بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه اراک

دانشکده علوم پایه

کارشناسی ارشد زیست شناسی

(گرایش سلولی- تکوین)

# ارزیابی اثر روغن سیاه‌دانه بر پارامترهای اسپرم موش‌های بالغ نژاد NMRI تیمار شده با بیس‌فنول‌آ

پژوهشگر

افسانه حاجیان کرهرودی

استاد راهنما

دکتر سید محمد علی شریعت زاده

خرداد ۹۳

بسم الله الرحمن الرحیم

**ارزیابی اثر روغن سیاه دانه بر پارامترهای اسپرم موش‌های تیمار شده با بیس‌فنول‌آ**

توسط

افسانه حاجیان کرهرودی

پایان نامه

ارائه شده به مدیریت تحصیلات تکمیلی به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم برای اخذ درجه

کارشناسی ارشد

در رشته (گرایش سلولی- تکوینی)

از

دانشگاه اراک

اراک- ایران

ارزیابی و تصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: .....

دکتر محمد علی شریعت زاده (استادراهنما).....استاد

دکترحمیدرضا مومنی (داور -دانشگاه اراک).....دانشیار

دکتر علیرضا شایسته فر (داور -دانشگاه اراک).....استادیار

بارالها....

در هر مرحله از زندگی لطف و عنایت خود را بر من ارزانی داشتی، راه را بر من هموار ساخته و هدایتم نمودی

پروردگارا کامم را به علم حقیقی و مورد رضایت خود مشتاق کن

مبادا عمری ندانم

حقیرانه اعتراف خواهم کرد که نه زبان شکر تورو دارم نه توان تشکر از بندگان تو

حاصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش آلام زمین ام است

به استوارترین تکیه گاهم ، آسایش جانم  پدرم

به آبی ترین چشمه زلال زندگی ام ، آرامش وجودم  مادرم

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره ای از دریای بی کران مهربانیتان را

سپاس نتوانم گویم

## تشکر و قدر دانی

ضمن سپاس به درگاه ایزد یکتا بر خود لازم میدانم از زحمات بی دریغ استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر سید محمد علی شریعت زاده که در تمامی مراحل این تحقیق با راهنمایی های ارزنده شان دلسوزانه یار و یاورم بوده اند و با صبر و حوصله از هیچ کمکی نسبت به ایجانب دریغ نکردند صمیمانه تشکر کنم.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر مومنی که همیشه از محضر ایشان درس‌های فراوانی آموخته ام و با قبول داوری این پایان نامه لطف خویش را شامل حالم نموده اند، کمال تشکر و سپاس را دارم.

از استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر شایسته فرکه با راهنمایی های کارساز مرا در ارئه بهترین پایان نامه کمک کرده و زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند، بسیار سپاسگزارم.

زبانم قاصر است برای تشکر از الطاف بی نهایت پدر و مادر عزیزم، چرا که هرچه دارم از آن آنهاست

در پایان نیز از تمام عزیزانی که مرا با وجودشان همراهی کردند کمال تشکر را دارم

## چکیده

**ارزیابی اثر روغن سیاه دانه بر پارامترهای اسپرم موش‌های تیمار شده با بیس‌فنولA**

بیس‌فنولA یک ماده استروژنی شناخته شده است که تولید ROS می‌کند و بر روی سیستم تولید مثلی نر اثر سمی دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر محافظتی روغن سیاه‌دانه بر پارامترهای اسپرم در برابر سمیت القا شده با بیس‌فنولA بود.

موش‌های نر بالغ نژاد NMRI با میانگین وزنی ۳±۳۲ گرم به طور تصادفی به ۴ گروه(n=۶) : کنترل، بیس‌فنولA (۲۰۰mg/kg/day)، روغن سیاه‌دانه (۵ml/kg/day) و بیس‌فنولA + روغن سیاه‌دانه تقسیم و به مدت ۳۴ روز به صورت دهانی تیمار شدند. در پایان دوره تیمار، وزن بدن و بیضه چپ ثبت گردید و ناحیه دمی اپیدیدیم چپ نیز در محیط کشتHam's F10 قطعه قطعه شد. اسپرم‌های خارج شده به منظور بررسی پارامترهای اسپرمی از جمله تعداد، تحرک، قابلیت حیات و ناهنجاریهای‌اسپرم مورد استفاده قرار گرفت. کیفیت کروماتین اسپرم، توسط رنگ آمیزی‌های آکریدین‌اورانژ و آنیلین‌بلو بررسی گردید. همچنین قطر لوله‌های منی‌ساز، قطر هسته سلول‌های اسپرماتوگونی و میزان پراکسیداسیون لیپیدی توسط بیس‌فنولA اندازه گیری شد. داده‌ها با روش آماری One-Way ANOVA آنالیز و تفاوت در میانگین‌ها درحد (P<۰/۰۵) معنی دار در نظر گرفته شد.

