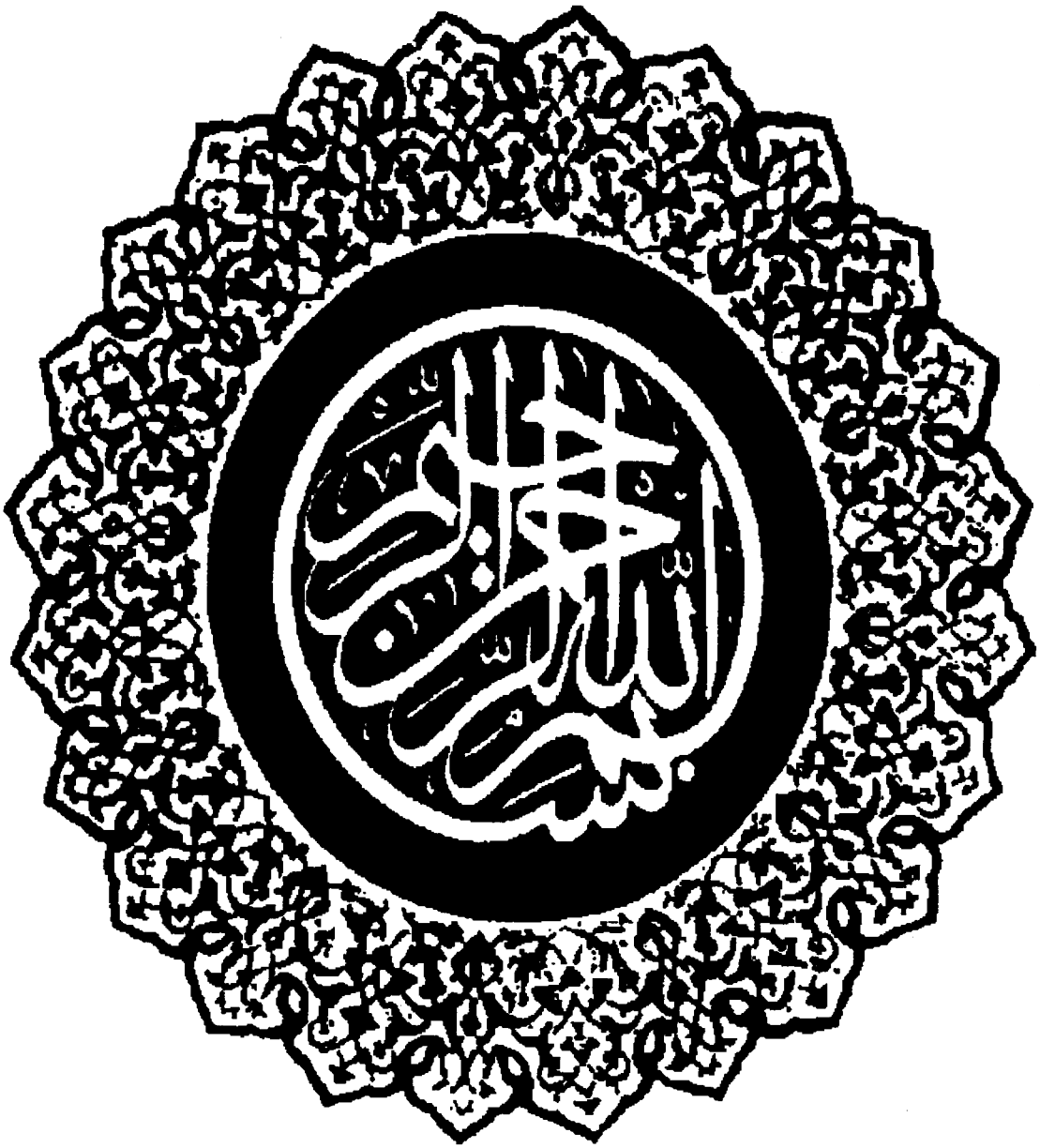

١٧٤٢٨١

دانشگاه ارومیه

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد فیزیولوژی

عنوان:

اثرات آنتی اکسیدانتی ویتامین E و گیاه جینسینگ بر سمیت بیضوی القاء شده توسط سیکلوفسفامید در موشهای بزرگ سفید آزمایشگاهی

اساتید راهنما:

دکتر صمد زارع

دکتر فیروز قادری پاکدل

استاد مشاور:

دکتر عباس احمدی

پژوهش و نگارش:

اکرم حسینی

مرکز اطلاعات مدارک علمی پزشکی
تهیه مدارک

۱۳۸۹/۹/ ۸

شماره پایان نامه: ۱۰۴۸-۲

سال تحصیلی: ۸۸- ۸۹

حق چاپ و نشر در انحصار دانشگاه ارومیه می باشد.

۱۴۶۴۸۱

پایان نامه : اکرم حسینی به تاریخ : ۸۹/۶/۱۴ شماره : مورد پذیرش هیات محترم

داوران با رتبه عالی و نمره ۲۰ قرار گرفت .

