

مطالعه روند اسپرماتوژنز و نقش حفاظتی عنصر روی در بیضه یک سمت بعد از وارد آمدن ضربه بلانت به بیضه طرف مقابل موش صحرایی نابالغ نژاد ویستار

دکتر قاسم ساکی*، دکتر کاظم رادان**، دکتر شاهرخ مصطفی رادمرد**، ایران رشیدی***، فاخر رحیم***

* دانشیار علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران.

** استادیار ارولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران.

*** استادیار پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران.

**** کارشناس ارشد بیوانفرماتیک، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و مرکز تحقیقات بالینی آپادانا، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف

در مورد اثر ترومای بلانت یک طرفه بیضه بر عملکرد و ساختمان بیضه طرف مقابل تاکنون گزارشات ضد و نقیضی منتشر شده است. این مطالعه با هدف تعیین عواقب ترومای بلانت یک طرفه بیضه بعد از گذشت یک دوره اسپرماتوژنز (معادل ۴۰ روز) بر تعداد اسپرماتیدهای گرد و دراز، سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه، سلول‌های لیدینگ و سرتولی و همچنین ساختمان این سلول‌ها در بیضه سمت مقابل و تعیین اثر عنصر روی بر تغییرات بالا انجام گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرایی نابالغ نژاد ویستار با سن ۷ هفته انتخاب و به سه گروه مساوی (n=۱۰) تقسیم شدند. گروه اول به عنوان شاهد بودند که بیضه سمت چپ آن‌ها تحت بیهوشی عمومی مورد جراحی قرار گرفت. در گروه دوم و سوم ترومای بلانت بر بیضه سمت چپ وارد شد که باعث پاره شدن غلاف سفید بیضه گردید. در گروه سوم، بلافاصله پس از ضربه، سولفات روی با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق و سپس به مدت ۴۰ روز روی با دوز روزانه واحد (part per million) ppm ۵۰۰ و به صورت خوراکی تجویز شد. پس از این مدت موش‌ها کشته شده و بیضه سمت راست از بدن موش‌ها خارج گردید. پس از انجام مراحل مختلف تهیه لام و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، تعداد اسپرماتیدهای گرد و دراز، سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه، سلول‌های لیدینگ و سرتولی و همچنین ساختمان این سلول‌ها مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA و آزمون‌های تکمیلی توکی و دانکن تجزیه و تحلیل شدند و $P < 0.05$ سطح معنی‌داری اختلاف‌ها قرار داده شد.

یافته‌ها

اختلاف تعداد اسپرماتیدهای گرد و دراز، سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، سلول‌های لیدینگ و سرتولی در سه گروه مورد مطالعه معنی‌دار نبود. ($P > 0.05$). تغییرات هیستولوژیک در سلول‌های سرتولی و بینابینی در دو گروه دوم و سوم مشاهده گردید. اثر حمایتی روی بر تعداد و ساختمان سلول‌های ژرم معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

نتیجه‌گیری

بر اساس این مطالعه ضربه بلانت یک طرفه بیضه بعد از گذشت ۴۰ روز تعداد اسپرماتیدهای گرد و دراز، سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، سلول‌های لیدینگ و سرتولی بیضه سمت مقابل را تغییر نمی‌دهد. این تحقیق، مطالعه طولانی مدت بافت بیضه بعد از ضربه بلانت با استفاده از میکروسکوپ الکترونی به صورت اختصاصی پیشنهاد می‌نماید.

کلید واژه‌ها: ضربه بلانت یک طرفه؛ بیضه؛ روی؛ موش صحرایی؛ اسپرماتوژنز.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشکده پزشکی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران.

تلفن: ۰۹۱۶۶۱۸۱۶۸۵ آدرس پست الکترونیکی: ghasemsaki@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۱۹

