گروه زیست شناسی

عنوان پایان نامه:

بررسی قابلیت حیات اسپرم انسان تیمار شده با سدیم آرسنیت به کمک سنجش MTT

توسط:

عباس بختیاری

اساتید راهنما:

آقای دکترحمید رضا مؤمنی

آقای دکتر ملک سلیمانی

استاد مشاور:

آقای دکتر محمد حسین آبنوسی

۱۳۹۱

سپاسگزاری

سپاس بیکران خداوند حکیم را سزاست که توفیق کسب دانش را مقرر داشت.

از همه اساتید بزرگواری که در این مسیر با آموزش و راهنمایی خود یاریگرم بودند سپاسگزارم.

مخصوصاً از راهنمایی های ارزشمند استاد بزرگوار جناب آقای دکتر حمید رضا مؤمنی تقدیر می نمایم و آرزوی سربلندی و توفیق مداوم ایشان را دارم.

از استاد محترم جناب آقای دکتر ملک سلیمانی برای راهنمایی این پایان نامه سپاسگزاری می کنم.

از آقای دکتر محمد حسین آبنوسی که استاد مشاور این پروژه بودند و در طی مراحل مختلف یاریگر من بودند سپاسگزاری می نمایم.

همچنین از آقایان فراهانی و بنه و خانم اسکندری کارشناسان محترم آزمایشگاه متشکرم.

از مسئولین و پرسنل آزمایشگاه سینا اراک برای همکاری در تهیه نمونه تشکر می کنم.

در پایان از خانواده خود نیز که در طی دوران تحصیل دوری و مشکلات را با صبوری تحمل کرده و طی مسیر را برای من آسان نمودند سپاسگزاری ویژه می نمایم.

این پایان نامه با حمایت مالی حوزه معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اراک به انجام رسید که از مسئولین مربوطه تشکر و قدردانی به عمل می آید.

چکیده

بررسی قابلیت حیات اسپرم انسان تیمار شده با سدیم آرسنیت به کمک سنجش MTT

سنجش قابلیت حیات اسپرم به روش MTT (3[4,5- diphenyltetrazoliumbromid -2,5-dimethylthiazol-2-yl]) یکی از روش های ارزیابی کیفیت اسپرم محسوب می شود که می تواند اطلاعات مفیدی را در خصوص باروری اسپرم ارائه نماید. هدف این پژوهش بررسی کمی قابلیت حیات اسپرم انسان با استفاده ازسنجشMTT بود. علاوه بر آن در این مطالعه اثرات مضر سدیم آرسنیت بر قابلیت حیات اسپرم انسان مورد بررسی قرار گرفت.

پس از تهیه ی نمونه های اسپرم انسان، پارامترهای اسپرمی (شمارش و قابلیت تحرک) تعیین شد تا اطلاعات اولیه ای از لحاظ کیفیت اسپرم کسب گردد. سپس اسپرم ها با محیط کشت Ham's F10 + 25 mM Hepes شستشو داده شد. با استفاده از جذب نوری MTT حاصل از مخلوط درصد های مختلف اسپرم زنده و مرده منحنی استاندارد رسم شد. سپس با استفاده از معادله رگرسیون بدست آمده از منحنی استاندارد قابلیت حیات ۲۰ نمونه اسپرمی (در هر نمونه ۳×۱۰^{۶} اسپرم) که به روش MTT سنجش شده بود محاسبه گردید. علاوه بر این قابلیت حیات این نمونه ها به روش ائوزین-نگروزین سنجش شد تا مقایسه ای با سنجش MTT انجام شود.

اسپرم های شسته شده به دو گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل و ۲- گروه تیمار با غلظت های ۰، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۳، ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار سدیم آرسنیت در زمان های ۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه. سپس قابلیت حیات نمونه های کنترل و تیمار به روش سنجش MTT و ائوزین-نگروزین مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین از نمونه های تیمار شده گسترش تهیه شد. به منظور بررسی جنبه های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی آپوپتوزیس در هسته اسپرم های گروه کنترل و تیمار، رنگ آمیزی هوخست (Hoechst)، دیف کوئیک (Diff-Quick) و تانل(TUNEL) بر روی گسترش های اسپرمی انجام شد. علاوه برآن جهت بررسی تمامیت DNA و وضعیت پروتامین به ترتیب رنگ آمیزی آکریدن اورنژ و آنیلین بلو بر روی گسترش های اسپرمی صورت گرفت. داده های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS و روش آنالیز واریانس اندازه گیری تکراری (Repeated measure) و T-test مورد تجزیه و تحلیل آماری قرارگرفت و تفاوت میانگین ها در سطح $P < ۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

مقایسه درصد قابلیت حیات ۲۰ نمونه اسپرمی حاصل از دو روش سنجش MTT و ائوزین-نگروزین مشخص نمود که در اکثر نمونه ها سنجش MTT درصد بالاتری در قابلیت حیات اسپرم نسبت به روش ائوزین–نگروزین را نشان داد. در بررسی قابلیت حیات اسپرم های تیمار شده با سدیم آرسنیت به کمک سنجش MTT نشان دهنده اثر متقابل معنی داری ($P< ۰/۰۰۱$) بین غلظت و زمان بر درصد قابلیت حیات اسپرم بود. بررسی ماده ژنتیکی اسپرم شامل تمامیت DNA (دناتوره شدن ساختمان دو رشته ای به تک رشته ای) و همچنین تغییرات پروتامین در اسپرم های تیمار شده با سدیم آرسنیت در مقایسه با گروه کنترل تاثیر قابل ملاحظه ای مشاهده نشد. همچنین

