بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم پایه

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی علوم جانوری گرایش فیزیولوژی جانوری

بررسی اثر نانوذرات نقره بر سیستم تولیدمثلی نر موش سفید آزمایشگاهی (*Mus musculus*)

استاد راهنما:
دکترمحمد سعید حیدرنژاد

استاد مشاور:
دکترجهانگیر کبوتری کتج

پژوهشگر:
گلی قاسمی

شهریور ۱۳۹۲

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه خانم گلی قاسمی جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته علوم جانوری گرایش فیزیولوژی جانوری با عنوان: بررسی اثر نانوذرات نقره بر سیستم تولیدمثلی نر موش سفید آزمایشگاهی (*Mus musculus*) در تاریخ ..... با حضور هیأت داوران زیر بررسی و با رتبه/نمره ..... مورد تصویب نهایی قرار گرفت.

۱. **استاد/استادان راهنمای پایان نامه دکتر ..... با مرتبه علمی ..... امضاء**

۲. **استاد/استادان مشاور پایان نامه دکتر ..... با مرتبه علمی ..... امضاء**

۳. **استاد/استادان داور پایان نامه دکتر ..... با مرتبه علمی ..... امضاء**

۴. **استاد/استادان داور پایان نامه دکتر ..... با مرتبه علمی ..... امضاء**

دکتر ابوالفضل سمنانی

معاون پژوهشی و تحصیلات تکمیلی

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات

و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه

متعلق به دانشگاه شهرکرد است.

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. و سلام و درود بر محمّد و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان ولدار وجودشان است؛ و نفرین پیوسته بر دشمنان ایشان تا روز رستاخیز. . .

شکر شایان نثار ایزد منان که توفیق رارفیق راهم ساخت تا این پایان نامه را به پایان برسانم و بر حسب وظیفه و ازباب "من لم یشکر المنعم من المخلوقین لم یشکر الله عزّ و جلّ" از کلیه همراهان در این مسیر: ازپدر و مادر عزیزم این دو معلم بزرگوارم که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت هایم گذشته اند و در تمام عرصه های زندگی یار و یاوری بی چشم داشت برای من بوده اند؛ همچنین از همسرم و فرزند دلبندم که صبورانه و صادقانه من را همراهی نموده اند تا بتوانم در کمال آرامش و آسایش به تهیه و تنظیم این پایان نامه بپردازم؛ سپاسگزاری نمایم.

بدون شک جایگاه و منزلت معلم، اجّل از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی شائبه ی او، با زبان قاصر و دست ناتوان، چیزی بنگاریم. اما از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را فراهم می سازد و سلامت امانت هایی را که به دستش سپرده اند، از راهنمایی ها و مساعدت های، استاید گرانقدر و شایسته، **جناب آقای دکتر محمد سعید حیدر نژاد** که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند؛ و **جناب آقای دکتر جهانگیر کبوتری** به دلیل مشاوره های ارزشمندشان و زحمات بی شائبه ای که در تمامی این مدت متحمل گشته و بی شک انجام مراحل مختلف این پایان نامه بدون حمایت و پشتیبانی ایشان امکان پذیر نبود؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم و سعادتمندی، توفیق و کامیابی ایشان را از خدای متعال خواستارم.

با سپاس از زحمات و مساعدت های **جناب آقای دکتر ایرج کریمی** به دلیل یاری ها و راهنمایی های بی چشمداشت ایشان که همواره نگارنده را مورد لطف و محبت خود قرار داده اند، و با سپاس از آنانی که هر کدام به گونه ای همراه بودند، کمال تشکر را دارم.

تقدیم به:

به استوارترین تکیه گاهم

به پدرم...

که عالمانه به من آموخت تا چگونه در عرصه زندگی، ایستادگی را تجربه نمایم.

تقدیم به:

دریای بی کران فداکاری و عشق

به مادرم...

به سنگ صبوری که الفبای زندگی به من آموخت.

تقدیم به:

همسرم و دخترم، همراهان همیشگی و پشتوانه های زندگی و امید بودنم.

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به استفاده گسترده از نانوذرات نقره (Ag-NPs) به دلیل ویژگی ضد میکروبی آن در عرصه‌های صنعتی، پزشکی و لوازم خانگی و عبور این نانوذرات از طریق سدهای زیستی و نفوذ به بافت‌های تولید مثلی و واکنش با سیستم‌های زنده از یک سو و اهمیت سیستم تولید مثلی در بقای نسل موجودات زنده، بررسی اثرات این نانوذرات بر روی محیط زیست و سلامت انسان ضروری است. هدف از این پژوهش ارزیابی اثر نانو ذرات نقره بر بر تغییرات وزن بدن و بیضه موش‌های تحت تیمار، تعداد سلول‌های اسپرم اپیدیدیم، تولید روزانه اسپرم در هر گرم بافت بیضه، تغییرات غلظت سرمی هورمون‌های جنسی سیستم تولید مثلی نر و آسیب‌های بافت بیضه در موش نر بالغ می‌باشد.