تاریخ دریافت: ۸۷/۹/۲۵

مقدمه

که کمبود روی می‌تواند سبب تأخیر در رشد و بلوغ جنسی و کاهش کارکرد گنادها گردد (۱۷-۱۴). هم‌چنین با تجویز روی آثار تخریبی کادمیوم (۱۸) و فلوراید (۱۹) بر بافت بیضه کاهش می‌یابد. مطالعات نشان داده است، که میزان روی پلاسما در طی سنتز سریع بافت‌ها کم می‌شود و این امر احتمالاً به این دلیل است که برداشت روی از پلاسما سریع‌تر از جذب روده‌ای آن است (۲۰). هدف این مطالعه تعیین عواقب ترومای بلانت یک‌طرفه بیضه بعد از گذشت یک دوره اسپرماتوژنز (معادل ۴۰ روز) بر تعداد اسپرماتیدهای گرد و دراز، سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه، سلول‌های لیدینگ و سرتولی و هم‌چنین ساختمان این سلول‌ها در بیضه سمت مقابل و تعیین اثر عنصر روی بر تغییرات بالا می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۳۰ موش صحرایی نابالغ با سن ۷ هفته از نژاد ویستار با وزن بین ۱۶۰ تا ۱۸۰ گرم مورد بررسی قرار گرفتند. این حیوانات از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی خریداری و در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی گروه علوم تشریح و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای 25 ± 2 درجه نگهداری شدند. تمام اقدامات جراحی توسط دستیار اورولوژی و با بیهوشی عمومی و تحت شرایط استریل انجام گرفت. جهت بیهوشی از تزریق داخل صفاقی کتامین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده گردید. موش‌های صحرایی به طور تصادفی به سه گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه ۱ تحت عنوان شاهد بودند که یک عمل جراحی با برش روی اسکروتوم انجام، بیضه از درون اسکروتوم خارج و سپس مجدداً درون کیسه قرار گرفت. گروه ۲ (گروه تجربی ۱)، در این گروه ابتدا بیضه چپ با یک برش طولی روی اسکروتوم آزاد و سپس غلاف سفید (Tunica Albugina)

ترومای بیضه که یک اورژانس اورولوژیکی به حساب می‌آید، اغلب در حین فعالیت‌های ورزشی اتفاق می‌افتد. سایر موارد شامل تصادفات با وسایل نقلیه و سقوط از ارتفاع است. از نظر پاتوفیزیولوژی غالباً تروما به صورت بلانت بوجود می‌آید که این امر باعث فشردگی بیضه روی استخوان شرمگاهی یا شاخ استخوان نشیمنگاهی می‌گردد (۳-۱). ترومای بلانت به صدماتی گفته می‌شود که در نتیجه عملکرد اشیا با انرژی بسیار و سطح گسترده بر بیضه و اسکروتوم اتفاق می‌افتد (۴). اثرات درازمدت ترومای بلانت بیضه همواره باعث نگرانی بیمار، خانواده‌ها و پزشک معالج است. با توجه به کاهش قدرت باروری متعاقب ترومای بلانت یک‌طرفه بیضه، اثرات ترومای یک‌طرفه بیضه روی بیضه طرف مقابل مطرح می‌باشد (۷-۵). آسیب بیضه مقابل همراه با تغییرات بافت بیضه و هم‌چنین تغییرات هورمونی و بیوشیمیایی پس از ترومای بلانت یک‌طرفه بیضه در برخی مطالعات نشان داده شده است (۹،۸)، گرچه برخی مطالعات این موضوع را تأیید نمی‌کند (۱۰). بعضی از محققان معتقدند که دلیل احتمالی آسیب بیضه طرف مقابل پاسخ ایمنی از طریق سلولی و یا آنتی‌بادی و یا دلیل احتمالی دیگر مربوط به اینفیلتراسیون نوتروفیل و ظهور رادیکال‌های آزاد اکسیژن هم‌چون هیدروژن پراکسی یا رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشد (۱۱،۱۲). بر اساس یافته‌های فوق در مورد برخورد با ترومای بلانت بیضه (حفظ یا اریکتومی بیضه صدمه دیده) اتفاق نظر وجود ندارد (۸-۱۰). روی یک عنصر حیاتی و اساسی بوده که ارتباط نزدیکی با فعالیت اندوکروینی دارد (۱۳)، و برای فعالیت بیش از ۳۰۰ آنزیم به خصوص RNA پلی‌مراز و DNA پلی‌مراز و سایر متالوآنزیم‌ها (۱۴) سنتز پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها و تقسیم سلولی و هم‌چنین فعالیت تولیدمثل، اسپرماتوژنز و پایدار ماندن ساختمان کروماتین در هسته سلولی (۱۴) دارای نقش به‌سزایی است، به طوری

تحلیل گردید. $P < 0.05$ سطح معنی داری اختلافها قرار داده شد.