در این بررسی وزن بدن و بیضه در ۴ گروه تغییر معنی‌داری نداشت (P<۰/۰۵). کاهش معنی‌داری در تعداد (P<۰/۰۱)، تحرک، قابلیت حیات و مورفولوژی طبیعی اسپرم (P<۰/۰۰۱) درگروه بیس‌فنولA در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. در گروه بیس‌فنولA + روغن سیاه‌دانه، روغن سیاه‌دانه توانست به طور معنی‌داری پارامترهای ذکر شده را نسبت به گروه بیس‌فنولA افزایش دهد (P<۰/۰۵). همچنین کاهش معنی‌داری در میانگین قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه بیس‌فنولA نسبت به گروه کنترل دیده شد (P<۰/۰۱). و نیز در گروهی که بیس‌فنولA دریافت کردند نسبت به کنترل، مالون‌دی‌آلدئید بصورت معناداری افزایش یافته است (P<۰/۰۰۱). بیس‌فنولA تاثیری بر روی قطر هسته سلول‌های اسپرماتوگونی و تمامیت DNA اسپرم و جایگزینی پروتامین به جای هیستون نداشت.

نتایج نشان داد که روغن سیاه‌دانه توانست سمیت القا شده توسط بیس‌فنولA بر روی پارمترهای اسپرم را تا حدودی بهبود ببخشد.

فهرست

**عنوان** صفحه

**جداول**

جدول ۳-۱- مقایسه میانگین وزن بدن و بیضه موش ..... ۴۳

جدول ۳-۲- مقایسه میانگین قابلیت تحرک اسپرم ..... ۴۴

جدول ۳-۳- مقایسه میانگین تعدا، قابلیت حیات و مورفولوژی طبیعی اسپرم..... ۴۶

جدول ۳-۴- مقایسه میانگین قطر لوله‌های منی‌ساز، ضخامت اپیتلیوم زایشی لوله‌های منی‌ساز و قطر لومن (µm) ..... ۴۹

**جداول ضمیمه**

جدول ۵-۱- وزن اولیه و وزن ثانویه و وزن بیضه موش ..... ۷۰

جدول ۵-۲- قابلیت تحرک اسپرم ..... ۷۱

جدول ۵-۳- فابلیت حیات، تعدادو مورفولوژی طبیعی اسپرم ..... ۷۲

جدول ۵-۴- قطر لومن، قطر لوله‌های منی‌ساز و قطر هسته سلولهای اسپرماتوگونی(µm)، MDA..... ۷۳

