

# بررسی اثرات امواج فراصوت بر سطح سرمی هورمون‌های دهیدرواپی‌اندروسترون، تستوسترون و بافت بیضه در موش صحرائی

محمد کر معلی گیلانه<sup>۱</sup>، رحیم احمدی<sup>۱\*</sup> و فاطمه امینی خدشهری<sup>۳</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

۲- گروه بیولوژی، کالج بین‌المللی اویسینا، بوداپست، مجارستان

۳- گروه روانشناسی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد تنکابن، ایران

\*نویسنده مسئول: رحیم احمدی، دکتری تخصصی فیزیولوژی جانوری، [rahahmadi2000@yahoo.com](mailto:rahahmadi2000@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۲/۱۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۴/۳۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۶/۲۴

## چکیده

**پیشینه مطالعه و هدف:** مطالعات بسیاری نشان دهنده ارتباط امواج فراصوت با عملکرد سیستم تولید مثلی می‌باشند. در عین حال مکانیسم اثر امواج فراصوت بر هورمون‌های جنسی و بافت بیضه کاملاً روشن نیست. بر این اساس مطالعه حاضر بررسی اثرات امواج فراصوت بر سطح سرمی هورمون‌های DHEA-SO<sub>4</sub>، تستوسترون و بافت سلولی بیضه در موش صحرائی را پرداخته است.

**روش مطالعه:** موش‌های نر نژاد ویستار در سه گروه تقسیم شدند: گروه کنترل که در معرض امواج فراصوتی نبودند، موش‌هایی که یک ساعت در روز در معرض امواج فراصوت بودند، و موش‌هایی که شش ساعت در روز در معرض امواج فراصوت بودند. سطح سرمی تستوسترون و DHEA-SO<sub>4</sub> به روش الایزا اندازه‌گیری شد. اسلایدهای بافت بیضه با استفاده از میکروسکوپ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مقایسه شدند.

**نتایج:** سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون و DHEA-SO<sub>4</sub>، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، سلول‌های اسپرماتوسیت و سلول‌های سرتولی و مورفولوژی لوله‌های اسپرم‌ساز بافت بیضه در گروه‌های در معرض امواج فراصوت در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های مطالعه نشان داد که امواج فراصوت با فرکانس پایین بر عملکرد و بافت‌شناسی سیستم تناسلی نر تاثیر معناداری ندارد.

**واژه‌های کلیدی:** امواج فراصوت، تستوسترون، DHEA-SO<sub>4</sub>، بافت بیضه، موش صحرائی

Khanbazi *et al.*, 2020). مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که امواج

فراصوت بر بافت‌های نرم (Ikushima *et al.*, 2019)، پاسخ‌های

التهابی (Jiang *et al.*, 2018)، رگ‌زایی (de Lucas *et al.*, 2020)،

اعصاب و تومورهای مغزی (Mochizuki and Hattori, 2018)

عملکرد لیزوزیم‌ها (Mao *et al.*, 2020)، سیستم اسکلتی و غدد

(Zaleska-Dorobisz *et al.*, 2015)، سیستم کلیوی (Ullah *et*

al., 2020)، سیستم گوارشی (Zhao *et al.*, 2019) و سیستم

## مقدمه

امواج فراصوت امواج مکانیکی هستند که می‌توانند از طریق مایعات،

بافت‌های نرم و جامدات منتقل شوند. فرکانس این امواج بالای ۲۰

کیلوهرتز می‌باشد که بالاتر از محدوده شنوایی انسان‌ها است (Abu-

Zidan *et al.*, 2011). تحقیقات بیانگر ارتباط میان این امواج و

عملکرد سیستم تولید مثلی هستند (Hekmat *et al.*, 2020; )

بر سطح سرمی هورمون‌های DHEA، تستوسترون و بافت بیضه در موش صحرایی نر می‌پردازد.

## روش مطالعه

**حیوانات مورد مطالعه و شرایط نگهداری:** در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مؤسسه‌ی انسیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش‌های خریداری شده، در قفس‌های ویژه مخصوص رت در اتاق حیوانات با دمای حدود ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برنامه‌ی نوری مورد استفاده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بوده و آب و غذا به صورت نامحدود در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت. آب به صورت روزانه عوض شد و آب تازه در اختیار حیوانات قرار گرفت. غذا (خوراک آماده‌ی موش تهیه‌ی کارخانه‌ی دام پارس) به صورت نامحدود در دسترس حیوانات قرار می‌گرفت. علاوه بر این، بررسی‌های بالینی نیز به منظور یافتن علایم عام آسیب‌شناسی، به طور متناوب انجام می‌گرفت.