مواد و روش کار: تعداد۳۶ سر موش آزمایشگاهی نر بالغ نژادBalb/C با میانگین وزنی۳±۲۸/۵ گرم به طور تصادفی در سه گروه دوازده تایی (یک گروه شاهد و دو گروه تیمار) قرار گرفتند. گروه شاهد نانوذرات نقره دریافت نمی‌کرد ولی در دو گروه تیمار نانوذرات نقره با غلظت ppm ۲۰ و ۵۰ در یک دوره ۴۰ روزه و روزانه یک بار در زمان مشخصی به میزان ۱ میلی لیتر به روش خوراکی تجویز می‌گردید. در روزهای ۷، ۲۱ و ۴۰ خون‌گیری انجام شده، غلظت سرمی هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH به روشELISA اندازه‌گیری گردید. تولید روزانه اسپرم، تعداد اسپرم موجود در اپیدیدیم و درصد حرک آن با لام هموسیتومتر نئوبار شمارش شد. تغییرات بافتی بیضه با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی شد. داده‌ها به صورت Mean±SE ارائه و نتایج به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸تجزیه و تحلیل شد و سپس برای مقایسه میانگین‌های مربوط به هر گروه آزمون LSD استفاده شد. اختلاف کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج : در روز ۷ بین دو گروه درمان و شاهد تغییرات معنی‌داری در پارامترهای بررسی شده مشاهده نشد ($p\geq0.05$). نانو ذرات نقره باغلظت ppm ۵۰ سبب کاهش معنی‌داری در غلظت هورمون تستوسترون، درصد حرک و تعداد اسپرم موجود در اپیدیدیم و تولید روزانه اسپرم در روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه کنترل و نیز نسبت به روز ۷شده است ($p\leq0.05$). علاوه بر آن دوز ppm ۵۰ سبب افزایش معنی‌دار میزان LH درروز۴۰ نسبت به گروه کنترل شده‌است ($p\leq0.05$). نانو ذرات نقره باغلظت ppm ۲۰ سبب سبب کاهش معنی‌داری در غلظت هورمون تستوسترون، درصد تحرک اسپرم اپیدیدیمدر روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه کنترل و نیز نسبت به روز ۷ شده‌است ($p\leq0.05$). همچنین کاهش معنی‌دار تعداد اسپرم موجود در اپیدیدیم درغلظت ppm۲۰ در روز ۴۰ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p\leq0.05$). تغییرات هیستوپاتولوژیکی مانند جدا شدن سلول‌های زایا و قرار گرفتن این سلول‌ها در لومن لوله‌های اسپرم ساز، واکوئله شدن لوله‌های اسپرم ساز، افزایش فاصله بین لوله‌های اسپرم ساز، بهم ریختگی نظم سلولی در ردیف دودمان سلولی زایا و کاهش تعداد اسپرم‌های بالغ دربافت بیضه در گروه تیمار با غلظت ppm ۵۰ و در روز ۴۰ در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد.

بحث: نانو ذرات نقره در صورت تجویز طولانی مدت می‌تواند سبب تغییراتی در غلظت هورمونی، تعداد اسپرم اپیدیدیم و تحرک آن و نیز تخریب بافت بیضه در جنس نر شود که می‌تواند بر عملکرد سیستم تولیدمثلی نر و میزان باروری اثرگذار باشد.

کلمات کلیدی: نانوذرات نقره، سیستم تولیدمثلی نر، هورمون‌های جنسی، اسپرم، اپیدیدیم.

فهرست مطالب

عنوان شماره صفحه

فصل اول ۱

۱- مقدمه ۱

۱-۱ سیستم تولید مثلی نر ۱
۱-۱- ۱ ساختمان و عملکرد سیستم تولید مثلی نر ۱
۱-۱-۱-۱ بیضه ها ۲
۱-۱-۱-۲ مجراهای سیستم تولید مثلی نر ۵
۱-۱-۱-۳ غده های ضمیمه سیستم تولید مثلی نر ۶
۱-۲ تکوین سیستم تولید مثلی نر ۶
۱-۲- ۱ تمایز بیضه ها ۷
۱-۳ اسپرماتوژنز و سلول‌های زایا ۷
۱-۳- ۱ روند اسپرماتوژنز در موش ۹
۱-۳- ۲ عوامل هورمونی محرک اسپرماتوژنز ۱۰
۱-۳- ۳ اسپرمیوژنز ۱۰
۱-۳- ۴ ساختمان و ویژگی های اسپرم بالغ ۱۱
۱-۴ هورمون‌های جنسی ترشح شده از بیضه ۱۱
۱-۴-۱ ساختار شیمیایی تستوسترون ۱۲
۱-۴-۲ ترشح تستوسترون ۱۲
۱-۴-۳ عملکرد تستوسترون ۱۲
۱-۴-۴ متابولیسم و دفع تستوسترون ۱۳
۱-۴-۵ نقش هورمون‌های FSH و LH در عملکرد سیستم تولید مثلی نر ۱۳
۱-۵ نانوتکنولوژی ۱۳
۱-۵-۱ تاریخچه فناوری نانو ۱۴
۱-۵-۲ عوامل مرتبط با فعالیت مواد در مقیاس نانو ۱۴
۱-۵-۳ منابع تولید نانوذرات ۱۵
۱-۶ نقره ۱۵
۱-۶-۱ کاربردهای نقره ۱۵
۱-۷ نانوذرات نقره ۱۶
۱-۷-۱ ویژگی‌های عمومی نانوذرات نقره ۱۶

۱-۷-۲ کاربردهای نانوذرات نقره ۱۶
۱-۷-۳ سمیت سلولی نانوذرات نقره ۱۷
۱-۸ اثر نانوذرات بر پارامترهای سیستم تولید مثلی نر ۱۹
۱-۹ پیشینه تحقیق ۲۱
فصل دوم ۲۳