۱- استاد راهنما و رئیس هیئت داوران :

۲- استاد مشاور :

۳- داور خارجی :

۴- داور داخلی :

۵- نماینده تحصیلات تکمیلی :

حمد و سپاس خدایی را که اگر هست از لطف اوست...

با زبانی قاصر و قلمی ناتوان ازنگارش، این اثر را اگر شایسته باشد، تقدیم می کنم به بزرگترین سرمایه های زندگی ام؛

سید کمال حسینی؛ پدر عزیزم که وجودش برایم همه مهر و وجودم برایش همه رنج بود.

زهرا حداد؛ مادر مهربانم که همه بودنم از بودن او و هر آنچه که هستم فدای ماندن او.

مصطفی و مجتبی حسینی برادران عزیزم؛ که زلال محبتشان در برگ برگ خاطرات کودکی ام تا به امروز جاریست و زیبای لبخندشان همیشه روشنی بخش روزهای دلتنگی ام است.

" به درستی که برای آموزگار خوبیها، جنبندگان زمین، ماهیان دریا، جانداران فضا و همه آسمانها و زمینیان طلب مغفرت می کنند و به درستی که یاد دهنده و یاد گیرنده دارای پاداشی یکسانند. "

پایان نامه حاضر مهیا نمی شد مگر با یاری عزیزانی که سپاسگذاری از آنها بر من است، هر چند که لطف آنها را جبران نخواهدکرد.

اساتید فرزانه و ارجمندم :

جناب آقای دکتر صمد زارع و آقای دکتر فیروز قادری پاکدل که با بزرگواری و سخاوتمندی تمام در هنگام کار آن گونه که معلم حقیقی را سزاست یاریم نمودند.

جناب آقای دکتر عباس احمدی که همواره در تمام مراحل انجام پروژه حمایتها، راهنمایی ها و کمک های فراوان ایشان شامل حالم گردید و بدون شک بی حضورشان ادامه راه برایم بسیار دشوار بود.

سرکار خانم دکتر فرح فرخی و جناب آقای دکتر وحید نجاتی که زحمت داوری این پایان نامه را تقبل کردند و از نظرات سودمندشان بهره بردم.

تمامی معلّمان و اساتیدی که در طول دوران نوزده سال تحصیلم از آنها ارزش های فراوانی آموختم.

تمامی دوستان دوران تحصیلم، همراتاقی های بی نظیرم که آشنایی با آنها سختی های این دوران را برایم قابل تحمل کرد.

خانواده عزیزم که همواره به قدرت و قوت پشتیبانی آنهاست که راه را پیموده ام.

و بالاخره همه عزیزانی که در انجام این پروژه مرا یاری رساندند.

اکرم حسینی _تیر ۱۳۸۹

" زندگی جز تاریکی نیست، مگر شوری در کارها باشد؛
شورها همگی کورند مگر آنکه دانشی در میان باشد؛
همه کارها تهی و بیهوده اند مگر عشقی در میان باشد
و آنگاه که شما با عشق کار می کنید خود را به خود و
به یکدیگر و به خدا پیوند می دهید. "

جبران خلیل جبران

فهرست مطالب

صفحه ..... عنوان

فصل اول: مقدمه

ناباروری ۱

فصل دوم: کلیات

تشریح فیزیولوژیک اندامهای جنسی مردان ٤
آناتومی بیضه ها ٤
اجزای اصلی تشکیل دهنده بیضه ٥
سلول های دودمان اسپرماتوژن ٥
سلول های سرتولی ٦
بافت بینابینی ۷
مجاری ناقل اسپرم ۷
غدد ضمیمه دستگاه تناسلی ۹
بیولوژی اسپرماتوژنز ۱۰
اسپرماتوسیتوژنز ۱۰
میوز ۱۰
اسپرمیوژنز ۱۱
مورفولوژی اسپرم ۱۲
ارزیابی مورفولوژی اسپرم ۱٤
طول دوره اسپرماتوژنز ۱٥
تنظیم هورمونی اسپرماتوژنز ۱٥
ظرفیت یافتن و واکنش آکروزومی اسپرماتوزوئیدها ۱٦
هورمونهای جنسی مردانه ۱۷
آثار مختلف آندروژنها ۱۷
تجزیه و دفع تستوسترون ۱۹
کنترل فیدبکی ترشح تستوسترون ۱۹
فعالیت های بیولوژیکی در تولید مثل ۲۰
سیکل استروس ۲۰
اوولاسیون ۲۰
حاملگی ۲۰

دوره حاملگی ۲۱
شیمی درمانی و اثرات مخرب آن بر تولید مثل نر ۲۱
سیکلوفسفامید ۲۳
استرس اکسیداتیو ۲۵
مکانیسم های پاسخ سلولی به استرس ۲۶
ترمیم و بازسازی DNA ۲۶
مکانیسم های دفاع آنتی اکسیدانتی ۲۸
پروتئین های مربوط به شوک حرارتی و همراهانش(HSPs) ۳۱
آپوپتوز ۳۱
بازبینی سیکل سلولی ۳۲
ویتامین E ۳۲
نقش آنتی اکسیدانتی ویتامین E در بافتهای حیوانی و گیاهی ۳۳
ذخیره ویتامین E ۳۴
متابولیسم ویتامین E ۳۴
جینسینگ ۳۵
انواع گونه های گیاه جینسینگ ۳۵
مورفولوژی گیاه جینسینگ ۳۶
ترکیبات ساختاری ریشه جینسینگ ۳۷
خواص عمومی جینسینگ ۳۸
مروری بر مطالعات صورت گرفته بر روی داروی شیمی درمانی سیکلوفسفامید ۳۹
مروری بر مطالعات صورت گرفته برجینسینگ ۴۱
مروری بر مطالعات صورت گرفته بر ویتامین E ۴۲

