Archive of SID

پژوهشی

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

فرشته طالب پور امیري (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 مهرهٔ 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 کنندهٔ 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 تولوییدن بلو و تغییرات کمّی به وسیلهٔ تکنیک های مرفومتریک 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 لیدیگ 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 هاي كليدي : بیضه، اسپرماتوژنز، قطع نخاع

* مربی رشته علوم تشریحی، عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ✉ ساری- بلوار خزر، دانشکده پزشکی

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

Archive of SID

مقدمه

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

Young و همکارانش در سال ۱۹۹۲ در بررسی آماری بیماران مبتلا به ضایعهٔ طناب نخاعی، گزارش داده اند که از ۱۰ هزار بیماری که سالانه دچار ضایعهٔ طناب نخاعی می شوند، ۸۰ درصد آنها را افراد جوان بین ۱۵تا ۲۹ سال تشکیل می دهند و اکثر این بیماران تمایل به بچه دار شدن خواهند داشت. با استفاده از روش Electroejaculation معمولاً در۶۰ تا ۸۰ درصد این افرادمایع منی به دست می آید که دربررسی مایع منی آنها کاهش اسپرم (الیگواسپرمی) و کاهش تحریک اسپرم(آستنواسپرم) مشاهده می شود(۱).

دلایل متعددی برای پایین بودن کیفیت مایع منی در افراد مبتلا به ضایعهٔ نخاعی مطرح می شود 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 استفادهٔ طولانی مدت از دارو می باشد. عملکرد هر کدام از این عوامل به تنهایی شناخته شده نیست و احتمالاً چندین عامل با هم سبب پایین آمدن کیفیت مایع منی می شوند(۲).

داشتن اطلاعات صحیح از زمان و مکانیسم ایجاد ضایعه در حفظ و نگهداری باروری در این افراد دارای اهمیت می باشد. تاکنون مطالعهٔ کلینیکی در مورداختلال اسپرماتوژنز و یا اختلال فعالیت اسپرم بلافاصله بعد از قطع نخاع انجام نشده است. کمبود مطالعه دراین زمینه به دلایل وجود مشکلات حاد در این مرحله می باشد و دیگر این که در مرحله شوک نخاعی به دست آوردن مایع منی مشکل می باشد(۳).

دربررسی‌های انجام شده‌گزارش های زیادی دربارهٔ اثرات قطع نخاع در مرحله حاد بر روی اسپرماتوژنز نیافتیم. تنها مورد، مطالعه Linsenmeyer در هفته های دوم وچهارم 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 می باشد که از آن جمله می توان به مطالعات Hirsch در سال ۱۹۹۱ و ۱۹۹٤ اشاره کرد(٤،٥).

بنابراین برآن 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 هفته های 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 روش ها

جهت بررسی اثرات قطع نخاع بر بافت بیضه، تعداد ۶۰ سر رت نژاد Sprague-Dawely با وزن۲۰۰ تا۲۵۰ گرم انتخاب شدند. رت ها ۱۰ روز قبل از عمل جراحی به مرکزنگهداری 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 وسن آنها ۷۰ روز بود.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

