

اثرات سرب بر روی تحرک، زنده ماندن و دنا توره شدن DNA اسپرم ناحیه دم اپیدیدیم موش سوری

دکتر فرهاد گلشن ایرانپور*^۱، دکتر الهام امامی^۲

^۱ گروه علوم تشریح - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران، ^۲ پزشک عمومی - مرکز تحقیقات گیاهان دارویی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۹/۱۱/۲۳ اصلاح نهایی: ۱۹/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۱۵

چکیده:

زمینه و هدف: سرب یکی از آلوده کننده های محیطی است. در این مطالعه اثرات سرب بر تحرک، زنده ماندن و دنا توره شدن DNA اسپرم موش مورد بررسی قرار گرفت. هدف ما بررسی اثرات سرب بر این فاکتورها و نیز قابل بازگشت بودن یا نبودن این اثرات بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۴ موش نر به عنوان گروه آزمایش و ۲۴ موش نیز، گروه کنترل در نظر گرفته شدند. به موش های گروه آزمایش ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم محلول استات سرب و به موش های گروه کنترل تنها آب مقطر به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. پس از آن هر کدام از گروه ها به سه زیر گروه مساوی تقسیم شدند و موش های هر زیر گروه در هفته های اول، دوم و سوم پس از تزریق کشته و اپیدیدیم آن ها برداشته شد. در تمامی گروه ها درصد اسپرم های متحرک، درصد اسپرم های زنده و میزان دنا توره شدن اسپرم های ناحیه دم اپیدیدیم اندازه گیری شد. داده ها به کمک آزمون های آماری من ویتنی و کروسکال والیس تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: سرب سبب کاهش میزان تحرک و زنده ماندن اسپرم ها در هفته اول پس از تزریق شد ($P < 0/05$). این اثرات سرب تا سه هفته پس از تزریق ناپدید شد. بر خلاف تحرک و زنده ماندن، سرب اثری بر میزان دنا توره شدن DNA نداشت.

نتیجه گیری: آلودگی با سرب سبب کاهش تحرک و زنده ماندن اسپرم ها می گردد ولی اثرات آن پس از مدتی ناپدید می شود. سرب اثری بر دنا توره شدن DNA اسپرم ندارد.

واژه های کلیدی: اسپرم، دنا توره شدن دی ان آ، مسمومیت با سرب، موش.

مقدمه:

ترتیب علاوه بر کارگران کارخانه هایی که از سرب استفاده می کنند، دیگر انسان ها هم در زندگی روزمره در معرض آلودگی به سرب هستند. سرب را به دو صورت ارگانیک و غیر ارگانیک در طبیعت می توان یافت. شکل غیر ارگانیک آن می تواند بر دستگاه اعصاب، گردش خون، ادراری، گوارشی و تناسلی اثر بگذارد. شکل ارگانیک آن می تواند بر دستگاه اعصاب اثر بگذارد. اشکال غیر ارگانیک از طریق تنفسی یا گوارش جذب می گردد. دفع سرب عموماً آهسته است و نیمه عمر بیولوژیکی آن در بافت های نرم ۲۴ تا ۴۰

فلزات سنگین دسته ای از فلزات همانند سرب، آرسنیک، جیوه، کروم، نیکل و کادمیوم هستند. در عین حال که چنین فلزاتی در طبیعت کمیاب هستند و بدن ما روزانه به مقادیر کمی از این فلزات نیاز دارد ولی مقادیر زیاد آن ها سبب مسمومیت می گردد. سرب مشهورترین فلز سنگین سمی است. سرب یکی از مهم ترین آلوده کننده های محیطی است و از آن به عنوان ثابت کننده و خشک کننده در انواع رنگ ها، لاک الکی، جوهرهای رنگی، پوشاننده فلزات دیگر و نیز در بنزین جهت احتراق استفاده می گردد. بدین