فصل سوم: مواد و روش کار

مواد ۴۴
وسایل و دستگاهها ۴۴
حیوانات ۴۶
تعیین حیوانات و دوز موثر دارو ۴۷
گروه بندی حیوانات ۴۷
روش انجام آزمایش ۴۸
روش تهیه محلول ثبوتی فرمالین ۱۰ ٪ بافری ۴۸
پاساژ بافتی ۴۸
رنگ آمیزی مقاطع بافتی ۵۱

رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین ۵۱
بررسی تغییرات وزن بدن ۵۳
بررسی تحرک در اسپرماتوزوئیدها ۵۳
بررسی میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیم ۵۳
بررسی قابلیت حیات اسپرم ۵٤
بررسی مورفولوژی اسپرم ۵٤
تعیین مقدار هورمون تستوسترون در پلاسما ۵٤

بررسی میزان باروری موش های صحرایی نر ۵۵
ارزیابی وجود هیستون اضافی در هسته اسپرم ۵۵
ارزیابی DNA شکسته و یا تک رشته ای ۵۵
اندازه گیری میزان پراکسیداسیون چربی در پلاسما و بافت بیضه ۵٦
آنالیز و تحلیل داده ها ۵٦

فصل چهارم: نتایج و یافته ها

اثر بر وزن بدن حیوانات ۵۷
اثر بر وزن بیضه ۵۸
اثر بر حجم بیضه ۵۸
اثر بر پارامترهای مختلف اسپرم ٦۰
یافته های مورفولوژیک در بافت بیضه ٦٤
اثر بر هورمون جنسی تستوسترون ۷۵
اثر بر بیو مارکرهای استرس اکیسداتیو در پلاسما و بافت بیضه ۷٦
اثر بر کیفیت کروماتین DNA در اسپرم ۷۸
اثر بر شاخصه های باروری ۸۱

فصل پنجم: بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات

بحث ۸۳
نتیجه گیری ۹۱
پیشنهادات ۹۲

فصل ششم: منابع

منابع ۹۳

چکیده

سال تحصیلی: ۸۸-۸۹

نگارنده: اکرم حسینی

عنوان: اثرات حمایتی ویتامین E و عصاره گیاه جینسینگ بر سمیت بیضوی القاء شده توسط مصرف کرونیک سیکلوفسفامید در موشهای نر نژاد ویستار.

سیکلوفسفامید از داروهای موثر در شیمی درمانی بوده و با داشتن خاصیت آلکیلاسیون باعث اختلال در عملکرد اسیدهای نوکلئیک شده و از سنتز DNA ممانعت می کند. دارای خاصیت ضد توموری و مهار گر سیستم ایمنی می باشد و با القاء استرس اکسیداتیو باعث مسمومیت یاخته ای می شود. اختلال در سیستم تناسلی و نهایتا ایجاد آزواسپرمی و الیگواسپرمی از عوارض جانبی این دارو به شمار می رود.

هدف از این پژوهش بررسی اثرات احتمالی حمایتی جینسینگ و ویتامین E بر سمیت تناسلی القاء شده در موشهای بزرگ سفید آزمایشگاهی می باشد. فاکتورهایی که به این منظور مورد ارزیابی قرار گرفت عبارتند از: پراکسیداسیون چربی پلاسما و بافت بیضه ، میزان باروری ، هورمونهای جنسی، پارامترهای اسپرم ، کیفیت DNA و کروماتین و مطالعات بافت شناسی بیضه .

موشهای بالغ نژاد ویستار در هشت گروه هفت تایی گروهبندی شدند. حیوانات جینسینگ را با دوز ۵۰۰mg/Kg، ویتامین E را با دوز ۱۰۰ mg/Kg و سیکلوفسفامید را با دوز ۶/۱ mg/Kg بصورت روزانه دریافت کردند. یک روز پس از اتمام دوره تیمار موشها کشته و نمونه برداری صورت گرفت.

حیوانات تیمار شده با سیکلوفسفامید کاهش معنی داری در کیفیت اسپرم نشان دادند که با افزایش آسیبهای DNA و کاهش کیفیت کروماتین ارتباط دارد. همچنین در این گروه از موشها میزان پراکسیداسیون چربیها در پلاسما و بافت بیضه بطور معنی داری افزایش و میزان هورمون جنسی تستوسترون بطور معنی دار کاهش یافت. مطالعات بافتی نشان داد که فرآیند اسپرماتوژنز نیز در این گروه از حیوانات دچار اختلال شده است.