نتایج بررسی مشخصات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی آپوپتوزیس در هسته اسپرم های تیمار شده با سدیم آرسنیت در مقایسه با گروه کنترل تغییر قابل توجهی نداشت.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که سنجشMTT به عنوان یک روش مناسب می تواند برای ارزیابی کمی قابلیت حیات اسپرم انسان مورد استفاده قرار گیرد و نسبت به روش ائوزین– نگروزین دقیق تر می باشد. همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سدیم آرسنیت باعث کاهش معنی دار قابلیت حیات اسپرم انسان می شود و این کاهش از اختلال در تمامیت DNA، تغییر پروتامین ویا تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی آپوپتوزیس در هسته اسپرم ناشی نشده است.

کلید واژه ها: اسپرم انسان، سنجش MTT، قابلیت حیات اسپرم، سدیم آرسنیت.

فهرست مطالب **صفحه**

فصل اول مقدمه

۱-۱ تولید مثل جنسی ۱

۱-۲ آناتومی و فیزیولوژی دستگاه تولید مثل مرد ۱

۱-۲-۱ بیضه

۱-۱-۲-۱ ساختار بیضه ۱

۱-۱-۲-۲ لوله های اسپرم ساز ۲

۱-۱-۲-۳ سلول های سرتولی ۳

۱-۱-۲-۴ سلول های لایدیگ ۴

۱-۲-۲ غدد ضمیمه و مجاری ۴

۱-۲-۳ اپی دیدیم ۴

۱-۲-۴ تغییرات اسپرم در اپی دیدیم ۵

۱-۲-۵ تکامل اسپرم در اپی دیدیم ۶

۱-۲-۶ مجرای دفران ۷

۱-۲-۷ وزیکول سمینال ۸

۱-۲-۸ پروستات ۸

۱-۲-۹ غده های کوپر ۹

۱-۳ فیزیولوژی منی و اسپرم سازی ۹

۱-۳-۱ مایع منی و اجزای آن ۱۰

۱-۳-۲ مواد شیمیایی اپی دیدیم ۱۰

۱-۳-۳ مواد شیمیایی غدد ضمیمه ۱۰

۱-۳-۴ متابولیسم انرژی در اسپرم..... ۱۱

۱-۳-۵ عوامل مؤثر برمیزان متابولیسم اسپرم ۱۲

۱-۳-۶ اثر دما بر اسپرم ۱۲
۱-۳-۷ اثر pH ۱۲
۱-۳-۸ اسپرم سازی ۱۳
۱-۳-۹ مرحله میتوز ۱۳
۱-۳-۱۰ مرحله میوز ۱۳
۱-۳-۱۱ تشکیل اسپرم ۱۴
۱-۳-۱۲ اسپرمیوژنز ۱۴
۱-۳-۱۳ خصوصیات اسپرم ۱۵
۱-۳-۱۴ مورفولوژی و ترکیب شیمیایی اسپرم ۱۵
۱-۳-۱۵ عوامل هورمونی محرک اسپرماتوژنز ۱۷
۱-۴ ناهنجاریهای تولید مثلی در مردان ۱۷
۱-۴-۱ آسیب بیضه ای ۱۸
۱-۴-۲ واریکوسل ۱۸
۱-۴-۳ سرطان بیضه ای ۱۸
۱-۴-۴ اسپرماتوژنز و باروری غیر طبیعی در مرد ۱۸
۱-۴-۵ اثر درجه حرارت بر اسپرماتوژنز ۱۸
۱-۴-۶ اثر تعداد اسپرماتوزویید ها بر باروری ۱۹
۱-۴-۷ اثر شکل و قابلیت تحرک اسپرماتوزویید بر باروری ۱۹
۱-۴-۸ ناهنجاری های ساختمانی اسپرم ۱۹
۱-۴-۸-۱ ناهنجاری های اولیه ساختمانی اسپرم ۱۹
۱-۴-۸-۲ ناهنجاری های ثانویه ساختمانی اسپرم ۲۰
۱-۵ روش های بررسی کیفیت نمونه های اسپرم ۲۰