۲- مواد و روش‌ها ۲۳

۲-۱ انتخاب حیوان آزمایشگاهی ۲۳
۲-۲ تهیه و آماده‌سازی محلول نانونقره ۲۴
۲-۳ جمع آوری وسایل و محلول‌های مورد نیاز آزمایشگاهی ۲۴
۲-۴ طرح آزمایش ۲۵
۲- ۴-۱ تغییرات وزن بدن و بیضه ۲۵
۲- ۴-۲ بررسی آسیب بافتی بیضه ۲۵
۲- ۴-۳ شمارش تعداد اسپرم اپیدیدیم ۲۶
۲- ۴-۴ بررسی درصدحرکت اسپرم ۳۰
۲- ۴-۵ تولید روزانه اسپرم (DSP) در هر گرم بافت بیضه ۳۰
۲- ۴-۶ روش اندازه گیری هورمونی ۳۱
۲- ۴-۷ آنالیز داده‌ها و تجزیه و تحلیل آماری ۳۲
فصل سوم ۳۳

۳- نتایج ۳۳

۳-۱ بررسی میزان تغییرات وزن بدن موش‌ها در گروه‌های شاهد و تیمار با نانوذرات نقره ۳۳
۳-۲ بررسی اثرات نانوذرات نقره بر تغییرات وزن اندام بیضه راست و چپ ۳۵
۳-۳ ارزیابی اثر نانوذرات نقره بر غلظت سرمی هورمون‌های جنسی سیستم تولیدمثلی نر ۳۶
۳-۳-۱ تأثیر نانونقره بر غلظت سرمی هورمون تستوسترون ۳۶
۳-۳-۲ تأثیر نانوذرات نقره بر غلظت سرمی هورمونLH ۳۸
۳-۳-۳ اثرات نانوذرات نقره بر غلظت سرمی‌هورمون FSH ۴۰
۳-۴ ارزیابی اثرنانوذرات نقره بر پارامترهای اسپرم اپیدیدیمی ۴۱
۳-۴-۱ اثرات نانوذرات نقره برتعداد اسپرم اپیدیدیم ۴۱
۳-۴-۲ اثرات نانوذرات نقره بر میزان تحرک اسپرم اپیدیدیم ۴۳
۳-۵ ارزیابی اثرنانوذرات نقره بر میزان تولید روزانه اسپرم (DSP) ۴۵
۳-۶ بررسی آسیب شناسی بافتی ۴۷
فصل چهارم ۵۱

۴- بحث و نتیجه گیری ۵۱

۴-۱ بررسی اثر نانوذرات نقره بر وزن بدن و بیضه موش‌های تحت تیمار با نانوذرات..... ۵۲
۴-۲ تأثیر نانوذرات نقره بر غلظت سرمی هورمون‌های جنسی سیستم تولیدمثلی نر ۵۳
۴-۳ بررسی اثرات نانوذرات نقره بر تغییرات پارامترهای اسپرم اپیدیدیم و تولید روزانه اسپرم بیضه ۵۴
۴-۳-۱ بررسی سمیت نانوذرات نقره بر تحرک اسپرم اپیدیدیم..... ۵۴
۴-۳-۲ ارزیابی اثر نانوذرات نقره بر تعداد اسپرم اپیدیدیم و تولید روزانه اسپرم بیضه ۵۶
۴-۴ بررسی تأثیر نانوذرات نقره برباقت بیضه ۵۹
نتیجه گیری ۶۱

پیشنهادات ۶۱

منابع ۶۲

فهرست شکل ها

عنوان شماره صفحه

شکل ۱-۱ دیاگرامی از ساختمان بیضه ۲
شکل ۱-۲ انواع سلول‌های زایا در مراحل مختلف اسپرماتوژنز ۹
شکل ۱-۳ ساختار شیمیایی هورمون تستوسترون ۱۲
شکل ۱-۴مکانیسم سمیت نانوذرات نقره ۱۸
شکل ۱-۵ دیاگرامی از چگونگی عبور نانوذرات نقره از سد خونی بیضه‌ای ۲۰
شکل ۲-۱موش نر نژاد Balb/c ۲۴
شکل ۲-۲ قرار دادن بیضه در محلول بوئن جهت ثابت کردن بافت برای بررسی‌های بافت شناسی..... ۲۶
شکل۲-۳ جدا کردن اپیدیدیم از بیضه موش و قرار دادن آن در ظرف محتوی PBS..... ۳۰
شکل۲-۴ A) قطعات حاصل از خردشدن اپیدیدیم B) ورتکس‌کردن مخلوط بافت اپیدیدیم و سوسپانسیون اسپرم ۲۹
شکل ۲-۵ A) گسترش تهیه شده از سوسپانسیون اسپرم اپیدیدیم موش سوری B) شمارش سلول‌های اسپرم با استفاده از لام نئوبار. ۲۹
شکل ۲-۶ نحوه خون گیری از قلب موش. ۳۲
شکل ۳-۱ مقایسه میانگین وزن بدن موش آزمایشگاهی در گروه‌های تیمار و شاهد در روزهای مختلف بعد از تیمار با دو غلظت ppm ۲۰ و ۵۰ از نانوذرات نقره. ۳۵
شکل ۳-۲ نشان دهنده اثرات متقابل زمان و تیمار نانو نقره بر تغییرات غلظت سرمی هورمون تستوسترون. ۳۸
شکل ۳-۳ نشان دهنده اثرات متقابل زمان و تیمار نانو نقره بر تغییرات غلظت سرمی هورمون LH در گروه‌های شاهد و تیمار با دو غلظت متفاوت از نانوذرات نقره. ۴۰
شکل ۳-۴ نشان دهنده اثرات متقابل زمان و تیمار نانو نقره بر تعداد اسپرم اپیدیدیم در دوغلظت متفاوت از نانوذرات نقره. ۴۳
شکل ۳-۵ نشان دهنده اثرات متقابل زمان و تیمار نانو نقره بر میزان تحرک اسپرم اپیدیدیم در دو غلظت متفاوت از نانوذرات نقره. ۴۵
شکل ۳-۶ اثرات متقابل زمان و تیمار نانو نقره بر تغییرات میزان تولید روزانه اسپرم بیضه در دو غلظت متفاوت از نانوذرات نقره ۴۷
شکل ۳-۷ بخشی از مقطع عرضی بافت بیضه گروه شاهد نشان دهنده چند لوله اسپرم‌ساز طبیعی با نظم خاص سلولی و تعداد فراوان ردههای سلولی زایا پس از رنگ آمیزیH&E بزرگنمایی (۱۰×). ۴۸
شکل ۳-۸ بخشی از مقطع عرضی بافت بیضه گروه تیمار با نانوذرات نقره غلظت ppm ۵۰، نشان دهنده بی نظمی سلولی در رده سلول‌های زایا و کاهش رده‌های سلولی زایا در لوله‌های اسپرم‌ساز و افزایش فاصله بین لوله‌های اسپرم‌ساز پس از رنگ آمیزیH&E بزرگنمایی (۱۰×). ۴۹
شکل ۳-۹ بخشی از مقطع عرضی بافت بیضه گروه شاهد نشان دهنده چند لوله اسپرم ساز طبیعی با نظم رده‌های سلولی زایا و قرار گرفتن آنها در اپی تلیوم زایا پس از رنگ آمیزیH&E بزرگ نمایی (۱۰×). ۴۹

