



دانشگاه اراک

دانشکده علوم پایه

کارشناسی ارشد زیست شناسی

(گرایش فیزیولوژی جانوری)

تاثیر سیلیمارین بر پارامترهای اسپرم
قوچ فراهانی تیمار شده با سدیم آرسنیت

پژوهشگر

فرزانه اسکندری

استاد راهنما

دکتر حمیدرضا مؤمنی

بهمن ۱۳۹۲

چکیده

تاثیر سیلیمارین بر پارامترهای اسپرم قوچ فراهانی تیمار شده با سدیم آرسنیت

تجمع سدیم آرسنیت (به عنوان یک آلاینده زیست محیطی) در اندام های تولیدمثلی، می تواند از طریق القا استرس اکسیداتیو تاثیرات مخربی را بر روی روند اسپرماتوژنز و مورفولوژی اسپرم بگذارد. سیلیمارین ماده موثر دانه گیاه خارمریم (*Silibum marianum*) به عنوان یک آنتی اکسیدانت قوی شناخته شده است. این مطالعه با این هدف انجام شد تا مشخص نماید که آیا سیلیمارین قادر است اثرات مخرب سدیم آرسنیت را بر پارامتر های اسپرم قوچ مهار نماید.

اسپرم های گرفته شده از اپی دیدیم قوچ فراهانی (*Ovis aries*)، Swim up و سپس به پنج گروه تقسیم شدند: ۱- اسپرم های لحظه صفر، ۲- اسپرم های لحظه ۱۸۰ دقیقه (کنترل)، ۳- اسپرم های تیمار شده با سدیم آرسنیت ($10\ \mu\text{M}$) به مدت ۱۸۰ دقیقه، ۴- اسپرم های تیمار توام سیلیمارین ($20\ \mu\text{M}$) + سدیم آرسنیت ($10\ \mu\text{M}$) به مدت ۱۸۰ دقیقه و ۵- اسپرم های تیمار شده با سیلیمارین ($20\ \mu\text{M}$) به مدت ۱۸۰ دقیقه. سنجش MTT برای بررسی قابلیت حیات اسپرم و تست SCD (Sperm Chromatin Dispersion) و رنگ آمیزی اکریدین اورنژ جهت بررسی تمامیت DNA استفاده شد. جهت بررسی تمامیت غشا از تست HOS (Hypoosmotic Swelling) و همچنین از رنگ آمیزی همزمان هوخست و پروپیدیوم آیوداید استفاده شد. در حالیکه جهت بررسی پتانسیل غشای میتوکندری، تمامیت آکروزوم و جنبه مورفولوژیکی آپوپتوزیس در هسته اسپرم به ترتیب از رنگ آمیزی رودامین ۱۲۳، Comassie Brilliant Blue و Diff-Quick استفاده گردید. همچنین سنجش قابلیت تحرک بر اساس دستورالعمل WHO انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه همراه شده با تست توکی انجام و تفاوت میانگین ها در حد $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

در این پژوهش درصد قابلیت حیات، قابلیت تحرک، تمامیت غشای سیتوپلاسمی، پتانسیل طبیعی غشای میتوکندری، تمامیت آکروزوم، تمامیت DNA (با استفاده از تست SCD) و قطر هسته در گروه تیمار شده با سدیم آرسنیت به مدت ۱۸۰ دقیقه نسبت به گروه کنترل (غلظت صفر، لحظه زمانی ۱۸۰ دقیقه) به طور معنی داری کاهش یافت. کاربرد مشترک سیلیمارین با سدیم آرسنیت به مدت ۱۸۰ دقیقه توانست این اثرات را نسبت به گروه

تیمار شده با سدیم آرسنیت به طور معنی داری جبران کند. انکوباسیون اسپرم ها به مدت ۱۸۰ دقیقه سبب کاهش معنی دار قابلیت تحرک، تمامیت غشا (با استفاده از تست HOS) و تمامیت آکروزوم نسبت به لحظه صفر گردید. کاربرد سیلیمارین به تنهایی به مدت ۱۸۰ دقیقه توانست قابلیت تحرک و تمامیت آکروزوم را نسبت به گروه کنترل (غلظت صفر، لحظه زمانی ۱۸۰ دقیقه) افزایش دهد.

نتایج این پژوهش نشان داد که سیلیمارین به عنوان یک آنتی اکسیدانت قوی قادر است اثرات مخرب سدیم آرسنیت را بر پارامتر های اسپرم قوچ مهار نماید.