۱-۶ آسیب DNA اسپرم و روش های بررسی آن

۱-۶-۱ آسیب DNA ۲۱

۱-۶-۲ منشاء آسیبDNA اسپرم ۲۲

۱-۶-۳ مکانیسم عوامل اصلی ایجاد کننده آسیب DNA

۱-۶-۳-۱ بسته بندی غیرطبیعی کروماتین ۲۲

۱-۶-۴ نقش آپوپتوزیس در آسیب DNA اسپرم ۲۴

۱-۶-۵ استرس اکسیداتیو به واسطه Reactive Oxygen Species(ROS) ۲۵

۱-۶-۶ روش های تعیین آسیب DNA اسپرم ۲۷

۱-۶-۶-۱ آزمون تانل (TUNEL) ۲۷

۱-۶-۶-۲ روش کامت (COMET) ۲۸

۱-۶-۶-۳ (SCSA) Sperm Chromatin Structure Assay ۲۸

۱-۶-۶-۴ آزمون آنیلین بلو ۳۰

۱-۷ آرسنیک

۱-۷-۱ تاریخچه ۳۰

۱-۷-۲ متابولیسم آرسنیک ۳۲

۱-۷-۳ مکانیسم عمل آرسنیک

۱-۷-۳-۱ ناهنجاری های کروموزومی ۳۳

۱-۷-۳-۲ استرس اکسیداتیو ۳۴

۱-۷-۳-۳ افزایش تکثیر سلولی ۳۴

۱-۷-۳-۴ کاهش تعمیر DNA ۳۵

۱-۷-۳-۵ تغییر بیان ژن

۱-۷-۳-۵-۱ تغییر بیان ژن P53 ..... ۳۵

۱-۷-۳-۵-۲ تغییر در الگوهای متیلاسیون DNA ۳۶

۱-۳-۵-۳-۷-۱ تغییر فاکتورهای رونویسی ۳۶
۱-۳-۷-۳-۶ افزایش و تقویت ژنی ۳۶
۱-۴-۷-۱ نگاهی اجمالی به تاریخچه کاربردهای درمانی آرسنیک ۳۶
۱-۸ مرگ سلولی ۳۷
۱-۸-۱ خصوصیات مورفولوژیکی آپوپتوزیس ۳۸
۱-۸-۲ خصوصیات مورفولوژیکی نکروزیس ۳۸
۱-۸ -۳ خصوصیات بیوشیمیایی آپوپتوزیس و نکروزیس ۳۹
۱-۸-۴ تفاوت تغییرات بیوشیمیایی آپوپتوزیس و نکروزیس ۳۹
۱-۸-۵ مکانیسم آپوپتوزیس ۴۰
۱-۹ آپوپتوزیس و آرسنیک ۴۱
۱-۱۰ تشخیص مرگ سلولی ۴۲
۱-۱۰-۱ رنگ فلورسنت هوخست Hoechst ۴۲
۱-۱۰-۲ تکنیک تانل TUNEL ۴۲
۱-۱۱ مروری برمطالعات انجام شده
۱-۱۱-۱ اثر آرسنیک بر تولید مثل جنس نر ۴۳
۱-۱۲ هدف از مطالعه ۴۸

فصل دوم مواد و روش ها

۲-۱ نمونه ها ۵۰
۲-۲ روش شستشوی نمونه ها ۵۰
۲-۳ بررسی تعداد اسپرم ۵۰
۲-۴ روش و زمان تیمار با سدیم آرسنیت ۵۰
۲-۵ بررسی قابلیت حیات اسپرم
۲-۵-۱ سنجش MTT ۵۱
۲-۵-۲ آزمون ائوزین - نگروزین ۵۲

۲-۶ بررسی تحرک اسپرم ۵۳

۲-۷ بررسی ماده ژنتیکی اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی ویژه هسته

۲-۷-۱ رنگ آمیزی اکریدن اورنژ (AO) ۵۳

۲-۷-۲ رنگ آمیزی آنیلین بلو ۵۴

۲-۷-۳ رنگ آمیزی فلورسنت با هوخست (Hoechst) ۵۵

۲-۷-۴ رنگ آمیزی تانل (TUNEL) ۵۵

۲-۷-۵ رنگ آمیزی دیف کوئیک (Diff-Quick) ۵۷

۲-۸ روش آنالیز آماری داده ها ۵۷

فصل سوم نتایج

۳-۱ بررسی کمی قابلیت حیات اسپرم انسان به کمک سنجش MTT ۶۰

۳-۲ بررسی قابلیت حیات اسپرم انسان تیمار شده با سدیم آرسنیت به کمک سنجش MTT ۶۲

۳-۳ بررسی ماده ژنتیکی اسپرم انسان تیمار شده با سدیم آرسنیت با استفاده از رنگ آمیزی ویژه هسته

۳-۳-۱ بررسی تمامیت DNA (رنگ آمیزی اکریدین اورنژ – AO) ۶۳

۳-۳-۲ بررسی تغییرات پروتامین و هیستون در DNA اسپرم انسان تیمار شده با سدیم آرسنیت (رنگ آمیزی آنیلین بلو – AB) ۶۴

