

## بررسی تغییرات هیستولوژیک و مرفولوژیک بافت بیضه رت (RAT) بالغ در دوران حاد قطع نخاع

فرشته طالب پور امیری (M.Sc)\* فاطمه تارینگو (M.Sc)\*

### چکیده

سابقه و هدف : صدمه به نخاع در ناحیه دم اسب (Cauda equina) حدود ۱۰ درصد تا ۲۰ درصد آسیب های ستون فقرات را شامل می شود. که افراد صدمه دیده به دنبال آن دچار عارضه پاراپلژی می گردند. و اکثر این افراد در سنین ۱۶ تا ۳۰ سال قرار دارند.

مواد و روش ها : در این تحقیق، تغییرات بافت شناسی و مرفولوژی بافت بیضه رت نژاد Sprague-Dawley در هفته های اول، دوم، و سوم بعد از قطع نخاع بررسی شد. در گروه آزمایش، طناب نخاعی در حد مهره T9 قطع گردید و در گروه کنترل پوست باز شد ولی لامینکتومی و قطع نخاع انجام نگردید. سپس در زمان مورد نظر بیضه ها خارج شده و پس از تعیین وزن و حجم در محلول ثابت کننده بوئن جهت مطالعات میکروسکوپ نوری قرار داده شدند. پس از انجام مراحل آماده سازی نمونه، تغییرات هیستولوژیک با استفاده از تکنیک های رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، پاس، تری کروم ماسون و تولوئیدین بلو و تغییرات کمی به وسیله تکنیک های مرفومتريک مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج : اطلاعات به دست آمده نشانگر تغییرات زیر در بیضه های گروه قطع نخاع می باشد:

- کاهش تعداد سلول های جرم در اپی تلیوم مجاری منی ساز

- کاهش درصد حجمی مجاری منی ساز

- کاهش درصد حجمی فضای بینابینی

- عدم تغییر در تعداد سلول های سرتولی

- عدم تغییر در سلول های لیدینگ و اجزای بافت بینابینی

- افزایش شدت تغییرات ذکر شده با گذشت زمان

استنتاج : به طور کلی می توان چنین نتیجه گرفت که قطع نخاع سبب ایجاد تغییر در فعالیت طبیعی سلول های بافت بیضه و نقش طبیعی عوامل داخلی و خارجی می شود و در روند اسپرماتوژنز اختلال ایجاد می کند.

واژه های کلیدی : بیضه، اسپرماتوژنز، قطع نخاع

\* ساری - بلوار خزر، دانشکده پزشکی

\* مری رشته علوم تشریحی، عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

## مقدمه

ضایعات نخاعی معمولاً مشکلات عدیده‌ای را برای بیماران به دنبال دارند که از آن جمله می‌توان به مشکلات جسمی، اجتماعی، اقتصادی، و ناباروری اشاره کرد. در اکثر مردانی که دارای ضایعه نخاعی هستند، باروری به میزان زیادی کاهش می‌یابد (۱).

Young و همکارانش در سال ۱۹۹۲ در بررسی آماری بیماران مبتلا به ضایعه طناب نخاعی، گزارش داده‌اند که از ۱۰ هزار بیماری که سالانه دچار ضایعه طناب نخاعی می‌شوند، ۸۰ درصد آنها را افراد جوان بین ۱۵ تا ۲۹ سال تشکیل می‌دهند و اکثر این بیماران تمایل به بچه دار شدن خواهند داشت. با استفاده از روش Electroejaculation معمولاً در ۶۰ تا ۸۰ درصد این افراد مایع منی به دست می‌آید که در بررسی مایع منی آنها کاهش اسپرم (الیگواسپرمی) و کاهش تحریک اسپرم (آستنواسپرم) مشاهده می‌شود (۱).

دلایل متعددی برای پایین بودن کیفیت مایع منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی مطرح می‌شود که این دلایل شامل توقف (استاز) مایع پروستات، افزایش درجه حرارت بیضه، عفونت مجاری ادراری، وضعیت مثانه، بافت غیرطبیعی بیضه، تماس اسپرم با ادرار، تغییرات محور هورمونی هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه، آنتی بادی های آنتی اسپرم، و استفاده طولانی مدت از دارو می‌باشد. عملکرد هر کدام از این عوامل به تنهایی شناخته شده نیست و احتمالاً چندین عامل با هم سبب پایین آمدن کیفیت مایع منی می‌شوند (۲).

داشتن اطلاعات صحیح از زمان و مکانیسم ایجاد ضایعه در حفظ و نگهداری باروری در این افراد دارای اهمیت می‌باشد. تاکنون مطالعه کلینیکی در مورد اختلال اسپرماتوزن و یا اختلال فعالیت اسپرم بلافاصله بعد از

قطع نخاع انجام نشده است. کمبود مطالعه در این زمینه به دلایل وجود مشکلات حاد در این مرحله می‌باشد و دیگر این که در مرحله شوک نخاعی به دست آوردن مایع منی مشکل می‌باشد (۳).