کلید واژه ها: اسپرم قوچ فراهانی، پارامتر های اسپرم، سدیم آرسنیت، سیلیمارین

فهرست مطالب

فصل اول مقدمه

- ۱-۱: تولید مثل جنسی ۲
- ۲-۱: مروری بر اندام تناسلی و فیزیولوژی تولید مثل قوچ ۲
- ۱-۲-۱: بیضه ۲
- ۱-۱-۲-۱: اسپرماتوزنز ۴
- ۲-۱-۲-۱: کیسه بیضه ۵
- ۲-۲-۱: سیستم لوله های برون بیضه ای ۸
- ۱-۲-۲-۱: اپیدیدیم ۸
- ۲-۲-۲-۱: مجاری و ابران ۹
- ۳-۲-۱: غدد ضمیمه جنسی ۹
- ۴-۲-۱: آلت ۱۰
- ۳-۱: منی ۱۰
- ۱-۳-۱: تغییرات فصلی و ارتباط آن با خصوصیات منی ۱۱
- ۲-۳-۱: ماندگاری منی ۱۱
- ۴-۱: اسپرماتوزوئید ۱۲
- ۱-۴-۱: شکل شناسی و خصوصیات ۱۲
- ۲-۴-۱: متابولیسم انرژی در اسپرماتوزوئید ۱۴
- ۳-۴-۱: تحرک پذیری اسپرماتوزوئید ۱۴
- ۵-۱: آرسنیک ۱۵
- ۱-۵-۱: معرفی عنصر آرسنیک ۱۵

- ۱۶ ۱-۵-۲: انواع گونه های آرسنیک
- ۱۷ ۱-۵-۳: سمیت آرسنیک
- ۱۷ ۱-۵-۴: تأثیر آرسنیک بر سیستم تولید مثل جانور نر
- ۱۷ ۱-۶-۶: آپوتوزیس
- ۱۷ ۱-۶-۱: مورفولوژی آپوتوزیس
- ۱۸ ۱-۶-۲: مسیر های سیگنال دهی آپوتوزیس در سلول های پستانداران
- ۱۹ ۱-۷-۷: آرسنیک و القای آپوتوزیس
- ۱۹ ۱-۸-۸: استرس اکسیداتیو
- ۲۰ ۱-۸-۱: اثرات ROS و RNS در پیشرفت و ارتقای آپوتوزیس
- ۲۱ ۱-۹-۹: استرس اکسیداتیو ناشی از آرسنیک
- ۲۱ ۱-۱۰-۱۰: آنتی اکسیدانت
- ۲۲ ۱-۱۱-۱۱: سیلیمارین
- ۲۳ ۱-۱۱-۱: کاربرد سیلیمارین
- ۲۴ ۱-۱۲-۱۲: مروری بر مطالعات گذشته
- ۲۴ ۱-۱۲-۱: آرسنیک
- ۲۵ ۱-۱۲-۲: سیلیمارین
- ۲۶ ۱-۱۳-۱۳: هدف از مطالعه
- فصل دوم مواد و روش ها**
- ۲۹ ۲-۱-۱: نمونه ها
- ۲۹ ۲-۲-۲: روش جمع آوری اسپرم از اپیدیدیم
- ۲۹ ۲-۳-۳: بررسی تعداد اسپرم
- ۳۰ ۲-۴-۴: گروه بندی و تیمار اسپرمها
- ۳۱ ۲-۵-۵: بررسی قابلیت حیات اسپرم به کمک سنجش MTT (روش کمی)

- ۳۲ ۶-۲: ارزیابی قابلیت تحرک اسپرم
- ۳۲ ۷-۲: ارزیابی تمامیت غشای پلاسمایی اسپرم
- ۳۲ ۱-۷-۲: رنگ آمیزی همزمان هوخست و پروپیدیوم آیوداید
- ۳۳ ۲-۷-۲: تست HOS
- ۳۵ ۸-۲: ارزیابی پتانسیل غشای میتوکندری اسپرم توسط رنگ آمیزی رودامین ۱۲۳
- ۳۶ ۹-۲: ارزیابی تمامیت آکروزوم توسط رنگ آمیزی Comassie Brilliant Blue
- ۳۷ ۱۰-۲: ارزیابی ماده ژنتیکی اسپرم توسط رنگ آمیزی‌های ویژه هسته
- ۳۷ ۱-۱۰-۲: ارزیابی شکست DNA اسپرم توسط تست SCD
- ۲-۱۰-۲: بررسی DNA دو رشته ای در مقابل تک رشته ای (دنا توره شدن DNA)، رنگ آمیزی اکریدین اورنژ (AO)
- ۳۹
- ۱۱-۲: ارزیابی جنبه مورفولوژیکی آپوپتوزیس در هسته اسپرم قوچ. اندازه گیری قطر هسته - رنگ آمیزی Diff-Quick
- ۴۰
- ۴۱ ۱۲-۲: آنالیز آماری داده ها
- فصل سوم نتایج**
- ۴۳ ۱-۳: ارزیابی قابلیت حیات اسپرم به کمک سنجش MTT (روش کمی)
- ۴۳ ۱-۱-۳: گروه های تیمار شده با سدیم آرسنیت
- ۴۴ ۲-۱-۳: گروههای تیمار شده با سیلیمارین + سدیم آرسنیت
- ۴۴ ۳-۱-۳: گروههای تیمار شده با سیلیمارین
- ۴۵ ۲-۳: ارزیابی قابلیت تحرک اسپرم
- ۴۷ ۳-۳: ارزیابی تمامیت غشای پلاسمایی اسپرم
- ۴۷ ۱-۳-۳: رنگ آمیزی هوخست و پروپیدیوم آیوداید
- ۴۸ ۲-۳-۳: تست HOS
- ۵۰ ۴-۳: ارزیابی پتانسیل غشای میتوکندری اسپرم توسط رنگ آمیزی رودامین ۱۲۳