درگروههایی که همزمان با سیکلوفسفامید، آنتی اکسیدانت هم دریافت می کردند، کاهش فروپاشی DNA و افزایش کیفیت اسپرم، میزان تستوسترون درپلاسما، اسپرماتوژنز و باروری مشاهده شد. یافته ها نشان می دهند که ارتباط معکوسی بین آندروژنز، اسپرماتوژنز و استرس اکسیداتیو وجود دارد. ویتامین E و جینسینگ با فعالیت آنتی اکسیدانتی و آندروژنیک خود، می توانند سمیت ناشی از سیکلوفسفامید را کاهش دهند.

واژگان کلیدی: سیکلوفسفامید، ویتامین E ، سمیت بیضوی، استرس اکسیداتیو، اسپرماتوژنز، پارامترهای اسپرم، آسیبهای DNA، باروری و شیمی درمانی.

فصل اول

۱ – مقدمه

۱-۱- ناباروری (Infertility)

از زمان آفرینش بشر ناباروری یک مشکل طبی و اجتماعی بوده و همواره سلامت روانی فرد و اجتماع را تهدید می کرده است. انسان تاکنون گام های بسیاری جهت رفع این مشکل برداشته است. امروزه ناباروری که تا چندی قبل پدیده ای در حیطه خرافات و کارهای غیر علمی بود، نه به عنوان مجازات الهی بلکه به صورت یکی از زمینه های مهیج و پویای علم زیست شناسی در آمده است و مورد توجه محققان علم فیزیولوژی، داروسازی، اندوکرینولوژی، ایمنی شناسی، پزشکی و... می باشد و به این ترتیب این مجموعه تحقیقات متنوع توانسته است پدیده تولید مثل انسانی را هرچه بهترشناسایی کند. برای ناباروری هیچ تعریف استانداردی وجودندارد. ولی در تعریف قراردادی که برای ناباروری وضع شده است ، ناباروری به عدم توانایی آبستن شدن پس از یک سال آمیزش بدون جلوگیری و بدون محدودیت گفته می شود. امروزه، بیش از ٦٠ میلیون نفر از مردم جهان با مشکلات ناباروری در برهه ای از زندگی مشترک خود مواجه هستند، و این در حالی است که در نیمی از موارد، مردان به نحوی عامل ناباروری می باشند. در حدود ۱۰% موارد، عدم وجود اسپرم در مایع انزال علت اصلی ناباروری مردان می باشد.

اولین گام جهت بررسی و ارزیابی باروری و یا میزان سلامت سیستم تولید مثلی مردان، تخمین پارامترهای اسپرمی توسط آنالیز مایع منی می باشد. آنالیز اسپرم شامل محاسبه غلظت، درصد تحرک و بررسی مورفولوژی اسپرم می باشد. حداقل میزان این پارامترها در باروریهای طبیعی، از طریق بررسی پارامترهای اسپرمی در زوج های بارور ، توسط سازمان بهداشت جهانی به صورت دوره ای اعلام می گردد. با توجه به اینکه مقادیر طبیعی اعلام شده توسط سازمان بهداشت جهانی ، از طریق بررسی جمعیت های بارور تعیین می شود، در مواردی که پارامترهای اسپرمی در دامنه مقادیر طبیعی قرار نگیرند، فرد نابارور محسوب می گردد و متعاقب آن مشکلات اجتماعی و فشارهای روحی بسیاری برای زوجین به وجود می آید.

مقادیر سیمن نرمال - رفرنس سازمان سلامت جهانی

حجم ..... ml. ≥ ۲

غلظت اسپرم..... million/ml ≥ ۲۰

تعداد کل اسپرم..... million ≥ ٤۰

شکل طبیعی..... Normal ۳۰٪ <

تحرک ..... ۵۰٪ متحرک <

pH ۷/۸–۷/۲

از جمله عوامل ناباروری مردان، قرارگرفتن آنها در معرض مواد سمی است. در حال حاضر نشان داده شده است که عوامل سمیت تولید مثلی مردانه بسیار متنوع است، با این حال مکانیسم های مختلفی که از طریق آنها بیشتر این مواد، اثرات سمی و مخرب خود را بر روی اسپرم اعمال می کنند به میزان زیادی ناشناخته مانده است. از جمله موادی که نیاز مبرم و فوری جهت شناخت هر چه بیشتر مکانیسم اثر آنها بر روی سیستم تناسلی نر احساس می شود، عوامل ضد سرطان می باشند.