یافته‌ها

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید گرد و دراز در گروه‌های ۱ تا ۳ به ترتیب برابر با $44/03 \pm 4/14$ ، $41/01 \pm 0.2$ و $43/00 \pm 2/32$ عدد بود. اختلاف در تعداد سلول‌های اسپرماتیدی در دو گروه ۱ و ۲، ۲ و ۳ و ۱ و ۳ معنی دار نبود. مطالعه میکروسکوپی انجام شده تغییر پاتولوژیک در ساختمان این سلول‌ها را تأیید نکرد. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه‌های ۱ تا ۳ به ترتیب برابر با $55/63 \pm 4/14$ ، $51/92 \pm 2$ و $53/31 \pm 2/32$ عدد بود. گرچه به نظر می‌رسید که تعداد سلول‌های یک بیضه به دلیل ضربه بلانت وارده به بیضه سمت مقابل کاهش یافته‌اند، اما آنالیز آماری انجام شده نشان داد که اختلاف در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در دو گروه ۱ و ۲، ۲ و ۳ و ۱ و ۳ معنی دار نیست. مطالعه میکروسکوپی انجام شده تغییر پاتولوژیک در ساختمان این سلول‌ها را تأیید نکرد. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در گروه‌های ۱ تا ۳ به ترتیب برابر با $52/23 \pm 4/11$ ، $49/19 \pm 2/2$ و $50/13 \pm 9/62$ عدد بود. اختلاف در تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در دو گروه ۱ و ۲، ۲ و ۳ و ۱ و ۳ معنی دار نبود. هم‌چنین بررسی‌های میکروسکوپی تغییر پاتولوژیک خاصی را در ساختمان این سلول‌ها نشان نداد. میانگین تعداد سلول‌های لیدینگ در گروه‌های ۱ تا ۳ به ترتیب برابر با $10/03 \pm 0/09$ ، $9/06 \pm 0/02$ و $08/01 \pm 0/02$ عدد بود که در تعداد سلول‌های لیدینگ در دو گروه ۱ و ۲، ۲ و ۳ و ۱ و ۳ تفاوت معنی داری دیده نشد. بررسی‌های میکروسکوپی تغییراتی هم‌چون فشرده شدن هسته و گرانولار شدن سیتوپلاسم را در ساختمان سلول‌های لیدینگ نشان داد. میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های ۱ تا ۳ به ترتیب برابر با $9/09 \pm 0/05$ ، $8/01 \pm 0/04$ و $09/05 \pm 0/07$

باز و ترومای بلانت توسط یک وزنه ۲۰۰ گرمی استریل که از ارتفاع ۵/۵ سانتی متری کوبیده می‌شد، ایجاد گردید و با استفاده از ذره‌بین از پاره شدن غلاف سفید اطمینان حاصل شد، سپس این پرده بسته شده و بیضه درون اسکروتوم قرار گرفت. گروه ۳ (گروه تجربی ۲): در این گروه مشابه گروه قبل عمل شد، اما بلافاصله پس از تروما محلول سولفات روی با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز و سپس روزانه ppm (part per million) ۵۰۰ به صورت خوراکی که در ۱۸ میلی لیتر آب حل شده بود به مدت ۴۰ روز تجویز گردید (۲۱). موش‌ها در حیوان‌خانه نگهداری شدند و پس از گذشت ۴۰ روز و فرارسیدن بلوغ موش‌ها، موش‌های هر گروه به صورت جداگانه با استفاده از محلول اتر کشته شده و بیضه سمت راست آن‌ها از بدن خارج گردید. بیضه‌های خارج شده بلافاصله در محلول بوئن فیکس شده (۲۲) و مراحل مختلف بافتی توسط دستگاه خودکار آماده‌سازی بافت انجام شد. برش‌هایی به ضخامت ۴-۵ میکرومتر از قسمت‌های بالایی، میانی و پایینی هر بلوک پارافینی تهیه گردید (حدود ۵۰ برش). نمونه‌ها با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شدند. به منظور شمارش اسپرماتیدهای گرد و دراز، سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه، سلول‌های لیدینگ و سرتولی مقاطع عرضی رنگ آمیزی شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. در هر گروه مورد مطالعه از میان لوله‌های اسپرم‌ساز ۱۲ مقطع عرضی لوله که از نظر شکل ظاهری و قطر مشابه بودند، انتخاب و سلول‌های اسپرماتیدی گرد و دراز، سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه، سلول‌های لیدینگ و سرتولی شمارش شدند. بعد از این عمل ساختمان سلول‌ها نیز مطالعه گردید. اطلاعات به دست آمده در جدول ثبت اطلاعات نوشته شد. اطلاعات به دست آمده توسط آزمون‌های ANOVA، Duncan و Tukey و با استفاده از برنامه آماری SPSS Version 15 تجزیه و