- ۵۱: ۵-۳: ارزیابی تمامیت آکروزوم اسپرم قوچ توسط رنگ آمیزی Comassie Brilliant Blue
- ۵۳: ۶-۳: ارزیابی ماده ژنتیکی اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی های ویژه هسته
- ۵۳: ۱-۶-۳: ارزیابی شکست DNA اسپرم توسط تست SCD
- ۵۴: ۲-۶-۳: بررسی ساختمان دو رشته ای در مقابل تک رشته ای DNA اسپرم (رنگ آمیزی اکریدین اورانژ- AO)
- ۵۵: ۷-۳: ارزیابی جنبه مورفولوژیکی آپوتوزیس در هسته اسپرم. اندازه گیری قطر هسته-رنگ آمیزی Diff-Quick

فصل چهارم بحث و نتیجه گیری

- ۵۷: ۱-۴: قابلیت حیات، پتانسیل غشای میتوکندری و قابلیت تحرک
- ۵۹: ۱-۱-۴: بررسی اثر مخرب آرسنیک بر روی قابلیت حیات
- ۶۰: ۲-۱-۴: بررسی اثر مخرب آرسنیک بر روی میتوکندری
- ۶۱: ۳-۱-۴: بررسی اثر مخرب آرسنیک بر روی قابلیت تحرک
- ۶۱: ۴-۱-۴: مکانیسم احتمالی اثر مخرب سدیم آرسنیت بر کاهش قابلیت حیات، درصد اسپرم های با حرکت درجا و پتانسیل غشای میتوکندری اسپرم قوچ در این پژوهش
- ۶۳: ۵-۱-۴: تاثیر انکوباسیون اسپرم به مدت ۱۸۰ دقیقه بر روی قابلیت حیات، پتانسیل غشای میتوکندری و قابلیت تحرک در گروه کنترل (غلظت صفر)
- ۶۳: ۲-۴: بررسی تمامیت غشای پلاسمایی و آکروزوم اسپرم
- ۶۷: ۱-۲-۴: تاثیر انکوباسیون اسپرم به مدت ۱۸۰ دقیقه بر تمامیت غشا و آکروزوم در گروه کنترل (غلظت صفر)
- ۶۸: ۳-۴: ارزیابی تمامیت DNA
- ۷۰: ۴-۴: ارزیابی جنبه مورفولوژیکی آپوتوزیس
- ۷۰: ۵-۴: نتیجه گیری
- ۷۱: ۶-۴: پیشنهادات برای تحقیقات آینده

فصل پنجم ضمایم

- ۷۳: ۱-۵: طرز تهیه محیط کشت
- ۷۳: ۲-۵: طرز تهیه محلول استوک سدیم آرسنیت

۷۳	۳-۵: طرز تهیه محلول استوک سیلیمارین
۷۳	۴-۵: طرز تهیه محلول MTT
۷۳	۵-۵: طرز تهیه PBS
۷۳	۶-۵: طرز تهیه محلول های لازم جهت رنگ آمیزی هوخست و پروپیدیوم آیوداید
۷۴	۷-۵: طرز تهیه محلول هایپواسموتیک
۷۴	۸-۵: طرز تهیه محلول استوک رنگ رودامین
۷۴	۹-۵: طرز تهیه محلول Comassie Brilliant Blue
۷۴	۱۰-۵: محلول ها و بافر های مورد نیاز جهت تست SCD
۷۴	۱۱-۵: محلول های لازم جهت رنگ آمیزی اکریدین اورنژ
۷۶	فهرست منابع

فهرست اشکال

فصل اول مقدمه

- شکل ۱-۱: دستگاه تناسلی قوچ ۲
- شکل ۱-۲: بیضه ۳
- شکل ۱-۳: برش عرضی لوله اسپرم ساز ۵
- شکل ۱-۴: برش طولی اسکروتوم که جایگاه بیضه ها را در آن نشان می دهد ۶
- شکل ۱-۵: نقش شبکه پامپینی فرم در تنظیم دمای بیضه ها ۸
- شکل ۱-۶: مشخصات یک اسپرماتوزوئید گاو ۱۳
- شکل ۱-۷: مورفولوژی آپوتوزیس ۱۸
- شکل ۱-۸: گیاه خار مریم ۲۲