روز طول می کشد (۱). در سال های اخیر تاثیرات منفی عوامل شیمیایی محیطی بر روی دستگاه تناسلی مرد مورد توجه زیادی قرار گرفته است. Sokol و همکارانش با مطالعه اثرات سرب بر حیوانات آزمایشگاهی نشان دادند که سرب سبب کاهش تعداد اسپرم ها می گردد، ولی سبب کاهش وزن بیضه ها و کیسه های منوی نمی گردد. میزان هورمون FSH (Follicle Stimulating Hormone) کاهش می یابد ولی میزان LH (Luteinizing Hormone) تغییری نمی کند (۲). وی در مطالعه دیگری برگشت پذیری اثرات سرب را بر روی محور هیپوتالاموس هیپوفیز-بیضه ها در خرگوش بررسی کرده و دریافتند که سرب تعداد اسپرم های داخل بیضه و همچنین سرعت تولید اسپرم را سرکوب می کند و نیز اثرات سرب بر اسپرم ها در خرگوش های بالغ برگشت پذیر است (۳). Sokol و همکارانش تاثیر مدت تماس با سرب در موش را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که هر چه طول مدت تماس بیشتر باشد، اثرات سمی سرب بر دستگاه تولید مثل بیشتر است ولی مواجهه بیش از ۱۴ روز تغییری در سطح سرمی هورمون تستوسترون و روند اسپرماتوزنز ندارد (۴). Murthy و همکاران (۵) و نیز Johansson و همکاران (۶) در مطالعات جداگانه ای تغییرات چشمگیری در حرکت و تعداد اسپرم های ناحیه اپیدیدیم موش پس از تماس حیوان با سرب پیدا نکردند.

Chowdhuri و همکارانش نشان دادند که سرب باعث کاهش قابل توجه توانایی چسبندگی اسپرم به تخمک می گردد (۷). Bounde و همکارانش با بررسی اثرات سمی سرب بر کارگران در معرض این فلز دریافتند که در مردان با سطح سرمی ۵۰ Mg/dl سرب تعداد اسپرم های مایع منی کاهش و در مردان با سطح سرمی کمتر از آن تعداد اسپرم ها کاهش معنی داری نمی یابد. علاوه بر آن دریافتند که سطح سرمی سرب رابطه ای با درصد اسپرم های ناهنجار ندارد (۸). در

مطالعه دیگر Graca و همکارانش نشان دادند که وزن بیضه ها، قطر لوله های منی ساز و تعداد اسپرم ها به طور چشمگیری در اثر تجویز سرب کاهش می یابد و نیز این اثرات آن با گذشت زمان قابل برگشت می باشند (۹). Allouche و همکارانش اثرات دوز پائین یا متوسط استات سرب را در موش های صحرایی به مدت ۴-۲ هفته بررسی کردند. نتایج نشان داد که سرعت اسپرم ها و میزان اسپرم های ناهنجار در هر دو دوز کاهش می یابند ولی در میزان LH و FSH تغییری حاصل نمی شود. میزان هورمون تستوسترون افزایش می یابد و این نشانگر آن است که سرب به طور انتخابی بر عمل بیضه اثر می گذارد (۱۰). مطالعه دیگری نیز نشان داد که تعداد اسپرم های ناهنجار در موش های الجزایری با تجویز دوزهای متوالی سرب افزایش می یابند (۱۱). Shan و همکارانش نیز اثر اسکورییک اسید و تیامین را در ظرف ۶ هفته بر موش هایی که همزمان سرب را به صورت اینترگاستریک دریافت کردند بررسی نمودند. در گروه سرب کاهش تعداد و حرکت اسپرم ها نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در حالی که در گروه اسکورییک این پارامترها بالاتر بودند. بدین ترتیب اسکورییک اسید همراه با تیامین می تواند نقش محافظتی را در مقابل سرب بر دستگاه تناسلی ایفا نماید (۱۲).

Anjum و همکارانش به آب موش های صحرایی به مدت ۴۵ روز استات سرب افزودند و مشاهده کردند که وزن اندام های تناسلی، تعداد، حرکت و زنده ماندن اسپرم ها در گروه سرب کاهش یافت (۱۳).