سیکلوفسفامید به طور معمول به عنوان یک داروی ضد سرطان و نیز سرکوب کنندهٔ ایمنی به کار می رود. این دارو در سال ۱۹۵۸ برای درمان تومور اعمال شد و امروزه به شکل گسترده ای به عنوان یک عامل آلکیله کننده در دارو درمانی انسانها کاربرد دارد. علی رغم کاربردهای وسیع کلینیکی، سیکلوفسفامید موجب بروز اثرات جانبی زیادی از جمله سمیت تولید مثلی در انسان ها شده است. مردانی که به مدت ٤ ماه یا بیشتر تحت درمان با سیکلوفسفامید قرار گرفته اند، وضعیت های متغیری از الیگواسپرمی یا آزواسپرمی را تجربه کرده اند. در طی مراحل شیمی درمانی، مکانیسم های آنتی اکسیدان سلولی ناتوان شده و در نتیجه شرایط برای استرس اکسیداتیو فراهم می گردد. تلاش برای کاهش این عوارض مخصوصاً با داروهای گیاهی و یا رژیم تغذیه‌ایی از موضوعات جالب تحقیقاتی است. استفاده توامان مواد آنتی اکسیدان یا محرک آنتی اکسیدان حداقل این مزیت را دارد که توسعه عوارض جانبی ترکیبات شیمی درمانی را محدود می‌کند. امروزه کاربرد مواد آنتی اکسیدان با هدف خنثی سازی و کاهش اثرات منفی ناشی ازROS بر سلولها و بافت های بدن مدنظر محققان بسیاری قرار دارد.شواهد و مدارک بدست آمده نشان می‌دهند که استفاده از آنتی اکسیدانتها می‌توانند با از بین بردن رادیکال‌های آزاد تولید شده، در

جلوگیری و کاهش اثرات سمی ترکیبات شیمی درمانی موثر واقع شوند. امروزه بحث ادجوانت دارویی یا داشتن ترکیباتی از مخلوط داروها که بتوانند اثرات همدیگر را بهبود بخشیده یا تقویت کنند از مباحث عمده علوم فارماکولوژی است. این تحقیق سعی داشته تا به بررسی اثرات گیاه جینسینگ و ویتامین E در کاهش عوارض سیکلوفسفامید روی دستگاه تولید مثلی موش‌های نر بپردازد.

فصل دوم

۲- کلیات

۱ -۲- تشریح فیزیولوژیک اندامهای جنسی مردان

این دستگاه ارتباط نزدیکی با سیستم ادراری داشته و اغلب تحت عنوان دستگاه اوروژنیتال معروف است. دستگاه تولید مثل در جنس نر از بیضه ها، مجاری تناسلی، غدد ضمیمه و آلت مردانه تشکیل شده است.

بیضه ها در مرحله جنینی در پشت پرده صفاق و مجاور دیوار خلفی حفره شکم تکامل می یابند (۱)، سپس در درون اسکروتوم و در انتهای طنابهای اسپرماتیک معلق می شوند. دور هر بیضه را کیسه سروزی بنام تونیکا واژینالیس فرا می گیرد که از صفاق منشاء گرفته است. این پوشش دارای یک لایه جداری خارجی ویک لایه احشایی داخلی است که در قسمت های جلویی و طرفینی بیضه، تونیکا آلبوژینه آ را پوشانده است. تونیکا آلبوژینه آ در سطح خلفی بیضه ضخیم شده و مدیاستینوم بیضه یا تیغه میانی بیضه راتشکیل می دهد که از این قسمت دیواره های فیبری به درون بیضه نفوذ کرده وآن را به حدود ۲۵۰ بخش هرمی شکل موسوم به لوبولهای بیضه تقسیم می کنند. این دیواره ها کامل نبوده و معمولا ارتباطاتی بین لوبولها وجود دارد. هر لوبول بوسیله یک تا چهار لوله منی ساز اشغال شده است (۲).

۲-۲- آناتومی بیضه ها

بیضه غدد زوجی است که به علت تولید سلولهای جنسی، غده سلول زا نامیده می شود (۱). شکل و اندازه آن در گونه های مختلف متفاوت می باشد. برای تولید نرمال اسپرم، این غده باید حدود ۱ تا ٤ درجه سانتی گراد پائین تر نسبت به متوسط درجه حرارت بدن قرار گیرند. تنظیم این دما تا حدی بواسطه تبادل حرارتی از طریق عروق شریانی و وریدی انجام می گیرد که به دور بافت بیضه پیچیده اند(۳). عوامل دیگر کنترل دما عبارتند از : تبخیر عرق از اسکروتوم و انقباض عضلات کرماستر در طناب اسپرماتیک که سبب کشیده شدن بیضه ها به کانال اینگوایینال شده و دمای آنها را افزایش می دهد(۲). وزن هر بیضه حدود ٤۰ گرم می باشد، قطر قسمت طولانی تر بیضه حدود ٤/٥

سانتیمتر می باشد. ۸۰ ٪ بیضه یک فرد بالغ متشکل از لوله های مولد منی است و۲۰ ٪ باقیمانده مربوط به بافت پیوندی نگهدارنده می شود که در داخل آن سلول های لیدیگ پراکنده شده اند(۳).

۳-۲- اجزای اصلی تشکیل دهنده بیضه

بیضه از عناصری مجزا که از نظر عملی با یکدیگر بر همکنش دارند تشکیل شده است.

جزء اول؛ سلولهای لایدیگ که سلولهای ویژه ترشح کننده استروئید هستند. فرآورده اصلی آنها تستوسترون است که آثار موضعی مهم بر همانندسازی سلولهای زایا و همینطور بر سلولهای هدف دورتردارد (۳).