عدد بود. اختلاف در تعداد سلول‌های سرتولی در دو گروه ۱ و ۲، ۳ و ۱ و ۳ معنی‌دار نبود. بررسی‌های میکروسکوپی تغییرات پاتولوژیکی که مقدمه تغییرات آپوپتوزی است، در ساختمان سلول‌های سرتولی نشان داد.

بحث

بیماری‌های یک‌طرفه بیضه مثل بیضه نزول نکرده یا چرخش یافته باعث صدمه به بیضه همان سمت و بیضه مقابل می‌گردد (۲۳) صدمه به بیضه مقابل در چنین شرایطی ناشی از پدیده Sympathetic Orchipathy است (۲۴). اگرچه مکانیسم دقیق این پدیده کاملاً روشن نیست، اما بر اساس تحقیقات، احتمالاً مکانیسم ایمونولوژیکی پس از ضربه به سد خونی-بیضوی (Blood Testis Barrier) باعث بروز چنین تغییراتی در بیضه مقابل می‌گردد (۲۵). هم‌چنین در مطالعات تجربی کاهش باروری پس از نهمان خایگی یک‌طرفه بیضه نشان داده شده است (۲۶). با وجود این اثر ترومای بلانت یک‌طرفه بیضه بر کارکرد بیضه مقابل، به طور کامل مورد اتفاق نظر نیست (۱۰-۸). در بعضی مطالعات ادعا شده است که میزان زیادی از ناباروری به همراه تغییرات هورمونی زیاد در مردان جوان با سابقه ترومای بیضه مشاهده گردیده است (۸). Corman و همکارانش ناباروری را در بیشتر بیمارانی که در آن‌ها بیضه پس از ترومای بلانت حفظ شده بود گزارش کردند (۵). برعکس Lin و همکارانش گزارش نمودند که حفظ بیضه تروما خورده در مجموع جهت حفظ عملکرد کلی بیضه مناسب‌تر است تا برداشت آن (۱۰). در مطالعه دیگر Noltan و همکارانش، مشاهده گردید که حدود ۱۷٪ از مردان نابارور در گذشته خود سابقه ترومای بلانت یک‌طرفه بیضه داشته‌اند و در این افراد، میزان هورمون‌های استرادیول و FSH بالاتر از حد نرمال بوده است. هم‌چنین پارامترهای اسپرم نیز غیرطبیعی بودند (۸). در مطالعه حاضر مشخص گردید که ترومای بلانت وارده به بیضه یک سمت

بعد از گذشت ۴۰ روز در تعداد اسپرماتیدها، اسپرماتوسیت‌ها، سرتولی و سلول‌های لیدینگ بیضه سمت مقابل تغییر معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. نتایج حاصل از این مطالعه تأیید کرد، همان‌طور که Lin و همکارانش گفته‌اند بهتر است بیضه تروما خورده حفظ شود. البته باید به تغییرات پاتولوژیکی ایجاد شده در سلول‌های سرتولی و لیدینگ نیز دقت نمود؛ چرا که شاید این تغییرات در درازمدت باعث تغییر در تعداد سلول‌ها و یا تغییرات وسیع دیگری شود. در این رابطه باید مطالعات بیشتری در مدت زمان‌های طولانی‌تر و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی انجام گیرد، تا بتوان نتیجه دقیق‌تری گرفت. از طرف دیگر مطالعات مختلفی در مورد نقش روی در اسپرماتوژنز انجام شده است. در یک مطالعه که توسط Krishnamurthy و همکاران در مورد نقش محافظتی عنصر روی بر اسپرماتوژنز موش صحرایی صورت گرفت، نشان داد که استفاده از اسپاراتات روی می‌تواند سلول‌های اسپرماتوگونی را در برابر مرگ سلولی ناشی از اشعه حفظ کند (۱۴). Onyenmachi و همکارانش نیز نشان دادند که مصرف روی می‌تواند از آسیب بیضه و سمی بودن ناشی از کرومیوم جلوگیری کند (۲۷). هم‌چنین بیان کردند، روی در حفظ سلامتی اسپرم دارای نقش اساسی است و سبب حفظ ساختمان اسپرم و کروماتین، افزایش فعالیت و حرکت رو به جلوی اسپرم‌ها می‌شود و کمبود آن سبب بین رفتن فعالیت آکروزوم و اختلال در باروری تخمک می‌گردد (۲۸). به دلیل اثرات مفید عنصر روی به نظر می‌رسد که هنگام بروز پروسه ترمیم ضایعات بافتی می‌تواند مؤثر باشد. در برخی مطالعات آمده است که افزایش موضعی سیتوکین‌ها در طی صدمات می‌تواند در بروز اختلال فعالیت بیضوی و ناباروری نقش ایفا کند (۲۹). در بعضی مطالعات نیز گزارش شده، که روی می‌تواند عامل بازدارنده در تشکیل رادیکال‌های آزاد و کاهش‌دهنده سیتوکین‌های سیتوتوکسیک پیش‌التهابی مثل TNF- α