۳-۴ بررسی وقوع آپوپتوزیس در اسپرم های تیمار شده با سدیم آرسنیت

۳-۴-۱ رنگ آمیزی هوخست ۶۵

۳-۴-۲ رنگ آمیزی دیف کوئیک (Diff-Quick) ۶۵

۳-۴-۳ سنجش تانل (TUNEL) ۶۶

فصل چهارم بحث و نتیجه گیری

۴-۱ بررسی قابلیت حیات اسپرم انسان ۶۸

۴-۲ بررسی اثر سدیم آرسنیت بر قابلیت حیات اسپرم ۶۹

۴-۳ بررسی تمامیت DNA (رنگ آمیزی اکریدین اورنژ – AO) ۷۱

۴-۴ بررسی تغییرات پروتامین و هیستون در DNA اسپرم (رنگ آمیزی

آنیلین بلو – AB) ۷۳

۴-۵ بررسی وقوع آپوپتوزیس در اسپرم های تیمار شده با سدیم آرسنیت ۷۳

۴-۶ نتیجه گیری ۷۴

۴-۷ پیشنهادات برای تحقیقات آینده ۷۵

فصل پنجم ضمائم

۵-۱ روش تهیه محلول MTT ۷۶

۵-۲ روش تهیه محلول ائوزین- نگروزین ۷۶

۵-۳ محلول های لازم جهت رنگ آمیزی اکریدین اورنژ ۷۶

۵-۴ محلول های لازم جهت رنگ آمیزی آنیلین بلو ۷۷

۵-۵ محلول های لازم جهت رنگ آمیزی هوخست ۷۷

منابع ۷۸

چکیده و صفحه ی عنوان پایان نامه به زبان انگلیسی

فصل اول

مقدمه

۱-۱ تولید مثل جنسی

در جانوران معمولاً تولید مثل بصورت جنسی و با مشارکت دو جنس نر و ماده انجام می شود. در جانوران دستگاه تولید مثل برای تولید سلول جنسی، تولید هورمون های جنسی و غیره ایجاد شده است که در ادامه دستگاه تولید مثل مرد توضیح داده می شود.

۱-۲ آناتومی و فیزیولوژی دستگاه تولید مثل مرد

دستگاه تولید مثل مردان از بیضه‌ها، مجاری اپی دیدیم و دفران، غدد ضمیمه شامل: پروستات، وزیکول سمینال وکوپر(پیازی-میزراهی)، اسکروتوم (کیسه بیضه)، اسپرماتیک کورد و آلت تناسلی تشکیل می شود (شکل ۱-۱).

شکل ۱-۱: بخشی از دستگاه تولید مثل (www. studyblue.com).

۱-۲-۱ بیضه

۱-۱-۲-۱ ساختار بیضه

بیضه از دو عضو بیضی شکل تشکیل شده است که در کیسه بیضه و در خارج از بدن قرار دارند.

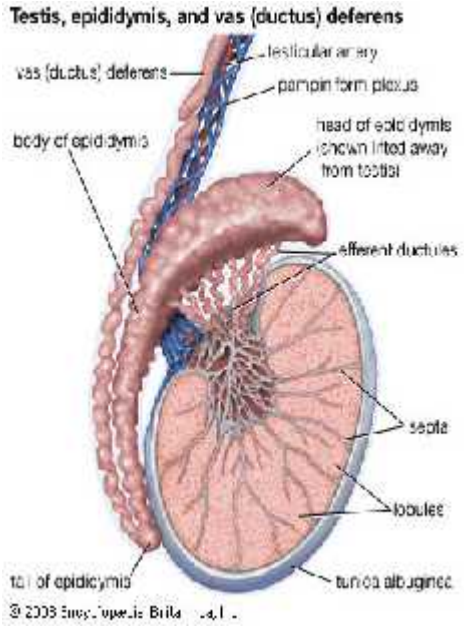
بیضه‌ها تخم مرغی شکل هستند و حدود ۵ سانتی‌متر طول ، ۳ سانتی متر قطر و ۲۵ گرم وزن دارند. بیضه‌ها علاوه بر تولید و نگهداری اسپرم، بخشی از دستگاه غدد درون ریز بدن هستند.

لایه سفید پرده (تونیکا آلبوژینا) که روی بیضه را می پوشاند، به سمت داخل تا بافت پیوندی مرکزی بیضه (مدیاستینوم) پیش می رود و تیغه ها را بوجود می آورد و هر بیضه را به ۲۵۰ لوبول تقسیم می کند.

در داخل بیضه تعداد زیادی لوله های اسپرم ساز به صورت پیچ خورده، به طول حدود ۲۴۰ متر در داخل بخش هایی که آن ها را از هم جدا می کند قرار گرفته و در حد و فاصل آن ها سلول های

لایدیگ قرار دارند. این لوله ها به تدریج به یکدیگر پیوسته و شبکه بیضه را می سازند. اپی دیدیم نیز از لوله پر پیچ و خمی به طول حدود ۶ متر تشکیل شده است.

از انتهای اپی دیدیم مجرای دفران شروع می شود که پس از عبور از کانال کشاله ران وارد لگن شده و با مجرایی که از وزیکول سمینال می آید یکی شده و مجرای اسپرم بر را می سازد [۱] (شکل۲-۱).



شکل ۲-۱: قسمت ها ی تشکیل دهنده بیضه(Encyclopedia Britannica, Inc.).

۲-۱-۲-۱ لوله های اسپرم ساز

هر لوبول شامل یک تا سه لوله کاملاً پیچیده است که به نام لوله ی اسپرم ساز خوانده می شود.

هر کدام از این لوله ها در هنگام باز بودن در حدود ۷۰ سانتی متر طول دارد.

دیواره این لوله دو نوع سلول دارد. سلول های اسپرم زا و سلول های سرتولی.

پیرامون لوله های اسپرم ساز، سلول های مایویید یا پری تیوبولار قرار دارند که نوعی سلول انقباضی هستند. انقباض این سلول ها و مایع ساخته شده در لوله های اسپرم ساز، به جابجایی اسپرم و فرستادن آن ها به لوله های وابران کمک می کنند [۱].