فصل دوم مواد و روش ها

- شکل ۱-۲: ارزیابی تمامیت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ با استفاده از رنگ آمیزی همزمان هوخست و پروپیدیوم آیوداید ۳۳
- شکل ۲-۲: سنجش تمامیت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ توسط تست HOS ۳۴
- شکل ۲-۳: ارزیابی پتانسیل غشای میتوکندری اسپرم قوچ توسط رنگ آمیزی فلورسنت رودامین ۱۲۳ ۳۵
- شکل ۲-۴: ارزیابی تمامیت آکروزوم اسپرم قوچ توسط رنگ آمیزی Comassie Brilliant Blue ۳۶
- شکل ۲-۵: ارزیابی شکست DNA اسپرم قوچ با استفاده از تست SCD ۳۸
- شکل ۲-۶: رنگ آمیزی هسته و آکروزوم اسپرم قوچ توسط رنگ آمیزی دیف کوئیک ۴۰

فصل سوم نتایج

- نمودار ۱-۳: ارزیابی قابلیت حیات اسپرم قوچ در گروه های تیمار شده با سدیم آرسنیت به روش سنجش MTT ۴۳

نمودار ۳-۲: ارزیابی قابلیت حیات اسپرم قوچ در گروه های تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت به روش

۴۵

سنجش MTT

نمودار ۳-۳: ارزیابی قابلیت تحرک اسپرم قوچ در گروه های تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت

نمودار ۳-۴: ارزیابی تمامیت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ در گروه های تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت

۴۷

توسط رنگ آمیزی هوخست و پروپیدیوم آیوداید

شکل ۳-۱: ارزیابی تمامیت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ در گروه های تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت

۴۸

توسط رنگ آمیزی هوخست و پروپیدیوم آیوداید

نمودار ۳-۵: ارزیابی تمامیت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ در گروه تیمار شده با سدیم آرسنیت و سیلیمارین توسط

۴۹

تست HOS

شکل ۳-۲: ارزیابی تمامیت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ در گروه های تیمار شده با سدیم آرسنیت و سیلیمارین

۴۹

توسط تست HOS

نمودار ۳-۶: ارزیابی پتانسیل غشای میتوکندری در اسپرم قوچ تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت توسط رنگ

۵۰

آمیزی رودامین ۱۲۳

شکل ۳-۳: ارزیابی پتانسیل غشای میتوکندری در اسپرم قوچ تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت توسط رنگ

۵۱

آمیزی رودامین ۱۲۳.

نمودار ۳-۷: ارزیابی تمامیت آکروزوم اسپرم قوچ در گروه های تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت به مدت

۵۲

۱۸۰ دقیقه توسط Comassie Brilliant Blue

شکل ۳-۴: ارزیابی تمامیت آکروزوم در اسپرم قوچ تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت توسط رنگ آمیزی

۵۲

Comassie Brilliant Blue

نمودار ۳-۸: ارزیابی شکستگی DNA اسپرم قوچ در گروه های تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت توسط

۵۳

تست SCD

شکل ۳-۵: ارزیابی شکستگی DNA در اسپرم قوچ تیمار شده با سیلیمارین و سدیم آرسنیت به مدت ۱۸۰ دقیقه

۵۴

توسط تست SCD

شکل ۳-۶: ارزیابی دناتوره شدن ساختمان دو رشته ای DNA اسپرم توسط رنگ آمیزی اکریدین اورنژ

۵۴

نمودار ۳-۹: ارزیابی جنبه مورفولوژیکی آپوتوزیس در هسته اسپرم قوچ در گروه های تیمار شده با سیلیمارین و