کرد که شاید عنصر روی در ترمیم بیضه تروما خورده تأثیر داشته است، بنابراین پیشنهاد می‌شود در این مورد مطالعه بیشتری صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه (به شماره ۲۲۶۸) شاهرخ مصطفی رادمرد دستیار ارولوژی بیمارستان گلستان دانشگاه جندی شاپور اهواز است. نگارندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه به دلیل تأمین مالی این طرح اعلام می‌دارند.

References:

1. Hhendry WF. Testicular, Epididymal and Vassal Injury. BJU 2000;86(3):344-345.
2. Yoshimura K, Okubo K, Ichioka K. Restoration of Spermatogenesis by Orchiopexy 13 Years after Bilateral Traumatic Testicular Dislocation. J Urol 2002;167:649-650.
3. Cass AS, Luxenberg M. Testicular Injuries. Urolo 1991;37(6):528-530.
4. Cass AS. Testicular Trauma. J urol 1983;129(2):299-300.
5. Kukadia AN, Ercole CJ, Gleich P, Hensleigh H, Pryor JL. Testicular Trauma: Potential Impact on Reproductive Function. J Urol 1996;156:1643-1646.
6. Sharma RB, Sirinvas M, Mitra DK, Das SN. Tlymphocyte Subsets in the Cotralateral Testis after Unilateral Blunt Testicular Trauma in Prepubertal Mice Springcline. Pediatr Surg 1999;15:457-460.
7. Salvis SA, Schol JN, Hewitt CW, Black KS, Campbell RS, Patal M, Zimmerman J, Peak ML, Martin DC. The Effect of Testicular Trauma on Fertility in the Lewis Rat and Comparisons to Isoimmunized Recipients of Syngenic Sperm. J of Urol 1990;143:638-641.
8. Nolten WE, Viosca SP, Korenman SG, Mardi R, Shapiro SS. Association of Elevated

و IFN- γ , IL-6, IL-1B و افزایش دهنده پاسخ ضد التهابی به واسطه IL-10 باشد (۲۸، ۳۰، ۳۱).

نتیجه گیری

بر اساس این مطالعه ضربه بلانت یک طرفه بیضه بعد از گذشت ۴۰ روز تعداد اسپرماتیدهای گگرد و دراز، سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، سلول‌های لیدینگ و سرتولی بیضه سمت مقابل را تغییر نمی‌دهد و تجویز روی بلافاصله پس از آسیب بیضه به دلیل تروما در موش صحرایی، نتوانست بر تعداد اسپرماتوگونی‌ها، اسپرماتیدها، اسپرماتوسیت‌ها، سرتولی و سلول‌های لیدینگ در بیضه مقابل تأثیری داشته باشد. البته باید به این نکته دقت