**نحوه‌ی گروه بندی حیوانات:** در ابتدا وزن‌گیری انجام شد و طبق وزن‌های به دست آمده، موش‌ها در قفس‌ها قرار گرفتند. با این عمل میانگین وزن هر قفس در یک رنج قرار گرفت و عامل وزن حذف شد. سپس میانگین وزن هر قفس روی قفس‌ها ثبت شد. هیچ کدام از حیوانات هنگام تجربه واجد بیماری یا شواهد مبنی بر بیماری نبودند. در انتها حیوانات بر اساس به ۲ گروه ۷ سری و یک گروه ۶ سری گروه‌بندی شدند که شامل گروه کنترل سالم (شامل ۶ سر حیوان نر سالم که طی دوره آزمایش هیچگونه امواج فراصوتی دریافت نکردند)، گروه یک ساعت تحت تاثیر امواج فراصوت (شامل ۷ سر حیوان نر که طی دوره آزمایش به صورت روزانه یک ساعت تحت تاثیر امواج فراصوت بودند) و گروه شش ساعت تحت تاثیر امواج فراصوت (شامل ۷ سر حیوان نر که طی دوره آزمایش به صورت روزانه شش ساعت تحت تاثیر امواج فراصوت بودند).

## القای امواج فراصوت و دستگاه تولید کننده امواج فراصوت:

برای تولید امواج فراصوت از دستگاه RIDDEX PLUSE مدل SA320 استفاده شد. این دستگاه ساخت کشور چین بوده و با استفاده از جریان الکتریکی هنگام فعالیت با دارا بودن یک عدد بلندگوی التراسونیک فشار صوتی ۲۹۰ دسی بل را در بازه فرکانسی ۲۴ الی ۲۵ کیلوهرتز تولید می‌کند. جهت القاء امواج، دستگاه یاد شده را در روی قفس موش‌های مورد مطالعه قرار داده به نحوی که اسپیکر تولید کننده امواج اولتراسوند همواره به سمت موش‌ها فرار گیرد. بطوری که کل

تولیدمثلی و هورمون‌های جنسی (Saygin *et al.*, 2016; Hekmat *et al.*, 2021) اثر می‌گذارند. دهیدرواپی‌آندروسترون (DHEA) فراوان‌ترین استروئید آدرنال است که ترشح آن می‌تواند تحت تاثیر امواج قرار گیرد (Berggreen, 2014). این هورمون یک پیش ساز برای استروژن‌ها و آندروژن‌ها است (Clark *et al.*, 2018). همچنین ترشح تستوسترون نیز به عنوان اصلی‌ترین هورمون جنسی در مردان می‌تواند تحت تاثیر عوامل محیطی من جمله امواج دچار تغییر شود (Spee *et al.*, 2018). تستوسترون توسط سلول‌های بینابینی بیضه‌ها ترشح می‌شود و در زنان نیز به مقدار بسیار کمتری از قشر آدرنال و تخمدان ترشح می‌گردد (Petering and Brooks, 2017). ترشح مناسب تستوسترون برای توسعه و حفظ ویژگی‌های جنسی ثانویه، میل جنسی، رشد، پیشگیری از پوکی استخوان و مهم‌تر از همه اسپرماتوژنز و حفظ ساختار بافت بیضه ضروری می‌باشد (Torkzaban *et al.*, 2017). بافت بیضه از بافت‌های حساس در برابر عوامل خطر محیطی محسوب می‌گردد (Agarwal *et al.*, 2008). در مطالعه‌ی نشان داده شده است که امواج ساطع شده از تلفن همراه بر ساختار بیضه رت اثر خاصی برجای نمی‌گذارد (Dasdag *et al.*, 2003). اگرچه تاثیرات امواج فراصوت بیشتر مکانیکی و گرمایی بوده و از این طریق می‌تواند بر عملکرد بیضه تاثیرگذار باشد (Leoci *et al.*, 2009)، اما در مقابل یافته‌های پژوهشی نشان می‌دهند که امواج الکترومغناطیس در موارد قابل توجهی بر ترشح هورمون‌های جنسی اثری ندارند (Jiang *et al.*, 2020; de Lucas *et al.*, 2019; Ikushima *et al.*, 2018). از طرفی امواج مایکروویو قادرند بر اسپرم سازی و ترشح تستوسترون اثرگذار باشند (Huuskonen *et al.*, 1993) اما این اثرگذاری بسیار وابسته به فرکانس امواج می‌باشد. در مجموع به نظر می‌آید نتایج یافته‌های پژوهشی در خصوص اثرات امواج فراصوت بر سیستم تولید مثلی بسیار متناقض می‌باشد و علیرغم پژوهش‌هایی که نشانگر تاثیر مخرب امواج فراصوت بر سیستم تولید مثلی هستند، برخی تحقیقات نشانگر عدم تاثیر این امواج بر ساختار و عملکرد سیستم تولید مثلی به ویژه سیستم تولید مثلی نر می‌باشند.