با توجه به موارد مذکور و مطالعه کارهای انجام شده در مورد اثرات سرب بر دستگاه تناسلی مشاهده شد که بر سر اثرات آن بر حرکت و تعداد اسپرم ها اختلاف نظر وجود داشت (۹-۲). علاوه بر آن تحقیقی در مورد اثرات سرب بر روی میزان زنده ماندن و ساختار DNA اسپرم وجود ندارد. پس در مطالعه حاضر پس از تجویز سرب اثرات آن بر روی میزان حرکت

اسپرم ها، درصد اسپرم های زنده و همچنین تعداد اسپرم های دنا توره شده مورد بررسی قرار گرفت تا مشخص گردد که آیا سرب می تواند سبب کاهش اسپرم های زنده و نیز سبب تخریب DNA اسپرم گردد یا نه؟ همچنین ما در مطالعه خود قابل برگشت بودن اثرات سرب بر پارامترهای فوق الذکر را نیز مورد مطالعه قرار دادیم.

روش بررسی:

این مطالعه یک مطالعه مداخله ای (تجربی) است که به منظور تعیین اثر استات سرب بر حیات، تحرک و DNA اسپرم صورت گرفت. این تحقیق مورد تصویب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد قرار گرفت.

جمعیت مورد مطالعه تعداد ۴۸ موش نر نژاد سفید سوئسی (Swiss White) با سن حدود ۱۰-۸ هفته که از انستیتو رازی تهران خریداری شده بودند. موش ها به مدت ۲ هفته در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تحت شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند تا به محیط حیوانخانه خو بگیرند. پس از آن ۲۴ سر موش به عنوان گروه آزمایش و ۲۴ موش به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند.

موش های گروه آزمایش تحت تزریق یک دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم استات سرب به صورت داخل صفاقی قرار گرفته و پس از آن به ۳ زیر گروه تقسیم شدند. زیر گروه اول یک هفته، زیر گروه دوم ۲ هفته و زیر گروه سوم ۳ هفته پس از تزریق با ایجاد در رفتگی گردنی کشته و اپیدیدیم آنها برداشته شد. سپس اسپرم های موجود در اپیدیدیم در محیط کشت Ham's F10 (شرکت Gibco) آزاد شدند. اسمولاریته محیط کشت در حد ۲۸۵ میلی اسمول و Ph آن ۷/۲ تا ۷/۴ درجه تنظیم شد. میزان حرکت اسپرم ها با قراردادن یک قطره از محیط روی لام و زیر عدسی ۴۰ مورد

بررسی قرار گرفت. پس از آن جهت رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین یک قطره از محیط حاوی اسپرم ها را روی لام قرار داده و ابتدا با ائوزین و سپس با نیگروزین رنگ آمیزی شدند. با این روش رنگ آمیزی درصد اسپرم های زنده مشخص شد. پس از تهیه یک اسمیر دیگر از نمونه بر روی لام، در محلول کارنوی فیکس گردید و لام مورد نظر با رنگ آمیزی آکریدین اورنج جهت بررسی اسپرم های دارای DNA طبیعی رنگ آمیزی گردید.

موش های گروه کنترل نیز پس از تزریق آب مقطر استریل به ۳ زیر گروه همانند گروه آزمایش تقسیم گردیدند. زیر گروه اول ۱ هفته، زیر گروه دوم ۲ هفته و زیر گروه سوم ۳ هفته نگهداری شدند. پس از مدت زمان های مذکور به همان طریق از این زیر گروه ها نیز مانند گروه آزمایش نمونه گیری شد و اطلاعات به همان طریق جمع آوری گردید.

نسبت اسپرم های متحرک به اسپرم های غیر متحرک (Motility) به صورت درصد بیان شده و با بررسی مستقیم میکروسکوپی مشخص گردید. برای این منظور یک قطره از محیط کشت حاوی اسپرم ها روی لام قرار گرفته و سپس یک لامل ۲۰×۲۰ میلی متر روی آن قرار داده شد. جهت بررسی اسپرم ها لام تهیه شده با عدسی ۴۰ شیئی در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شد و تعداد اسپرم های در حال حرکت و ساکن شمارش گردید. درصد اسپرم های متحرک با شمارش ۲۰۰ اسپرم در هر لام تعیین شد.