**فهرست اشکال**

شکل ۱-۱- ساختار بیضه در موش ..... ۲

شکل ۱-۲- موقعیت سلول‌های لایدیگ در موش ..... ۲

شکل ۱-۳- مراحل اسپرماتوژنز موش ..... ۴

شکل۱-۴- مقایسه آکروزوم در سه گونه رت، موش، انسان ..... ۵

شکل۱-۵ - اسپرمیوژنز ..... ۶

شکل۱-۶- جایگاه قرار گیری غدد..... ۷

شکل۱-۷- اپیدیدیم درموش ..... ۸

شکل۱-۸- ساختار اسپرم موش ..... ۹

شکل۱-۹- مورفولوژی اسپرم ..... ۱۰

شکل ۱-۱۰- رابطه بین عوامل محیطی و نقص در عملکرد اسپرم ..... ۱۴

شکل ۱-۱۱- رابطه بین رادیکال‌های آزاد و ناباروری ..... ۱۵
شکل ۱-۱۲- ساختمان بیس‌فنول‌آ ..... ۱۸
شکل ۱-۱۳- ساختار ترکیبات کلی روغن سیاه‌دانه ..... ۲۱
شکل ۲-۱- تصویر موش نر بالغ نژاد NMRI ..... ۲۷
شکل ۲-۲- تیمار دهانی موش از طریق گاواژ ..... ۲۸
شکل۲-۳- ظرف حاوی بیس‌فنول‌آ ..... ۲۸
شکل ۲- ۴- تشریح موش و برداشتن اپیدیدیم و بیضه ..... ۲۹
شکل۲-۵- انکوباتور ..... ۲۹
شکل ۲-۶- نحوه شمارش اسپرم ها بر روی لام نئوبار ..... ۳۰
شکل۲ -۷- مورفولوژی اسپرم ..... ۳۱
شکل ۲-۸- تصویری از برش IUR ..... ۳۴
شکل۲-۹- دستگاه پاساژ بافتی مدل Leica در حال پاساژ نمونه‌ها ..... ۳۶
شکل ۲- ۱۰- دستگاه بلوک‌گیری با پارافین ..... ۳۷
شکل ۲-۱۱- دستگاه میکروتوم ..... ۳۷
شکل ۲-۱۲- میکروسکوپ مدل Olympus BX41TE ..... ۳۹
شکل۲-۱۳- روش خون‌گیری از قلب موش ..... ۴۰
شکل ۲-۱۴- سانتریفوژ مدل Labnet International , Inc ..... ۴۰
شکل۳-۱- ارزیابی قابلیت حیات اسپرم‌های موش ..... ۴۵
شکل ۳-۲- برخی از ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم ..... ۴۵
شکل ۳-۳- ارزیابی تمامیت DNA اسپرم‌های موش ..... ۴۶
شکل ۳-۴- ارزیابی جایگزینی پروتامین بجای هیستون در کروماتین اسپرم موش ..... ۴۷
شکل ۳-۴- تصاویر میکروسکوپی از بافت بیضه موش ..... ۴۸

**نمودار**

نمودار۳-۱- میزان MDA ..... ۵۰

**فصل اول(مقدمه)**


۱-۱- بیان مسئله..... ۱

۱-۲- دستگاه تولید مثل موش نر..... ۱

۱-۲-۱- بیضه‌ها ..... ۱

۱-۲-۲- لوله های منی ساز ..... ۳

۱-۲-۳- اسپرماتوژنز..... ۳

۱-۲-۴- اسپرمیوژنز ..... ۵

۱-۲-۵- عوامل دخیل در اسپرماتوژنز ..... ۶

۱-۲-۵-۱- غدد ..... ۶

۱-۲-۶- اپیدیدیم ..... ۸

۱-۳- اسپرم ..... ۸

۱-۳-۱- ناهنجاری های ساختمانی اسپرم ..... ۹

۱-۳-۱-۲- ناهنجاری های اولیه ساختمانی اسپرم ..... ۹

۱-۳-۱-۳- ناهنجاری های ثانویه ساختمانی اسپرم ..... ۱۰

۱-۴- روش های بررسی کیفیت نمونه های اسپرم ..... ۱۰

۱-۴-۱- آسیب DNA اسپرم و روش های بررسی آن ..... ۱۰

۱-۴-۱-۱- آسیب DNA ..... ۱۰

۱-۴-۱-۲- منشا آسیب DNA اسپرم ..... ۱۱

۱-۵- مکانیسم عوامل اصلی ایجاد کننده آسیب DNA ..... ۱۲

۱-۵-۱- بسته بندی غیرطبیعی کروماتین ..... ۱۲

۱-۶- نقش آپوپتوزیس در آسیب DNA اسپرم ..... ۱۳

۱-۷- استرس اکسیداتیو به واسطه Reactive Oxygen Species (ROS) ..... ۱۴

۱-۸- روش های تعیین آسیب DNA اسپرم ..... ۱۶

۱-۸-۱- آزمون آنیلین بلو ..... ۱۷

۱-۸-۲- آزمون اکردین اورانژ ..... ۱۷
۱-۹- آلاینده‌های زیست محیطی ..... ۱۸
۱-۹-۱- بیس‌فنول‌آ ..... ۱۸
۱-۹-۲- انسان در مواجه با بیس‌فنول‌آ ..... ۱۹
۱-۹-۳- اثرات بیس‌فنول‌آ ..... ۲۰
۱-۱۰- سیاه‌دانه ..... ۲۱
۱-۱۰-۱- خصوصیات گیاه شناسی سیاه‌دانه ..... ۲۱
۱-۱۰-۲- ترکیبات روغن سیاه دانه ..... ۲۱
۱-۱۰-۳- فعالیت آنتی اکسیدانی سیاه دانه ..... ۲۲
۱-۱۱- مروری بر تحقیقات انجام شده ..... ۲۲
۱-۱۲- هدف از مطالعه ..... ۲۴