با توجه به استفاده گسترده از وسایل و دستگاه‌هایی که بر مبنای امواج فراصوت عمل می‌کنند و همچنین اثرات امواج فراصوت بر ساختار و عملکردهای مختلف بدن (Jiang *et al.*, 2018) و نظر به اینکه غالب مطالعات قبلی در خصوص امواج فراصوت معطوف به بررسی اثرات این امواج بر بافت‌های عصبی، گوارشی، اسکلتی و غدد بوده و تحقیقات محدودی در حوزه اثرات امواج فراصوت بر سیستم تولید مثلی نر انجام گرفته، همچنین با توجه به اینکه نتایج مطالعات قبلی در خصوص موضوع این مقاله در موارد قابل ملاحظه‌ای ضد و نقیض بوده است (Chen *et al.*, 2014)، پژوهش حاضر به بررسی اثرات امواج فراصوت

موش‌های موجود در قفس همواره در معرض امواج بوده و محل خارج از محدوده امواج در قفس‌ها وجود نداشت.

**خونگیری از قلب و تهیه سرم:** پس از گذشت ۸ هفته که نمونه‌ها تحت تاثیر امواج فراصوت بودند، به منظور انجام سنجش فاکتورهای مورد نظر اقدام به انجام خونگیری گردید. خونگیری از حیوانات در ساعت ۹ صبح الی ۱۲ بعدازظهر بعمل آمد. برای این منظور از بین روش‌های مختلف خونگیری از موش صحرایی به منظور رعایت پروتکل حفظ حقوق حیوانات روش خونگیری از قلب باز را انتخاب شد. برای بیهوش کردن ابتدا حیوان مورد نظر در درون بشر حاوی پنبه آغشته به اتر جای داده و بدینوسیله تحت بیهوشی خفیف قرار گرفت. پس از بیهوش کردن حیوان آن را به پشت روی میز کار قرار داده شد و سپس پوست روی قفسه سینه را جدا نموده و به کمک اسکالپل و قیچی قفسه سینه شکافته و باز می‌شود و سریعاً سر سرنگ از نوک قلب وارد بطن چپ قلب شده و یکبار کل خون حیوان جمع‌آوری گردید. ۳۰ دقیقه پس از خونگیری، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه درون دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ rpm قرار داده شده و سرم جدا گردید و برای سنجش فاکتورها مورد استفاده قرار گرفت.

این کار بافت‌ها به ترتیب و به مدت یک ساعت در هر یک از الکل‌های ۷۰٪، ۸۰٪، ۹۰٪، ۱۰۰٪ قرار داده شد. بافت‌ها به مدت یک ساعت در گزین یا تولوئن قرار داده شدند تا شفاف گردیده و به علاوه شرایط برای نفوذ پارافین آماده شود در مرحله بعد بافت‌ها در پارافین ذوب شده قرار داده شدند. نقطه ذوب پارافین مورد مصرف معمولاً حدود ۵۷-۶۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. زمان قرار دادن بافت‌ها در هر حمام پارافین حدود یک ساعت بود. در مرحله قالب‌گیری برای درست کردن بلوک بافتی، پارافین مذاب همراه با بافت در داخل قالب‌های مخصوص فلزی ریخته شد سپس با استفاده از تیغ معمولی یا لبه تیز یک اسکالپل مقداری از پارافین اطراف بلوک جدا شد به طوری که از هر طرف حدود ۳-۴ میلی‌متر پارافین باقی ماند و بلوک بر روی صفحه مخصوص چسبانده شد. مقاطع بافتی تهیه شد و در مرحله آخر برای تهیه لام از نوار بافتی تهیه شده یک یا دو برش را جدا کرده، سپس یک قطره چسب ژلاتین را بر روی یک لام قرار داده، چند قطره آب در وسط لام ریخته و برش بافتی بر روی آن قرار داده شد. سرانجام لام بروی صفحه گرم کننده با دمای حدود ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا حرارت باعث باز کردن چین و چروک موجود در بافت شود.

**رنگ آمیزی انوزین - هماتوکسیلین:** برای مراحل رنگ آمیزی مقاطع بافتی، لام دارای پارافین در حلال پارافین مانند گزین یا تولوئن قرار داده شد تا پارافین به طور کامل از روی لام پاک گردد. سپس با قرار دادن لام دارای نمونه در الکل اتیلیک مطلق، گزین یا تولوئن را از برش‌ها شستشو داده سپس لام‌ها در الکل ۱۰۰٪ و سپس در الکل‌های ۹۵٪، ۸۰٪، ۷۰٪، ۵۰٪ و در نهایت آب مقطر قرار داده شدند. مقاطع بافتی به روش هماتوکسیلین - انوزین میبر رنگ آمیزی شدند. برای فیکس کردن و مطالعه لام ابتدا قطره‌ای چسب مخصوص شیشه‌ای را با دقت و احتیاط کامل بر روی بافت ریخته و سپس لامل بر روی آن قرار داده شد. لام‌ها تا چند روز در حرارت ملایم ۴۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا کاملاً خشک گردند. سپس مقاطع بافتی با استفاده از میکروسکوپ نوری ابتدا باعدسی چشمی ۱۰ و سپس با ۴۰ مورد مطالعه قرار گرفتند. در این مطالعه از روش مشاهده مستقیم به وسیله میکروسکوپ نوری و مقایسه تراکم سلول‌ها در گروه‌های تجربی با گروه شاهد استفاده شد.