۵۵

سدیم آرسنیت. اندازه گیری قطر هسته-رنگ آمیزی Diff-Quick

فصل اول

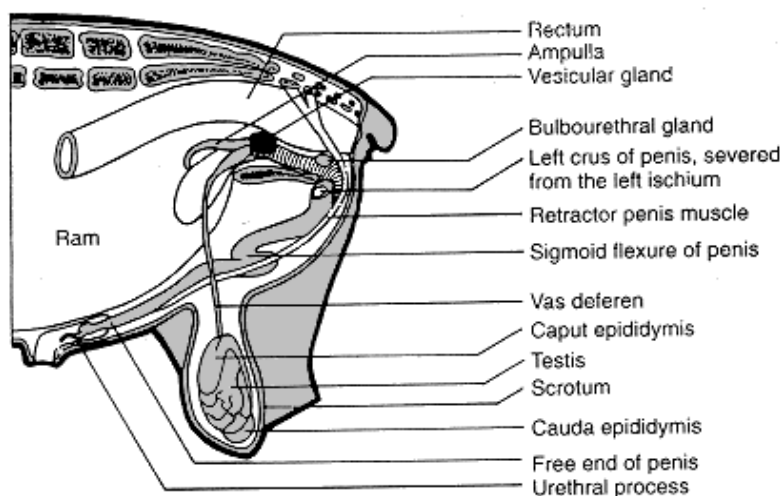
مقدمه

۱-۱- تولید مثل جنسی

تولید مثل توالی رخداد هایی است که با رشد و نمو دستگاه تولید مثل در روپان آغاز می شود. رشد یافتن پس از تولد و توان تولید سلول های جنسی بارور، از نیاز های اساسی برای باروری گونه هاست. این توانایی باید با رفتار های تولید مثلی و توان جفت گیری (آمیزش) همراه باشد (ضمیری، ۱۳۸۵). پس از جفت گیری، گامت ها برای آغاز حیات یک جنین درلقاح شرکت می کنند. گامت نر، اسپرم یا اسپرماتوزوئید نام دارد که نیمی از ژن های لازم برای تولید یک فرد کامل را همراه دارد و پس از امتزاج با گامت ماده که تخمک (اووسیت) نام دارد یک تخم دیپلوئید حاصل می شود و پس از جایگزینی در رحم، جفت به وجود می آید که به روپان اجازه رشد و نمو می دهد تا دوره ی آبستنی به پایان برسد (Gilbert SF 2000).

۱-۲- مروری بر دستگاه تناسلی و فیزیولوژی تولید مثل قوچ (*Ovis aries*)

دستگاه تناسلی در قوچ شامل بیضه ها، سیستم لوله های برون بیضه ای، غدد ضمیمه جنسی و آلت می باشد (ضمیری، ۱۳۸۵) (شکل ۱-۱).

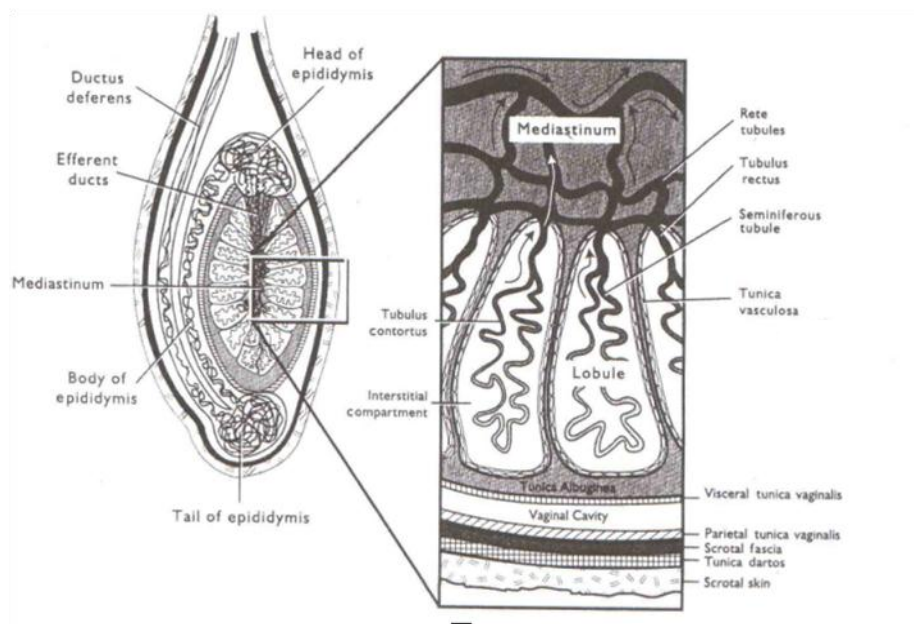


شکل ۱-۱: دستگاه تناسلی قوچ. (Redrawn from Sorenson. 1979. Animal Reproduction: Principles and Practices. McGraw-Hill)

۱-۲-۱- بیضه

بیضه ها یا گوناد ها اندام های اولیه جنسی قوچ نر هستند که خیلی بزرگ بوده و وزن هر کدام در قوچ سالم به ۲۰۰-۳۰۰ گرم می رسد. اندازه بیضه ها در فصول مختلف متغیر بوده و در اواسط فصل تولید مثلی به

حداکثر اندازه می‌رسند، این موضوع دارای اهمیت است زیرا تعداد اسپرماتوزوئید های تولید شده ارتباط نزدیکی با اندازه بیضه ها دارد (Evans G & Maxwell W 1989). هر بیضه توسط یک غشای فیبری که به آن غشای آلبوژینه گفته می‌شود پوشیده شده است. این غشا حاوی سرخرگ ها و سیاهرگ های بیضه است. بخش اصلی بیضه که در زیر این لایه واقع شده، پارانشیم بیضه نام دارد و زرد رنگ است (Evans G & Maxwell W 1989). از تونیکا آلبوژینه، دیوار هایی به درون بیضه فرستاده می‌شوند که پارانشیم بیضه را به لب هایی تقسیم می‌کند و تا بافت پیوندی مرکزی بیضه^۱ ادامه دارد (ضمیری، ۱۳۸۵). هر لب حاوی لوله های اسپرم‌ساز^۲ و بافت بینابینی^۳ بین لوله های اسپرم‌ساز است. لوله های اسپرم‌ساز بسیار ظریف و باریک هستند و از یک غشای پایه و یک لایه بافت اپیتلیوم زاینده که محل تولید اسپرماتوزوئیدها بوده تشکیل شده اند، این لوله ها به یک شبکه کانالی که به آن شبکه بیضه^۴ می‌گویند وارد می‌شوند (Evans G & Maxwell W 1989) (شکل ۱-۲).