**فصل دوم (مواد و روشها)**

۲-۱- حیوانات ..... ۲۷
۲-۲- روش تیمار ..... ۲۷
۲-۳- طول مدت تیمار ..... ۲۹
۲-۴- تشریح موش‌ها و برداشتن اپیدیدیم چپ ..... ۲۹
۲-۵- روش آماده کردن نمونه جهت بررسی پارامترهای اسپرمی ..... ۲۹
۲-۶- بررسی تعداد اسپرم (Sperm count) ..... ۳۰
۲-۷- بررسی قابلیت حیات اسپرم(Sperm viability ) ..... ۳۰
۲-۸- بررسی قابلیت تحرک اسپرم (Sperm motility) ..... ۳۱
۲-۹- بررسی ناهنجاری های مورفولوژیکی اسپرم ..... ۳۱
۲-۱۰- ارزیابی یا سنجش آسیب DNA هسته ای اسپرم ..... ۳۱
۲-۱۱- بررسی درصد اسپرم های با کروماتین آسیب دیده ..... ۳۱
۲-۱۱-۱- مراحل رنگ آمیزی ..... ۳۲

۲-۱۲- بررسی درصد اسپرم های بالغ و نابالغ ..... ۳۲
۲-۱۲-۱- مراحل رنگ‌آمیزی ..... ۳۳
۲-۱۳- آماده سازی نمونه جهت بررسی بافت بیضه ..... ۳۳
۲-۱۳-۱- ثابت کردن بیضه ها در فیکساتیو ..... ۳۳
۲-۱۳-۲- برش گیری بیضه به روش IUR (Isotropic umiform Random Sampling) ..... ۳۴
۲-۱۳-۳-فرآیند پاساژ بافتی ..... ۳۵
۲-۱۳-۴- قالب گیری و تهیه بلوک پارافینی ..... ۳۶
۲-۱۳-۵- تهیه مقاطع بافتی ..... ۳۷
۲-۱۳-۶- رنگ آمیزی مقاطع به روش هایدن هان آزان (Heiden hain Azan) ..... ۳۷
۲-۱۳-۷- اندازه‌گیری قطر لوله‌های منی‌ساز- قطر لومن و قطر هسته سلول‌های اسپرماتوگونی با استفاده از نرم افزار موتیک ..... ۳۸
۲-۱۴-میزان بررسی استرس اکسیداتیو از طریق سنجش مالون دی آلدئید(MDA)..... ۳۹
۲-۱۵- روش خون‌گیری از قلب ..... ۳۹
۲-۱۵-۱- آماده‌سازی نمونه‌های خون..... ۴۰
۲-۱۶- روش سنجش MDA..... ۴۰
۲-۱۷- روش آماری آنالیز داده‌ها ..... ۴۱

**فصل سوم (نتایج)**

۳-۱- وزن بدن و بیضه ..... ۴۳
۳-۲- پارامترهای اسپرمی ..... ۴۳
۳-۲-۱- تعداداسپرم (Sperm count) ..... ۴۳
۳-۲-۲- قابلیت تحرک اسپرم (Sperm motility)..... ۴۳
۳-۲-۳- قابلیت حیات اسپرم (Sperm viability) ..... ۴۵
۳-۲-۴- ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم (Sperm abnormality) ..... ۴۵
۳-۳- بررسی ماده ژنتیکی اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی‌های ویژه هسته ..... ۴۶

۳-۳-۱- تغییر در ساختمان دو رشته‌ای DNA (رنگ آمیزی آکریدین اورانژ:AO) ..... ۴۶
۳-۳-۲- تغییرات هیستون طی فرایند بلوغ اسپرم (رنگ آمیزی آنیلین بلو - AB) ..... ۴۷
۳-۴- تغییرات هیستوپاتولوژیک بیضه ..... ۴۷
۳-۴-۱- قطر، ارتفاع اپیتلیوم زایشی لوله‌های منی‌ساز و قطر لومن (µm) ..... ۴۸
۳-۴-۲- بررسی قطر هسته سلول‌های اسپرماتوگونی ..... ۴۸
۳-۵- بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدی از طریق سنجش مالون‌دی‌آلدئید ..... ۴۹