در بررسی‌های انجام شده گزارش‌های زیادی درباره اثرات قطع نخاع در مرحله حاد بر روی اسپرماتوزن نیافتیم. تنها مورد، مطالعه Linsenmeyer در هفته‌های دوم و چهارم بعد از قطع نخاع بر روی حیوان رت بود (۳). در مورد انسان مطالعاتی صورت گرفته است، ولی این مطالعات در فاز مزمن قطع نخاع می‌باشد که از آن جمله می‌توان به مطالعات Hirsch در سال ۱۹۹۱ و ۱۹۹۴ اشاره کرد (۴، ۵).

بنابراین بر آن شدیم که در این زمینه تحقیقی انجام دهیم. برای این منظور از رت نژاد Sprague Dawely استفاده نموده و با انجام عمل جراحی، نخاع حیوان را به صورت عرضی قطع کردیم. در پایان هفته‌های اول، دوم، و سوم بعد از قطع نخاع، تغییرات هیستولوژیکی بافت بیضه را بررسی و نتایج را با گروه کنترل مورد مقایسه قرار دادیم.

## مواد و روش‌ها

جهت بررسی اثرات قطع نخاع بر بافت بیضه، تعداد ۶۰ سر رت نژاد Sprague-Dawely با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انتخاب شدند. رت‌ها ۱۰ روز قبل از عمل جراحی به مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند تا با محیط سازگاری پیدا کنند. حیوانات تحت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفته و با غذای مخصوص رت و آب کافی تغذیه شدند. رت‌ها در زمان جراحی بالغ و سن آنها ۷۰ روز بود.

در تحقیق حاضر مطالعات بر روی دو گروه آزمایش و کنترل در سه زمان مختلف ۲، ۱ و ۳ هفته بعد از عمل جراحی انجام شد.

برای انجام عمل جراحی، ابتدا رت ها با تزریق داخل صفاتی ماده بیهوش کننده نسدونال (تیوپنتال سدیم) به میزان ۳۵ میلی گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن حیوان بیهوش شدند. سپس دست و پاهای حیوان بر روی تخت جراحی ثابت شده و موهای ناحیه جراحی حدود مهره T<sub>9</sub> کاملاً ایزوله و با استفاده از بتادین و الکل ۷۰ درصد ضد عفونی گردید و تحت شرایط استریل با ایجاد برش عمودی به طول دو سانتی متر به موازات زواید خاری مهره ها، پوست و فاسیارا بریده و به منظور جلوگیری از خونریزی و عفونت برای کنار زدن عضلات عمقی تر از پنس داغ و استریل استفاده شد. بعد از مشخص شدن مهره ها، لامیناهای دوطرف مهره T<sub>9</sub> قطع (Laminectomy) و قطعه بریده شده با احتیاط برداشته شد. پس از مشخص شدن نخاع، با استفاده از قیچی ظریف و استریل، آن را به صورت عرضی قطع کرده و سپس عضلات و فاسیا با نخ کات گوت ۴-۰ و پوست با نخ ابریشم ۴-۰ دوخته شد. در پایان محل جراحی ضد عفونی شد. به منظور جلوگیری از اثر استرس احتمالی ناشی از جراحی، در گروه کنترل نیز تمام شرایط جراحی گروه آزمایش انجام شد، اما لامینکتومی و قطع نخاع انجام نگردید.

در حیوانات قطع نخاعی شده مراقبت های پس از جراحی دارای اهمیت به سزایی است، زیرا رت ها پس از عمل جراحی دارای مشکلات فراوانی مانند عدم تخلیه مثانه، جویدن اندام تحتانی، و عفونت می باشند. در مورد تخلیه مثانه، با استفاده از روش ماساژ دستی مثانه، در روز ۴ بار ادرار را تخلیه کرده و به منظور از بین بردن اثر استرس احتمالی ناشی از ماساژ همین عمل بر روی رت های گروه کنترل نیز انجام شد. به جهت پیشگیری

از عفونت، رت های قطع نخاع شده در محیطی تمیز با دمای مناسب نگهداری و موارد زیر رعایت گردید:

- قفسه های نگهداری حیوانات هر روز تمیز و ضد عفونی شدند.

- نواحی پرینه و پنیس حیوانات پس از هر بار تخلیه مثانه با الکل ۷۰ درصد ضد عفونی شدند.

- نواحی جراحی هر روز با بتادین ضد عفونی شدند. - به مدت سه روز بعد از جراحی تزریقات زیر انجام شد: پنی سیلین به میزان ۱ سی سی و با دوز ۲۰/۰۰۰ واحد به صورت داخل عضلانی و سرم فیزیولوژیک قابل تزریق به میزان ۱cc به صورت داخل صفاقی به منظور جلوگیری از کاهش حجم خون.

نکته ای که باید به آن توجه کرد این است که در رت های گروه قطع نخاع شده اندام تحتانی دچار بی حسی می شود و رت ها پاهای خود و اطرافیان را می جویند. این مسأله، علاوه بر ضایعات شدید اندام تحتانی منجر به عفونت شدید و مرگ حیوان می شود. به منظور جلوگیری از این مشکل، اندام تحتانی حیوان را با استفاده از لوله های پلاستیکی مناسب و پاکیزه محافظت کرده به نحوی که حیوان قادر به حرکت باشد.