**آنالیزهای آماری:** نتایج حاصل توسط نرم‌افزار SPSS (PASW Statistics 18) با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بنفرونی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی و تایید شد. اختلاف بین گروه‌ها در سطح  $\alpha > 0.05$  معنادار در نظر گرفته شد.

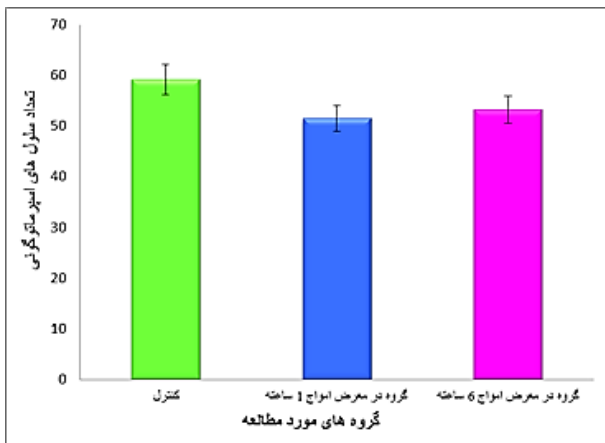
**روش‌های سنجش هورمون:** در تحقیق حاضر برای اندازه‌گیری سطح سرمی هورمون‌های DHEA و تستوسترون از روش ایمونولوژیک الیزا استفاده شد. برای انجام این کار در چاهک‌های کوت شده با آنتی‌بادی ضد تستوسترون و DHEA، محلول استاندارد، کنترل و نمونه ریخته شد. پس از ۳۰ دقیقه محتوی چاهک‌ها خالی شد و چاهک‌ها ۵ بار شستشو شدند. در مرحله ی بعد به چاهک‌ها آنزیم کنژوگه اضافه گشته و دهانه چاهک‌ها با برچسب مخصوص پوشانده شد و پس از ۳۰ دقیقه محتوی چاهک‌ها خالی شده و چاهک‌ها ۵ بار شستشو گردیده و متاقباً به چاهک‌ها محلول رنگزا اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه گردید. در پایان به چاهک‌ها محلول متوقف کننده اضافه شد و در نهایت جذب نوری نمونه‌ها با دستگاه الیزاریدر در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد.

**تهیه مقاطع بافتی:** برای تهیه مقاطع بافتی از بیضه و رنگ آمیزی آن بلافاصله پس از انجام خونگیری، با ایجاد یک برش طولی در اسکروتوم، به وسیله پنس بیضه‌ها خارج و بافت‌های اضافی آن حذف شد و مراحل تهیه مقاطع بافتی ابتدا بافت‌ها در سرم فیزیولوژی شسته شد تا خون و مواد خارجی از آن جدا شود، سپس برای اینکه بافت مورد نظر حالت طبیعی خود را از دست ندهد، سریعاً در فیکساتیو گذاشته شد تا از تخریب سلول‌های بافت در مراحل بعدی جلوگیری شود. بافت‌های مورد مطالعه به مدت سه روز در محلول فیکساتور قرار گرفتند، برای

## نتایج

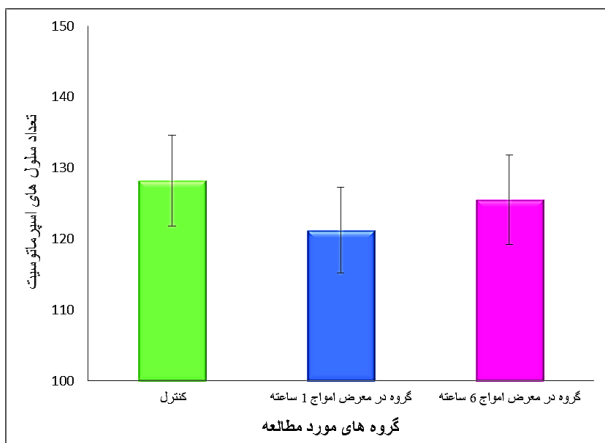
نتایج حاصل از بررسی امواج فراصوت بر سطح سرمی تستوسترون نشان دادند که سطح سرمی هورمون تستوسترون در گروه‌های تیمار شده با امواج فراصوت نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (نمودار ۱). نتایج حاصل از بررسی امواج فراصوت بر سطح سرمی DHEA در موش‌های صحرائی نر نشان دادند که سطح سرمی هورمون DHEAs در گروه‌های تیمار شده با امواج فراصوت نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (نمودار ۲).

نتایج حاصل از بررسی امواج فراصوت بر تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در لوله منی‌ساز موش‌های صحرائی نر نشان دادند که تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه‌های تیمار شده با امواج فراصوت نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (نمودار ۳).