شکل ۳-۱۰ بخشی از مقطع عرضی بافت بیضه گروه تیمار با نانوذرات نقره غلظت ppm ۵۰، نشان دهنده ریزش سلول‌های زایا و قرار گرفتن این سلول‌ها در لومن لوله‌های اسپرمساز. وجود واکوئل‌هایی در در اپیتلیوم زایا، کاهش اسپرم‌های بالغ و تخریب چند لوله اسپرم ساز،رنگ آمیزیH&E بزرگنمایی (۴۰×)..... ۵۰

فهرست جدول ها

عنوان شماره صفحه

جدول ۳-۱ مقایسه میانگین وزن بدن موش‌ها در تیمارهای مختلف نانونقره در زمان‌های مختلف نمونه گیری. مقادیر به صورت (Mean±SE) بیان شده است. ۳۴

جدول ۳-۲ مقایسه میانگین وزن بیضه‌های چپ و راست در تیمارهای مختلف نانونقره در زمان‌های مختلف نمونه گیری. مقادیر به صورت (Mean±SE) بیان شده است. ۳۶

جدول ۳-۳ مقایسه میانگین غلظت هورمون تستوسترون در تیمارهای مختلف نانونقره در زمان‌های مختلف نمونه گیری. مقادیر به صورت (Mean±SE) بیان شده است. ۳۷

جدول ۳-۴ مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون LH در تیمارهای مختلف نانونقره در زمان‌های مختلف نمونه گیری. مقادیر به صورت (Mean±SE) بیان شده است. ۳۹

جدول ۳-۵ مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون FSH در تیمارهای مختلف نانونقره در زمان‌های مختلف نمونه گیری. مقادیر به صورت (Mean±SE) بیان شده است. ۴۱

جدول ۳-۶ مقایسه میانگین تعداد سلول های اسپرم اپیدیدیم در تیمارهای مختلف نانونقره در زمان‌های مختلف نمونه گیری. مقادیر به صورت (Mean±SE) بیان شده است. ۴۲

جدول ۳-۷ مقایسه میانگین درصد تحرک اسپرم اپیدیدیم در تیمارهای مختلف نانونقره در زمان‌های مختلف نمونه گیری. مقادیر به صورت (Mean±SE) بیان شده است. ۴۴

جدول ۳-۸ مقایسه میانگین تولید روزانه اسپرم بیضه در تیمارهای مختلف نانونقره در زمان‌های مختلف نمونه گیری. مقادیر به صورت (Mean±SE) بیان شده است. ۴۶

فصل اول

۱- مقدمه

۱-۱ سیستم‌تولید مثلی نر

بقای نسل موجود زنده به یک عامل مهم به نام تولیدمثل بستگی دارد که شامل فرایندی است که به وسیله آن موجودات زنده فرزندانی را به وجود می‌آورند. عوامل مؤثر در تولیدمثل شامل اندام‌ها و هورمون‌های تولیدمثلی می‌باشند. وجود هر دو سیستم تولیدمثلی جنس نر و ماده برای فرایند تولید مثل ضروری هستند (Constantinescu *et al.*, 2007).

۱-۱- ۱ ساختمان و عملکرد سیستم‌تولید مثلی نر

مهم‌ترین عملکرد سیستم تولیدمثلی نر[۱]شامل تولید اسپرم در روند اسپرماتوژنز[۲] و نیز تولید هورمون‌های آندروژن[۳] تنظیم‌کننده اعمال سیستم تولیدمثلی نر و تعیین‌کننده بروز ویژگی‌های خاص مردانه می‌باشد (Klapholz, 2000). اجزای سیستم تولیدمثلی نر شامل بیضه‌ها[۴]، مجاری تولیدمثلی، غدد ضمیمه و آلت تناسلی [۵] می‌باشد (جان کوئیرا، ۱۹۲۰).