۳-۱-۲-۱ سلول های سرتولی

سلول های سرتولی نقش تغذیه ای، ترشح هورمون اینهیبین [هورمون متوقف کننده FSH (follicle stimulating hormone)] و ایجاد سد خونی بیضه ای را دارند. سد خونی بیضه ای از اتصال محکم بین نواحی خارجی سلول های سرتولی ایجاد می شود.

اسپرم های در حال تکامل دارای آنتی ژن های سطحی هستند که به وسیله سیستم ایمنی بدن به عنوان جسم خارجی تشخیص داده می شوند. لوله های اسپرم ساز به وسیله غشای پایه و سلول های عضلانی صاف در بر گرفته می شوند. سلول های سرتولی کنار هم، در سطوح جانبی پایه ای دارای پیوند های بین سلولی از نوع پیوند های محکم هستند که کمپارتمنت (ناحیه) پایه ای و کمپارتمنت درونی بافت سمی نیفر را به وجود می آورند.

اسپرماتوسیت های اولیه و ثانویه و اسپرماتید ها در ناحیه درونی و دیگر سلول ها در ناحیه پایه ای هستند. پیوند های محکم بین سلول های سرتولی نوعی مانع اختصاصی در برابر مولکولهای بزرگ و سلول های ایمنی به وجود می آورند تا سلول های ناحیه درونی از آسیب های شیمیایی و ایمنی در امان بمانند. این پیوند ها بخشی از سد خونی – بیضه ای هستند.

سلول های مایویید (پیرامون لوله ای اسپرم ساز) همراه با پیوند های بین سلول های سرتولی، سد خونی- بیضه ای را به وجود می آورند. مواد موجود در فضای بین سلولی، نخست به وسیله سلول های مایویید، پالایش می شوند به گونه ای که موادی مانند ایمونوگلوبولین ها نمی توانند به درون لوله های اسپرم ساز برسند [۱].

مهمترین نقش سد خونی - بیضه ای جلوگیری از ورود ماکروفاژها، لنفوسیت ها و ایمو نوگلوبولین ها است. اگر این سلول ها و مواد ایمنی به سلول های جنسی در حال تقسیم برسند، آن ها را بیگانه می پندارند و از بین خواهند برد.

سلول های سرتولی، تنها سلول های غیر جنسی (سوماتیک) درون لوله های اسپرم ساز هستند. سلول های سرتولی، به غشای پایه پیوسته اند و سلول های جنسی را در بر می گیرند. هر چند سلول های سرتولی را سلول های محافظ و پرستار نامیده اند که برپایه نقش حفاظتی و تغذیه ای آن ها برای سلول های جنسی بیضه بوده است، اما هم اکنون از آن ها به عنوان فرماندهان سلولی اسپرم سازی نام برده می شود. هر سلول سرتولی، چندین سلول جنسی را در برمی گیرد که شمار آن ها در گونه های مختلف متفاوت است. بیضه هایی که سلول های سرتولی بیشتری دارند، اسپرم بیشتری نیز می سازند. سلو ل های سرتولی مشابه سلول های گرانولوز در تخمدان می باشند. سلول

های سرتولی دارای گیرنده های تستوسترون و FSH هستند و در پاسخ به این هورمون ها، مواد شیمیایی گوناگونی می سازند [۱].

۴-۱-۲-۱ سلول های لایدیگ

این سلول ها بزرگ و چند وجهی هستند، یک هسته گرد یا بیضی شکل، سه هستک، مقدار زیادی سیتو پلاسم و شبکه آندو پلاسمی صاف (برای ساختن استروئید های جنسی) و دستگاه گلژی توسعه یافته ای دارند. و در برخی گونه ها دارای لیپید هستند. این سلول ها، هورمون های آندروژنی را می سازند که به خون و سلول های سرتولی منتقل می شوند.

۲-۲-۱ غدد ضمیمه و مجاری

غدد ضمیمه دستگاه تناسلی شامل غدد منی ساز و پروستات وظیفهٔ تولید مایع لازم برای روان کردن لوله‌های خارج کننده و تغذیه اسپرم را بر عهده دارند. مجرای دفران که ادامهٔ اپی‌دیدیم است به غدد منی ساز که در طرفین مثانه قرار گرفته‌اند می‌رسد. غدد پروستات که مسئول تولید بخشی از مایع منی است، در پایین مثانه قرار گرفته است. این غدد مجاری انزال (مجاری خارج کننده منی) که ادامهٔ مجرای دفران است را احاطه می‌کند. مجاری انزال با عبور از داخل پروستات به داخل پیشابراه باز می‌شود. پیشابراه از مثانه شروع می‌شود و تا داخل آلت مردانه امتداد می‌یابد. پیشابراه مسئول خارج کردن ادرار و نیز منی است.