برای شمارش تعداد اسپرم های زنده و مرده (Viability) از خاصیت نفوذپذیری غشای سلول ها به رنگ حیاتی ائوزین-نیگروزین استفاده شد. رنگ ائوزین سلول های مرده را رنگ می کند، اما در غشای سلول های زنده قبل از فیکس شدن (ثابت شدن) نفوذ نمی کند. بنابراین سلول های زنده رنگ نشده باقی می ماند و به رنگ سفید خواهند بود و اسپرم های مرده به رنگ صورتی دیده می شوند. برای مشاهده

یافته ها:

میانگین درصد اسپرم های متحرک در گروه آزمایش به ترتیب در هفته ی اول تا سوم 38 ± 5 ، 40 ± 9 و 67 ± 9 و در گروه کنترل به ترتیب 59 ± 11 ، 69 ± 9 و 56 ± 1 بودند.

در بررسی آماری و با استفاده از آزمون من ویتنی مشخص شد که میزان تحرک در هفته اول در گروه آزمایش به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل بود ($P < 0/05$). به همین ترتیب میزان تحرک اسپرم ها در هفته دوم به طور معنی داری در دو گروه تفاوت داشت ($P < 0/05$). ولی در هفته سوم میزان تحرک اسپرم ها در گروه های کنترل و آزمایش اختلاف معنی داری با یکدیگر نشان نداد ($P > 0/05$).

با استفاده از آزمون کروسکال والیس مشخص شد که روند افزایش معنی داری در میزان تحرک اسپرم ها از هفته اول تا سوم در گروه آزمایش وجود داشت ($P < 0/05$)، به گونه ای که میانگین تحرک اسپرم ها در هفته اول برابر با ۳۸ درصد و در هفته سوم برابر با ۶۷ درصد بود.

میانگین درصد اسپرم های زنده در گروه آزمایش به ترتیب در هفته های اول تا سوم 45 ± 6 ، 42 ± 8 و 72 ± 11 و در گروه کنترل به ترتیب 65 ± 7 ، 71 ± 9 و 61 ± 8 بودند.

در بررسی آماری و با استفاده از آزمون من ویتنی میزان زنده ماندن اسپرم ها در هفته اول در گروه آزمایش به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل بود ($P < 0/05$). به همین ترتیب میزان زنده ماندن اسپرم ها در هفته دوم به طور معنی داری در دو گروه تفاوت داشت ($P < 0/05$). با تحلیل آماری و استفاده از آزمون من ویتنی در هفته سوم مشخص شد که در این هفته میزان زنده ماندن اسپرم ها در گروه های کنترل و آزمایش اختلاف معنی داری با یکدیگر نشان نداد ($P > 0/05$).

نمونه های رنگ آمیزی شده از میکروسکوپ نوری استفاده گردید و در هر لام حداقل ۳۰۰ اسپرم بررسی شده و درصد اسپرم های زنده در آن محاسبه گردید.

جهت تعیین اسپرم های با DNA طبیعی از روش رنگ آمیزی آکریدین-اورانج استفاده گردید. روش آکریدین اورانج یک رنگ آمیزی فلوروسنت برای تمایز DNA سالم دو رشته ای از DNA دناتوره شده و تک رشته است و به عنوان تست مقاومت اسپرم در مقابل دناتوره شدن مطرح می شود. اسمیرهای تهیه شده از محیط کشت حاوی اسپرم ها، در محلول فیکساتیو کارنوی (متانول و اسیداستیک گلاسیال به نسبت ۱ به ۳) حداقل ۲ ساعت و حداکثر در طول شب فیکس شدند. پس از این مدت اسمیر از محلول فیکساتیو خارج و پس از آن به وسیله حدود ۵ سی سی محلول آکریدین اورانج [۰/۰۲٪ در بافر سترات فسفات با $PH = 2/5$] و بر اساس روش Tejada (۱۴) به مدت ۵ دقیقه رنگ آمیزی شد و رنگ اضافی با شستشو در آب جاری حذف گردید. اسلایدها در همان روز با استفاده از میکروسکوپ فلوروسنت (Zeiss, Germany) و با فیلتر مناسب بررسی شدند. با شمارش ۲۰۰ تا ۳۰۰ اسپرم در هر اسمیر، درصد اسپرم های با DNA طبیعی که به رنگ سبز مشاهده می شوند و DNA دناتوره که به رنگ قرمز دیده می شد تعیین و گزارش گردید.