**فصل چهارم (بحث)**

۴-۱- وزن موش ..... ۵۲
۴-۲- وزن بیضه ..... ۵۳
۴-۳- آنالیز پارامترهای اسپرم ..... ۵۴
۴-۳-۱- قابلیت تحرک اسپرم (Sperm motility) ..... ۵۴
۴-۳-۲- تعداد اسپرم (Sperm count) ..... ۵۵
۴-۳-۳- قابلیت حیات (Sperm viability) ..... ۵۷
۴-۳-۴- ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم (Sperm abnormality) ..... ۵۹
۴-۴- بررسی ماده ژنتیکی اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی‌های ویژه هسته ..... ۶۰
۴-۴-۱- تغییر در ساختمان دورشته‌ای DNA اسپرم (رنگ آمیزی اکریدین اورانژ-AO) ..... ۶۰
۴-۴-۲- تغییرات هیستون طی فرایند بلوغ اسپرم (رنگ آمیزی آنیلین بلو-AB)..... ۶۰
۴-۵- قطر لومن، قطرلوله‌های منی‌ساز، و قطر هسته سلول‌های اسپرماتوگونی..... ۶۰
۴-۶- میزان پراکسیداسیون لیپیدی از طریق سنجش مالون‌دی‌آلدئید..... ۶۲
۴-۷- تاثیر روغن سیاه‌دانه بر اندام های جنسی و پارامترهای اسپرم ..... ۶۳
۴-۸- نتیجه‌گیری ..... ۶۵
۴-۹- پیشنهادات..... ۶۵

**فصل پنجم (ضمائم)**

۵-۱- عصاره‌های گیاهی ..... ۶۶

۵-۲- روش‌های عصاره‌گیری ..... ۶۶
۵-۲-۱- روش خیساندن یا ماراسیون ..... ۶۶
۵-۲-۲- روش پرکولاسیون ..... ۶۶
۵-۲-۳- روش دای جسشن ..... ۶۶
۵-۲-۴- روش دم کردن ..... ۶۷
۵-۲-۵- روش جوشاندن ..... ۶۷
۵-۳- روش تهیه محلول‌ها و رنگ‌ها در مراحل پاساژ بافتی و رنگ‌آمیزی ..... ۶۷
۵-۳-۱- محلول فیکساتیو MDF ..... ۶۷
۵-۳-2- آزوکارمینB ..... ۶۷
۵-۳-۳- اسید فسفوتنگستیک ..... ۶۸
۵-۳-۴- الکل ۷۰ درجه ..... ۶۸
۵-۳-۵- الکل ۸۰ درجه ..... ۶۸
۵-۳-۶- الکل ۹۰ درجه ..... ۶۸
۵-۳-۷- آنیلین الکل ..... ۶۸
۵-۳-۸- اسید الکل ..... ۶۸
۵-۳-۹- محلول نرمال سالین ..... ۶۸
۵-۳-۱۰- ائوزین ۱٪ ..... ۶۸
۵-۳-۱۱-نکروزین ۱۰٪ ..... ۶۹
۵-۳-۱۲- رنگ آکریدین اورنژ ..... ۶۹
۵-۳-۱۳- رنگ آنیلین بلو ..... ۶۹
فهرست منابع ..... ۷۴

## Abbreviations

AO……..……Acridine orange

AB……..……..…… Aniline blue

BPA……..……..…… Bisphenol A

bw…….…….....…….…….……..Body wheight

CAT……Catalase

cm……..……..……. Centimeter

FSH …..…….……..……..……Follicle-stimulating hormone

gm…….…….Geram

GSH……..…..…….…….…… Glutathione

GST..... Glutathione S-transferases

LH..... Luteinising hormone

Kg..... Kilogeram

ICSI……...…..…….....……Intra cytoplasmic sperm injection

IUR ……..……..……... Isotropic Uniform Random Sampling

L.....…….....Litter

MDA.....Malondialdehid

µM..... Micromol

µm .....Micrometer

mg..... Milligram

MDF..... Modified davidsonʾs fluid

NADP+…...……..……..…….Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NSO ……..…….. Nigella sativa oil