- Estradiol with Remote Testicular Trauma in Young Infertile Men. Fertil Steril 1994;62:143-149.
9. Shaul DB, Xie HW, Diaz JF, Mahnovski V, Hardy BE. Surgical Treatment of Testicular Trauma: Effect on Fertility and Testicular Histology. J Pediatr Surg 1997;32:84-87.
10. Lin WW, Kim ED, Quesada ET, Larry I, Lipshultz LI, Coburn M. Unilateral Testicular Injury from External Trauma: Evaluation of Semen Quality and Endocrine Parameters. J of Urol 1998;159:841-843.
11. Sakomoto Y, Matsumoto T, Kumazawa J. Cell Mediated Autoimmune Response to Testis Induced by Bilateral Testicular Injury Can be Suppressed by Cyclosporine. A J Urol 1998;159:1735-1740.
12. Sharma RB, Srinivas M, Mitra DK, Das SN. T-Lymphocyte Subsets in the Contralateral Testis after Unilateral Blunt Testicular Trauma in Pre-Pubertal Mice. Pediatr Surg Int 1999;15:238-239.
13. Kvist U, Bjorndahl L. Zinc Preserves an Inherent Capacity for Human Sperm Chromatin Decondensation. Acta Physiologica Scand 1985;124:195-200.
14. Krishnamurthy H, Jagetia GC, Jyothi P. Radioprotective Effect of Zinc Aspartate on

- Mouse Spermatogenesis: A Flow Cytometric Evaluation. *Mutat Res* 1998;401:111-120.
15. Masters DG, HE Fels. Effect of Zinc Supplementation on Reproductive Performance of Grazing Merion Ewes. *Biolo Trace Elem. Res* 1980;7:89.
16. Fournier GR, Macaninch JW. Sonography in the Staging of Testicular Trauma. In: *Traumatic and Reconstructive Urology*. Philadelphia; 1996. p. 727-732.
17. Olivera CEA, Badu CA, Ferreira WM, Lana AMQ. Effect of Dietary Zinc Supplementation on Spermatogenic Characteristics of Rabbit Breeders. Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, September 7-10,2005.
18. Amara S, Hafedh A, Garel C, Pascale G, Thierry D, Ravanat JL, Favier A, Sakley M, Khemis R. Preventive Effect of Zinc Against Cadmium-induced Oxidative Stress in the Rat Testis. *J of Reorod and Develop* 2008;54:129-134.
19. Krasowska A, Wlostowski T, Bonda E. Zinc Protection from Fluoride-Induced Testicular Injury in the Bank Vole. *Toxicol Lett* 2004;147:229-235.
20. Butrimoitz GP, Purdy WC. Resolution of Age-Dependent Reference Intervale: Polynomial Regression Methodology with Applicability to Plasma Zinc Levels in a Childhood Population. *Clin Biochem* 1979;12:33-36.
21. Krishnamurthy H, Jagetia GC, Jyothi P. Radioprotective Effect of Zinc Aspartate on Mouse Spermatogenesis: A Flow Cytometric Evaluation. *Mutat Res* 1998;401:111-120.
22. Cetin B, Ugur O. The Effect of Zinc Therapy on Damage Testis in Pre-Pubertal Rats. *Pediatr Surg Int* 2004;20:444-448.
23. Thomas WE, Cooper MJ, Crane GA. Testicular Exocrine Malformation after Torsion. *Lancet* 1984;2:1357-1360.
24. Wallace DMA, Gunter PA, Landon GV. Sympathetic Orchioptahia-An Experimental and Clinical Study. *Br J Urol* 1982;54:765-768.
25. Sakomoto Y, Matsumoto T, Mizunoe Y. Testicular Injury Induces Cell-Mediated Autoimmune Response to Testis. *J Urol* 1995;153:1316-1320.
26. Srinivas M, Agarwala S, Datta Guta S. Fertility and Unilateral Undescended Testis in the Rat Model II. *Pediatr Surg Int* 1998;13:392-395.
27. Onyenmachi J, Afonne OJ, Orisakwe OE, Ekanem IOA, Akumka DD. Zinc Protects Chromium-Induced Testicular Injury in Mice. *Indian Jof Pharmacol* 2002;34:26-31.
28. Al-Bader Aroma AE, Dashti H. Chronic Cadmium Toxicity to Sperm of Heavy Cigarette Smokers: Immunomodulation by Zinc. *Arch Androl* 1999;43:135-140.
29. Bedwal RS, Bahuguna A. Zinc, Cooper and Selenium in Reproduction. *Experiential* 1994;50:626-640.
30. Afanas'ev IB, Suslova TB, Cheremisina ZP, Abramova NE, Korkina LG. Study of Antioxidant Properties of Metal Aspartates. *Analyst* 1995;120:859-862.
31. Haddad JJ, Land SC, Saade NE, Safieh-Garabedian B. Immunomodulatory Potential of Yhymulin-zn in the Alveolar Epithelium: Amelioration of Endotoxin-Induced Cytokine Release and Partial Amplification of a Cytoprotective IL-10 Sensitive Pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;274:500-505.