Archive of SID

درتحقیق حاضرمطالعات 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 مادهٔ بیهوش کنندهٔ نسدونال(تیوپنتال سدیم) به میزان ۳۵ میلی گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن حیوان بیهوش شدند. سپس دست و پاهای حیوان بر روی تختهٔ جراحی ثابت شده و موهای ناحیهٔ جراحی حدود مهرهٔ T_9 کاملاً ایزوله و با استفاده از بتادین و الکل ۷۰ درصد ضدعفونی 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 مهره‌ها، لامیناهای دوطرف مهرهٔ T_9 قطع (Laminectomy) و قطعه بریده شده با احتیاط برداشته شد. پس از مشخص شدن نخاع، با استفاده ازقیچی ظریف واستریل،آن را به صورت عرضی قطع کرده و سپس عضلات و فاسیا با نخ کات گوت 0-4 و پوست با نخ ابریشم 0-4 دوخته شد. در پایان محل جراحی ضدعفونی 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 ازعمل جراحی دارای مشکلات فراوانی مانند عدم تخلیه مثانه، جویدن اندام تحتانی، و عفونت می باشند. در مورد تخلیهٔ مثانه، با استفاده از روش ماساژ دستی مثانه، در روز ٤ 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 ضدعفونی شدند.
- نواحی جراحی هر روزبا بتادین ضدعفونی شدند.
- به مدت سه روز بعد ازجراحی 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 رت‌های گروه قطع نخاع‌شده اندام تحتانی دچار بی‌حسی می شود و رت ها پاهای خود و اطرافیان را می جوند. این مسأله، علاوه بر ضایعات شدید اندام تحتانی منجر به عفونت شدید ومرگ حیوان می‌شود. به منظورجلوگیری 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 جداگانه‌ای حاوی محلول ثابت کنندهٔ بوئن قرار داده شدند.اندازه‌گیری وزن با استفاده ازترازوی سارتوریوس 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 cm^3 می باشد(٦).

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

Archive of SID

برای ثابت کردن نمونه از محلول بوئن استفاده شد. بیضه ها را ابتدا به مدت ۲٤ 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 ۲٤ ساعت دیگر در محلول ثابت کنندهٔ 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 ازبیضه ومجاری منی سازتهیه گردد. در مرحلهٔ بعد، با استفاده از میکروتوم نوع Leitz با تیغهٔ 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 ازچهار نوع رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (Hematoxylin Eosin) ، پاس (Periodic Acid Schiff) P.A.S ، تریکروم ماسون (Masson's Trichorome) و تولوییدن بلو (Toluidine blue) استفاده شد.

جهت بررسی تغییرات کمّی، از روش های مرفومتریک 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، وتعدادسلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید نابالغ گرد و اسپرماتید بالغ طویل و سلول های سرتولی مجاری منی ساز در مرحلهٔ 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.

نتایج

مطالعهٔ 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 های۷ سر رت گروه کنترل بررسی گردید. بیضه‌های گروه کنترل ظاهرطبیعی داشته وشامل مجاری منی ساز و بافت بینابینی طبیعی بودند. اپی تلیوم مجاری منی ساز ازسلول 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 درمراحلVIII وVII سیکل سلولی قرار دارندشامل سلول های اسپرماتوگونی،اسپرماتوسیت های پری لپتوتن، اسپرماتوسیت های اولیه درمراحل پاکی 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 لنفاوی مشاهده شد و همگی ازیک 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 ۱٤ 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.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

Archive of SID

گروه ۱۲ روز بعد از قطع نخاع

تغییرات هیستولوژیک در این گروه مشابه با گروه ۱٤ روز بعد از قطع نخاع است،ولی وسعت و شدت ضایعه خیلی بیشتر است. در مجاری منی ساز تغییراتی از جمله کاهش قطرمجاری،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 پُرخون بودند.

مطالعه کمّی تغییرات بافت بیضه پس از قطع نخاع

با مقایسه میانگین وزن موش های گروه های ۱٤،۷ ، و۲۱ روزه آزمایش، در قبل و بعد از عمل جراحی قطع نخاع کاهش وزن مشاهده شد که این کاهش از لحاظ آماری (P<۰/۰۵) معنی دار بود.

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

میانگین قطرمجاری منی‌ساز درگروه‌های قطع نخاع نسبت به‌گروه‌های‌کنترل خودکاهش معنی دار(P<۰/۰۵) نشان داد. شدت این تغییرات با زمان افزایش می یابد (جدول شماره۱).

میانگین ضخامت اپی تلیوم مجاری منی ساز در گروه های قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خود کاهش معنی دار(P<۰/۰۵) نشان داد. این تغییرات نیز وابسته به زمان می باشد(جدول شماره۱).