شکل ۱-۲: بیضه (ضمیری، ۱۳۸۵)

-
- ¹ Mediastinum
 - ² Seminiferous tubules
 - ³ Interstitial
 - ⁴ Rete testis

بافت بینابینی بیضه که بین لوله های اسپرم ساز قرار دارد دربرگیرنده بافت پیوندی، رگ های خونی، رگ های لنفاوی، اعصاب و تعدادی سلول های اختصاصی به نام سلول های لیدیگ^۱ می باشد که مسئول تولید آندروژن های بیضه است (ضمیری، ۱۳۸۵).

بیضه ها دو وظیفه اساسی را انجام می دهند:

- ۱- تولید سلول های جنسی نر ۲- تولید هورمون های جنسی نر (آندروژن ها). این دو فعالیت در ارتباط با هم بوده طوریکه تولید اسپرماتوزوئید ها به تولید آندروژن ها وابسته است (Evans G & Maxwell W 1989). فعالیت بیضه ها تحت کنترل ترشح گونادوتروپین ها^۲ (FSH, LH) است که در سلول های گونادوتروپ آدنوهیپوفیز ساخته می شوند و خود توسط ترشح هورمون های آزاد کننده گونادوتروپین از سوی هیپوتالاموس تنظیم می شوند (ضمیری، ۱۳۸۵). اگرچه مقداری از آندروژن ها در بیضه ها فعالیت دارند ولی اکثر آن ها از طریق رگ های خونی به گردش خون ریخته شده که ۱- باعث تحریک خصوصیات ثانویه جنسی می شوند و ۲- با فعالیت بر روی مراکز رفتاری در مغز باعث بالا بردن رفتار جنسی می گردند (Evans G & Maxwell W 1989).

۱-۱-۲-۱- اسپرماتوژنز

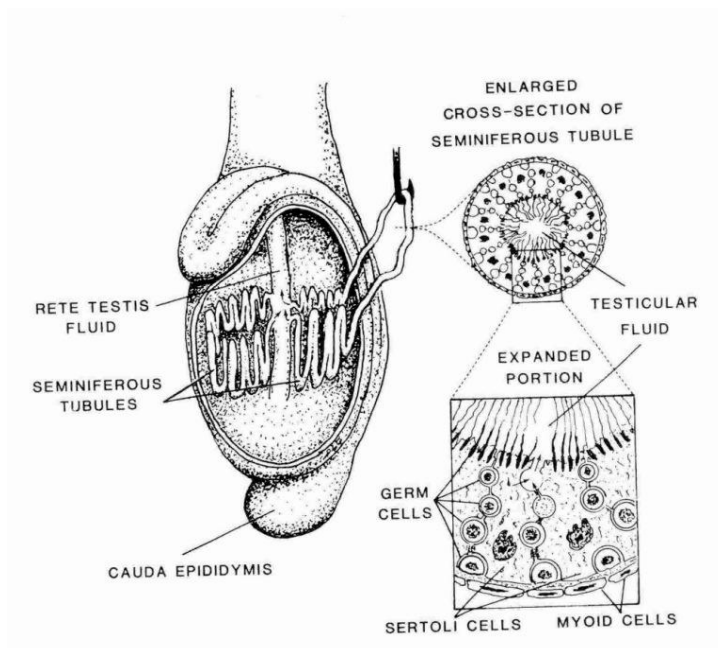
اسپرماتوژنز در مراحل جنینی آغاز می شود. سلول های مادری اسپرماتوگونی^۳ از رشد اولیه سلول های زاینده اولیه که در دیواره لوله های منی ساز مستقر شده اند، به وجود می آیند. جمعیت سلول های مادری اسپرماتوگونی به تعداد چند میلیون در طول مدت حیات دام نر ثابت باقی می ماند و تا مرحله بلوغ به صورت غیرفعال باقی مانده و بعد از آن شروع به تقسیم و تولید اسپرماتوزوئید می نمایند (Evans G & Maxwell W 1989). اسپرماتوگونی ها در امتداد غشای پایه لوله های اسپرم ساز قرار گرفته اند و توسط سلول های سرتولی محافظت می شوند، سلول های سرتولی همچنین با ساخت مایع بیضه سبب تغذیه سلول های جنسی بیضه می گردند (ضمیری، ۱۳۸۵). با تقسیم و بلوغ اسپرماتوگونی ها، سلول های اسپرم از غشای پایه رها شده و به طرف دهانه لوله های اسپرم ساز و از آنجا به شبکه بیضه حمل می شوند. مدت زمان لازم از فعالیت سلول های مادری تا آزاد شدن اسپرماتوزوئید ها به داخل لوله منی ساز در قوچ چهل روز طول می کشد (Evans G & Maxwell W 1989).