جزء دوم؛ سلولهای میوئید دور لوله ای ، نقش آنها ایجاد انقباض در لوله های منی ساز است. دو نوع انقباض در این لوله ها دیده می شود: نوع اول باعث جلو راندن محتویات لوله می گردد .این نوع از انقباض احتمالاً در انتقال اسپرم رها شده به شبکه بیضه نقش دارد . نوع دوم انقباض موضعی است و باعث دور کردن سلول های زایای پیش میوزی از غشاء پایه می گردد و همچنین به رهاسازی اسپرم در فرآیند اسپرم ریزی کمک می کند(٤) .

جزء سوم؛ لوله های منی ساز، هر بیضه از تعداد ۹۰۰ لوله مولّد منی تشکیل می شود. هر لوله منی ساز قطری در حدود ۱۵۰-۲۵۰ میکرومتر و طولی حدود ۳۰ تا ۷۰ سانتی متردارد. لوله های منی ساز در هنگام تولد، توپر بوده و دو نوع سلول در آنها یافت می شود.یک عده سلولهای درشت که همان P.G.C (primordial germ cell) ها هستند و تقسیم شده ، اسپرماتوگونی ها را تشکیل می دهند. دسته دیگر سلولهای بی تفاوت هستند که بعدا به سلولهای سرتولی تبدیل می شوند. تا هنگام بلوغ، این مجموعه تنها سلولهایی هستند که می توان در لوله ها مشاهده کرد. هنگام بلوغ ، تقسیمات سلولی تشدید شده و تکامل P.G.C ها آغاز می شود لوله های منی ساز که تا آن زمان تو پر بودند، دارای مجرا می شوند(۳).

۱-۳-۲- سلول های دودمان اسپرماتوژن

در ٤ تا ۸ لایه در کنار یکدیگر قرار گرفته و فضای بین لایه قائده ای تا مجرای لوله را اشغال می کنند، این سلول ها به ترتیب در برگیرنده چند نسل سلولهای اسپرماتوگونی با عنوان گروه A وB روی غشاء پایه و سپس یک نسل

اسپرماتوسیت اولیه، یک نسل اسپرماتوسیت ثانویه، یک نسل اسپرماتید و یک نسل اسپرماتوزوئید است که در بخشهای دیگر کاملتر معرفی می شوند.

۲-۳-۲- سلول های سرتولی

سلول های هرمی شکل هستند که قاعده آنها به لایهٔ بازال می چسبد، در حالی که انتهای رأسی آنها معمولاً تا مجرای لوله منی ساز امتداد می یابد. این زوائد به عنوان مجراهایی هستند که سلولهای زایا در مراحل مختلف رشد و تکامل در بین آنها قرار داشته و به سمت مجرا حرکت می کنند. بعد از بلوغ اسپرماتوسیتها ،اتصالات محکم جدیدی بین زوائد سلولهای سرتولی در پشت آنها پدید می آید و اتصالات قدیمی جلوی آنها باز می شود و به این ترتیب بدون در هم ریختن جامعیت سد خونی – بیضوی که توسط سیتوپلاسم سلولهای سرتولی ایجاد شده است، اسپرماتوسیتها از بخش قاعده ای به بخش مجرائی عبور می کند. سیتوپلاسم این سلولها به عنوان فیلتر عمل کرده و تنها به مواد خاصی اجازه عبور می دهند (۳). این سد در حفظ سلول های زایای جنس مذکّر در مقابل مواد مضر موجود در خون دارای اهمیت است . در زیر این اتصالات، اسپرماتوگونی ها در یک محوطه قاعده ای قرار می گیرند و در نتیجه به راحتی به مواد درون خون دسترسی می یابند. هنگام اسپرماتوژنز، سلول های اسپرماتوسیت لپتوتن نهایی و زیگوتن ، از این اتصالات گذشته و در محوطه جنب مجرایی قرار می گیرند. از اینجا به بعد، مراحل پیشرفته تر اسپرماتوژنز به کمک سد خونی – بیضوی از دسترس مواد موجود در خون حفظ می شوند. سلول های سرتولی بوسیله اتصالات شکافدار نیز به هم متصل شده اند که خود سبب ایجاد ارتباط یونی و شیمیایی بین سلول ها می شود. در انسان و حیوانات دیگر نسبت به شرایط نامطلوبی مانند عفونت ، سوء تغذیه و تشعشع اشعه X آسیب برساند، باعث اختلال سریع در فرآیند اسپرماتوژنز می شود و در صورتی که مرگ سلولهای سرتولی رخ دهد، عدم باروری حاصل می گردد که دائمی خواهد بود(۲).