---

۱ Male Reproductive system

۲ spermatogenesis

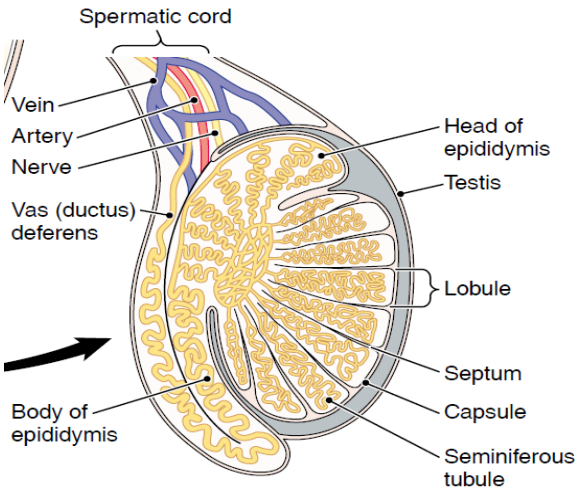
۳ androgens

۴ Testes

۵ Penis

۱-۱-۱-۱ بیضه ها

بیضه‌ها عضو اصلی تولید مثل جنس نر هستند و به وسیله کیسه بیضه[۱] پوشیده می‌شوند.کیسه بیضه، یک کیسه کوچک با پوست حاوی رنگدانه است که به دلیل دارا بودن ماهیچه‌های دارتوس[۲] و کرماستر[۳] و بافت همبند، توانایی انقباض و انبساط دارند و بیضه‌ها را در درجه حرارت مناسب قرار می‌دهند تا از تغییرات شدید درجه حرارت محفوظ بمانند و همراه با شبکه گسترده رگ‌های خونی موجود در این اندام دمای بیضه‌ها را برای تولید اسپرم تنظیم کنند (Ivell *et al.*,2007). بیضه‌ها دو عدد و بیضی شکل هستند، به طور میانگین هر بیضه ۴ تا ۵ سانتی‌متر طول، ۲/۵ سانتی‌متر عرض و ۳ سانتی‌متر قطر دارد، وزن آن هم ۱۰ تا ۱۴ گرم می‌باشد. بیضه‌ها دارای دو وظیفه اصلی تولید سلول‌های جنسی نر[۴] و ترشح هورمون‌های مسئول به وجود آمدن صفات جنسی هستند. بافت بیضه از دو قسمت اصلی سلول‌های بینابینی[۵] و لوله‌های اسپرم‌ساز[۶] تشکیل شده است (Weinbauer *et al.*, 2010).



شکل ۱-۱ دیاگرامی از ساختمان بیضه (Constantinescu *et al.*, 2007).

۱ Scrotum
۲ dartos
۳ cremaster
۴ spermatozoa
۵ Interstitial Cells
۶ Seminiferous Tubules

۱- سلول های بینابینی: مهم ترین سلول‌های این بخش سلول‌های لایدیگ[۱] می‌باشند که اولین بار در سال ۱۸۵۰ توسط فرانز لایدیگ[۲]توصیف شدند. این سلول‌ها منبع تستوسترون و فاکتور شبه‌انسولین ۳ [۳](INSL3) بیضه می‌باشند. در بخش بینابینی علاوه بر سلول‌های لایدیگ، سلول‌های سیستم ایمنی، رگ‌های خونی و لنفاوی، اعصاب، فیبروبلاست و بافت همبند سست نیز وجود دارد. در انسان بخش بینابینی بیضه شامل ٪۱۲-۱۵ از حجم کل بیضه است که ٪۱۰-۲۰ آن را سلول‌های لایدیگ در بر می گیرد. بیضه انسان دارای حدود[۶] ۱۰ × ۲۰۰ سلول لایدیگ می‌باشد (Weinbauer *et al.*, 2010).

۲- لوله‌های اسپرم ساز: قسمت خارجی بیضه‌ها را غشای سختی به نام تونیکا آلبوژینا[۴] در بر گرفته‌است و از آن دیواره‌های فیبری به درون بیضه‌ها نفوذ کرده و آن را به حدود ۲۵۰-۳۰۰ لوبول[۵]تقسیم می‌کند. هر لوبول دارای ۱-۳ لوله اسپرم‌ساز بسیار پیچیده است. این لوله‌ها دارای سلول‌های زایا[۶] و دو نوع مختلف از سلول‌های غیرجنسی[۷] شامل سلول‌های سرتولی[۸] و سلول‌های اطراف‌لوله‌ای[۹] هستند (Johnson *et al.*, 2008;Weinbauer *et al.*,2010). لوله‌های اسپرم بسیار پیچیده و حدود ۱۲۰ تا ۳۰۰ میکرومتر قطر و ۳۰ تا ۷۰ سانتی متر طول دارند و واحد عملکردی بیضه هستند، که در آن‌ها پدیده اسپرماتوژنزرخ می‌دهد (Goodman, 2002). لوله‌های اسپرم سازحدود ٪۶۰-۸۰ از حجم کل بیضه‌ها را تشکیل می‌دهند. به طور کلی، بیضه انسان دارای حدود ۶۰۰ لوله اسپرم ساز است. طول هر لوله اسپرم ساز حدود ۳۰-۸۰ سانتی متر است. با توجه به میانگین تعداد حدود ۶۰۰ لوله اسپرم ساز در بیضه، کل طول لوله اسپرم ساز حدود ۳۶۰ متر برای هر بیضه می‌باشد به عنوان مثال، اپیتلیوم اسپرم‌ساز در انسان۷۲۰ متر است. قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در ناحیه‌ی لوله‌های راست کم می‌شود پوشش آن مکعبی ساده است و این لوله‌ها، لوله‌های اسپرم‌ساز را به شبکه بیضه پیوند می‌دهند (Weinbauer *et al.*, 2010).