ROS..... Reactive oxygen species

SD..... Sprague Dawley

SD..... Standard deviation

TBA……..…….Thiobarbituric acid

SOD..... Superoxide dismutase

TQ..... Thymoquinone

# فصل اول

# مقدمه

### ۱-۱- بیان مسئله

ناباروری طی سال‌های اخیر افزایش یافته است; سازمان جهانی بهداشت (WHO) زوج‌هایی را که بدون پیشگیری بعداز یک سال باردار نمی‌شوند، نابارور اعلام می‌کند. امروزه حدود ۱۰-۱۵ درصد زوج‌ها نابارورند. به دلیل حساسیت بالای اسپرم و اسپرماتوژنز، عوامل شیمیایی و فیزیکی در باروری مردان موثرند. در دهه‌های اخیر در کشورهای صنعتی عواملی مانند فلزات سنگین، حلال‌های آلی، آفت کش‌ها، مواد شیمیایی صنعتی، تابش و گرما باعث اثر منفی بر روی سیستم تولیدمثلی مردان شده‌اند. برخی مواد شیمیایی می‌توانند موجب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) و کاهش آنزیم‌هایی آنتی‌اکسیدانی در سیستم تولیدمثلی مردان و در نتیجه ناباروری شوند. بیس‌فنول‌آ پلی‌مری صنعتی است که در ساخت پلی‌کربنات و رزین‌ها استفاده می‌شود و یک آلاینده زیست‌محیطی با خاصیت استروژنی ضعیف است که موجب استرس اکسیداتیو می‌گردد و مشکلاتی در سیستم تولیدمثلی مردان ایجاد می‌کند. از طرفی مشکلات ناباروری منجر به مشکلات اجتماعی و اقتصادی در جامعه می‌گردد. تشخیص و درمان ناباروری می‌تواند کمک زیادی به جوامع بشری کند.

توام با استفاده از مواد شیمیایی محققان دریافتند که می‌توان از گیاهان دارویی موجود در طبیعت به منظور تقویت سیستم دفاعی بدن استفاده کرد. یکی از گیاهانی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد سیاه‌دانه می‌باشد.

ما در این پروژه برآنیم که اثر محافظتی روغن سیاه‌دانه را بر روی تغییرات ناشی از بیس‌فنول‌آ بر پارامترهای اسپرمی موش بالغ مطالعه کنیم.

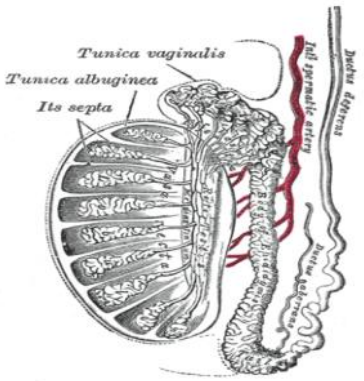
### ۱-۲- دستگاه تولید مثل موش نر

دستگاه تولیدمثلی موش نر شامل یک جفت بیضه، مجاری ناقل اسپرم، غدد ضمیمه و آلت تناسلی می‌باشد.

#### ۱-۲-۱- بیضه‌ها

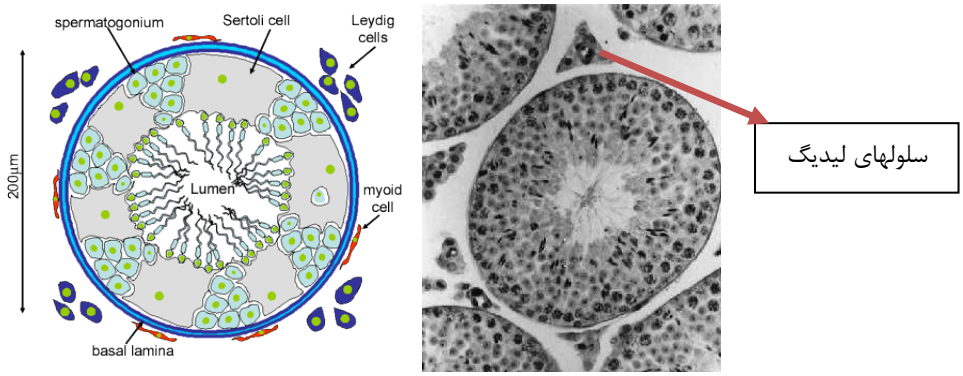
بیضه‌ها در پستانداران درون کیسه‌ای به نام اسکروتوم قرار می‌گیرند. اما در سایر مهره‌داران درون سلوم و غالبا در جلو یا کنار کلیه‌ها مستقر می‌باشند. جدار خارجی بیضه در پستانداران از یک لایه‌ی پیوندی لیفی