**نمودار ۳-** مقایسه میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه‌های کنترل و مواجهه با امواج فراصوت

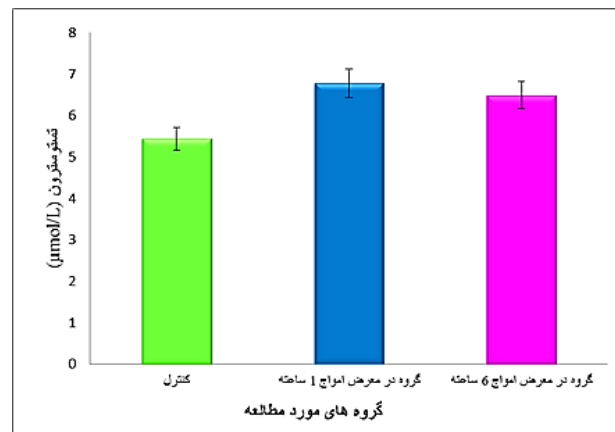
نتایج حاصل از بررسی امواج فراصوت بر تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در لوله منی‌ساز، موش‌های صحرائی نر نشان دادند که تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه‌های تیمار شده با امواج فراصوت نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (نمودار ۴ و شکل ۲).



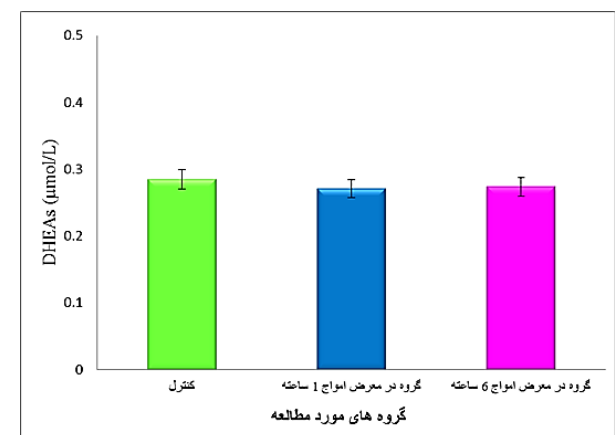
**نمودار ۴-** مقایسه میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه‌های کنترل و مواجهه با امواج فراصوت

نتایج حاصل از بررسی امواج فراصوت بر تعداد سلول‌های سرتولی در تونل منی‌ساز، موش‌های صحرائی نر نشان دادند که تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های تیمار شده با امواج فراصوت نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (نمودار ۵).

نتایج حاصل از بررسی امواج فراصوت بر قطر لوله‌های منی‌ساز در موش‌های صحرائی نر نشان دادند که قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه‌های تیمار شده با امواج فراصوت نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (نمودار ۶).

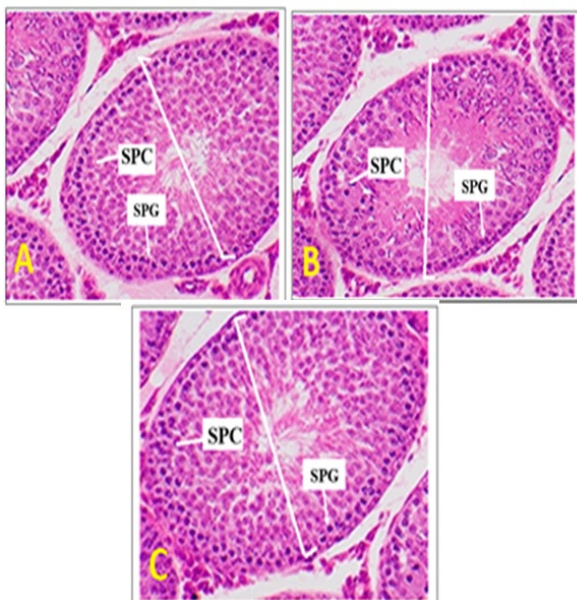


**نمودار ۱-** سطح سرمی تستوسترون در گروه‌های کنترل و مواجهه با امواج فراصوت



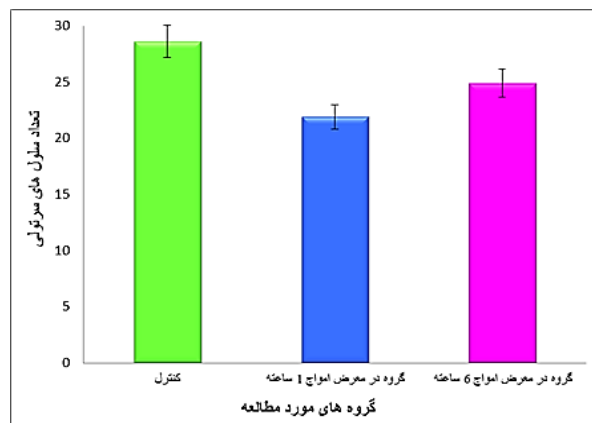
**نمودار ۲-** سطح سرمی DHEA در گروه‌های کنترل و مواجهه با امواج فراصوت

بهارآرا و همکاران در خصوص بررسی اثرات مایکروویو بر سیستم تولید مثلی نشان دادند امواج مایکروویو بر وزن و اندازه غدد جنسی و همچنین سطح سرمی هورمون‌های LH, FSH و استرادیول اثرات معناداری ندارد (Baharara et al., 2008).

