اثرات مخالف و تقویت‌کنندگی آنها بر هم نیز توجه کرد.

کاهش حرکات اسپرم و بروز اختلال در جنین بوجود آمده در اثر تماس با کادمیوم نیز گزارش شده است (۳۴). گزارش در انسان مبنی بر نقش کادمیوم در بروز اختلال در فعالیت طبیعی اسپرم وجود دارد که می‌تواند ضمن مختل کردن ساختار سر اسپرم در بروز واریکوسل نیز نقش داشته باشد (۱۰، ۳۵ و ۳۷). همچنین گزارش شده در مردانی که به دلیل تماس شغلی میزان کادمیوم در پلاسما آنها بیش از میزان طبیعی بوده است کیفیت اسپرم انزالی نیز همچون فاکتورهای حرکتی و سرعت آنها شدیداً کاهش داشته است (۳۸).

همچنین گزارش شده که کادمیوم با غلظت ۲۰-۵ میلی‌مولار برای اسپرم انسان (۱۷)، ۱۰-۶ میلی‌مولار برای اسپرم قوچ (۳۹) و ۲ میلی‌مولار برای موش و خرگوش (۱۰ و ۳۵) سمی است. ارتباط وابسته به دوز افزایش یابنده در فراوانی تعداد موارد ناهنجاری ریخت‌شناسی در سر اسپرم‌های موش با

## منابع

1. Cope WG, Wiener JG, Atchison GJ Hepatic cadmium, Metal-binding Proteins and Bioaccumulation in Bluegills Exposed to Aqueous Cadmium. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1994; 13(4): 553-562.
2. Gumgun B, Tez UZ, Gulsun Z Heavy metal Pollution in Water, Sediment and Fish from the Tigris River in Turkey. *Chemosphere* 1994; 29: 111-116.
3. Kime DE The Effects of Pollution on Reproduction in Fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 1995; 5: 52-96.
4. Stanwell-Smith R, et al. A Comparative Study of Zinc, Copper, Cadmium, and Lead Levels in Fertile and Infertile Men. *Fertility and Sterility* 1983; 40(5): 670-677.
5. Xu B, Chia SE, Tsakok M, Ong CN. Trace Elements in Blood and Seminal Plasma and their Relationship to Sperm Quality. *Reproductive Toxicology* 1993; 7(6): 613-618.