برای نمونه برداری جهت میکروسکوپ نوری، ابتدا رت ها را با دوز بالای اثر بیهوشی نموده و با ایجاد برش بر روی اسکروتوم، بیضه و اپیدیدیم برداشته شدند. در مرحله بعد، بیضه ها را از اپیدیدیم و چربی اطراف جدا و بعد از وزن کردن و تعیین حجم، در ظروف جداگانه ای حاوی محلول ثابت کننده بوئن قرار داده شدند. اندازه گیری وزن با استفاده از ترازوی سارتریوس دقیق انجام گرفت و برای تعیین حجم از روش غوطه ور کردن نمونه در سرم فیزیولوژیک استفاده شد. در این روش، وزن بیضه غوطه ور در مایع برحسب گرم برابر با حجم آن برحسب  $\text{cm}^3$  می باشد (۶).

## نتایج

مطالعه هیستولوژیک بافت بیضه در گروه های قطع نخاع و گروه کنترل ۷ روز بعد از قطع نخاع انجام شد. در این مطالعه، بیضه های هفت سر رت قطع نخاع شده با بیضه های ۷ سر رت گروه کنترل بررسی گردید. بیضه های گروه کنترل ظاهر طبیعی داشته و شامل مجاری منی ساز و بافت بینابینی طبیعی بودند. اپی تلیوم مجاری منی ساز از سلول های سرتولی، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه، اسپرماتید نابالغ، و اسپرماتید بالغ طویل تشکیل شده بود (۸). در رت، نوع سلول های جرم در هر مرحله از سیکل سلولی متفاوت هستند، مثلاً سلول هایی که در مراحل VIII و VII سیکل سلولی قرار دارند شامل سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت های پری لپتوتن، اسپرماتوسیت های اولیه در مراحل پاکتی تن، اسپرماتیدهای نابالغ گرد، و اسپرماتیدهای بالغ طویل در سطح اپی تلیوم می باشند.

در بافت بینابینی نیز سلول های لیدیگ، ماکروفاژها و فیبروبلاست ها، عروق خونی و لنفوی مشاهده شد و همگی از یک تراکم و مروفولوژی سالم برخوردار بودند. مجاری منی ساز ظاهری طبیعی داشتند و نشانی از وجود تغییرات دژنراتیو در اپی تلیوم مجاری منی ساز مشاهده نشد، اما به نظر می رسید که مجاری منی ساز کاهش یافته باشد.

بافت بینابینی در گروه ۷ روز بعد از قطع نخاع ظاهری طبیعی داشته ولی میزان فضای بینابینی در اطراف مجاری به علت کاهش قطر مجاری افزایش یافته بود.

### گروه ۱۴ روز بعد از قطع نخاع

تغییرات در بیضه های این گروه از یک منطقه به منطقه دیگر متفاوت بود. در بعضی از مجاری منی ساز، سلول های جرم در حال کنده شدن از اپلی تلیوم و حذف سلول های جرم به درجات مختلف دیده می شد.

برای ثابت کردن نمونه از محلول بوئن استفاده شد. بیضه ها را ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن قرار داده و سپس آنها را خارج ساخته و با ایجاد برش های عمود بر محور طولی به سه قسمت با ضخامت مساوی تقسیم شدند و به مدت ۲۴ ساعت دیگر در محلول ثابت کننده بوئن قرار داده شدند.

بعد از انجام مراحل آماده سازی بافت، نمونه ها به طور عرضی با رعایت سطح فوقانی و تحتانی قطعه در داخل قالب پارافین قرار داده شدند تا هنگام برش، مقاطع کاملاً عرضی از بیضه و مجاری منی ساز تهیه گردد. در مرحله بعد، با استفاده از میکروتوم نوع Leitz با تیغه ثابت، برش های سریال به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه گردید. سپس برش ها را یک به پنج انتخاب نموده و همزمان آنها را بر روی پنج لام قرار دادیم. به منظور مطالعات میکروسکوپی از چهار نوع رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین (Hematoxylin Eosin)، پاس (P.A.S (Periodic Acid Schiff)، تریکروم ماسون (Masson's Trichrome) و تولویدین بلو (Toluidine blue) استفاده شد.

جهت بررسی تغییرات کمی، از روش های مرفومتريک استفاده شد که در این روش قطر مجاری منی ساز، ضخامت اپی تلیوم مجاری منی ساز، قطر لومن مجاری منی ساز، درصد حجمی فضای بینابینی، درصد حجمی مجاری منی ساز، و تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید نابالغ گرد و اسپرماتید بالغ طویل و سلول های سرتولی مجاری منی ساز در مرحله VIII سیکل سلولی محاسبه گردید (۷).