جدول شماره۱: مقایسه قطر مجاری منی ساز، ضخامت اپی تلیوم و قطر لومن مجاری منی ساز بین دو گروه قطع نخاع و کنترل ۱٤،۷ ، و۲۱روز بعد از عمل جراحی رت

گروه های مورد مطالعه / پارامتر	۷ روز بعد از قطع نخاع		۱٤ روز بعد از قطع نخاع		۲۱ روز بعد از قطع نخاع		معنی دار بودن در زمان های مختلف بین گروه ها
	گروه آزمایش n=۷	کنترل n=۷	آزمایش n=۷	کنترل n=۷	آزمایش n=۷	کنترل n=۷	
قطر مجاری منی ساز برحسب میکرون	*۲٤٤/٤۱ ± ۱٤/۷۱	۲۷۱/۹۸۵ ± ۱۹/۲۱	*۲٤۱/٤۷۱ ± ۲۸/۹۹	۲۷٦/۰٥٦ ± ۱۱/۹٥	*۲۱٤/۹۸ ± ۷/٥	۲۸٦/٥۹۹ ± ۱۷/٤٥	S
ضخامت اپی تلیوم	*٥۸/۲٤ ± ۲/۸۲	۷۱/۲۸ ± ۲/۸۲	*٥۷/٤۸ ± ۱/۱٦	۷۲/۱۸ ± ۳/٦۳	*٤۳/۷٤ ± ۱/۹۳	۷۱/٤۹ ± ۲/۸۲	S
قطر مجرای خروجی مجاری منی ساز بر حسب میکرون	۱۲۹/۷۸^{NS} ± ۱۷/۳۱	۱۲۹/۳۱٤ ± ۱۸/۲٥	۱۲٤/۲۳^{NS} ± ۱۳/۲	۱۲۹/۷۳٤ ± ۱۳/٥۸	*۱۲۳/٥۹۲ ± ۷/۷۸	۱٤۲/۱۳٦ ± ۱۹/۳۲	S

±: مقادیر میانگین و انحراف معیار

*: با P<۰/۰٥ 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< ۰/۰٥ اختلاف معنی دار بین دو گروه قطع نخاع و کنترل وهمچنین بین هر گروه در زمان های مختلف وجود دارد.

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

Archive of SID

میانگین درصدحجمی مجاری منی‌ساز درگروه‌های ۱٤،۷، و ۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خودکاهش داشت که از لحاظ آماری (P<۰/۰۵) معنی دار بود. این تغییرات نیز با زمان افزایش می یابد (جدول شماره۲).

میانگین تعداداغلب سلول های جرم در سطح ۹٦۰٤ میکرومتر مربع اپی تلیوم مجاری منی ساز با ظاهر طبیعی که در مراحل VIII وVII سیکل سلولی قرار دارند در گروه قطع نخاع نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار (P<۰/۰۵) پیدا کرده بودند، به طوری که میانگین تعداد سلول های اسپرماتوگونی در گروه های ۱٤،۷، و۲۱ روز بعدازقطع نخاع نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری (P<۰/۰۵) داشت (جدول شماره۳). میانگین تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتیدگرد نابالغ، و اسپرماتید گرد بالغ طویل در گروه های ۷و۱٤ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خودکاهش داشت،اما کاهش آن از لحاظ آماری معنی دار نبود. در گروه۲۱ روزبعد از قطع نخاع میانگین سلول های نامبرده نسبت به گروه کنترل خود کاهش معنی داری(P<۰/۰۵) داشت(جدول شماره۳).میانگین تعدادسلول‌های سرتولی در گروه های قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل اختلافی نشان نداد(جدول شماره۱). نسبت سلول های اسپرماتید نابالغ گرد به سلول سرتولی درگروه های ۷و۱٤روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خود کاهش داشت، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود. درگروه ۲۱ روز بعد از قطع نخاع این نسبت در مقایسه باگروه کنترل خود کاهش معنی داری(P<۰/۰۵) داشت (جدول شماره۲).