داده های بدست آمده در مورد میزان تحرک، درصد زنده بودن و میزان اسپرم های دناتوره شده موش های گروه های آزمایش و کنترل و نیز زیر گروه های این دو گروه به صورت اطلاعات در جداول مربوطه مرتب گردیده و پس از کدبندی با استفاده از روش های آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار) و استفاده از آزمون های من ویتنی و کروسکال والیس، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقادیر ($P < 0/05$) معنی دار تلقی گردیدند.

اسپریم ها به کمترین میزان خود یعنی حدود ۴۲ درصد می رسد در حالی که این میزان در گروه کنترل برابر ۷۱ درصد است. بررسی همین پارامتر در هفته سوم تفاوت معنی داری را بین دو گروه کنترل و آزمایش نشان نمی دهد. بدین ترتیب ظاهراً اثرات تزریق سرب بر این فاکتور کمی دیرتر از میزان تحرک به حداکثر خود می رسد ولی سریعاً در طی هفته بعدی به میزان طبیعی خود باز می گردد. در زمینه برگشت پذیر بودن اثرات سرب بر روی اسپریم ها نتایج ما قابل مقایسه با نتایج Sokol و همکارانش است. وی نشان داد که تعداد اسپریم ها در گروه موش های نابالغ پس از تحت تاثیر قرار گرفتن توسط سرب پس از مدتی قابل برگشت است (۳).

علاوه بر آن Graca و همکاران نیز نشان دادند که پس از ۳۲ روز اثرات کلرید سرب بر روی تعداد اسپریم ها قابل بازگشت به حال عادی است (۹). ما نیز نشان دادیم که اثرات منفی سرب بر روی میزان حرکت و تعداد اسپریم های زنده حداکثر تا سه هفته قابل بازگشت به وضع طبیعی است.

بطور کلی تحقیقات نشان داده که با تجویز سرب بصورت خوراکی یا داخل صفاقی تعداد اسپریم ها در داخل بافت بیضه یا در داخل اپیدیدیم کاهش می یابد (۱۳، ۸، ۱۲، ۳، ۲). همچنین در مطالعه Bounde مشخص گردید که تعداد اسپریم های غیر طبیعی در ناحیه اپیدیدیم نیز متعاقب تجویز سرب افزایش یافته اند (۸). دلایلی که محققین جهت اثرات منفی سرب بر دستگاه تناسلی اقامه نموده اند تعیین بررسی اثر سرب بر روی محور هیپوتالاموس هیپوفیز بیضه است که سبب کاهش FSH یا LH می گردد (۲). علاوه بر این سرب با اثر بر روی سلول های لیدینگ سبب کاهش میزان تستوسترون در سرم خون می شود (۳، ۲).

نتایج به دست آمده در این تحقیق در مورد اثرات سرب بر پایداری کروماتین اسپریم حاکی از آن هستند که سرب اثری را از خود بر روی ساختار DNA

با استفاده از آزمون کروسکال والیس مشخص شد که درصد زنده ماندن اسپریم ها در گروه آزمایش در سه هفته برابر نبوده است ($P < 0/05$)، به گونه ای که کمترین میزان زنده ماندن اسپریم ها در هفته دوم پس از تزریق برابر با ۴۲ درصد و بیشترین آن در هفته سوم برابر با ۷۲ درصد بوده است.

میانگین درصد اسپریم های دنا توره شده در گروه آزمایش به ترتیب در هفته های اول تا سوم 97 ± 1 ، 97 ± 1 و 98 ± 1 و در گروه کنترل به ترتیب 96 ± 1 ، 97 ± 1 و 98 ± 4 بودند.

در بررسی آماری و با استفاده از آزمون من ویتنی مشخص شد که میزان پایداری اسپریم ها در هفته اول، دوم و سوم در بین گروه های کنترل و آزمایش تفاوت معنی داری با یکدیگر نشان نداد ($P > 0/05$).