در پایان نتایج به دست آمده با استفاده از روش های آماری آنالیز واریانس یک طرفه، t student test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

## گروه ۱۲ روز بعد از قطع نخاع

تغییرات هیستولوژیک در این گروه مشابه با گروه ۱۴ روز بعد از قطع نخاع است، ولی وسعت و شدت ضایعه خیلی بیشتر است. در مجاری منی ساز تغییراتی از جمله کاهش قطر مجاری، حذف سلول ها از اپلی تلیوم و ریخته شدن آنها به داخل لومن مجاری، به هم ریختگی اپلی تلیوم، و از بین رفتن نظم موجود در اپلی تلیوم، مشاهده شد. فضای بینابینی افزایش پیدا کرده و میزان تراکم سلول بافت بینابینی به نظر طبیعی بود. عروق موجود در بافت بینابینی نیز به نظر پُر خون بودند.

## مطالعه کمی تغییرات بافت بیضه پس از قطع نخاع

با مقایسه میانگین وزن موش های گروه های ۷، ۱۴، و ۲۱ روزه آزمایش، در قبل و بعد از عمل جراحی قطع

نخاع کاهش وزن مشاهده شد که این کاهش از لحاظ آماری ( $P < 0.05$ ) معنی دار بود.

میانگین وزن و حجم بیضه ها در هر سه گروه زمانی قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خود کاهش نشان داد، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود.

میانگین قطر مجاری منی ساز در گروه های قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خود کاهش معنی دار ( $P < 0.05$ ) نشان داد. شدت این تغییرات با زمان افزایش می یابد (جدول شماره ۱).

میانگین ضخامت اپی تلیوم مجاری منی ساز در گروه های قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خود کاهش معنی دار ( $P < 0.05$ ) نشان داد. این تغییرات نیز وابسته به زمان می باشد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: مقایسه قطر مجاری منی ساز، ضخامت اپی تلیوم و قطر لومن مجاری منی ساز بین دو گروه قطع نخاع و کنترل ۷، ۱۴، و ۲۱ روز بعد از عمل جراحی رت

معنی دار بودن در زمان های مختلف بین گروه ها	۲۱ روز بعد از قطع نخاع		۱۴ روز بعد از قطع نخاع		۷ روز بعد از قطع نخاع		گروه های مورد مطالعه
	کنترل n=7	آزمایش n=7	کنترل n=7	آزمایش n=7	کنترل n=7	گروه آزمایش n=7	
S	۲۸۶/۵۹۹ ± ۱۷/۴۵	۲۱۴/۹۸* ± ۷/۵	۲۷۶/۰۵۶ ± ۱۱/۹۵	۲۴۱/۴۷۱* ± ۲۸/۹۹	۲۷۱/۹۸۵ ± ۱۹/۲۱	۲۴۴/۴۱* ± ۱۴/۷۱	قطر مجاری منی ساز بر حسب میکرون
S	۷۱/۴۹ ± ۲/۸۲	۴۳/۷۴* ± ۱/۹۳	۷۲/۱۸ ± ۳/۶۳	۵۷/۴۸* ± ۱/۱۶	۷۱/۲۸ ± ۲/۸۲	۵۸/۲۴* ± ۲/۸۲	ضخامت اپی تلیوم
S	۱۴۲/۱۳۶ ± ۱۹/۳۲	۱۲۳/۵۹۲* ± ۷/۷۸	۱۲۹/۷۳۴ ± ۱۳/۵۸	۱۲۴/۲۳ <sup>NS</sup> ± ۱۳/۲	۱۲۹/۳۱۴ ± ۱۸/۲۵	۱۲۹/۷۸ <sup>NS</sup> ± ۱۷/۳۱	قطر مجرای خروجی مجاری منی ساز بر حسب میکرون

±: مقادیر میانگین و انحراف معیار

\*: با  $P < 0.05$  اختلاف معنی دار بین دو گروه قطع نخاع و کنترل وجود دارد.

NS: اختلاف معنی دار بین دو گروه قطع نخاع و کنترل و همچنین بین هر گروه در زمان های مختلف وجود ندارد.

n: تعداد حیوان

S: با  $P < 0.05$  اختلاف معنی دار بین دو گروه قطع نخاع و کنترل و همچنین بین هر گروه در زمان های مختلف وجود دارد.

اسپرمتید گرد بالغ طویل در گروه های ۷ و ۱۴ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خود کاهش داشت، اما کاهش آن از لحاظ آماری معنی دار نبود. در گروه ۲۱ روز بعد از قطع نخاع میانگین سلول های نامبرده نسبت به گروه کنترل خود کاهش معنی داری ( $P < 0/05$ ) داشت (جدول شماره ۳). میانگین تعداد سلول های سرتولی در گروه های قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل اختلافی نشان نداد (جدول شماره ۱). نسبت سلول های اسپرمتید نابالغ گرد به سلول سرتولی در گروه های ۷ و ۱۴ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خود کاهش داشت، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود. در گروه ۲۱ روز بعد از قطع نخاع این نسبت در مقایسه با گروه کنترل خود کاهش معنی داری ( $P < 0/05$ ) داشت (جدول شماره ۲).

میانگین درصد حجمی مجاری منی ساز در گروه های ۷، ۱۴، و ۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خود کاهش داشت که از لحاظ آماری ( $P < 0/05$ ) معنی دار بود. این تغییرات نیز با زمان افزایش می یابد (جدول شماره ۲).