الف)سلول‌های سرتولی: سلول‌های رده سرتولی، سلول‌های سوماتیک واقع در اپیتلیوم زایا هستند و نام آن‌ها برگرفته از نام انریکو سرتولی[۱۰]، دانشمند ایتالیایی می‌باشد که اولین بار این سلول‌ها را در سال ۱۸۶۵ شناسایی نمود. این سلول‌ها بر روی غشای پایه قرار گرفته‌اند و به سمت لومن لوله‌های اسپرم ساز گسترش یافته و به عنوان ساختار حمایت از اپیتلیوم زایا[۱۱] در نظر گرفته می‌شوند. حدود ٪۳۵-۴۰ از حجم اپیتلیوم زایا سلول‌های

---

۱ Leydig Cells
۲ Franz Leydig
۳ insulin-like factor 3
۴ TonicaAlbogina
۵ Lobuli
۶ Germinal Cells
۷ somatic cells
۸ Sertoli cells
۹ Peritubular cells
۱۰ Enrico Sertoli
۱۱ supporting structure of the germinal epithelium

رده سرتولی هستند. بیضه‌های سالم با اسپرماتوژنز کامل دارای $۱۰^{۶}$×۱۲۰۰ - ۸۰۰ سلول سرتولی یا $۱۰^{۶}$× ۲۵ سلول سرتولی در هر گرم بافت بیضه می‌باشند(Weinbauer *et al.*, 2010).

سلول‌های سرتولی، سلول‌های پرستار بیضه هستند که دارای عملکردهایی از جمله پشتیبانی، محافظت، تغذیه، تنظیم و آزاد کردن سلول‌های جنسی در حال رشد در مراحل اسپرماتوژنز، فاگوستیوز سلول‌های زایای تخریب شده و تولید پروتئین‌های مؤثر درتنظیم ترشح هورمون هیپوفیزی مؤثر بر فعالیت میتوزی اسپرماتوگونی می‌باشند (Johnson *et al.*,2008). پیوندهای سلول‌های سرتولی تشکیل سد خونی بیضه‌ای[۱] را می‌دهند، که محفظه خون بینابینی بیضه را از محفظه نزدیک مرکز لوله‌های اسپرم ساز جدا می‌کند (Waites *et al.*, 1985). سلول‌های سرتولی به وسیله سد خونی بیضه ای ورود و خروج مواد غذایی، هورمون‌ها و دیگر مواد شیمیایی را به لوله‌های اسپرم بیضه کنترل می‌کنند و از آسیب اسپرم جلوگیری می‌کنند (Johnson *et al.*,2008). کار مهم دیگر سلول‌های رده سرتولی این است که آن‌ها مسئول نهایی حجم بیضه و تولید اسپرم در بزرگسالان هستند. تعداد اسپرم در هرسلول سرتولی به گونه بستگی دارد. در انسان حدود ۱۰ سلول زایا یا ۱/۵ اسپرم در هر سلول سرتولی مشاهده می‌شود (Weinbauer *et al.*, 2010). سلول‌های سرتولی عوامل مهم و ضروری برای تمایز اسپرماتوگونی به اسپرم را تولید می‌کنند و نقش اصلی را در تمایز و تکامل سلول های روند اسپرماتوژنز دارند. این سلول‌ها با تسهیل حمل و نقل یون‌ها و هورمون‌ها به سلول‌های زایا، پروتئین اتصال شونده به آندروژن[۲] (ABP)، ترانسفرین[۳]و سرولوپلاسمین[۴]، پروتئاز و مهار کننده‌های پروتئازی که نقش مهمی در فرآیندهای بازسازی بافت در طول آزاد سازی اسپرم یا حرکت اسپرماتوسیت به سمت لوله‌های اسپرم ساز دارد و تشکیل اجزای ساختاری غشای پایه بین سلول‌های رده سرتولی و اطراف‌لوله‌ای باعث تمایز اسپرماتوزوئیدها می‌شوند (Sofikitis *et al.*, 2008).

ب)سلول‌های اطراف‌لوله‌ای: لوله‌های اسپرم ساز توسط یک آسترمخاط[۵] پوشیده شدند که از یک غشای پایه، یک لایه کلاژن و سلول‌های اطراف‌لوله‌ای (میوفیبروبلاست[۶]) ساخته می‌شود. این سلول‌ها به شکل لایه‌ای اطراف لوله‌ها هستند. لوله‌های اسپرم ساز بیضه انسان تنها توسط۲-۴ لایه از میوفیبروبلاست‌ها در بر گرفته شده است. سلول‌های اطراف لوله‌ای ماده زمینه‌ای خارج سلولی[۷] و عوامل متعددی که در انقباض سلولی دخالت دارند، را ترشح می‌کنند (Weinbauer *et al.*, 2010). سلول‌های اطراف لوله‌ای در جوندگانی مانند موش به شکل تک لایه هستند و ترشح ماده زمینه‌ای خارج سلولی آن ناچیز است. این سلول‌ها شاید برای تکوین و به طور کلی عملکرد بیضه، اسپرماتوژنز و باروری در جوندگان ضروری باشند. تغییرات ریخت شناسی سلول‌های اطراف لوله‌ای

---

۱ blood–testis barrie

۲ androgen-binding protein

۳ transferrin

۴ ceruloplasmin

۵ lamina propria

۶ myofi broblasts

۷ extracellular matrix

و ذخیره ماده زمینه‌ای خارج سلولی توسط عوامل مختلف بیانگر این است که عملکرد این سلول‌ها ممکن است تغییر کند (Mayerhofer, 2013).