بحث:

نتایج ما در مورد تحرک اسپریم ها نشان می دهد که در هفته اول پس از تزریق سرب به موش های گروه آزمایش میزان تحرک به کمترین مقدار خود یعنی حدود ۳۸ درصد رسیده است. در حالی که در گروه کنترل این میزان ۵۹ درصد است. با توجه به نتایج به دست آمده در هفته های بعد مشخص می گردد که میزان تحرک اسپریم ها از هفته اول به بعد رو به افزایش می گذارد. به طوری که در هفته سوم بین دو گروه کنترل و آزمایش اختلاف معنی داری مشاهده نشد. این نتایج نشانگر آن هستند که سرب سبب کاهش میزان تحرک اسپریم ها می شود ولی این کاهش همیشگی نبوده و قابل بازگشت است. بدین ترتیب میزان تحرک اسپریم ها پس از سه هفته به میزان طبیعی خود باز می گردد و اثرات منفی سرب بر تحرک اسپریم ها مرتفع می شود. با بررسی نتایج ما در مورد درصد زنده ماندن اسپریم ها مشاهده می شود که در هفته دوم پس از تزریق سرب به موش های گروه آزمایش در صد زنده ماندن

غشای سیتوپلاسمی و نیز ارگان های سیتوپلاسمی باشد.

نتیجه گیری:

با توجه به فراوانی سرب در محیط اطراف ما و نیز با توجه به نتایج این مطالعه آلودگی با سرب می تواند باعث کاهش اسپرم های متحرک و زنده گردد ولی سبب دنا توره شدن DNA اسپرم ها نمی شود. ما دریافته ایم که این تغییرات در طول زمان قابل بازگشت می باشند. پیشنهاد می گردد در بررسی های بیشتر اثرات سرب بر غشای اسپرم و اجزای سیتوپلاسمی آن بررسی گردد.

تشکر و قدردانی:

این طرح در قالب طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و با حمایت مالی این دانشگاه انجام شده است. مراتب تقدیر و تشکر از کلیه عزیزانی که در انجام این طرح پژوهشگر را یاری نمودند ابراز می گردد.

اسپرم نشان نمی دهد زیرا باعث افزایش اسپرم های دنا توره شده در ناحیه دم ایدیدیم موش نمی گردد. در این بخش نیز نتایج ما قابل مقایسه با نتایج به دست آمده توسط Bounde و همکارانش است (۸). ایشان با بررسی سطح سرب در سرم کارگران مشغول بکار در کارخانه ها و نیز بررسی تعداد اسپرم ها و پایداری کروماتین در این اسپرم ها نتیجه گرفتند که میزان سرب بالاتر در سرم سبب کاهش تعداد اسپرم ها می گردد اما عملاً اثری بر روی پایداری کروماتین اسپرم ها ندارد. این موضوع همچنین به نوعی در مطالعه Johansson و همکارانش بررسی شده است (۶). در این مطالعه وقتی موش های نر آلوده به سرب با موش های ماده بدون آلودگی به سرب جفت گیری کردند، تعداد جنین های جذب شده یا دارای ناهنجاری در مقایسه با جنین های حاصل از جفت گیری زوج های غیر آلوده افزایشی را نشان نمی دهد. بدین ترتیب ظاهراً سرب بر روی DNA هسته اسپرم اثرات نامطلوبی برجای نمی گذارد و شاید بتوان گفت که اثرات منفی سرب بر اسپرم ها بیشتر در حد

منابع:

1. Vincoli JW. Lead chloride. In: Risk management for hazardous chemicals. Boca Raton: Lewis Publisher; 1997. p: 2005-10.
2. Sokol RZ, Maddinq CF, Swredloff RS. Lead toxicity and the hypothalamic- pituitary - testicular axis. Biol Reprod. 1985; 33(33): 722-8.
3. Sokol RZ. Reversibility of the toxic effect of lead on the male reproductive axis. Reprod Toxic. 1989; 3(3): 175-80.
4. Sokol RZ. The effect of duration of the expression of lead toxicity on the male reproductive axis. J Androl. 1990; 11(6): 52-6.
5. Murthy RC, Gupta SK, Saxena DK. Nuclear alteration during aerosomal cap formation in spermatids of lead-treated rats. Reprod Toxicol. 1995; 9(5): 483-9.
6. Johansson L, Wide M. Long term exposure of the male mouse to lead effect on fertility. Environ Res. 1986; 41(2): 481-7.
7. Chowdhuri DK, Narvan R, Saxena DK. Effect of lead and chromium on nucleic acid and protein synthesis during sperm zone binding in mice. Toxic In Vitro. 2001; 15(6): 605-13.
8. Bounde JP, Joffe M, Apostoli P, Dale A, Kissp P, Spano M, et al. Sperm count and chromatin structure in men exposure to inorganic lead: lowest adverse effect levels. Occup Environ Med. 2002; 59(4): 234-42.

9. Graca A, Ramaho-santos J. Effect of lead chloride on spermatogenesis and sperm parameter in mice. *Asian J Androl.* 2004; 6(3): 237-410.
10. Allouche L, Hamadouche M, Touabti A. Chronic effects of low lead levels on sperm quality, gonadotropins and testosterone in albino rats. *Exp Toxicol Pathol.* 2009; 61(5): 503-10.
11. Tapisso JT, Marques CC, Mathias Mda L, Ramalhinho Mda G. Induction of micronuclei and sister chromatid exchange in bone- marrow cells and abnormalities in sperm of Algerian mice (*Mus spetus*) exposed to cadmium, lead and zinc. *Mutat Res.* 2009; 678(1): 59-64.
12. Shan G, Tang T, Zhang X. The protective effect of ascorbic acid and thiamine supplementation against damage caused by lead in the testes of mice. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2009; 29(1): 68-72.
13. Anjum MR, Sainath SB, Suneetha Y, Reddy PS. Lead acetate induced reproductive and paternal mediated developmental toxicity in rats. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2011; 74(4): 793-9.
14. Tejada RI, Cameron Mitchel J, Norman A, Marik JJ, Friedman S. A test for the practical evaluation of male fertility by acridine orange (AO) fluorescence. *Fertil Steril.* 1984; 42(1): 87-91.

The effects of lead on motility, viability and DNA denaturation of cauda epididymal spermatozoa of mouse

Golshan-Iranpour F (PhD)*¹, Emami E (GP)²

¹Anatomy Sciences Dept., Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran, ²General physician, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

Received: 12/Feb/2011 Revised: 15/March/2011 Accepted: 30/Apr/2011

Background and aims: Lead is one of the environmental contaminants. In this study we examined the effects of lead on motility, viability and DNA denaturation of mouse spermatozoa. The aim of the study was to find the effects of lead on the above parameters and to see whether these effects are reversible or not.

Methods: Twenty four male mice were considered as case group and 24 mice as control group. The case group was injected by 200 mg/kg of lead acetate and control group was injected only by distilled water. Each group (case and control groups) was divided into three subgroups and the members of each subgroup were killed after 1, 2 and 3 weeks and their epididymides were removed. Motility, viability and DNA denaturation of caudal epididymal spermatozoa were examined in all groups. Data were analyzed using MannWitny U and Kruskal-Wallis tests.

Results: Lead reduce the motility and viability of spermatozoa one week after the injection. These effects of lead were disappeared three weeks after injection. In contrast to the effect of lead on motility and viability, it did not affect on DNA denaturation.

Conclusion: Contamination with lead can reduce motility and viability of sperms but these effects will be disappeared by time. Lead can not create any changes on DNA denaturation of spermatozoa.

Keywords: DNA denaturation, Lead Poisoning, Mouse, Spermatozoa.

Cite this article as: Golshan-Iranpour F, Emami E. [The effects of lead on motility, viability and DNA denaturation of cauda epididymal spermatozoa of mouse. J Sharekord Univ Med Sci. 2011 Oct, Nov; 13(4): 1-8.]Persian

***Corresponding author:**

Anatomical Sciences Section, Biomedical Dept., Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. Tel: 0098-3117922426, E-mail:fgolshaniranpour@yahoo.com