میانگین تعداد اغلب سلول های جرم در سطح ۹۶۰۴ میکرومتر مربع اپی تلیوم مجاری منی ساز با ظاهر طبیعی که در مراحل VIII و VII سیکل سلولی قرار دارند در گروه قطع نخاع نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار ( $P < 0/05$ ) پیدا کرده بودند، به طوری که میانگین تعداد سلول های اسپرمتوگونی در گروه های ۷، ۱۴، و ۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری ( $P < 0/05$ ) داشت (جدول شماره ۳). میانگین تعداد سلول های اسپرمتوسیت اولیه، اسپرمتید گرد نابالغ، و

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین درصد حجمی مجاری منی ساز بین دو گروه قطع نخاع و کنترل ۷، ۱۴، و ۲۱ روز بعد از عمل جراحی رت

معنی دار بودن در زمان های مختلف بین گروه ها	۲۱ روز بعد از قطع نخاع		۱۴ روز بعد از قطع نخاع		۷ روز بعد از قطع نخاع		گروه های مورد مطالعه
	کنترل n=7	آزمایش n=7	کنترل n=7	آزمایش n=7	کنترل n=7	گروه آزمایش n=7	
	۷۹/۶۴ ± ۳/۰۰۹	۶۵/۱۶* ± ۴/۸۸	۸۰/۷۱ ± ۳/۱۴	۶۸/۶۱* ± ۱/۶۹	۸۰/۶۴ ± ۳/۰۳	۶۹/۴۴* ± ۲/۱۴	مجاری منی ساز
	۱۹/۶۸ ± ۳/۰۷	۳۳/۶۲* ± ۵/۲۱	۱۸/۷۱ ± ۳/۱۲	۲۹/۹۷* ± ۱/۴۲	۱۸/۶۵ ± ۳/۱۶	۲۹/۱۶* ± ۱/۸۵	فضای بینابینی

±: مقادیر میانگین و انحراف معیار

n: تعداد حیوان

\*: با  $P < 0/05$  اختلاف معنی دار بین دو گروه قطع نخاع و کنترل وجود دارد.

NS: اختلاف معنی دار بین دو گروه قطع نخاع و کنترل وجود ندارد.

S: با  $P < 0/05$  اختلاف معنی دار بین گروه های قطع نخاع و کنترل در زمان های مختلف وجود دارد.

جدول شماره ۳: مقایسه میانگین تعداد سلول های اپی تلیوم مجاری منی ساز در مراحل VIII و VII سیکل سلولی بین دو گروه قطع نخاع و کنترل ۱۴،۷، ۲۱ روز بعد از عمل جراحی قطع نخاع رت

معنی دار بودن در زمان های مختلف بین گروه ها	۲۱ روز بعد از قطع نخاع		۱۴ روز بعد از قطع نخاع		۷ روز بعد از قطع نخاع		گروه های مورد مطالعه
	کنترل n=۷	آزمایش n=۷	کنترل n=۷	آزمایش n=۷	کنترل n=۷	گروه آزمایش n=۷	
S	۵/۴۶ ±۰/۴۵	۴/۰۷* ±۰/۳۶	۵/۵ ±۰/۳۳	۴/۸* ±۰/۴۷	۵/۶۵ ±۰/۲۷	۴/۹۷* ±۰/۴۹	اسپرماتوگونیاس
S	۸/۴۷ ±۰/۹۶	۵/۷۷* ±۰/۹۵	۸/۵۵ ±۰/۷۶	۷/۷ <sup>NS</sup> ±۰/۸۲	۸/۴۸ ±۰/۶۹	۷/۹۷ <sup>NS</sup> ±۰/۳۹	اسپرماتوسیت اولیه در مرحله پاکتی تن
S	۲۴/۶۶ ±۴/۲۰	۱۲/۱۲* ±۲/۰۳	۲۴/۶۰ ±۴/۱۵	۲۰/۰۰۷ <sup>NS</sup> ±۴/۱۱	۲۴/۳۴ ±۴/۱۸	۲۲/۲۷ <sup>NS</sup> ±۲/۲۹	اسپرماتید گرد نابالغ
S	۱۷/۶ ±۴/۶	۱۱/۶۱* ±۱/۱۸	۱۷/۴ ±۴/۲۸	۱۶/۷۹ <sup>NS</sup> ±۲/۲۱	۱۹/۴۵ ±۲/۶۵	۱۸/۸۵ <sup>NS</sup> ±۱/۲۵	اسپرماتید گردبالغ
NS	۲/۷۱ ±۰/۲۸	۲/۴۴ <sup>NS</sup> ±۰/۱۸	۲/۷ ±۰/۱۷	۲/۵۲ <sup>NS</sup> ±۰/۲۰	۲/۶۸ ±۰/۱۳	۲/۷۲ <sup>NS</sup> ±۰/۴۲	سرتولی
S	۹/۱۸ ±۱/۳۲	۴/۹۶* ±۰/۸۳	۹/۱۲ ±۱/۵۹	۷/۹۵ <sup>NS</sup> ±۱/۵۹	۹/۱۱ ±۱/۸۹	۸/۳۴ <sup>NS</sup> ±۱/۹۵	نسبت اسپرماتید نابالغ گرد به سرتولی

±: مقادیر میانگین و انحراف معیار

\*: P < ۰/۰۵ اختلاف معنی دار بین دو گروه قطع نخاع و کنترل وجود دارد.