6. Abou Shakra FR, Ward NI, Everard DM. The Role of Trace Elements in Male Infertility. *Fertility and Sterility* 1989; 52(2): 307-310.
7. Akdeniz D, Deger O, Ergenekon E, Eryilmaz Y. Effect of Zinc Sulfate in Combination With Mesterolone Treatment on the Sperm Motility Score in Infertile Men. *Acta Reproductiva Turcica* 1988; 9(3-4): 63-68.
8. Blesbois E, Mauger I. Zinc Content of Fowl Seminal Plasma and its Effects on Spermatozoa After Storage at 4C. *British Poultry Science* 1989; 30(3): 677-686.
9. Pangawkar GR, Sharma RD. Physical and Biochemical Characteristics of Semen in Relation to Fertility of Holstein-Friesian Bulls. *Indian Veterinary Medical Journal* 1989; 13(1): 21-26.
10. Saito S, Bush IM, and Whitmore WF. Effects of Certain Metals and Chelating Agents on Rat and Dog Epididymal Spermatozoan Motility. *Fertility and Sterility* 1967; 18: 517-521.
11. Abbasi AA, Prasad AS, Rabbani PR. Experimental Zinc Deficiency in Man: Effect on Spermatogenesis. *Transactions of the Association of American Physicians* 1979; 92: 292-302.
12. Kruczynski D, Passia D. The Distribution of Heavy Metals in Human Ejaculate: A Light Microscopic-Histochemical study. *Acta Histochemica* 1986; 79(2): 187-192.
13. Ribatto A, Pellicari D, Foppiani E, De Rose AF. Zinc and Male Gonadal Function. *Rivista di Scienza dell'Alimentazione* 1994; 23(1): 119-129.
14. Behne D, Gessner H, Wolters G, Brotherton J. Selenium, Rubidium and Zinc in Human Semen and Semen Fractions. *International Journal of Andrology* 1988; 11(5): 415-424.
15. Canale D, et al. Zinc in Human Semen. *International Journal of Andrology* 1986; 9(6): 477-480.
16. Sanada S, Yoshida O. Zinc Concentrations and Total Amount of Zinc in Seminal Plasma of Infertile Men with Special Reference to Prostatic Secretory Function. *Acta Urologica Japonica* 1971; 31(11): 1971-1987.
17. Alabi NS, Whanger PD, Wu ASH. Interactive Effects of Organic and Inorganic Selenium with Cadmium and Mercury on Spermatozoal Oxygen Consumption and Motility in Vitro. *Biology of Reproduction* 1985; 33(4): 911-919.
18. Mukherjee A, Giri AK, Sharma A, Talukder G. Relative Efficacy of Short-Term Tests in Detecting Genotoxic Effects of Cadmium Chloride in Mice in Vivo. *Mutation Research* 1988; 206(2): 285-296.
19. Chen L, et al. Effects of Chronic Cadmium Loading on the Testis and Endocrine Function of Reproduction in Male rats. *Sheng Li Xue Bao*. 2002; 54(3): 258-62.
20. Xu LC, Wang SY, Yang XF, Wang XR. Effects of Cadmium on Rat Sperm Motility Evaluated with Computer Assisted Sperm Analysis. *Biomedical and Environmental Sciences*: Bes 2001; 14(4): 312-7.
21. Rurangwa E, Volckaert FA, Huyskens G, Kime DE, Ollevier F. Quality Control of Refrigerated and Cryopreserved Semen Using Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA), Viable Staining and Standardized Fertilization in African Catfish (*Clarias gariepinus*). *Theriogenology* 2001; 55(3): 751-69.
22. Kime DE, et al. Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA) as a Tool for Monitoring Sperm Quality in Fish. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2001; 130(4): 425-33.
23. Au DW, Chiang MW, Wu RS. Effects of Cadmium and Phenol on Motility and Ultrastructure of Sea Urchin and Mussel Spermatozoa. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 2000; 38(4): 455-63.
24. Moore HDM, Akhondi MA. Fertilizing Capacity of Rat Spermatozoa is Correlated with Decline in Straight-Line Velocity Measured by Continuous Computer-Aided Sperm Analysis: Epididymal Rat Spermatozoa from Proximal Cauda Have a Greater Fertilizing Capacity in Vitro than those from the Distal Cauda or vas Deferens. *Journal of Andrology* 1996; 17(1): 50-60.
25. Kime DE, et al. Use of Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) for Monitoring the Effects of Pollution on Sperm Quality of Fish; Application to Effects of Heavy Metals. *Aquatic Toxicology* 1996; In press.
26. Billard R, Cosson MP. Some Problems Related to the Assessment of Sperm Motility in Freshwater Fish. *Journal Of Experimental Zoology* 1992; 261(2): 122-131.
27. Morisawa M, Suzuki MK, Shimizu H, Morisawa S, Yasuda K. Effects of Osmolality and Potassium on Motility of Spermatozoa from Freshwater Cyprinid Fishes. *Journal of Experimental Zoology* 1983; 107: 95-103.
28. Badsha KS, Goldspink CR. Preliminary Observations on the Heavy Metal Content of Four Species of Freshwater Fish in NW England. *Journal of Fish Biology* 1982; 21: 251-267.