¹ Leydig

² Luteinizing Hormone , Follicle Stimulating Hormone

³ Spermatogonia

W 1989). پیرامون لوله های اسپرم ساز سلول های عضلانی^۱ قرار دارند که نوعی سلول انقباضی هستند. انقباض این سلول ها به همراه مایع ساخته شده توسط سلول های سرتولی در لوله های اسپرم ساز سبب جا به جایی اسپرم و فرستادن آن ها به لوله های آوران^۲ می شوند (ضمیمه، ۱۳۸۵) (شکل ۱-۳).



شکل ۱-۳: برش عرضی لوله اسپرم ساز (Evans G & Maxwell W 1989)

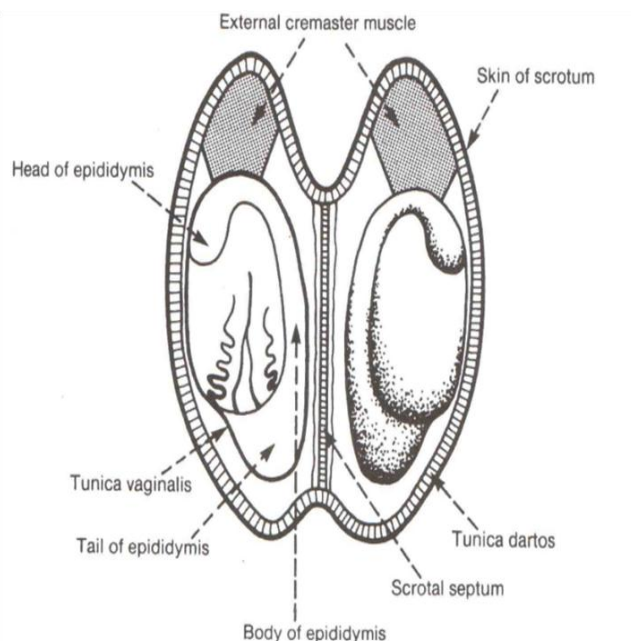
۱-۲-۲- کیسه بیضه:

بیضه ها در دوران جنینی در حفره ی شکمی هستند اما تا زمان تولد طی فرایندی که به آن پایین آمدن بیضه ها گفته می شود، به کیسه بیضه^۳ منتقل می شوند (ضمیمه، ۱۳۸۵). دیواره کیسه بیضه از خارج به داخل شامل پوست، غشای دارتوس^۴ و غشای مهبل^۵ است. پوست اسکروتوم از پشم یا مو پوشیده و دارای تعدادی غدد عرق و چربی می باشد. غشای دارتوس حمایت اصلی را برای بیضه ها تدارک می بیند و کاملاً به پوست چسبیده است، ساختمان این غشا ماهیچه ای بوده و کیسه بیضه را به دو قسمت که هر کدام دارای یک بیضه

¹ Myoid
² Efferent ductules
³ Scrotum
⁴ Tunica dartos
⁵ Tunica vaginalis

هستند تقسیم می‌نماید. غشای مهبل، بیضه و اپیدیدیم را فرا می‌گیرد (Evans G & Maxwell W 1989)

(شکل ۱-۴).



شکل ۱-۴: برش طولی اسکروتوم که جایگاه بیضه‌ها را در آن نشان می‌دهد (ضمیری، ۱۳۸۵)

کیسه بیضه تنها وظیفه‌اش نگهداری بیضه‌ها نیست، بلکه نقش مهمی نیز در تنظیم حرارت بیضه‌ها دارد. تولید اسپرماتوزوئیدها در بیضه به طور طبیعی در دمای ۴-۷ درجه سانتی‌گراد زیر دمای بدن انجام می‌گیرد (Evans G & Maxwell W 1989).

در دام‌های نر سالم چند عامل باعث نگهداری دمای مناسب بیضه‌ها می‌گردد که عبارتند از:

- ۱- غدد عرق در پوست اسکروتوم: گیرنده‌های حرارتی موجود در پوست کیسه بیضه می‌توانند واکنش‌هایی را بروز دهند که موجب پایین آمدن دمای کل بدن و تشدید تنفس و تعرق شوند. بدین صورت که پوست اسکروتوم، شمار زیادی پایانه‌های عصبی حساس به گرما دارد و با افزایش دمای بدن یا اسکروتوم سبب می‌گردد هیپوتالاموس پیام‌هایی را به غدد عرقی اسکروتوم ارسال کند که با عرق کردن و تبخیر آب از سطح پوست اسکروتوم به خنک شدن بیضه‌ها کمک می‌کند. به علاوه در قوچ مسیرهای عصبی کاملاً توسعه یافته‌ای وجود دارد که از اسکروتوم آغاز می‌شوند و تا مرکز تنفسی در مغز ادامه دارند و در نتیجه افزایش دمای اسکروتوم، افزایش شدید تعداد تنفس را در پی خواهد داشت.