۱-۱-۱-۲ مجراهای سیستم تولید مثلی نر

۱- مجرای وابران[۱] : لوله‌ای است که از دم اپیدیدیم[۲] شروع می‌شود و وظیفه اصلی این اندام، انتقال و خارج ساختن اسپرم های تولیدشده از بیضه‌ها می‌باشد (Hess, 2002).

۲- اپیدیدیم: لوله‌های اسپرم ساز برای تبدیل شدن به اپیدیدیم با یکدیگر پیوند می‌یابند. اپیدیدیم لوله-ای است که در حدود ۶ تا ۸ متر طول دارد و به شکل مارپیچی بر روی سطح پشتی بیضه قرار دارد. این کانال مخزن اسپرماتوزوئیدها بوده، انتقال، تراکم و تغلیظ، تکامل و بلوغ اسپرم‌ها را به عهده دارد (Aisen, 2013). ساخت و ترشح ترکیب‌هایی مانند اسید سیالیک، پروتئین و گلیسریل فسفوریل کولین[۳] به وسیله بافت پوششی اپیدیدیم با کنترل آندروژن، یک محیط مایع مناسب برای بلوغ اسپرم فراهم می‌کند(Rajalakshmi, 1985).در مدت حضور اسپرم در اپیدیدیم، تغییراتی از لحاظ شکل، اندازه، تحرک، نفوذپذیری و حساسیت نسبت به گرما در اسپرم صورت می‌گیرد و سرانجام اسپرم قدرت باروری می‌یابد. ادامه اپیدیدیم مجرای منی‌بر را تشکیل می‌دهد(Cooperand Yeung, 2010).

اپیدیدیم از سه قسمت تشکیل شده است:

الف) سر: قسمت پهن اپیدیدیم است و به سطح پشتی در هر بیضه چسبیده است. بخشی از تکامل اسپرماتوزوآ، در این قسمت صورت می‌گیرد. سر اپیدیدیم به وسیله مجراهای کوچکی به نام مجاری آوران به لوله‌های اسپرم ساز بیضه متصل است.

ب) تنه: قسمت لوله‌ای طناب مانندی است که به حاشیه عقبی بیضه چسبیده است.

ج) دم: در قسمت انتهای سطح زیرین هر بیضه قرار دارد. در این قسمت، سلول جنسی کامل و بالغ می‌شود. دم محل ذخیره اسپرماتوزوآهای تولید شده است و به لوله اسپرم بر یا وابران اتصال دارد (Robaire *et al.*, 2006).

۳- مجرای آوران: مجرای آوران[۴] یا مجرای اسپرمی به طول ۴۵ سانتی‌متر از دم اپیدیدیم آغاز و به آمپول[۵] که ناحیه گشاد شده‌ای قبل از پروستات است، پایان می‌یابد. نقش اصلی آن بیرون راندن اسپرم با کمک انقباض ماهیچه‌ها و انتقال سریع آن در هنگام انزال است (Klapholz, 2000).

---

۱ Efferent ductules

۲ Epididymis

۳ glycerylphosphoryl choline

۴ Ductus Deferens

۵ Ampulla

۱-۱-۱-۳ غده های ضمیمه سیستم تولید مثلی نر

غده‌های ضمیمه تولید مثلی ترشحاتی را تولید می‌کنند که برای عملکرد تولیدمثلی در جنس نر ضروری است و شامل کیسه‌های منی[۱] یا وزیکول سمینال، غده پروستات[۲] و غده پیازی میزراهی[۳] است (جان کوئیرا، ۱۹۲۰).

۱- کیسه‌های منی: کیسه‌های منی از دو لوله پرپیچ و خم به طول تقریبی ۱۵ سانتی‌متر تشکیل شده اند. وظیفه اصلی آن‌ها، ترشح مایع منی می‌باشد. فروکتوز موجود در مایع منی منبع انرژی برای زندگی و حرکت اسپرماتوزوآها می‌باشد (جان کوئیرا، ۱۹۲۰). عملکرد وزیکول سمینال در حیوانات و انسان تحت کنترل آندروژن است. در پژوهش‌ها ارتباط بین سطح سرمی تستوسترون و سطح فروکتوز وزیکول سمینال مشخص گردید. برخی از ترشح‌های آن مانند فروکتوز، پتاسیم، بی کربنات، پروستاگلاندین‌ها و پرولاکتین به طور مستقیم باعث تحرک اسپرم از طریق تولید انرژی لازم برای حرکت آن می‌شوند (Gonzales, 1989).

۲- غده پروستات: غده پروستات نقش مهمی درسیستم تولید مثلی نر دارد و بزرگترین غده ضمیمه است که درابتدای میزراه و گردن مثانه قرار دارد. پروستات یک مایع رقیق شیری شکل قلیایی دارای کلسیم، سدیم، فسفر، گلوکز، فروکتوز، اسیدفسفاتاز و ویتامینC ترشح می‌کند که طی عمل انزال به مجرای پیشابراه می‌ریزد. این احتمال وجود دارد که مایع پروستاتی اسیدیته مایعات را بعد از انزال خنثی کرده و قابلیت تحرک و باروری اسپرم‌ها را به مقدار زیادی افزایش می‌دهد. انقباض عضله صاف غده پروستات در طی انزال به خروج مایع منی از مجرای ادراری کمک می‌کند. ترشح آنزیم‌ها، چربی‌ها، آمین‌ها و یون‌های فلزی آن برای عملکرد طبیعی اسپرم ضروری‌است (Kumar *et al.*,2010).