۳-۲-۱ اپی دیدیم

اپی دیدیم لوله ای بطول ۷ متر است که به شکل پیچیده و خمیده ای در امتداد محور طولی بیضه و به آن چسبیده است. این لوله جایگاه تکامل و انباشت اسپرم تا زمان انزال است. اسپرم تولید شده در لوله های اسپرم ساز، همراه با تراوش های این لوله ها، پس از گذشتن از شبکه بیضه و لوله وابران به اپی دیدیم می رسد. سطح درونی این لوله ها دارای سلول های اپی تلیومی است که برخی دارای مژک هستند. برخی از این سلول ها، سلول های جذب کننده مایعات هستند و برخی نیز ویژگی تراوشی دارند و موادی را به درون این لوله ها، تراوش می کنند. اسپرم هایی که به این لوله ها، می رسند هنوز توان باروری و لقاح را به دست نیاورده اند و اگر در شرایط مناسبی قرار گیرند، تنها حرکت ارتعاشی ضعیفی از خود بروز می دهند. اپیدیدیم با توجه به شکل ظاهری آن روی بیضه ها، به سه بخش سر، بدنه و دم طبقه بندی شده است.

بخش سر، ساختاری پهن است که سطح بالایی بیضه را می پوشاند.

بدنه، به میزان کمتری حالت پیچشی دارد و در امتداد محور طولی بیضه است.

دم، حالت پیچشی و نسبتاً پهن دارد به سطح پایینی بیضه چسبیده است.

دیواره درونی حفره اپی دیدیم از بافت اپی تلیومی است که مژک های بدون حرکت (ثابت) دارد.

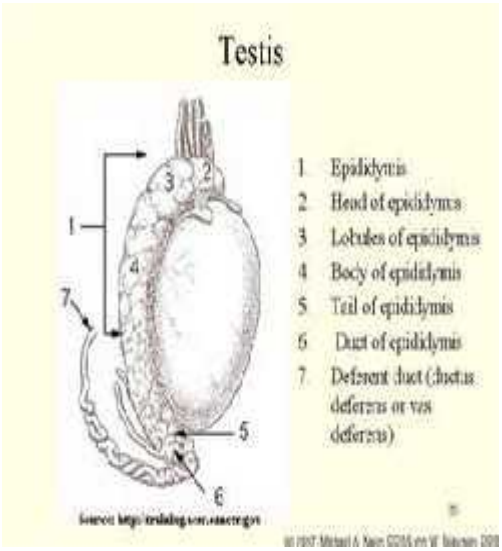
ویژگی این بافت در سراسر اپی دیدیم متغیر است و به سه ناحیه طبقه بندی می شود؛ قطعه آغازین، قطعه میانی و قطعه پایانی.

این قطعه ها با آنچه که سر، بدنه و دم نامیده می شود، تطابق ندارد.

در سراسر این سه قطعه، ارتفاع سلول های اپی تلیومی و شمار مژک های ثابت به تدریج کاهش، و قطر دهانه لوله افزایش می یابد.

تکامل اسپرم در قطعه های آغازین و میانی، و ذخیره سازی اسپرم در قطعه پایانی انجام می شود.

در برخی طبقه بندی ها، ناحیه ای از اپی دیدیم را که لوله های وابران به آن می پیوندند، قطعه آغازین و باقی مانده را سر، بدنه و دم نام گذاری کرده اند [۲] (شکل ۳-۱).



شکل ۳-۱: اپی دیدیم و مجرای دفران(http://training.seer.cancer.gov)

۴-۲-۱ تغییرات اسپرم در اپی دیدیم

اسپرم های ناحیه سر نه حرکت دارند و نه بارور هستند. قطره پروتوپلاسمی (بخشی از سیتوپلاسم که غشایی دور آنرا گرفته و نهایتاً حذف می شود)، نزدیک به سر است. شمار پیوند های دی سولفیدی در اسپرم اندک است. اسپرم های ناحیه بدنه، تا اندازه ای متحرک و بارور هستند. قطره

پروتوپلاسمی، از سر دور شده است. شمار پیوند های دی سولفیدی، افزایش یافته است. اسپرم می تواند به اووسیت بچسبد.

اسپرم های ناحیه دم، توان تحرک کامل و باروری را به دست آورده اند. قطره پروتوپلاسمی، جدا شده است. پیوند های دی سولفیدی فراوانی تشکیل شده اند. اسپرم می تواند به اووسیت بچسبد.

دیواره اپی دیدیم دارای ماهیچه صاف است که با حرکت های منظم سبب جابجایی اسپرم در این لوله می شوند. زمان جابه جایی اسپرم از آغاز تا پایان اپی دیدیم برای گونه های مختلف بین ۲ تا ۲۳ روز برآورد شده است (در انسان ۱۹ تا ۲۳ روز).

حرکت ماهیچه صاف دیواره قطعه پایانی اپیدیدیم، به جز در زمان تحریکات جنسی، بسیار اندک است. اما هنگام هیجان جنسی به شدت افزایش یافته اسپرم را به درون وازودفرانس می فرستد.

زمان جابجایی اسپرم در قطعه های آغازین و میانی، به هنگام هیجان های جنسی، افزایش نمی یابد. اما شمار اسپرم های موجود در قطعه پایانی، با افزایش فرکانس انزال یا اسپرم گیری، به شدت کاهش می یابد.