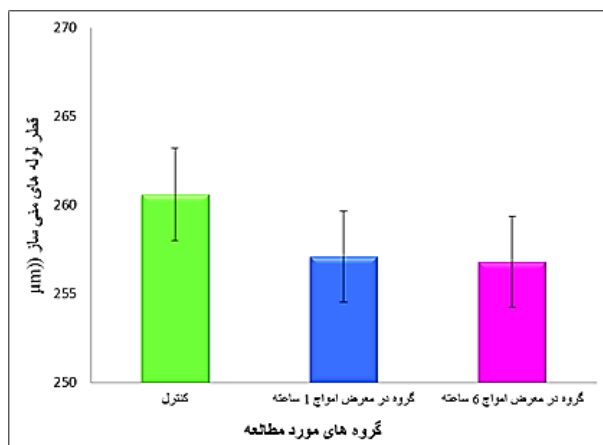


**شکل ۱- میکروگراف لوله منی‌ساز و سلول‌های اسپرماتوگونی (SPG) ، اسپرماتوسیت (SPC) و قطر لوله‌های سمینفر (منی‌ساز) (خط سفید) در گروه‌های کنترل (A)، گروه تیمار یک ساعته (B) و گروه تیمار شش ساعته با امواج فراصوت**

همچنین در پژوهش انجام یافته در خصوص بررسی اثرات مواجهه طولانی مدت موش‌های نر و ماده با امواج الکترومغناطیس ۵۰ هرتز، نتایج نشان دادند که اندازه بیضه و نیز سمینال وزیکول دچار تغییر معناداری نگردید و در مجموع امواج مغناطیسی با فرکانس پایین بر باروری موش‌های بالغ نر تاثیر قابل توجهی نداشت (Elbetieha et al., 2002). از طرفی نتایج حاصل از تحقیق در خصوص بررسی اثرات امواج مایکروویو تلفن همراه بر موش‌های صحرائی نشان دادند که مواجهه موش‌ها با امواج مایکروویو ساحط شده از تلفن همراه (به مدت یک ماه هر روز بیست دقیقه) بر شمارش اسپرم، مورفولوژی بیضه و ساختار بافتی بیضه اثر معناداری برجای نگذاشت (Dasdag et al., 2003). در همین راستا یافته‌های تحقیق انجام یافته در خصوص اثرات امواج تلفن همراه بر سطح هورمون‌های جنسی در موش‌های ماده نیز نشان دادند که امواج تلفن همراه اثر معناداری بر سطح سرمی هورمون‌های جنسی ندارد (Hosseini and Zia, 2016). نتایج حاصل از پژوهش انجام یافته در خصوص اثرات امواج فراصوت بر سیستم تولید مثلی نر نیز نشان دادند که امواج فراصوت با فرکانس پایین بر



**نمودار ۵- مقایسه میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های کنترل و مواجهه با امواج فراصوت**



**نمودار ۶- مقایسه میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های کنترل و مواجهه با امواج فراصوت**

شکل ۱ تصویر میکروگراف لوله منی‌ساز و سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و قطر لوله‌های سمینفر (منی‌ساز) در گروه‌های کنترل، گروه تیمار یک ساعته و گروه تیمار شش ساعته با امواج فراصوت را نشان می‌دهد.

## بحث

نتایج این مطالعه نشان دادند که امواج فراصوت با فرکانس ۲۵ کیلوهرتز در دوره‌های زمانی کوتاه مدت یا بلند مدت اثر معناداری بر سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون و DHEA و نیز بافت بیضه در مدل حیوانی ندارد و این نتایج می‌توانند به نوعی در کاهش نگرانی از تاثیر امواج فراصوت با فرکانس‌های پایین بر سلامت سیستم تولید مثلی نر موثر باشند. موافق با یافته‌های تحقیق حاضر نتایج تحقیق انجام یافته توسط



پژوهش امکان مطالعه در خصوص اثرات امواج فراصوت بر سیستم تولید مثلی نر در حیطة سلولی و مولکولی فراهم آید.

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که امواج فراصوت بر سطح سرمی هورمون‌های دهیدرواپی‌اندروسترو، تستوسترون و بافت بیضه در موش صحرایی هیچ تاثیر معناداری ندارد و از این منظر استفاده از امواج فراصوت در وسایل الکتریکی و در مصارف معمولی زندگی احتمالاً بر باروری مردان اثرات نامطلوب معناداری ندارد.

### تقدیر و تشکر

این پژوهش با پشتیبانی شبکه جهانی تحقیقات، آموزش و رخدادهای انجام گرفته و بدینوسیله مراتب تقدیر و تشکر را خود را از این شبکه اعلام می‌داریم.

### مراجع

- Abu-Zidan, F.M., Hefny, A.F. and Corr, P. 2011. Clinical ultrasound physics. *Journal of Emergencies, Trauma and Shock*, 4(4): 501.
- Agarwal, A., Makker, K. and Sharma, R. 2008. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: An update. *American journal of reproductive immunology*, 59(1): 2-11.
- Baharara, J., Oryan, S. and Ashraf, A. 2008. The effects of microwave on the ovary and fertility of female balb/c mouse.
- Beechey, C., Brooker, D., Kowalczyk, C., Saunders, R. and Searle, A. 1986. Cytogenetic effects of microwave irradiation on male germ cells of the mouse. *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine*, 50(5): 909-918.
- Berggreen, C. 2014. Protein kinases in hormonal regulation of adipocyte metabolism. Lund University.
- Chen, L., Qin, F., Chen, Y., Sun, J. and Tong, J. 2014. Chronotoxicity of 1800 mhz microwave radiation on sex hormones and spermatogenesis in male mice. *Wei sheng yan jiu= Journal of hygiene research*, 43(1): 110-115.
- Clark, B.J., Prough, R.A. and Klinge, C.M. 2018. Mechanisms of action of dehydroepiandrosterone. *Vitamins and hormones*, 108: 29-73.
- Dasdag, S., Zulkuf Akdag, M., Aksen, F., Yilmaz, F., Bashan, M., Mutlu Dasdag, M. and Salih Celik, M. 2003. Whole body exposure of rats to microwaves emitted from a cell phone does not affect the testes. *Bioelectromagnetics*, 24(3): 182-188.
- de Lucas, B., Pérez, L.M., Bernal, A. and Gálvez, B.G. 2020. Ultrasound therapy: Experiences and perspectives for regenerative medicine. *Genes*, 11(9): 1086.
- Elbetieha, A., AL-Akhras, M.d.A. and Darmani, H. 2002. Long-term exposure of male and female mice to 50 hz magnetic field: Effects on fertility. *Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association*, 23(2): 168-172.
- Hekmat, A., Fahimi, Z. and Haeri Rohani, S.A. 2020. The effects of noise pollution on blood serum protein of wistar male rats. *Nova Biologica Reperta*, 7(1): 19-29.
- Hekmat, A., Gheisari, A. and Divsalar, A. 2021. Structural properties of human chorionic

پارامترهای اسپرم و ساختار بافت‌شناسی بیضه تاثیر معناداری ندارند (MORTEZA *et al.*, 2005). از سویی یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که گرچه مواجهه با امواج میدان مغناطیسی بر الگوی حرکتی اسپرم‌ها در نمونه‌های تیمار شده اثر گذار بوده است، اما تاثیر معناداری بر میزان تولید اسپرم و نیز وزن بیضه‌ها یا اپیدیدیم نداشته است (Tablado *et al.*, 1996). همچنین در پژوهشی دیگر در خصوص بررسی اثرات سیتوتونیک امواج مایکروویو سلول‌های زایا در موش‌های نر نتایج نشان داده‌اند که اثرات امواج مایکروویو بر تولید مثل موش سوری و صحرایی جزئی بوده و فعالیت بیضه‌ها را مختل نمی‌کنند (Beechey *et al.*, 1986)، در مقابل، برخی یافته‌ها نشان می‌دهند که امواج فراصوت دارای ماهیت مکانیکی و گرمایی بوده و از این طریق احتمالاً می‌تواند بر عملکرد بیضه تاثیرگذار باشد (Leoci *et al.*, 2009). این مطالعه در محدوده بررسی اثرات امواج فراصوت بر سطح سرمی هورمون‌های دهیدرواپی‌اندروسترون، تستوسترون و بافت بیضه در موش صحرایی در حیطة سنجش هورمون‌های جنسی و بررسی بافت‌شناسی بیضه انجام گرفته و از نظر بررسی سلولی مولکولی دارای محدودیت‌هایی می‌باشد. محققین این طرح امیدوارند در ادامه این