سلولهای سرتولی با همکاری سد خونی – بیضوی اعمال زیر را انجام می دهند:

پشتیبانی، حفاظت و تغذیه اسپرماتوزوئیدهای در حال تکامل، فاگوسیتوز. در حین اسپرمیوژنز، سیتوپلاسم باقیمانده اسپرماتیدها به صورت اجسام باقیمانده از آنها جدا می گردد. این قطعات سیتوپلاسمی بوسیله سلول های سرتولی

فاگوسیته شده و توسط لیزوزوم آنها تجزیه می گردند علاوه بر این چنانچه ذرات خارجی و باکتریها بدینجا رسیده باشند توسط سلولهای سرتولی بیگانه خواری می شوند، جلوگیری از واکنشهای اتوایمن، ترشح سلول های سرتولی به طور مداوم مایعی به درون لوله های منی ساز ترشّح می کنند که در جهت مجاری تناسلی جریان یافته و برای حمل اسپرم به کار می رود . با کنترل هورمون FSH، یک پروتئین متّصل شونده به آندروژن (ABP) ترشح می کند که مسئول تغلیظ تستوسترون در درون لوله های منی ساز می باشد (۱). سلول های سرتولی قادر به تبدیل تستوسترون به استرادیول هستند. این سلول ها پپتیدی به نام اینهیبین نیز ترشّح می کنند که ساخت و آزاد شدن FSH در بخش قدامی غده هیپوفیز را مهار می کند. همچنین تولید هورمون آنتی مولرین، که یک گلیکوپروتئین است و در دوره جنینی، تحلیل مجاری مولر را در جنین مذکر تحریک می کند (۲).

٤-۲- بافت بینابینی

فضاهای بین لوله های منی ساز در بیضه، بوسیله تجمعات بافت همبند، اعصاب، خون و عروق لنفاوی اشغال شده اند. بافت همبند از سلول های مختلفی تشکیل شده است که عبارتند از: فیبروبلاستها، سلولهای همبندی تمایز نیافته، ماست سل ها و ماکروفاژها (۲). در موش صحرایی ماکروفاژها مهم ترین سلول های تشکیل دهنده بافت بینابینی در بیضه می باشند (٤). به هنگام بلوغ نوع دیگری از سلول بنام سلول های بینابینی یا لیدیگ ظاهر می شود باشد. این سلول ها هورمون مردانه، یعنی تستوسترون را تولید می کنند (۲).

۵-۲- مجاری ناقل اسپرم

مجاری دستگاه تولید مثل نر، مسئول ذخیره اسپرماتوزوآ پس از ترک بیضه می باشند. این مجاری عبارتند از:

۱-۵-۲- توبول های راست

لوله های کوچکی هستند که ارتباط دهنده لوله های منی ساز و شبکه بیضه می باشند .این لوله ها، لوله های منی ساز هستند که دارای اسپرماتوگونی های معدود و سلول های سرتولی می باشد (۱).

۲-۵-۲- شبکه بیضه یا شبکه هالر

کانال های شبکه بیضه در دوران جنینی ایجاد می شود. اما اپیتلیوم آن تا شروع اسپرماتوژنز ساختار ویژه خود را پیدا نمی کند. مایعات لوله های منی ساز را از طریق لوله های راست دریافت می کند(٤).

۳-۵-۲- مجاری آوران

مجرای آوران از شبکه بیضه خارج شده، در سر اپی دیدیم به یکدیگر متصل می گردند و مجرای منفرد اپی دیدیم را ایجاد می کنند. در اپی تلیوم مجاری آوران دو نوع سلول دیده می شود. یکی مژه دار و دیگری بدون مژه که تعداد سلول های بدون مژه بیشتر است و این نوع از سلول ها دارای عملکرد ترشحی و جذبی می باشند. زنش مژه در سلول های مژه دار به حرکت اسپرماتوزوئیدها به سمت اپی دیدیم کمک می کند (۵).

٤-۵-۲- مجرای اپی دیدیم یا بربخ

اپیدیدیم در انسان و جوندگان آزمایشگاهی از سه بخش سر، تنه و دم تشکیل شده است. سر اپی دیدیم توسط مجاری آوران به بیضه متصل است و دم توسط بافت پیوندی در تماس با بیضه می باشد. اپی دیدیم لوله ای منفرد و بسیار پیچ خورده است که به شکل طبیعی طول آن تنها چند سانتی متر است. اما طول کلی لوله بیش از ٦ متر در انسان و ۲ متر در موش صحرایی می باشد (٤). اسپرماتوزوئیدها در حین عبور از اپیدیدیم قابلیت بارور ساختن می یابند و در مدتی که در اپیدیدیم حضور دارند، دستخوش تغییراتی در مورفولوژی، ترکیب و عملکرد می گردند و سرانجام متحرک و بارور می شود (۲).

۵- ۵-۲- مجرای وابرن

در امتداد اپیدیدیم قرار گرفته است، در انتها ناحیه وسیعی بنام آمپول ایجاد می کند و سپس دو شعبه می شود. یک انشعاب به کیسه منی منتهی خواهد شد و انشعاب دیگر مجرای انزالی را تشکیل می دهد که از ضخامت پروستات گذشته و به مجرای ادراری می ریزد (۱) .

٦ – ۵-۲- مجرای انزالی

مجرای کوتاه و باریک می باشدکه از غده پروستات گذشته به پیشابراه پروستاتی منتهی می شود و به هنگام انزال ،مایع منی توسط این مجرا به پیشابراه هدایت شده و سپس به خارج برده می شود. لذا از این به بعد مجرای ادراری با مجرای انتقال منی یکی می شود (۱).