اپی دیدیم به طور پیوسته سبب بیرون راندن اسپرم از دستگاه تولید مثل می شود. با توجه به این که تعداد زیادی اسپرم در روز ساخته می شود، طبیعی است که باقی ماندن همه آن ها سبب افزایش تجمعی فشار در لوله های نگهداری اسپرم خواهد شد. انقباض های متناوب اپی دیدیم و مجرای دفران، سبب خروج تدریجی و پیوسته شمار کمی اسپرم می شود که همراه با ادرار از بدن دفع می شوند [۲].

۵-۲-۱ تکامل اسپرم در اپیدیدیم

تکامل اسپرم در اپیدیدیم در بر گیرنده دو تغییر اساسی ایجاد توان تحرک و توان لقاح است.

ایجاد توان تحرک با تغییر در فعالیت متابولیکی و انعطاف پذیری و تغییر در الگوهای حرکت دم اسپرم همراه است.

جزییات تغییرات ساختاری و شیمیایی که در فرایند تکامل اسپرم رخ می دهند عبارتند از:

ایجاد پیوند های دی سولفیدی در پروتئین های غشای اسپرم، تغییر در ویژگی های یونی غشای اسپرم، تغییر در الگوی مصرف اکسیژن و قند ها، افزایش میزان cAMP در دم اسپرم، تغییر در کروماتین، تغییر در ابعاد آکروزوم، از دست دادن آب همراه با RNA، پروتئین ها و فسفولیپیدها، از دست دادن قطره های پروتوپلاسمی وتغییر در بار ها و آنتی ژن های سطحی غشای اسپرم.

اسپرم هایی که به اپی دیدیم وارد می شوند دارای یک قطره پروتوپلاسمی هستند که نزدیک به سر اسپرم قرار دارد. به این قطره پروتوپلاسمی، قطره پروتوپلاسمی پیشین گفته می شود. هنگام جابه جا شدن اسپرم درون اپی دیدیم و بین مژک های ثابت آن، قطره پروتوپلاسمی به سوی دم اسپرم به حرکت در می آید و اسپرم هایی که به قطعه پایانی اپی دیدیم می رسند، هنوز این قطره را دارند که به آن قطره پروتوپلاسمی پسین می گویند.در شرایط نرمال، قطره پروتوپلاسمی پسین در بخش آخر قطعه پایانی اپیدیدیم و یا هنگام انزال، از دم اسپرم جدا می شود. وجود شمار زیادی اسپرم که دارای قطره پروتوپلاسمی باشند، نشانه ناهنجاری در فرآیند تکامل اسپرم در اپیدیدیم و نابارور بودن است.

توان باروری اسپرم های نگه داری شده در بخش پایانی اپی دیدیم تا چند هفته حفظ می شود.

دمای پایین اپی دیدیم (درون اسکروتوم) و آندروژن ها شرایط نگهداری اسپرم فراهم می کنند [۲].

۶-۲-۱ مجرای دفران

این مجرا در حدود ۴۵ سانتی متر طول دارد و اسپرماتوزوئید را از اپی دیدیم هر بیضه در هنگام انزال به مجرای انزال حمل می کند. مجرای دفران در طول حاشیه خلفی اپیدیدیم بالا می رود و در طول کانال کشاله ران وارد حفره لگن می شود و روی کنار و پایین سطح خلفی مثانه پیچ می خورد و قبل از آن که وارد غده پروستات شود، متسع شده و آمپولا نامیده می شود.

در انتهای آمپولا یک وزیکول سمینال به مجرای دفران وصل می شود. این لوله دیواره ماهیچه ای صاف دارد که با افزایش حرکت های دودی آن در زمان انزال، سبب فرستادن اسپرم به میزراه می شود. جایی که با تراوش های غده های تناسلی ضمیمه آمیخته می شود و تشکیل منی را می دهد. بافت ماهیچه ای دیواره آن دارای دو لایه از تارهای طولی است که بین آن ها یک لایه ماهیچه ای از تار های حلقوی دیده می شود. درون مجرای لوله دفران را سلول های اپی تلیومی می پوشانند که در آغاز لوله از نوع ستونی مطبق کاذب با مژک های متحرک هستند. سپس ستونی مطبق کاذب بدون مژک می شوند و سرانجام به بافت ستونی ساده تبدیل می شوند.

یکی از راه های نابارور کردن بریدن قطعه ای از مجرای دفران درون اسپرماتیک کورد است (وازکتومی) [۱].

۱-۲-۷ وزیکول سمینال

وزیکول سمینال عضوی از دستگاه تولید مثل مردان است. این عضو دو غده توبولار ساده است که در قسمت تحتانی خلفی مثانه قرار دارد.این غده ها به صورت لب لب و به ابعاد ۲ در ۵ سانتیمتر هستند. غده وزیکولی در تقسیم بندی غدد بدن به درون‌ریز و برون‌ریز، بدلیل اینکه مواد ترشحی آن از راه مجاری به بیرون از بدن می‌ریزد، جز غدد برون‌ریز محسوب می‌شود.

مایع ترشح شده بوسیله غده وزیکولی ۸۰٪ مایع منی را تشکیل می‌دهد. این مایع در آمیزش جنسی کار حمل و تغذیه اسپرم را بعهده دارد. و دارای فروکتوز، سیترات، گلوکز، سوربیتول، ویتامین ها، ارگوتیونین، اینوزیتول و پروستاگلندین ها است.