۳- غده‌های پیازی میزراهی: غده‌های پیازی میزراهی نیز غده‌های کوپر[۴] نامیده می‌شوند، این غده‌ها یک جفت هستند و در عقب غده پروستات قرار دارند و به مجرای خروجی مثانه می‌ریزند. با قلیایی کردن مایع منی به خنثی کردن PH اسیدی واژن کمک می‌کنند و امکان تحرک اسپرم را در محیط نامطلوب فراهم می-کنند(Gail, 2006).

۱-۲ تکوین سیستم تولید مثلی نر

اگرچه جنسیت از نظر ژنتیکی در همان زمان لقاح تعیین می‌شود، ولی غده‌های جنسی[۵] ویژگی نر و ماده بودن را تا اواخر دوران جنینی به دست نمی‌آورند (Schatten, 2007). در ابتدا غدد جنسی به صورت یک جفت برجستگی طولی به نام برجستگی گنادی یا جنسی[۶] تشکیل می‌شوند (Desjardins, 1978). سلول‌های زایای

---

۱ Seminal vesicles
۲ Prostate gland
۳ Bulbourethral Glands
۴ Cowper
۵ Gonads
۶ gonadal or genital ridge

ابتدایی[1] که در پستانداران از آندودرم بخش پشتی کیسه زرده منشا می‌گیرند (Desjardins,1978) روی گنادها اثر القایی داشته و آن‌ها را به سمت بیضه یا تخمدان پیش می‌برند (Davies, 1978; Schatten, 2007). سلول‌های اپی تلیوم برجستگی جنسی کمی قبل و در طی ورود سلول‌های زایای ابتدایی تکثیر یافته، سلول‌های حاصل از تکثیر به درون مزانشیم زیرین نفوذ می‌کنند و تعدادی طناب سلولی نامنظم تشکیل می‌دهند که طناب‌های جنسی ابتدائی[2] نام دارند. طناب‌ها به اپیتلیوم سطحی چسبیده‌اند و تشخیص جنس نر از ماده غیر ممکن است، بنابراین گناد را در این مرحله گناد نامتمایز گویند (Davies, 1978; Schatten, 2007).

۱-۲- ۱ تمایز بیضه ها

از نظر ژنتیکی، جنین نر سلول‌های زایای با کروموزومXY را حمل می کند. انتهای بازوی کوتاه کروموزوم Y دارای ژنSRY[3] است که این ژن رمز کننده‌ی عامل تعیین کننده بیضه (TDF[4]) در انسان است که تمایز بیضه را هدایت می‌کند، در نتیجه گناد جنسی ایجاد می‌شود (Schatten, 2007:Rao and Burnett, 2013). در حضور TDF، تکثیر طناب‌های جنسی ابتدائی ادامه می‌یابد و این طناب‌ها به طور عمقی در مدولا نفوذ می‌کنند و بیضه یا طناب‌های مدولاری[5] را تشکیل می‌دهند. در وسط بیضه طناب‌ها منشعب می‌شوند و شبکه‌هایی از رشته‌های ظریف سلولی به نام شبکه بیضه را تشکیل می‌دهند. سلول‌های طناب جنسی که دیواره‌های لوله‌های اسپرم ساز را تشکیل می‌دهند، به سلول‌های سرتولی تمایز می‌یابند.

سلول‌های مزانشیم بینابینی بیضه‌ها به سلول‌های بینابینی (لایدیگ)تمایز می‌یابند. در حدود هفته هشتم سلول های لایدیگ شروع به ترشح تستوسترون می‌کنند که می‌تواند تمایز مجاری و بخش‌های خارجی سیستم تولیدمثلی نر را تحت تأثیر قرار دهد. پس از مجرا دارشدن لوله‌های اسپرم ساز، این لوله‌ها به لوله‌های شبکه بیضه پیوند می‌یابند و وارد مجاری وابران می‌شوند (Schatten, 2007). مجاری وابران قسمت‌های باقی مانده لوله‌های مزونفریک هستند. این مجاری شبکه بیضه را به مجرای مزونفریک مرتبط می‌کنند، مجرای ولف نیز به مجرای دفران تبدیل می‌شود (Davies, 1978). از آنجایی که مدولا بخش عملکردی بافت بیضه است، قسمت قشر کاهش می‌یابد و از اپیتلیوم سطحی توسط یک لایه ضخیم از بافت همبند به نام تونیکا آلبوژینا جدا می‌شود. آلبوژینا در مسیر رگ‌های خونی به کار می‌رود (Sadler, 2004; Schatten, 2007; Rao and Burnett, 2013).

۱-۳ اسپرماتوژنز و سلول‌های زایا

اسپرماتوژنز با تقسیم سلول‌های بنیادی شروع می‌شود و با شکل گیری اسپرم‌های بالغ به پایان می‌رسد. سلول‌های زایای مختلف با توده‌های سلولی منظم در داخل لوله‌های اسپرم‌ساز به عنوان مراحل اسپرماتوژنز

---

۱ primordial germ cell

۲ primitive sex cord

۳ sex determining region Y

۴ testis-determining factor (TDF)