29. Holt W, Watson P, Curry M, Holt C. Reproducibility of Computer-Aided Semen Analysis: Comparison of Five Different Systems Used in a Practical Workshop. *Fertility and Sterility* 1994;62(6 D): 1277-1282.
30. Verboost PM, Flik G, Pang PKT, Lock RAC, Bonga SEW, Cadmium Inhibition of the Erythrocyte Calcium Pump: A Molecular Interpretation. *Journal Of Biological Chemistry* 1989;264(10): 5613-5615.
31. Matossian MK. Fertility decline in Europe, 1875-1913-Was Zinc Deficiency the Cause? *Perspectives in Biology and Medicine* 1991;34(4): 604-616.
32. Mills CF, Zinc in Human Biology. Berlin; Springer, 1988: 307.
33. Saxena DK, Murthy RC, Singh C, Chandra SV, Zinc Protects Testicular Injury Induced by Concurrent Exposure to Cadmium and Lead in Rats. *Research Communications In Chemical Pathology And Pharmacology* 1989;64(2): 317-330.
34. Bellas J, Vazquez E, Beiras R. Toxicity of Hg, Cu, Cd, and Cr on Early Developmental Stages of *Ciona Intestinalis* (Chordata, Ascidiacea) with Potential Application in Marine Water Quality Assessment. *Water Research*. 2001;35(12):2905-12.
35. Saito S, Ohno K, Mikuma N, Kumamoto Y. Studies of Human Seminal Zinc and Acid Phosphatase: Studies of Human Seminal Plasma: Report 3. *Japanese Journal Of Fertility And Sterility* 1988;33(2): 219-224.
36. Volpi\_Ghirardini A, Arizzi Novelli A. A Sperm Cell Toxicity Test Procedure for the Mediterranean Species *Paracentrotus Lividus* Echinodermata: *Echinoidea* 2001;22(4): 439-45.
37. Wong WY, et al. The Impact of Calcium, Magnesium, Zinc, and Copper in Blood and Seminal plasma on semen parameters in men. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)* 2001; 15(2): 131-6.
38. Telisman S, et al. Semen Quality and Reproductive Endocrine Function in Relation to Biomarkers of Lead, Cadmium, Zinc, and Copper in Men. *Environmental Health Perspectives* 2000; 108(1): 45-53.
39. White DR, Aitken RJ. Relationship Between Calcium, Cyclic AMP, ATP, and Intracellular pH and the Capacity of Hamster Spermatozoa to Express Hyperactivated Motility. *Gamete Research* 1989;22(2): 163-178.
40. Han C, Wu G, Yin Y, Shen M, Inhibition by Germanium Oxide of the Mutagenicity of Cadmium Chloride in Various Genotoxicity Assays. *Food And Chemical Toxicology* 1992;30(6): 521-524.
41. Chia SE, Ong CN, Lee ST, Tsakok FHM, Blood Concentrations of Lead, Cadmium, Mercury, Zinc, and Copper and Human Semen Parameters. *Archives of Andrology* 1992;29(2): 177-183.

## Motility Parameters Changes in Sperm Due to Zinc and Cadmium Exposure

Abrahimi M. Ph.D.

### Abstract

**Introduction:** Contamination of the ecosystems by entrance of industrial and agricultural pollutants in to the rivers has been of major recent concern. Heavy metals accumulate in the beds of rivers, lakes and seas, food chain and ultimately in human body. Their bioaccumulation in reproductive organs could exert delterious effects on spermatogenesis and sperm morphology.

**Objective:** This study was conducted to examine the motility parameters disturbances due to zinc and cadmium exposure.

**Materials and Methods:** Sperm exposed with different concentrations of zinc, cadmium and Combiration zinc and cadmium and sperm motility parameters were checked by computer assisted sperm analysis.

**Results:** Cadmium, even at 50 ppm concentration affected sperm motility while zinc had toxic effect on sperm in 1000 ppm and more concentration. The interestiry Points that in Sperm incubation with zinc and cadmium simul taneaovsly, zinc has protective effect against cadmium which compensates toxic effects of cadmium against Sperm.

**Conclusion:** The results confirmed that part of heavy metals toxicities on sperm could be due to changes in motility parameters and so the sperm cannot swim, find and fertelize ovum.

**Keywords:** Sperm, Moitility, Pollution, Cadmium, Zinc, Heavy metals.