اگر چه زمانی چنین می پنداشتند که این غده ها جایگاه انباشت اسپرم هستند و از این رو آن ها را سمینال وزیکول (کیسه های منی) نامگذاری کردند، اما این غده ها اسپرم را ذخیره نمی کنند. مجاری این غده ها و مجرای دفران (آمپولا) به طور مشترک به حفره میزراه راه دارند. این بخش را برجستگی (تپه) وسیکولار نامیده اند. در این بخش اسپرم با تراوش های وسیکولار، آمیخته و منی تشکیل می شود. دیواره این بخش هنگام هیجانات جنسی و در زمان انزال کش می آید که منفذ میزراه را می بندد و از آمیخته شدن ادرار و منی جلوگیری می کند. از این جا منی درون میزراه به حرکت در می آید و از غده های ضمیمه دیگر می گذرد. یک لایه پوششی سروزی غده ها را می پوشاند. دو لایه ماهیچه ای هر غده را فرا می گیرد. یک لایه تار ماهیچه ای طولی در بیرون و یک لایه تار ماهیچه ای حلقوی در درون. هنگام انزال، این ماهیچه ها منقبض می شوند و تراوش های حفره لوله ها را به میزراه می فرستند.

لایه مخاطی این غده ها لایه لایه است. لایه اپیتلیومی، ساده و یا ستونی مطبق کاذب و فعالیت تراوشی دارد. رنگ تراوش های این غده ها سفید مایل به زرد ژله ای است [۲].

۱-۲-۸ پروستات

پروستات عضوی از دستگاه تناسلی مردانه است و به اندازه یک گردوی کوچک، در ابتدا مجرای ادراری در لگن قرار دارد. غده پروستات در موقع انزال منقبض می‌شود و ماده شیری رنگ قلیایی به منی اضافه می‌کند. حالت ژلاتینی منی به‌دلیل همین ماده است.

پروستات غده ای توبولو-آلوئولار است. سلول های اپی تلیومی این غده مکعبی ساده یا ستونی هستند. مایع ترشح شده بوسیله پروستات ۱۵ تا ۳۰ درصد مایع منی را تشکیل می‌دهد. این مایع درآمیزش، کار حمل و تغذیه اسپرم را بعهده دارد. حالت قلیایی این مایع، اسپرم را در محیط

اسیدی واژن حفاظت می‌کند. از مواد تشکیل دهنده ترشحات پروستات می‌توان به کلسیم، روی، ویتامین C، اسید فسفاتاز، آلبومین و آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) اشاره کرد.

در هنگام انزال عضلات جدار کیسه‌های منی و پروستات منقبض شده تا اسپرمی که درون بیضه‌ها تولید شده و پس از گذر از مجاری اپی دیدیم بالغ شده، سپس از طریق دو مجرای کوچک عضلانی به نام مجرای دفران پس از پیچیدن به دور مثانه به مجرای پروستات می رسد را بیرون بریزد.

پروستات پروتئین مخصوص PSA (prostate specific antigen) را تولید می‌کند که وارد مایع انزالی می‌شود و در زمان مناسب به حفظ حالت مایع منی کمک می‌کند و جلوی لخته شدن منی را می‌گیرد. منی اندکی پس از وارد شدن به مهبل ، لخته می‌شود به ماده‌ای ژل مانند تبدیل می‌شود و به گردن رحم می‌چسبد. ۱۵ تا ۳۰ دقیقه پس از لخته شدن منی، آنزیم PSA این لخته را حل می‌کند و اسپرم‌ها آزادانه می‌توانند درون رحم شنا کنند [۲].

۹-۲-۱ غده های کوپر

غده کوپر(بالبویوریترال یا پیازی – میزراهی) یک جفت غده کوچک در زیر غده پروستات روی هر دو طرف پیشابراه غشایی در داخل دیافراگم ادراری تناسلی واقع شده اند. غده هایی کوچک، فشرده و دارای بافت پیوندی فیبری هستند.

مجاری غدد بداخل پیشابراه اسفنجی باز می شوند. این غده ها در خلال مقاربت جنسی ۱۰ درصد از مایع منی که آلکالین و دارای موکوس است ترشح می کنند[۲].

۳-۱ فیزیولوژی منی و اسپرم سازی

منی از دو بخش تشکیل می شود. سلول هایی به نام اسپرم (اسپرماتوزوئید) و مایع منی (پلاسمای منی).

اسپرم ها در لوله اسپرم ساز ساخته می شوند و مایع منی، آمیزه ای از تراوش های غده های تناسلی ضمیمه است که در آن مقداری از تراوش های بیضه و اپی دیدیم نیز وجود دارد.

جریان مایع بیضه (مایع ریته)، انقباض سلول های ماهیچه ای بیضه، انقباض کپسول بیضه و حرکت مژک های لوله افرنت (وابران) ، اسپرم ها را به اپی دیدیم می فرستند. حرکت دودی ماهیچه های دیواره اپیدیدیم و دفران، اسپرم ها را به میزراه می فرستد که با تراوش های غده های تناسلی ضمیمه آمیخته می شوند و منی به وجود می آید [۲].