جدول شماره۲: مقایسه میانگین درصد حجمی مجاری منی ساز بین دو گروه قطع نخاع و کنترل ۱٤،۷، و ۲۱ روز بعد از عمل جراحی رت

گروه های مورد مطالعه / پارامتر	۷ روز بعد از قطع نخاع		۱٤ روز بعد از قطع نخاع		۲۱ روز بعد از قطع نخاع		معنی دار بودن در زمان های مختلف بین گروه ها
	گروه آزمایش n=۷	کنترل n=۷	آزمایش n=۷	کنترل n=۷	آزمایش n=۷	کنترل n=۷	
مجاری منی ساز	*٦۹/٤٤ ± ۲/۱٤	۸۰/٦٤ ± ۳/۰۳	*٦۸/٦۱ ± ۱/٦۹	۸۰/۷۱ ± ۳/۱٤	*٦٥/۱٦ ± ٤/۸۸	۷۹/٦٤ ± ۳/۰۰۹	S
فضای بینابینی	*۲۹/۱٦ ± ۱/۸٥	۱۸/٦٥ ± ۳/۱٦	*۲۹/۹۷ ± ۱/٤۲	۱۸/۷۱ ± ۳/۱۲	*۳۳/٦۲ ± ٥/۲۱	۱۹/٦۸ ± ۳/۰۷	S

±: مقادیر میانگین و انحراف معیار

n: تعداد حیوان

*: با P<۰/۰٥ 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< ۰/۰٥ اختلاف معنی دار بین گروه های قطع نخاع و کنترل در زمان های مختلف وجود دارد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره۳: مقایسه میانگین تعداد سلول های اپی تلیوم مجاری منی ساز در مراحل VIII و VII سیکل سلولی بین دو گروه قطع نخاع و کنترل ۱٤،۷، ۲۱ روز بعد از عمل جراحی قطع نخاع رت

گروه های مورد مطالعه / پارامتر	۷ روز بعد از قطع نخاع		۱٤ روز بعد از قطع نخاع		۲۱ روز بعد از قطع نخاع		معنی دار بودن در زمان های مختلف بین گروه ها
	گروه آزمایش n=۷	کنترل n=۷	آزمایش n=۷	کنترل n=۷	آزمایش n=۷	کنترل n=۷	
اسپرماتوگونیا	٤/۹۷* ±۰/٤۹	٥/٦٥ ±۰/۲۷	٤/۸* ±۰/٤۷	٥/٥ ±۰/۳۳	٤/۰۷* ±۰/۳٦	٥/٤٦ ±۰/٤٥	S
اسپرماتوسیت اولیه در مرحله پاکی تن	۷/۹۷ NS ±۰/۳۹	۸/٤۸ ±۰/٦۹	۷/۷ NS ±۰/۸۲	۸/٥٥ ±۰/۷٦	٥/۷۷* ±۰/۹٥	۸/٤۷ ±۰/۹٦	S
اسپرماتید گرد نابالغ	۲۲/۲۷ NS ±۲/۲۹	۲٤/۳٤ ±٤/۱۸	۲۰/۰۰۷ NS ±٤/۱۱	۲٤/٦۰ ±٤/۱٥	۱۲/۱۲* ±۲/۰۳	۲٤/٦٦ ±٤/۲۰	S
اسپرماتید گردبالغ	۱۸/۸٥ NS ±۱/۲٥	۱۹/٤٥ ±۲/٦٥	۱٦/۷۹ NS ±۲/۲۱	۱۷/٤ ±٤/۲۸	۱۱/٦۱* ±۱/۱۸	۱۷/٦ ±٤/٦	S
سرتولی	۲/۷۲ NS ± ۰/٤۲	۲/٦۸ ± ۰/۱۳	۲/٥۲ NS ± ۰/۲۰	۲/۷ ± ۰/۱۷	۲/٤٤ NS ± ۰/۱۸	۲/۷۱ ± ۰/۲۸	NS
نسبت اسپرماتید نابالغ گرد به سرتولی	۸/۳٤ NS ± ۱/۹٥	۹/۱۱ ± ۱/۸۹	۷/۹٥ NS ± ۱/٥۹	۹/۱۲ ± ۱/٥۹	٤/۹٦* ± ۰/۸۳	۹/۱۸ ±۱/۳۲	S