۶-۲- غدد ضمیمه دستگاه تناسلی

بیشتر حجم مایع سمینال شامل مواد ترشحی غدد ضمیمه جنسی است .غدد ضمیمه عبارتند از:

۱-۶-۲- کیسه منی

کیسه منی یا وزیکول سمینال به صورت یک جفت غده در سطح پشتی مثانه قرار گرفته است ، مجرای وابران هر طرف به کیسه منی باز می شود. ترشحات وزیکول سمینال ماده ای چسبنده است که در انسان ۵۰-۸۰ ٪ حجم مایع منی را تشکیل می دهد. pH ماده ترشحی قلیایی است و نقش آن در خنثی کردن اسیدی مایع واژینال می باشد . مایع سمینال غنی از فروکتوز، ویتامین C و پروستاگلاندین است (۱). اسید سیتریک نیز از مهم ترین مواد ترشحی وزیکول سمینال در انسان و جوندگان است. ماده دیگری که توسط وزیکول سمینال ترشح می شود کوآگولینوژن می باشد که در تشکیل پلاگ جفت گیری نقش دارد (٤).

۲-۶-۲- پروستات (prostate)

پروستات در زیر مثانه اولین بخش پیشابراه را احاطه کرده است. پروستات تأمین کننده ۱۵ – ۳۰ ٪ حجم منی می باشد. غدد پروستات به سه دسته تقسیم می شوند: غدد مخاطی، غدد زیر مخاطی و غدد اصلی . این سه دسته ترشحات خود را از اطراف به مجرای ادرار می ریزند. پروستات موش صحرایی غنی از فروکتوز و انواعی از پروتئین ها می باشد (٤) .

۳-۶-۲- غدد پیازی پیشابراهی

غدد پیازی پیشابراه (غدد کوپر)، اندام های کوچک جفت در دو طرف پیشابراه و در مجاورت بخش پیازی آن قرار گرفته اند و توسط مجاری بلند به پیشابراهی که از اندام تناسلی عبور می کند متصل می گردند. ترشحات غده پیازی پیشابراهی متشکل از یک ماده شفاف، چسبنده و شبه موکوسی می باشد .در انسان، این ماده پیش از انزال آزاد شده و

به عنوان روان سازنده عمل می کند، در حالیکه در جوندگان دارای یک ماده منعقد کننده است که در تشکیل پلاگ جفت گیری نقش دارد (٤).

۷-۲- بیولوژی اسپرماتوژنز

اسپرماتوژنز در توبولهای سمینیفر به طور معمول از ۱۳ سالگی و در نتیجه تحریک هورمون های گنادوتروپیک هیپوفیز قدامی شروع می شود و تا پایان زندگی ادامه می یابد(٦). تولید اسپرم بطور پیوسته در سرتاسر دوره زندگی تولید مثلی مرد انجام می شود، تقریبا ۱۰۰ – ۲۰۰ میلیون اسپرم روزانه تولید می شود. برای تولید این مقدار انبوه، نیاز است که اسپرماتوگونی ها با تقسیمات سلولی طی چرخه اسپرماتوژنز خود را تجدید کنند (۲). چرخه اسپرماتوژنز در همه جانوران الگوی یکسان دارد و از سه مرحله مجزا تشکیل می شود :

۱-۷-۲- اسپرماتوسیتوژنز

این فرآیند از یک سلول زایای اولیه (اسپرماتوگونی) که مجاور لایه قاعده ای قرار گرفته است، آغاز می شود. به هنگام بلوغ جنسی، این سلول دستخوش یک سری تقسیم میتوز شده و سلول هایی که تازه تشکیل شده اند، یکی از این دو راه را انتخاب می کنند: این سلول ها ممکن است بعد از یک یا چند تقسیم میتوزی باز به تقسیم ادامه داده و به صورت سلول های بنیادی تمایز نیافته به نام اسپرماتوگونی نوع A درآیند و یا در حین چرخه های پیش رونده میتوزی به اسپرماتوگونی نوع B تمایز حاصل کنند. اسپرماتوگونی نوع B نیز به نوبت به اسپرماتوسیت های اولیه تبدیل می شود (۷).

۲-۷-۲- میوز

اسپرماتوسیتهای اولیه، کمی پس از تشکیل در اولین تقسیم میوزی وارد مرحله پروفاز می شوند. در این هنگام اسپرماتوسیت دارای ٤٦ کروموزوم و4N، DNA می باشد. سلول در طی پروفاز یک، از چهار مرحله عبور می کند – لپتوتن، زیگوتن ، پاکیتن و دیپلوتن و وارد مرحله دیاکینز می شود که در این مرحله کروموزوم ها از یکدیگرجدا می شوند. در طی این مراحل از تقسیم میوز، تقاطع ژن های ١٦ کروموزومی با یکدیگر صورت می گیرد .پس از آن سلول وارد مرحله متافاز می شود و کروموزوم ها در مرحله آنافاز به سمت قطب ها حرکت می کنند. از آنجائیکه