NS: اختلاف معنی دار بین دو گروه قطع نخاع و کنترل و همچنین بین هر گروه در زمان های مختلف وجود ندارد.

S: P < ۰/۰۵ اختلاف معنی دار بین دو گروه قطع نخاع و کنترل و همچنین بین هر گروه در زمان های مختلف وجود دارد.

n: تعداد حیوان

### بحث

Glass در سال ۱۹۸۷ براساس مطالعات خود عنوان کردند که کاهش وزن رت تأثیری بر روی اسپرماتوژنز و فعالیت بیضه ندارد (۱۰،۹).

در تحقیق حاضر وزن موش ها در گروه های ۱۴،۷، ۲۱ روز بعد از جراحی قطع نخاع، کاهش معنی داری داشت که این کاهش وزن با نتایج Linsenmeyer در سال ۱۹۹۴ مطابقت دارد (۹). Leathm در سال ۱۹۵۸ و

دیگری نیز مورد تأکید قرار گرفت (۱۴-۱۸)، اما موضوع مورد اختلاف، زمان شروع این تغییر و پایداری آن می باشد. مثلاً در حالی که Huang (۱۹۹۸) گزارش کرد که سه ماه بعد از ضایعه نخاعی در ۷۰ درصد از رت‌های مورد مطالعه اسپرماتوزن به طور کامل متوقف شد (۱۸)، در مطالعه دیگری گزارش گردید که بعد از سه ماه اسپرماتوزن در بخش مهمی از لوله‌های سمی نیفر بیضه رت‌ها به حالت طبیعی بازگشت (۱۴).

در مطالعه حاضر میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه‌های ۱۴،۷ و ۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه‌های کنترل خود کاهش معنی داری ( $P < 0/05$ ) داشت که این کاهش در گروه‌های ۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه‌های ۱۴ و ۷ روز بعد از قطع نخاع بیشتر بود.

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید نابالغ کرده و اسپرماتید بالغ طویل در گروه‌های ۱۴ و ۷ روز بعد از قطع نخاع کاهش داشت، اما کاهش آن از لحاظ آماری معنی دار نبود. میانگین سلول‌های نامبرده در گروه ۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه کنترل خود کاهش معنی داری ( $P < 0/05$ ) داشت که این یافته‌ها با نتایج تحقیقات Linsenmeyer که بر روی رت انجام شده بود، مطابقت دارد.

نتایج تحقیق حاضر بیان کننده این مطلب است که به دنبال قطع نخاع، در روند اسپرماتوزن کاهش ایجاد می شود که در گروه ۲۱ روز بعد از قطع نخاع کاهش اسپرماتوزن نسبت به گروه‌های ۱۴ و ۷ روز بعد از قطع نخاع واضح ترمی باشد. وجود اختلال در روند اسپرماتوزن به دنبال قطع نخاع را می توان در اثر عواملی مثل اختلال محور هورمونی هیپوتالاموس - هیپوفیز - بیضه‌ای، اختلال درجه حرارت بیضه، و عفونت مجاری تناسلی دانست (۳،۲). گرچه کاهش سطح هورمون‌های LH، FSH، و تستوسترون به عنوان یکی از عوامل مهم اختلال اسپرماتوزن

Bor در سال ۱۹۵۰ و Parkash در سال ۱۹۸۵ با مطالعات خود بر روی بافت بیضه انسان در دوره مزمن قطع نخاع، آتروفی مجاری منی ساز را گزارش داده اند (۱۱، ۱۲). در مطالعه حاضر، قطر مجاری منی ساز و ضخامت اپی تلیوم آن در هر سه گروه زمانی آزمایش نسبت به گروه کنترل خود کاهش داشت که این کاهش از لحاظ آماری ( $P < 0/05$ ) معنی دار بود. میزان این کاهش در گروه ۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه‌های ۱۴ و ۷ روز بعد از قطع نخاع، بیشتر می باشد. همچنین در گروه‌های آزمایش، درصد حجمی مجاری منی ساز نسبت به گروه‌های کنترل کاهش معنی داری ( $P < 0/05$ ) داشت. در این مطالعه، کاهش قطر و ضخامت اپی تلیوم مجاری منی ساز احتمالاً به دلیل کاهش تولید و یا حذف سلول‌های اپی تلیوم بوده است و تغییرات دیگر از جمله کاهش درصد حجمی مجاری منی ساز و کاهش مجاری در مراحل VII و VIII سیکل سلولی و در نهایت کاهش وزن و حجم بیضه نیز به دنبال آن به وجود می آید.

در سال ۱۹۵۰، Stermmerman با توجه به مطالعاتی که بر روی بیوپسی بیضه افراد مبتلا به ضایعه نخاعی انجام داده بود، گزارش کرد که تعداد سلول‌های اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در این افراد کمتر از افراد سالم می باشد (۱۳). Parkash نیز در سال ۱۹۸۵ بر اساس مطالعات خود ذکر کرد که در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی تعداد سلول‌های اسپرماتید و اسپرماتوزوآ کاهش دارد (۱۲). در سال ۱۹۹۱، Hirsch گزارش داد که در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید کمتر از افراد سالم می باشد (۴). در سال ۱۹۹۴، Linsenmeyer با مطالعه خود بر روی بافت بیضه رت در دو و چهار هفته بعد از قطع نخاع، گزارش داد که میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید نابالغ گرد و اسپرماتید بالغ طویل نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری ( $P < 0/05$ ) دارد (۳). تأثیر نامطلوب ضایعه نخاعی بر اسپرماتوزن در تحقیقات



به دلیل عدم انقباض عضله کروماستر، عدم فعالیت غدد عرق و وجود اختلال در گردش خون بیضه، درجه حرارت اسکروتوم مختل شود، و احتمالاً این افزایش درجه حرارت محیط نامناسبی را برای فعالیت سلولی سرتولی و متعاقباً سلول های جرم ایجاد خواهد کرد که در نهایت منجر به ایجاد اختلال در روند اسپرماتوژنز خواهد شد. به نظر می رسد که وجود اختلال در محور هورمونی هیپوفیز- بیضه ای با افزایش درجه حرارت بیضه به تنهایی نمی تواند عامل ایجاد اختلال در روند اسپرماتوژنز باشد. احتمالاً گردش خون بیضه، اختلال هورمون ها، و اختلال درجه حرارت بیضه دست به دست هم داده و یک شرایط فیزیولوژیک نامناسب را برای سلول سرتولی فراهم می کنند و این سلول دیگر قادر نخواهد بود نقش خود را از نظر فیزیکی و بیوشیمیایی در روند اسپرماتوژنز ایفاء کند.

Linsenmeyer در سال ۱۹۹۱ عنوان کرد که در افراد دارای ضایعه نخاعی آنتی بادی آنتی اسپرم ایجاد می شود. وی انسداد در دستگاه تناسلی و وجود عفونت مجاری تناسلی را عامل آن می داند (۲). اما در سال ۱۹۹۳، Siosteen عنوان کرد که تیترا آنتی بادی- آنتی اسپرم در افراد دارای ضایعه نخاعی پایین می باشد و واکنش اتوایمیون علت پایین بودن تحرک اسپرم و ظرفیت نفوذ اسپرم در این بیماران نمی باشد (۲۱).

در مطالعه حاضر، سلول های ماکروفاژ، پلاسماسل، لنفوسیت، و نوتروفیل در داخل مجاری منی ساز مشاهده نشد. شاید بتوان گفت که نقش واکنش های ایمنی واسطه ای سلولی در ایجاد تغییرات بعد از نخاع منتهی است. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که روند اسپرماتوژنز در مجاری منی ساریک روند پیچیده بوده و توسط عوامل داخلی مترشح از سلول های بافت بیضه به خصوص سلول سرتولی و فاکتورهای خارجی تنظیم می گردد و هر گونه عاملی نظیر قطع نخاع که سبب ایجاد تغییر در فعالیت

مطرح است ولی برخی گزارش ها نشان می دهد که یک ماه پس از ضایعه نخاعی سطح FSH، LH، و تستوسترون به حد طبیعی بر می گردد، در حالی که سیر قهقهه رایی اسپرماتوژنز متوقف نمی شود (۱۴). بعضی از محققان علت تغییرات قهقهه رایی بافت بیضه را اختلال در خونرسانی آن به دنبال ضایعه نخاعی ذکر کرده اند (۱۶). Linsenmeyer نیز عنوان کرد که در مطالعه وی سطح پایین تستوسترون دلیل ایجاد اختلال اسپرماتوژنز نمی باشد، زیرا تغییرات اپی تلیوم مجاری منی ساز از حدود دو هفته بعد از قطع نخاع شروع می شود، در حالی که در این زمان سطح تستوسترون سرم در مقایسه با گروه کنترل تغییری پیدا نکرده است. در مطالعه حاضر نیز تغییرات اپی تلیوم مجاری منی ساز دو هفته بعد از قطع نخاع آغاز می شود و با افزایش زمان شدت می یابد. اگر یافته Linsenmeyer را بپذیریم، تغییرات در مطالعه حاضر نیز نمی تواند بدلیل کاهش تستوسترون باشد. در هر صورت این یافته نیاز به تحقیق بیشتری داشته و باید عوامل هورمونی در هر زمان پس از قطع نخاع دنبال شوند. از طرف دیگر، شاید بتوان گفت گیرنده های FSH و آندروژن ها بر روی سلول سرتولی به دنبال قطع نخاع تغییر یافته و اختلال در روند اسپرماتوژنز ایجاد شده است (۱۷، ۱۹). احتمالاً اختلال در روند ترشح عوامل رشد توسط سلول سرتولی پس از قطع نخاع نیز می تواند باعث کاهش اسپرماتوژنز شود.