۲- انبساط و انقباض ماهیچه دارتوس: ماهیچه دارتوس در هوای سرد منقبض و بیضه ها را به بدن نزدیک تر می کند و در هوای گرم منبسط می شود که از طرفی سبب دور شدن بیضه ها از بدن و از طرف دیگر سبب افزایش سطح اسکروتوم و خنک تر شدن بیضه ها می گردد.

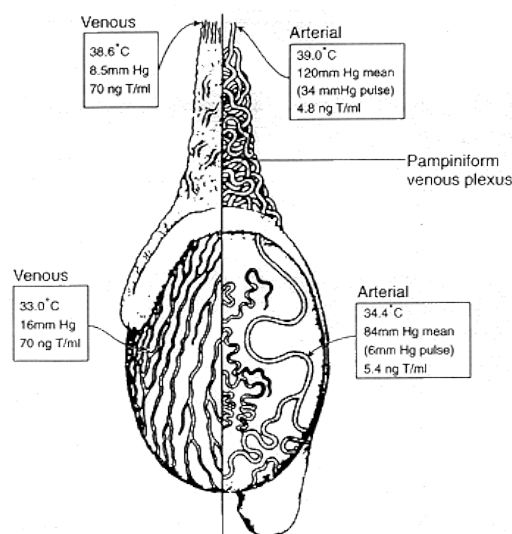
۳- شبکه مویرگی پامپینی فرم^۱ واقع در گردن کیسه بیضه سبب می گردد سرخرگ و سیاهرگ بیضه یک سیستم تبادل گرمایی را بین جریان خون سیاهرگی و سرخرگی به وجود آورند، بدین صورت که گرمای خون سرخرگی (۳۹ درجه سانتی گراد) به خون سردتر سیاهرگی (۳۳ درجه سانتی گراد) که از بیضه ها به سوی بخش های درونی بدن در جریان است منتقل می شود و دمای خون سرخرگی بیضه پیش از آن که به درون بافت بیضه نفوذ کند، کاهش می یابد. (شکل ۱-۵).

۴- ماهیچه کری ماستر که غشای مهبل را به شکم متصل کرده، با انبساط و انقباض سبب وارد آمدن فشار به شبکه پامپینی فرم و افزایش جریان خون در این شبکه می گردد و بدین ترتیب، کارایی خنک شدن بیضه ها، بیشتر می شود (ضمیمه، ۱۳۸۵).

۵- پشم یا موی روی پوست کیسه بیضه، به عنوان عایق عمل کرده و درجه حرارت بیضه را تنظیم می کند.

در صورتی که در شرایط گرم آب و هوایی، عوامل خنک کننده بیضه ها قادر به مقابله با تنش حرارتی نباشد، گرمای محیط بر روی تولید اسپرماتوزوئید ها اثر گذاشته و می تواند منجر به عقیمی موقت در دام نر گردد (Evans G & Maxwell W 1989).

¹ Pampiniform plexus



شکل ۱-۵: نقش شبکه پامپینی فرم در تنظیم دمای بیضه ها (ضمیری، ۱۳۸۵)

۱-۲-۲- سیستم لوله های برون بیضه ای^۱

اسپرم ها پس از خروج از لوله های اسپرم ساز از راه لوله های ریته^۲، به سیستم لوله های برون بیضه ای منتقل می شوند، به نخستین بخش از این سیستم لوله ای، لوله های آوران^۳ می گویند. پس از آن اسپرم به بخش دیگر لوله های برون بیضه ای یعنی اپیدیدیم^۴ می رسد و در بخش دم اپیدیدیم انباشته می شود و سپس از طریق لوله های وابران^۵ به میزراه (مجرای مشترک ادرار و منی در نر) منتقل می شوند (ضمیری، ۱۳۸۵).

۱-۲-۲-۱- اپیدیدیم

اپیدیدیم لوله ای بلند و باریک است که به شکل پیچ در پیچ در امتداد محور طولی بیضه به آن چسبیده است. اپیدیدیم با توجه به شکل ظاهری آن روی بیضه ها به سه بخش سر، بدنه و دم طبقه بندی شده است. سر اپیدیدیم به قسمت فوقانی بیضه و دم آن به قسمت تحتانی بیضه چسبیده و بدنه آن در سرتاسر دیواره کیسه بیضه قابل لمس می باشد (شکل ۱-۲). طول اپیدیدیم در قوچ ۶۰ متر است. تعدادی مجاری آوران از شبکه بیضه به داخل قسمت سر اپیدیدیم وارد می شوند. اسپرم هایی که به این مجاری می رسند هنوز توان باروری و لقاح را به دست نیاورده اند. در اپیدیدیم اعمال حیاتی ذخیره، بلوغ و انتقال اسپرماتوزوئید ها رخ

¹ Excurrent duct system

² Rete

³ Efferent

⁴ Epididymis

⁵ Vas deferens