به نام تونیکا آلبوژینا درست شده است که استطاله‌های ناقص آن به عمق بافت منشعب می‌گردد و بدین ترتیب هر بیضه به لوب‌های ناقص متعددی تقسیم می‌شود(Byskov and Hoyer., 1994) (شکل ۱-۱).




شکل ۱-۱. ساختار بیضه در موش نر(Cook and Saunders., 2002)

بیضه دارای دو بخش مورفولوژیکی جداگانه به نام‌های بافت بینابینی و لوله‌های منی‌ساز است. لوله‌های منی‌ساز شامل سلول‌های سرتولی حساس به آندروژن و سلول‌های جنسی می‌باشد. درون هر بیضه لوله‌های منی‌ساز مانند کلافی پیچ خورده قرار می‌گیرند که مراحل مختلف اسپرماتوژنز درون آنها صورت می‌گیرد. مابین لوله‌های منی‌ساز بافت بینابینی بیضه قرار دارد که در آن سلول‌های لیدیگ و بافت همبند، اعصاب و عروق وجود دارد (شکل ۱-۲). سلول‌های لیدیگ اولین منبع تولید کننده تستوسترون می‌باشد. هورمون‌های هیپوفیزی (LH) روی سلول‌های لیدیگ اثر و تولید تستوسترون را تحریک می‌کنند. می‌توان گفت سلول‌های لیدیگ واسطه‌ایی برای سیگنال‌های آندوکرینی از هیپوفیز به بیضه می‌باشد. بنابراین بیضه‌ها هم تولید اسپرم می‌کنند و هم عملکرد آندوکرینی یعنی سنتز و ترشح هورمون را به عهده دارند (Wistuba *et al*., 2007) (شکل ۱-۲).




شکل ۱-۲. موقعیت سلول‌های لایدیگ در موش نر(www.origin- life.gr.jp, www.histology.leed.ac.uk)

**۱-۲-۲- لوله‌های منی‌ساز**

هر لوله دارای غشای پایه‌ای است که در سطح داخلی آن اپیتلیوم ویژه‌ای تحت عنوان اپیتلیوم زاینده وجود دارد. این اپیتلیوم زاینده دارای دو نوع سلول است:

(۱) سلول‌های پشتیبان یا نگهدارنده یا سلول‌های سرتولی (۲) سلول‌های جنسی (Austin & Short., 1977).

در هنگام تولد، سلول‌های زایای فرد در طناب‌های جنسی بیضه به شکل سلول‌هایی بزرگ و کم رنگ که توسط بافت محافظ احاطه شده‌اند قابل مشاهده هستند. این سلولهای محافظ، از بافت پوشش سطحی بیضه منشا می‌گیرند و سلول‌های سرتولی را می‌سازند (Wistuba., 2007).

از جمله نقش‌های سلول سرتولی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

(۱) حفظ محیط مورد نیاز برای تکامل و بلوغ سلول‌های اسپرماتوژنیک از طریق سد خونی- بیضه ای

(۲) ترشح پروتئین اتصالی آندروژن (Androgen- binding protein) که غلظت‌های تستوسترون را که در تکامل گامت‌ها نقش دارد، تنظیم می‌کند

(۳) فاگوسیتوز بقایای سیتوپلاسمی مانده از اسپرمیوژنز (Grisworld., 1998).

**۱-۲-۳-اسپرماتوژنز**

اسپرماتوژنز مرحله‌ایی است که طی آن گامت‌های نر در بیضه تولید می‌شود و هدف آن تولید سلول‌های متحرک و کوچک است که مختص رسیدن به تخمک و لقاح می‌باشد. اسپرماتوژنز می‌تواند به سه فاز اصلی تقسیم شود:

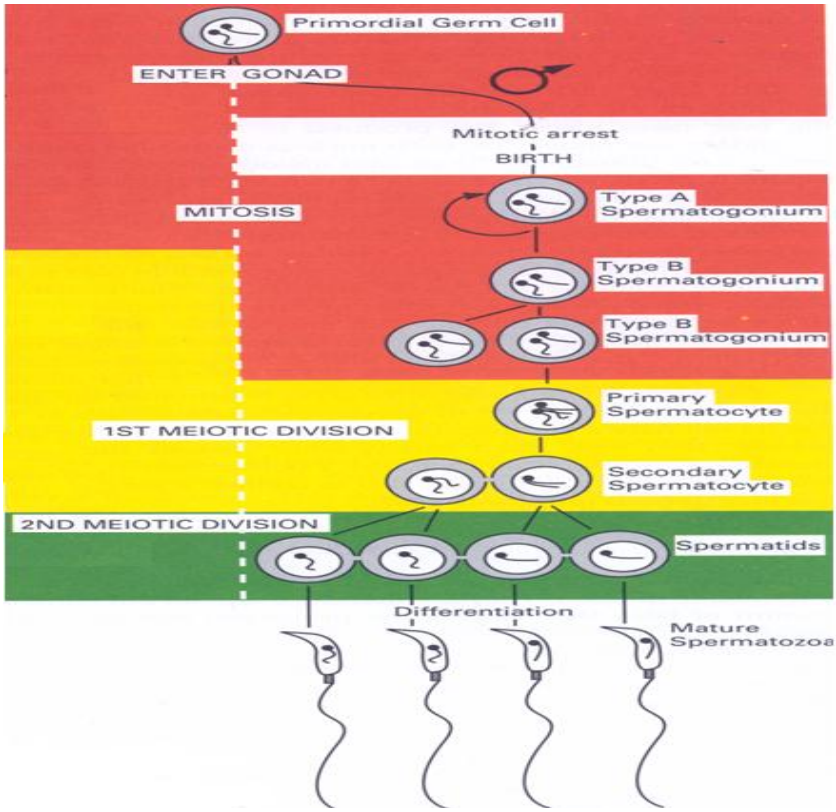
(۱) تکثیر و تمایز اسپرماتوگونیا (۲) میوز (۳) اسپرمیوژنز (PHillips *et al*., 2010).

اندکی پیش از بلوغ جنسی، طناب‌های جنسی دارای مجرا می‌شوند و لوله‌های منی‌بر را می‌سازند. تقریبا در همین زمان، سلول‌های زایای بدوی چند تقسیم میتوز انجام داده و اسپرماتوگونی‌ها را به وجود می‌آورند، بنابراین اسپرماتوگونیا سلول‌های جنسی دیپلوئیدند که تقسیم میتوز انجام می‌دهند و روی غشا پایه قرار می‌گیرند (Hess and Franca., 2008).

به طور عمومی دو رده اصلی از سلول‌های اسپرماتوگونیا می‌تواند در همه پستانداران شناسایی شود :

- اسپرماتوگونیا نوع A که تقسیم میتوز انجام می‌دهد و مرتبا ذخیره‌ای از سلول‌های بنیادی را فراهم می‌سازد.
- اسپرماتوگونیا نوع B، اسپرماتوسیت‌های اولیه (primary spermatocytes) را بوجود می‌آورد.

در حالت طبیعی برخی از سلول‌های A از مجموعه سلول‌های بنیادی خارج می‌شوند و نسل‌های پی‌درپی اسپرماتوگونی‌ها را می‌سازند که به ترتیب هر یک از قبلی تمایز یافته‌تر است. با کامل شدن آخرین تقسیم سلول‌های نوع A، اسپرماتوگونی‌های نوع B را بوجود می‌آورند که این سلول‌ها نیز با رشد خود، اسپرماتوسیت‌های اولیه را ایجاد می‌کنند. سپس اسپرماتوسیت اولیه وارد تقسیم اول میوز با یک پروفاز طولانی می‌شود و از حاصل تقسیم، اسپرماتوسیت ثانویه بوجود می‌آید. این سلول‌ها با انجام میوز II، اسپرماتیدها را تشکیل می‌دهند. اسپرماتیدها طی مراحلی به نام اسپرمیوژنز به اسپرم تبدیل می‌شوند (Wistiba, 2007) (شکل ۱-۳).




شکل ۱-۳. مراحل اسپرماتوژنز در موش نر(Hajkova., 2002)