- gonadotropin (hcg) affected by ultrasonic irradiation: An in vitro study. *Physical Chemistry Research*, 9(3): 467-482.
- Hosseini, S. and Zia, Z. 2016. Effect of cell-phone radiation in pregnancy on serum levels of sexual hormones and dynastic cells in adult female offspring in rats. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*, 16(1): 23-31.
- Huuskonen, H., Juutilainen, J. and Komulainen, H. 1993. Effects of low-frequency magnetic fields on fetal development in rats. *Bioelectromagnetics*, 14(3): 205-213.
- Ikushima, K., Kumamoto, T., Ito, K. and Anzai, Y. 2019. Electric polarization of soft biological tissues induced by ultrasound waves. *Physical review letters*, 1(23): 238101.
- Jiang, X., Savchenko, O., Li, Y., Qi, S., Yang, T., Zhang, W. and Chen, J. 2018. A review of low-intensity pulsed ultrasound for therapeutic applications. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 66(10): 2704-2718.
- Khanbazi, M.H., Mogheiseh, A., Khafi, M.S.A., Nazifi, S., Ahmadi, N. and Khazaei, M. 2020. The effects of therapeutic ultrasound waves on testicular tissue, echogenicity, semen quality, oxidative stress, and acute-phase proteins in dogs. *Theriogenology*, 153: 39-47.
- Leoci, R., Aiudi, G., De Sandro Salvati, A., Silvestre, F., Binetti, F. and Lacalandra, G. 2009. Ultrasound as a mechanical method for male dog contraception. *Reproduction in Domestic Animals*, 44: 326-328.
- Mao, Y., Li, F., Wang, T., Cheng, X., Li, G., Li, D., Zhang, X. and Hao, H. 2020. Enhancement of lysozyme crystallization under ultrasound field. *Ultrasonics sonochemistry*, 63: 104975.
- Mochizuki, H. and Hattori, N. 2018. Mr-guided focused ultrasound. *Brain and nerve= Shinkei kenkyu no shinpo*, 70(2): 147-153.
- Morteza, Z.M.F., Movahedin, M. And Mokhtari, D.M. 2005. The effects of association of ultrasound with testosterone treatment on sperm parameters and mouse testis structure.
- Petering, R.C. and Brooks, N.A. 2017. Testosterone therapy: Review of clinical applications. *American family physician*, 96(7): 441-449.
- Saygin, M., Asci, H., Ozmen, O., Cankara, F.N., Dincoglu, D. and Ilhan, I. 2016. Impact of 2.45 ghz microwave radiation on the testicular inflammatory pathway biomarkers in young rats: The role of gallic acid. *Environmental toxicology*, 31(12): 1771-1784.
- Spee, B., Ishizu, T., Leder, H., Mikuni, J., Kawabata, H. and Pelowski, M. 2018. Neuropsychopharmacological aesthetics: A theoretical consideration of pharmacological approaches to causative brain study in aesthetics and art. *Progress in brain research*, 237: 343-372.
- Tablado, L., Perez-Sanchez, F. and Soler, C. 1996. Is sperm motility maturation affected by static magnetic fields? *Environmental health perspectives*, 104(11): 1212-1216.
- Torkzaban, M., Moghaddam, G., Tajik, P. and Barin, A. 2017. Isolation and maintenance of calves type a spermatogonia in vitro: In influence of epidermal growth factor on number of cells, colony size and spermatogonia viability. *Journal of Animal Science Researches*, 27(2): 27-39.
- Ullah, M., Liu, D.D., Rai, S., Dadhanian, A., Jonnakuti, S., Concepcion, W. and Thakor, A.S. 2020. Reversing acute kidney injury using pulsed focused ultrasound and msc therapy: A role for hsp-mediated pi3k/akt signaling. *Molecular Therapy-Methods & Clinical Development*, 17: 683-694.
- Zaleska-Dorobisz, U., Pawluś, A., Szymańska, K., Łasecki, M. and Ziajkiewicz, M. 2015. Ultrasound elastography--review of techniques and its clinical applications in pediatrics--part 2. *Adv Clin Exp Med*, 24(4): 725-730.
- Zhao, B., Sun, S., Lin, H., Chen, L., Qin, S., Wu, W., Zheng, B. and Guo, Z. 2019. Physicochemical properties and digestion of the lotus seed starch-green tea polyphenol complex under ultrasound-microwave synergistic interaction. *Ultrasonics sonochemistry*.52: 50-61.

## Investigated the effects of ultrasound waves on serum levels of DHEA-SO<sub>4</sub>, testosterone, and testicular tissue in male rats

Mohammad Karamali Gilaneh<sup>1</sup>, Rahim Ahmadi<sup>1,2\*</sup> and Fatemeh Amini Khodashahri<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, Avicenna International College, Budapest, Hungary

<sup>3</sup> Department of Clinical Psychology, Faculty of Medical Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

\*Correspondence to Rahim Ahmadi, Ph.D., [drrahmadi@yahoo.com](mailto:drrahmadi@yahoo.com)

Received 1<sup>st</sup> May 2021    Revised 1 22<sup>nd</sup> July 2021    Accepted 15<sup>th</sup> September 2021

### Abstract

**Introduction and Aim:** Many studies have shown the relationship between ultrasound and the function of the reproductive system. However, the mechanism of ultrasound waves' action on sex hormones and testicular tissue is not clear. Accordingly, the present study investigated the effects of ultrasound waves on serum levels of DHEA-SO<sub>4</sub>, testosterone, and testicular tissue in male rats.

**Methods:** Male Wistar rats were divided into three groups: the control group which was not exposed to ultrasound waves, rats that were exposed to ultrasound waves for 1h/day, and rats that were exposed to ultrasound waves for 6h/day. The serum levels of testosterone and DHEA-SO<sub>4</sub> were measured using ELISA. The testicular tissue slides were prepared and analyzed microscopically. Data were analyzed using one-way ANOVA.

**Results:** Serum levels of testosterone and DHEA-SO<sub>4</sub> and spermatogonia, spermatocytes, Sertoli cell count and seminiferous tubules morphology did not significantly change in groups exposed to ultrasound waves compared to control animals.

**Conclusion:** Our findings show that ultrasound waves do not significantly influence male reproductive system function and histology.

**Keywords:** Ultrasound waves, Testosterone, DHEA-SO<sub>4</sub>, Testis tissue, Rat