±: مقادیر میانگین و انحراف معیار

*: با P<۰/۰٥ 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: با P< ۰/۰٥ اختلاف معنی دار بین گروه قطع نخاع و کنترل و همچنین بین هر گروه در زمان های مختلف وجود دارد.

n: تعداد حیوان

بحث

در تحقیق حاضر وزن موش ها در گروه های ۱٤،۷، و ۲۱ روز بعد از جراحی قطع نخاع، کاهش معنی داری داشت که این کاهش وزن با نتایج Linsenmeyer در سال ۱۹۹٤ مطابقت دارد(۹). Leathm در سال ۱۹٥۸ و Glass در سال ۱۹۸۷ براساس مطالعات خود عنوان کردند که کاهش وزن رت تأثیری بر روی اسپرماتوژنز و فعالیت بیضه ندارد(۱۰،۹).

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

Archive of SID

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 (۱۲،۱۱). درمطالعه حاضر،قطرمجاری منی سازو ضخامت اپی تلیوم آن در هر سه گروه زمانی آزمایش نسبت به گروه کنترل خود کاهش داشت که این کاهش ازلحاظ آماری($P<۰/۰۵$) معنی دار بود.میزان این کاهش درگروه ۲۱ روز بعد ازقطع نخاع نسبت به گروه های ۷و۱٤ روز بعد از قطع نخاع، بیشتر می باشد. همچنین در گروه های آزمایش، درصد حجمی مجاری منی ساز نسبت به گروه های کنترل کاهش معنی داری($P<۰/۰۵$) داشت.

در این مطالعه، کاهش قطر و ضخامت اپی تلیوم مجاری منی سازاحتمالاً به دلیل کاهش تولید و یا حذف سلول های اپی تلیوم بوده است و تغییرات دیگر ازجمله کاهش درصدحجمی 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.

درسال ۱۹۵۰، Stermmerman با توجه به مطالعاتی که بر روی بیوپسی بیضه افرادمبتلابه ضایعهٔ نخاعی انجام داده بود،گزارش کردکه تعداد سلول های اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در این افرادکمتر از افرادسالم می باشد(۱۳). Perkash نیز در سال ۱۹۸۵ براساس مطالعات خود ذکر کرد که در افراد مبتلا به ضایعهٔ نخاعی تعداد سلول های اسپرماتید و اسپرماتوزوآ کاهش دارد(۱۲). درسال ۱۹۹۱، Hirsch گزارش داد که در افراد مبتلا به ضایعهٔ نخاعی میانگین تعداد سلول های اسپرماتید کمتر از افراد سالم می باشد(٤). درسال۱۹۹٤،Linsenmeyer با مطالعهٔ خود بر روی بافت بیضه رت در دو و چهار هفته بعد از قطع نخاع،گزارش دادکه میانگین تعدادسلول های اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید نابالغ گرد و اسپرماتید بالغ طویل نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری($P<۰/۰۵$) دارد(۳). تأثیر نامطلوب ضایعهٔ نخاعی بر اسپرماتوژنز در تحقیقات دیگری نیزموردتأکید قرارگرفت (۱٤-۱۸)، اما موضوع مورد اختلاف، زمان شروع این تغییر و پایداری آن می باشد. مثلاً در حالی که Huang(۱۹۹۸) گزارش کرد که سه ماه بعدازضایعهٔ نخاعی در ۷۰ درصد از رت‌های مورد مطالعه اسپرماتوژنزبه طورکامل متوقف شد(۱۸)،درمطالعه دیگری گزارش گردید که بعد از سه ماه اسپرماتوژنز در بخش مهمی از لوله های سمی نیفر بیضهٔ رت‌ها به حالت طبیعی بازگشت(۱٤).

درمطالعه حاضرمیانگین تعدادسلول های اسپرماتوگونی درگروه های ۱٤،۷، و۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه های کنترل خود کاهش معنی داری ($P<۰/۰۵$) داشت که این کاهش در گروه های ۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه های ۷و۱٤ روز بعد از قطع نخاع بیشتر بود.