افزایش درجه حرارت بیضه به دنبال قطع نخاع از جمله عواملی است که می تواند سبب ایجاد اختلال در روند اسپرماتوژنز شود. Brindly در سال ۱۹۸۲ با مطالعه خود بر روی افراد دارای ضایعه نخاعی عنوان کرد که در این افراد درجه حرارت اسکروتوم به طور متوسط ۰/۹ درجه سانتی گراد بالاتر از افراد سالم می باشد (۲۰). در تحقیق حاضر حرارت اسکروتوم اندازه گیری نشده است، اما احتمال می رود که به دنبال ایجاد ضایعه نخاعی

ایجاد کند.

طبیعی سلول‌های بافت بیضه و نقش طبیعی عوامل داخلی و خارجی گردد، می‌تواند در روند اسپرماتوژنز اختلال

### فهرست منابع

1. Young J.S, Bukns P.E, Bowen A.M, Mccutcheon R. Spinal cord injury statistics : experience of the reoginal spinal cord injury statistics: experience of the reoginal spinal cord injury system. Good samartin medical center, phoenix, Arizona. 1992.
2. Linsenmeyer T.A, Perakash I. Infertility in, en with spinal cord injury. *Arch. Phy. Mel. Rehabil.* 1991; 72, 747-753.
3. Linsenmeyer T.A, Pogack L.M, Ottenwller J.E. Spermatogenesis and the pituitary-testicular hormone axis in rats during the acute phase of spinal cord injury. *The Journal of urology.* 1994; 152, 1302-7.
4. Hirsch I.H, Mccue P, Allen J, Lee J, Stass W.E. Qunatitative Testicular biopsy in spinal cord injured men, comparison to fertile control. *J. Urol.* 1991; 146(2): 337-410.
5. Hirsch I.H, Sedor J, Kulp D, Mccue P.J, Staas W.E. Objective assessment of spermatogenes is in men with functional and anatomic obstruction of the genital tract. *International Journal of Anatomy.* 1994; 17, 29-34.
6. Weible E.R. Practical stereological methods for morphometric cytology. *The Journal of cell Biology.* 1966; 30, 23-38.
7. Rowley M.J, and Heller C.G. Quantitation of the cell of the seminiferous epithelium of the human testis employing the sertoli cell as a constant. *Zellforsch.* 1971; 1, 115-461.
8. Leblond C.P. and Clermont Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1952; 55, 548-552.
9. Glass A.R, Anderson J, Herbert D. Sexual maturation in underfed weight mactched rats. *J. Androl.* 1989; 8, 116-122.
10. Leathem H.H. Hormones and protein nutrition. *Rec. Prog, Horm Res.* 1998; 14, 141-9.
11. Bor S.E, Engle E.T, Rosenqutst R.C, Holltger V.H. Fertility in paraplegic males: A preliminary report of endocrine studies. *J. Clin. Endocrinol.* 1950; 10, 381-98.
12. Perakash I, Martin D.E, Warner H, Collins D.C. Reproductive biology of paraplegics: results of semen collection, testicular biopsy and serum hormones. *J. Urol.* 1985; 134, 284-96.
13. Stemmerman G.N, Weiss L, Avermach O, Friedman M. A study of the erminal epithelium in male Parapelegics. *Am. J. Clin. Pathol.* 1950; 0, 24-34.
14. Huang H.F, Li M.T, Anessetti R, Effects of spinal cord injury on spermatogenesis

- and the expression of messenger ribonucleic acid for sertoli cell proteins in rat sertoli cell- enriched testes. *Biol-Regrod.* 1999 Mar; 60(3): 635-41.
15. Huang HF, Li M.T, Giglio W. The detrimental effects of spinal cord injury on spermatogenesis in the rat as partially by testosterone, out enhanced by Follicle stimulating hormone. *Endocrinology.* 1999 Mar; 140(3): 1349-55.
16. Huang HF, Linsenmeyer T.A. Acute effects of spinal cord injury on the pituitary testicular hormone axis and sertoli cell functions: a time course study. *J-Androl.* 1995 Mar-Apr; 16(2): 148-57.
17. Linsenmeyer T.A, Chang Q. Testicular blood flow following spinal cord injury in the Sprague dawley rat. *J. Spinal. Cord. Med. Jul.* 1996; 19(3): 183-5.
18. Huang H.F, Linsenmeyer T.A. Suppression and recovery of spermatogenesis following spinal cord injury in the rat. *J. Androl.* 1998; Jan. Feb 19(1): 72-80.
19. Yuri K. Immunohistochemical and enzyme histochemical localization of peptidergic aminergic and cholinergic nerve fibers in the rat seminal vesicle. *J. of Urology.* 1990; 143: 194-8.
20. Birndley G.Sc. Deep scrotal temperature and the effect on it of clothing. Air temperature activity posture, and parapelgia. *Br. J. Urol.* 1982; 54: 584-91.
21. Siosteen A, Steen Y, Forssman L, Sullivan L. Autoimmunity to spermatozoa and quality of semen in men with spinal cord injury. *Fertility sterility.* 1993; 32(2): 117-22.