میانگین تعدادسلول های اسپرماتوسیت اولیه،اسپرماتید نابالغ کرده و اسپرماتید بالغ طویل در گروه های۷و۱٤ روز بعد از قطع نخاع کاهش داشت، اما کاهش آن از لحاظ آماری معنی دار نبود. میانگین سلول های نامبرده در گروه ۲۱ روز بعد از قطع نخاع نسبت به گروه کنترل خودکاهش معنی داری($P<۰/۰۵$) داشت که این یافته ها با نتایج تحقیقات Linsenmeyer که بر روی رت انجام شده بود، مطابقت دارد.

نتایج تحقیق حاضر بیان کنندهٔ این مطلب است که به دنبال قطع نخاع، در روند اسپرماتوژنز کاهش ایجاد می شود که در گروه ۲۱ روز بعد از قطع نخاع کاهش اسپرماتوژنز نسبت به گروه های ۷و۱٤ روز بعد از قطع نخاع واضح ترمی‌باشد.وجوداختلال در روند اسپرماتوژنز به دنبال قطع نخاع را می توان دراثر عواملی مثل اختلال محور هورمونی هیپوتالاموس- هیپوفیز- بیضه‌ای،اختلال درجه‌حرارت بیضه، وعفونت مجاری تناسلی دانست(۳،۲).

گرچه کاهش سطح هورمون های LH ، FSH ، و تستوسترون‌به عنوان یکی ازعوامل مهم اختلال اسپرماتوژنز

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

Archive of SID

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 گرد، در حالی که سیر قهقهرایی اسپرماتوژنز متوقف نمی شود(۱٤). بعضی از محققان علت تغییرات قهقهرایی بافت بیضه را اختلال در خونرسانی آن به دنبال ضایعه نخاعی ذکر کرده اند(۱٦). Linsenmeyer نیز عنوان کرد که در مطالعه وی سطح پایین تستوسترون دلیل ایجاداختلال اسپرماتوژنزنمی‌باشد، 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 مطالعهٔ 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 مطالعهٔ 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 مطالعهٔ خود بر روی افراد دارای ضایعهٔ نخاعی عنوان کردکه 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 رودکه به دنبال ایجاد ضایعه نخاعی به دلیل عدم انقباض عضله کروماستر، عدم فعالیت غدد عرق و وجود اختلال در گردش خون بیضه، درجه حرارت اسکرتوم 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، واختلال 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 نظرفیزیکی و بیوشیمیایی در روند اسپرماتوژنز ایفاء کند.

Linsenmeyer در سال ۱۹۹۱ عنوان کرد که در افراد دارای ضایعهٔ 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 درسال۱۹۹۳، Siosteen عنوان کرد که تیترآنتی بادی- آنتی اسپرم در افراد دارای ضایعهٔ نخاعی پایین می باشد و واکنش اتوایمیون علت پایین بودن تحرک اسپرم و ظرفیت نفوذ اسپرم در این بیماران نمی باشد(۲۱).

در مطالعهٔ حاضر، سلول های ماکروفاژ، پلاسماسل، لنفوسیت، و نوتروفیل در داخل مجاری منی ساز مشاهده نشد. شاید بتوان گفت که نقش واکنش‌های ایمنی واسطه‌ای سلولی درایجادتغییرات بعداز نخاع‌منتفی‌است.

به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت‌که روندااسپرماتوژنز درمجاری منی سازیک روندپیچیده بوده و توسط عوامل داخلی مترشحه از سلول های بافت بیضه به خصوص سلول سرتولی وفاکتورهای خارجی تنظیم می‌گردد وهر گونه عاملی نظیرقطع نخاع‌که سبب ایجادتغییر در فعالیت

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

Archive of SID

طبیعی سلول‌های بافت بیضه ونقش طبیعی عوامل داخلی وخارجی گردد،می تواند در روند اسپرماتوژنز اختلال ایجاد کند.

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, Perkash 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. Spermatogensis 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. Sexul 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. Perkash 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

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

Archive of SID

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 injuty 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 histochemial localization of pepetidergic 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.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir