بسم الله الرحمن الرحيم

١٥٩٢٣٥

دانشگاه علوم پزشکی و
خدمات بهداشتی درمانی قزوین
دانشکده پزشکی

پایان نامه:

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد علوم تشریحی

عنوان:

اثرات استرس ازدحامی بر بیضه، اپیدیدیم و مجرای دفران موش سوری نر

استاد راهنما:
دکتر فـرزاد رجـایی

اساتید مشاور:
دکتر فرزانه زمان سلطانی
مهندس امیر جوادی

نگـارش:
مریم قاسمی

سال تحصیلی: ۸۹-۸۸

شماره پایان نامه: ۱۰

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران
IRANDOC
مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

۱۵۹۶۳۵

۱۳۹۰/۱۳/۲۶

تقدیم به پدر و مادر عزیزم ؛

که همواره موفقیت خود را مرهون دعای خیرشان می دانم.

تقدیم به همسر مهربان و صبورم ؛

که مشوق همیشگی ام در راه علم آموزی است.

پس از شکر گزاری به درگاه خداوند متعال، وظیفه خود می دانم از زحمات افرادی که در اجرای کلیه مراحل این پایان نامه اینجانب را یاری فرمودند، تشکر و قدردانی نمایم:

- استاد راهنمای گرامی، جناب آقای دکتر فرزاد رجایی که در دوره کارشناسی ارشد و بخصوص در تمامی مراحل پایان نامه، موفقیت های خویش را مرهون محبت ها و صبر ایشان می دانم.
- سرکار خانم دکتر فرزانه زمان سلطانی که مشاوره این پایان نامه را پذیرفتند و از راهنمایی های ایشان بهره مند شدم.
- سرکار خانم دکتر سیمین یزدانفر که ویرایش این پایان نامه را پذیرفتند و از راهنمایی های ایشان بهره مند شدم.
- جناب آقای مهندس امیر جوادی که مشاوره آماری این پایان نامه را پذیرفتند و از راهنمایی های ایشان بهره مند شدم.
- اساتید محترم گروه علوم تشریح و بافت شناسی که در دوره کارشناسی ارشد از محضر آنها استفاده کردم.
- جناب آقای دکتر سرایی و آقای علیزاده که در تهیه مواد طرح و استفاده از تجهیزات مرکز تحقیقات و توسعه دانشگاه با اینجانب همکاری کردند.
- جناب آقای دکتر محمدنژاد که در استفاده از تجهیزات مرکز تحقیقات و توسعه دانشگاه تبریز با اینجانب همکاری کردند.
- جناب آقای دکتر ساروخانی که در انجام آزمایشات هورمونی با اینجانب همکاری کردند.
- جناب آقای منصوری که در خرید و فراهم کردن تجهیزات و مواد این طرح نهایت همکاری را بعمل آوردند.
- جناب آقای عباسی مسئول محترم اتاق حیوانات که در تدارک قفس ها، غذا و پوشال برای موش ها همکاری نمودند.
- جناب آقای فلاح مسئول محترم کتابخانه دانشکده پزشکی که از مساعدت ایشان برخوردار شدم.

- سرکار خانم حاجی آقایی که در زمینه هیستوتکنیک از مساعدت ایشان برخوردار شدم.
- و از خانم فاطمه صباغ زیارانی و همه همکاران و دوستان خوبم در گروه علوم تشریح که هر یک به گونه ای در انجام این طرح صمیمانه با من همکاری کردند.

فهرست مطالب :

عنوان صفحه

چکیده فارسی

فصل اول: مقدمه
۱-۱- مقدمه و اهمیت موضوع..... ۱
۱-۲- کلیات
۱-۲-۱- مکانیسم اثر استرس..... ۲
۱-۲-۲- استرس ازدحامی ۵
۱-۲-۳- مروری بر بافت شناسی بیضه، اپیدیدیم و مجرای دفران..... ۶
۱-۳- اهداف و فرضیات..... ۹

فصل دوم: مروری بر بررسی متون..... ۱۱

فصل سوم: مواد و روش ها
۳-۱- گروه بندی حیوانات..... ۱۸
۳-۲- مواد و محلول های مورد نیاز..... ۱۸
۳-۳- تشریح و نمونه برداری..... ۲۲
۳-۴- مراحل آماده سازی بافت جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی..... ۲۳
۳-۵- مراحل آماده سازی بافت جهت مطالعه با میکروسکوپ نوری..... ۳۰
۳-۶- بررسی مورفومتریک..... ۳۴
۳-۷- آزمایشات هورمونی..... ۳۵
۳-۴- روش های آماری..... ۳۵

فصل چهارم: یافته ها
۴-۱- نتایج مربوط به تعداد سلولهای سرتولی..... ۳۶
۴-۲- نتایج مربوط به تعداد سلولهای لایدیگ..... ۳۹
۴-۳- نتایج مربوط به تعداد اسپرم..... ۴۳
۴-۴- نتایج مربوط به قطر لوله های سمینفروس..... ۴۵
۴-۵- نتایج مربوط به میزان وزن گیری موش ها و وزن بیضه ها..... ۴۷
۴-۶- نتایج مربوط به قطر مجاری اپیدیدیم..... ۴۸
۴-۷- نتایج مربوط به میانگین ارتفاع سلولهای اپیتلیال مجاری اپیدیدیم..... ۵۱
۴-۸- نتایج مربوط به قطر مجرای دفران..... ۵۲
۴-۹- نتایج مربوط به میانگین ارتفاع سلولهای اپیتلیال مجرای دفران..... ۵۳

۴-۱۰- نتایج مربوط به میزان هورمون کورتیزول..... ۵۴
۴-۱۱- نتایج مربوط به میزان هورمون تستوسترون..... ۵۵

فصل پنجم: بحث
۵-۱- بحث مربوط به تعداد سلولهای سرتولی در موشهای تحت استرس یکماهه و دو ماهه..... ۵۷
۵-۲- بحث مربوط به تعداد سلولهای لایدیگ در دو دسته از موشهای تحت استرس یکماهه و دو ماهه..... ۵۸
۵-۳- بحث مربوط به تعداد اسپرمها در دو دسته تحت استرس یکماهه و دو ماهه..... ۵۹
۵-۴- بحث مربوط به اثر استرس بر میزان وزن گیری بدن و وزن بیضه ها در دو دسته تحت استرس یکماهه و دو ماهه..... ۶۰
۵-۵- بحث مربوط به قطر لوله های سمینی فروز، لوله اپیدیدیم و دفران و میانگین ارتفاع سلولهای اپیتلیال اپیدیدیم و دفران در دو دسته تحت استرس یکماهه و دو ماهه..... ۶۳
۵-۷- بحث مربوط به میزان هورمون کورتیزول و هورمون تستوسترون در دو دسته تحت استرس یکماهه و دو ماهه..... ۶۵
۵-۸- نتیجه گیری کلی..... ۶۷
۵-۹- پیشنهادات..... ۶۷

فصل ششم: منابع مورد مطالعه ۶۸

چکیده انگلیسی

فهرست جداول :

عنوان	صفحه
جدول شماره ۱	۳۹
جدول شماره ۲	۴۳
جدول شماره ۳	۴۴
جدول شماره ۴	۴۶
جدول شماره ۵	۴۸
جدول شماره ۶	۵۱
جدول شماره ۷	۵۱
جدول شماره ۸	۵۳
جدول شماره ۹	۵۴
جدول شماره ۱۰	۵۶

فهرست تصاویر

عنوان | صفحه

تصویر شماره ۱ ..... ۳۷
تصویر شماره ۲ ..... ۳۸
تصویر شماره ۳ ..... ۴۰
تصویر شماره ۴ ..... ۴۱
تصویر شماره ۵ ..... ۴۲
تصویر شماره ۶ ..... ۴۴
تصویر شماره ۷ ..... ۴۶
تصویر شماره ۸ ..... ۴۷
تصویر شماره ۹ ..... ۴۹
تصویر شماره ۱۰ ..... ۵۰
تصویر شماره ۱۱ ..... ۵۲
تصویر شماره ۱۲ ..... ۵۴
تصویر شماره ۱۳ ..... ۵۵

چکیده

مقدمه: عوامل استرس زایی که انسانها در زندگی توسعه یافته با آن مواجه هستند به طور وسیعی از اجتماع و ارتباطات اجتماعی منشا می گیرد. گمان می رود استرس باعث بسیاری از اختلالات فیزیکی و نازایی هاست. شاید مدل های حیوانی بتوانند راهی برای درمانهای کلینیکی و یا جلوگیری از اثرات استرس در انسان پیشنهاد کنند. در مطالعه حاضر اثرات استرس ازدحامی بر دستگاه تولید مثل موش سوری نر بررسی شد.

مواد و روشها: تعداد ۶۰ سر موش سوری نر به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. ۲ گروه کنترل که در هر قفس ۵ سر، ۲ گروه ازدحام کم که در هر قفس ۱۰ سر و ۲ گروه ازدحام زیاد که در هر قفس ۱۵ سر موش قرار داده شد. ۳ گروه پس از ۴ هفته و سه گروه پس از ۸ هفته با تزریق محلول کتامین و زایلازین بصورت داخل صفاقی (Ip) بیهوش شدند و جهت مطالعات هورمونی از قلب حیوان خون گیری شد. سپس بیضه ها ، مجاری دفران و اپیدیدیم جدا و همچنین مایع حاوی اسپرمها از قسمت دم اپیدیدیم جهت تعیین میانگین تعداد اسپرم ها استخراج شد و بیضه ها، مجاری دفران و سر اپیدیدیم به قطعات کوچک تقسیم و جهت مطالعات با میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترونی آماده شدند و مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. (SPSS و Kruskal Wallis و $p<۰/۰۵$)

یافته ها: نشان داد که در گروههای تحت استرس ۴ هفته ای تعداد سلولهای سرتولی، میانگین قطر لوله های سمینفروس، مجرای دفران، ارتفاع سلولهای اپی تلیمی مجاری اپیدیدیم، دفران و میزان هورمون تستوسترون در هیچ گروهی اختلاف معنی داری نداشت. در حالیکه تعداد سلولهای لایدیگ در گروه استرس زیاد نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت ($P<۰/۰۱$). تعداد اسپرم در گروه استرس کم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشت ($P<۰/۰۳$). میانگین قطر مجاری اپیدیدیم در گروههای تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشتند ($P<۰/۰۹$,$P<۰/۰۲$). میزان هورمون کورتیزول در گروه استرس کم در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد ($P<۰/۰۱۲$). و نیز بین گروههای تحت استرس کاهش معنی داری را نشان داد ($P<۰/۰۰۱$). یافته ها در گروههای تحت استرس ۸ هفته ای نشان داد که تعداد سلولهای لایدیگ، میانگین قطر لوله های سمینفروس و مجاری اپیدیدیم، میانگین ارتفاع سلولهای اپیتلیومی مجاری اپیدیدیم و میزان هورمون تستوسترون در بین تمامی گروهها اختلاف معنی داری نداشت. در حالیکه تعداد سلولهای سرتولی در بین گروههای تحت استرس کاهش معنی داری یافته بود ($P<۰/۰۰۴$). تعداد اسپرم در بین گروههای تحت استرس کاهش معنی داری داشت ($P<۰/۰۴$). میانگین قطر مجاری دفران در گروه استرس کم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشت ($P<۰/۰۲$). میانگین ارتفاع سلولهای اپیتلیومی مجرای دفران در هر دو گروه تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشت ($P<۰/۰۰۱$,$P<۰/۰۰۱$). میزان هورمون کورتیزول در بین گروههای تحت استرس کاهش معنی داری را نشان داد ($P<۰/۰۲$). بررسی های فراساختاری نیز تغییرات وسیع در ارگانهای سلولی در گروه های تحت استرس ازدحامی را نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که استرس ازدحامی می تواند با تغییر در تعداد سلولهای لایدیگ و اسپرمها، قطر اپیدیدیم و مجرای دفران و میزان هورمون کورتیزول بر سیستم تولید مثلی موش سوری نر اثر منفی داشته باشد.

واژگان کلیدی: استرس ازدحامی، سلول سرتولی، لایدیگ، اسپرم، مجرای سمینفروس، اپیدیدیم، مجرای دفران، کورتیزول، تستوسترون، موش.

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه و اهمیت موضوع

علی رغم گسترش و پیشرفت دانش پزشکی، نازایی و ناباروری یک معضل مهم است و حدود ۱۵-۱۰ ٪ از زوجها دچار این مشکل هستند. امروزه در اکثر نقاط دنیا و بیمارستانهای تخصصی زنان، مراکز ناباروری دایر شده است؛ این پدیده نشان می دهد که علی رغم گسترش روز افزون دانش پزشکی هنوز حل معضل ناباروری ضروری است (۱ و ۲). استرس به عنوان آشفتگی روحی یا عاطفی و یا دگرگونی تعریف می شود که در پاسخ به اثر عوامل زیان آور خارجی یا محرک و موقعیتی رخ می دهد، که آن را ایجاد می کند (۳ و ۴). تخمک و اسپرم سالم برای تکثیر پستانداران ضروری است و هر عاملی که تولید طبیعی گامت ها را مختل کند، تهدید کننده فعالیت های مرتبط با تولید مثل است. عوامل محیطی که عملکرد گناد ها را به خطر می اندازند، می توانند بر سلول های سوماتیک و زایا و در برخی موارد بر هر دو تاثیر بگذارند و باعث اختلال باروری شوند (۵). عوامل استرس زا بر اساس اینکه در چه مرحله ای از بلوغ سلول زایا آن را تحت تاثیر قرار داده باشند، می توانند سرعت تولید مثل را افزایش یا کاهش دهند. مدت زمان گامت سازی تحت تاثیر پاسخ فیزیولوژیکی بدن به عوامل استرس زا قرار می گیرد (۶). منشا عوامل استرس زایی که معمولاً انسانها در زندگی توسعه یافته و مدرن با آن مواجه هستند به طور وسیعی بر آمده از اجتماع و ارتباطات اجتماعی است. استرسهای حاد و مزمن که ناشی از شرایطی مانند شکست، ناپایداری، جمعیت و ایزولاسیون هستند، در آزمایشگاه شبیه سازی شده اند. با این مدل های شبیه سازی شده می توانند مکانیزم عوامل آسیب رسان مختلف را در بروز بیماریهای ناشی از استرس آشکار کنند (۷). طی بررسیهایی که انجام دادیم مطالعه ای در مورد اثرات استرس ازدحامی موش ها بر بافت بیضه، اپیدیدیم و مجرای دفران موش سوری و حتی انسان مشاهده نکردیم. لذا در تحقیق حاضر اثرات استرس ازدحامی (ازدحام موش در قفس) بر روی بیضه، اپیدیدیم و مجرای دفران موش سوری بررسی شد.

۱-۲- کلیات

۱-۲-۱- مکانیسم اثر استرس

استرس در مغز شروع می شود و بر مغز و سایر نقاط بدن اثر می گذارد. پاسخ های استرسی حاد با تاثیر بر پاسخ دستگاه های عصبی، قلبی عروقی، ایمنی و سیستم های متابولیک سازگاری فرد با محیط و شانس بقاء او را افزایش می دهند. استرس های مزمن می توانند از طریق سیستم هایی که برهم زننده نظم هستند موجب برانگیختن پاسخ های پاتوفیزیولوژی شوند (۸). پاسخ های استرسی به صورت تغییراتی در عملکرد بافت ها و ارگان ها آغاز می شوند و واکنش در مقابل عوامل استرس زا باعث به هم خوردن ثبات محیط داخلی (homeostasis) بدن می شود. این تغییرات پاسخ های فیزیولوژیکی هستند که ممکن است از نظر میزان یا بزرگی در بین افراد فرق کنند اما از نظر مشخصات کلی روش و عملکرد، مشابه هستند. پاسخ های فیزیولوژیکی بدنبال حوادث استرس زا اتفاق می افتند. اکثر عوامل استرس زا یک آبشار عصبی-هورمونی را القاء می کنند که شامل آزاد سازی فوری کاتکول آمین ها و فعال شدن محور هیپوتالاموسی هیپوفیزی فوق کلیوی (HPI)[۱] است. به علت نیاز به زمانی برای تحریک عصبی فاکتور نوروپپتیدی آزاد کننده کورتیکوتروپین (CRF)[۲] فعال شدن کامل محور HPI بدنبال پاسخ کاتکول آمین تا اندازه ای کند پیش می رود. این فاکتور (CRF) توسط هیپوتالاموس تولید می شود و سبب ساختن هورمون کورتیکوتروپین (CTH)[۳] در هیپوفیز و ترشح آن می شود. هورمون اخیر باید از طریق جریان خون به داخل غده فوق کلیه برود تا سنتز و ترشح هورمون های گلوکوکورتیکوئیدی (کورتیزول) را تحریک کند. همراهی کاتکول آمین ها و گلوکوکورتیکوئیدها پاسخ استرسی ثانویه و ثالثیه را آغاز می کند. پاسخ ثانویه شامل آزاد سازی ذخیره گلیکوژن کبد، بالارفتن سطح گلوکز پلاسما، اثر بر سطح اسید های چرب در گردش و جلوگیری از ساخته شدن پروتئین در سراسر بدن و به طور فراگیر در همه سلولها است. استرس می تواند به عنوان آنتی آنابولیک

---

[۱] Hypothalamic-pituitary-interrenal axis
[۲] Corticotropin releasing factor
[۳] Corticotropic hormone

(ضد فرایند متابولیکی که به سنتز مواد منتهی می شود) باشد. استرس بر بخش های گوناگون دستگاه ایمنی اثر می گذارد و اعتقاد بر این است که منجر به ضعیف شدن آن می شود. از پاسخ های ثالثیه ناشی از پاسخ استرسی اولیه و ثانویه، آسیب به رفتار طبیعی است. استرس های ویژه می توانند سبب اثر ویژه شوند. عوامل استرس زای شدید مثال خوبی از عوامل استرس زایی است، که عمل ویژه دارند. زیرا آنها سیستم فیزیولوژیکی خاصی را هدف قرار می دهند. نوع عوامل استرس زا، شدت، طول مدت اثر آن بر سلول و نیز گونه و مرحله ی بلوغ سلولی منجر به بروز پاسخ های کاملا متفاوتی می شود (۶). فعالیت سلول های سوماتیک به طور عمده به وسیله پیام های عصبی-هورمونی بخش قدامی غده هیپوفیز تنظیم می گردد، که در اثر عوامل هورمونی هیپوتالاموس و نیز مراکز بالاتر مغزی تولید می شوند. مغز اطلاعات را از محیط داخلی و خارجی دریافت و سپس آنها را تلفیق می کند و پیام های هورمونی مناسب را برای عمل به هیپوفیز می فرستد (۹). اثر استرس ها بر عملکرد تخمدان حیوانات بالغ ضد و نقیض است زمانیکه شرایط پر استرس برطرف می شوند عملکرد تولیدمثلی طبیعی از سر گرفته می شود اما زمانیکه استرس در طول مراحل اولیه تکامل بر جنین وارد آمده باشد، اینطور نیست. زمانیکه رت های حامله در مراحل بحرانی خاصی در معرض استرس های شدید قرار می گیرند ناهنجاری های تولیدمثلی و جنسی در فرزندان آنها در زمان بلوغ آشکار می شود، حالتیکه به آن سندرم استرس قبل از تولد گفته می شود. این سندرم به صورت ناهنجاری هایی در رفتار تولید مثلی خصوصا در فرزند نر مشخص می شود این ناهنجاریها به زنگرایی و مردگرایی در مناطقی از مغز معروف است که، رفتار جنسی را کنترل می کنند (۱۰ و ۱۱ و ۱۲). اگر چه مکانیسم سندرم استرس قبل از تولد به طور یقین اثبات نشده، بیان شده است که استرس قبل از تولد می تواند تعادل بین هورمون های آدرنال و تخمدانی را در مرحله بحرانی تمایز هیپوتالاموس بهم زند و در زمان بلوغ حیوانات باعث عملکرد تولیدمثلی غیرطبیعی گوناگونی شود (۱۳). اینکه مردان تا چه اندازه ای در معرض خطر عوامل استرس زا هستند بی شک بستگی به پارامترهایی از قبیل میزان، تناوب و طول مدت قرار گیری (که اندازه گیر ی دقیق آنها سخت است) خواهد داشت و شاید به

مراحل بحرانی تکامل مانند قبل از تولد، قبل از بلوغ نیز وابسته باشد (۹). استرس ثبات محیط داخلی بدن (homeostasis) را مختل می کند و می تواند باعث اختلالات گوناگونی شود. به عنوان مثال انواع گوناگونی از استرس های فیزیولوژیکی و روانشناختی بر محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی-آدرنوکورتیکال (HPA)[۴]، محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادی (HPG)[۵]، سیستم سمپاتیک آدرنومدولاری (sympatho-adrenomedullary) و سیستم عصبی سمپاتیک اثر می کند و منجر به تغییراتی در تعدادی از اندامها می شود. در مطالعات کلینیکی و اپیدمیولوژی مشاهده شده است که استرس در ایجاد فشار خون، آرتریواسکلروزیس، دیابت شیرین و دیگر بیماری ها دخالت دارد. استرس های فیریولوژیکی سیستم عصبی سمپاتیک را فعال می کند و باعث افزایش میزان گلوکوکورتیکوئید ها، کاتکول آمین ها و آنژیوتانسین II (Ang II) در جریان خون می شوند. افزایش گلوکوکورتیکوئید و Ang II فشارخون را بالا می برد، افزایش کاتکول آمین ها بازده قلبی و مقاومت محیطی را افزایش می دهد. بنابراین استرس باعث اختلالات حاد و مزمن در جریان خون می شود. افزایش فشار خون سبب اختلال خون سازی (hematogenesis) در رگهای خونی ریز (microvasculature) می شود. همچنین به علت کاهش دادن جریان خون می تواند در ایسکمی محیطی مشارکت کند. همچنین پیشنهاد شده است که استرس روحی سبب اختلالات ناپایداری در رگهای انسان می شود. به خوبی مشخص شده است که استرس فیزیولوژیکی فشار خون را بالا می برد و استرس طولانی مدت سبب اختلال در پوست و ارگان های گوناگونی از قبیل تخمدان، کلیه، تیموس و غدد آدرنال می شود (۱۴). عملکردهای تولیدمثلی از قبیل ترشح LH و رفتار جنسی می تواند تحت تاثیر تجربیات پر استرس قرار گیرد. استرس محور HPA را فعال می کند و محور HPG را به هم می ریزد و منجر به اثرات مهاری بر فیزیولوژی و رفتار تولید مثلی می شود. اعتقاد بر این است که اثر مهاری استرس بر محور HPG بخصوص در استرس مزمن به طور عمده ناشی از افزایش میزان هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH)[۶] و گلوکوکورتیکوئیدها

---

[۴] Hypothalamic-pituitary adrenocortical axis
[۵] Hypothalamic-pituitary-gonadal axis
[۶] Corticotropin-releasing hormone

است. اثرات استرس مزمن بر عملکردهای تولیدمثلی مانند ترشح LH به خوبی اثبات شده است. Ang II یکی از هورمون های اصلی استرس، در پلاسما و نیز در سیستم عصبی مرکزی در پاسخ به تحریک استرس افزایش می یابد. استرس تراکم جایگاه های اتصال Ang II را در هسته های پاراونتریکولار هیپوتالاموس و ارگان ساب فورنیکال رت ها و همچنین فعالیت رنین را افزایش می دهد. در واقع غیر فعال شدن گیرنده Ang II و از بین رفتن کامل پاسخ HPA به استرس، به طور قطع نقش Ang II را به عنوان هورمون اصلی استرس تایید می کند. علاوه بر این Ang II در کنترل عملکردهای تولیدمثلی شامل تنظیم ترشح LH، که به خوبی اثبات شده است، دخیل است. اثر مهاری استرس مزمن بر محور HPG و اثر مهاری نوراپی نفرین بر ترشح LH از طریق تحریک CRH شناخته شده است (۱۵). شواهدی وجود دارد که کورتیزول ترشح LH از غده هیپوفیز و هیپوتالاموس را مهار می کند. با بردن این هورمون استروئیدی به داخل مغز بطور مستقیم، فعالیت کورتیزول در سطح مغز و مهار سیستم تولیدمثلی رت های نابالغ پیشنهاد شده است (۱۶). مهار کورتیزول نشان دهنده اثر القایی GnRH در آزاد سازی LH از سلول های جدا شده هیپوفیزی گاوی است و فعالیت مهاری دیگری را در سطح غده هیپوفیز پیشنهاد می کند (۱۷). بسیاری از انواع استرس ها به علت مداخله در عملکرد طبیعی مراکز هیپوتالاموسی کنترل کننده هیپوفیز قدامی بر سیستم اندوکرین اثرات تخریبی دارند. استرس هایی از قبیل ازدحام می توانند تا حدی باعث بهم خوردن عملکرد طبیعی بیضه ها شوند و عملکرد غده فوق کلیه را تغییر بدهند (۱۸).

۱-۲-۲- استرس ازدحامی

ازدحام را "افزایش تراکم حیوان در قفس" تعریف می کنند که عامل موثر و مهمی در ایجاد استرس است (۱۹، ۲۰). ازدحام موش ها می تواند بر احساس، اعمال مغزی و فعالیت های نوروآندوکرین آنها استرس وارد کند (۸). اگر چه درباره تاثیر شرایط قفس بر سلامت حیوانات آزمایشگاهی اتفاق نظر وجود دارد، اما هنوز اندازه مناسب و ازدحام مناسب قفس برای جوندگان آزمایشگاهی مشخص نشده است. طراحی قفس باید به گونه ای

باشد تا در آن سلامت حیوانات حفظ شود و به رشد بهینه برسند. تغییرات قفس می تواند اثر مهمی بر حیوانات داشته باشد و در نتایج آزمایشات هم مداخله کند (۲۱). در سال ۲۰۰۷، Foltz و همکاران اعلام کردند که در رفاه حیوانات، ازدحام قفس باید ارزیابی شود (۲۲). حضور گروه های بزرگتر در یک جا می تواند منجر به تهاجم، تروما و انتقال بیماری شود (۲۳). تجمع گاز (۲۴) حرارت و رطوبت (۲۵)، کاهش دریافت و استفاده از غذا (۱۹ و ۲۶) و همچنین مداخله در رشد (۱۹ و ۲۱) همگی ناشی از افزایش اندازه قفس و تراکم حیوانها در قفس هستند. فعالیت فیزیکی نیز به علت عدم تحرک، محدود می شود (۱۹ و ۲۷). فعالیت فیزیکی بویژه در سلامتی مهم است زیرا عملکرد سیستم ایمنی را با تغییر میزان کورتیکواسترون و عملکرد فاگوسیتی ماکروفاژ افزایش می دهد (۲۸). به علاوه افزایش اندازه جمعیت می تواند منجر به رفتار رقابتی از قبیل تلاش برای گریز از قفس (در ماده ها) و جویدن میله های قفس و رفتار تهاجمی برای جفت یابی در نرها شود (۲۹). ازدحام همچنین می تواند منجر به کاهش پاسخ هیجانی و افزایش مدفوع رت ها و نیز افزایش ناگهانی آدرنوکورتیکوتروپین شود (۳۰).

۱-۲-۳- مروری بر بافت شناسی بیضه، اپیدیدیم و مجرای دفران

دستگاه تولید مثل مرد از اجزای زیر تشکیل شده است: بیضه ها، مجاری تناسلی، غدد ضمیمه و آلت تناسلی. هر بیضه دارای ۱۰۰۰ – ۲۵۰ لوله منی ساز است. قطر لوله منی ساز حدود ۲۵۰ – ۱۵۰ میکرومتر و طول آن در حدود ۷۰ – ۳۰ سانتی متر است و کار تولید روزانه حدود ۲×۱۰^{۸} اسپروماتوزوئید را به عهده دارد. لوله های منی ساز، با یک اپی تلیوم پیچیده مطبق به نام اپیتلیوم زایا یا منی ساز مفروش شده اند. اپی تلیوم پوششی منی ساز حاوی دو نوع سلول است: سلولهای سرتولی و سلولهایی که دودمان اسپرماتوژن را تشکیل می دهند.

سلولهای دودمان اسپرماتوژن، در ۸ – ۴ لایه در کنار یکدیگر قرار گرفته اند و کار آنها تولید اسپرماتوزوئیدست. اثر فعالیت سلولهای سرتولی بر عملکرد بیضه ها مهم است. آنها سلولهایی طویل و هرمی شکلی هستند که به طور ناکامل، سلولهای دودمان اسپرماتوژن را احاطه می کنند. سلولهای سرتولی در برابر عوامل محیطی بسیار

مقاومند و اعمال آنها به قرار زیر است: ۱- پشتیبانی و حفاظت فیزیکی و کمک به تغذیه سلولهای جنسی در حال تکامل. ۲- فاگوسیتوز قسمت اضافی سیتوپلاسم اسپروماتوزوئید طی اسپرمیوژنز. ۳- ایجاد سد خونی- بیضه ای. ۴- سنتز و ترشح پروتئین متصل شونده به آندروژن. ۵- سنتز و ترشح ماده آنتی مولرین در دوره جنینی. ۶- سنتز و ترشح پپتید مهار کننده (inhibin). ۷- ترشح مایع غنی از فروکتوز که به تغذیه و جابجایی اسپرمها کمک میکند. ۸- سنتز و ترشح ترنسفرین بیضوی. ۹- تبدیل تستوسترون به استرادیول (۳۱). سلولهای سرتولی یک مدار حفاظتی طبیعی و لازم را برای تکامل سلولهای دودمان اسپرماتوژن ایجاد می کنند. این مدار حفاظتی یک شبکه علامت دهنده دو جانبه بین سلولهای سرتولی، لایدیگ و سلولهای ژرمینال در دیواره لوله های منی ساز بیضه و در بالادست آن تنظیمات هورمونی هیپوفیز است (۳۲).

بافت بینابینی بیضه حاوی سلولهای بینابینی یا لایدیگ است که تولید و ترشح تستوسترون را بر عهده دارند.

مجاری تناسلی اسپروماتوزوئیدهای تولید شده در بیضه را به سمت سوراخ خارجی آلت مردانه منتقل می کنند. این مجاری عبارتند از: مجرای اپیدیدیم، مجرای دفران و پیشابراه.

مجرای اپیدیدیم لوله ای منفرد و پیچ خورده به طول ۶-۴ متر و دارای بافت پوششی استوانه ای مطبق کاذب حاوی مژکهای ثابت است. مجرای اپیدیدیم از سه بخش سر، تنه و دم تشکیل شده است و بافت پوششی مجرا در برداشت و هضم اجسام باقیمانده که در حین اسپرماتوژنز جدا میشوند، شرکت می کند. همچنین مجرای اپیدیدیم جزء محیط هایی است که با ترشح گلیکوفسفوکولین بیشترین تغییر را در پروتئین های غشاء اسپرم ایجاد و از قابلیت یابی (capacitation) اسپرم ها ممانعت می کند. به ویژه بخش های ابتدای این مجرا، محیط لازم را برای بلوغ اسپرم ها را فراهم می سازد. اسپرم ها پس از خروج از بیضه و قبل از انزال بیشترین زمان را در اپیدیدیم می گذراند. اسپرم تغییرات لازم برای قدرت باروری و تحرک را عمدتا طی عبور از اپیدیدیم کسب می کند. مجموعه این تغییرات را بلوغ اسپرم می گویند (۳۳). فاکتورهای ضروری که از اپی تلیوم اپیدیدیم برای بلوغ و ذخیره سازی اسپرماتوزئیدها در پستانداران ترشح می شود قابل جایگزینی بنظر نمی رسد. مجرای

داخلی دم اپیدیدیم در بسیاری از حیوانات این قابلیت را دارد که حجم زیادی از اسپرماتوزئیدها را در شرایط بالقوه باروری برای چندین هفته قبل از انزال انبار کند (۳۴). این صفت اپیدیدیم تحت کنترل آندروژنهاست. در مدلهای حیوانی، میزان بقاء اسپرمها در دم اپیدیدیم ۲ تا ۳ هفته حتی بیشتر است، در مقایسه با بعد از انزال که میزان بقاء ۴۸ ساعت تخمین زده شده است (۳۵ و ۳۶).

مجرای دفران لوله منفردی به طول ۴۵ سانتی متر است که با بافت پوششی استوانه ای مطبق کاذب حاوی مژکهای ثابت پوشیده شده است. عضلات صافی که به فراوانی در اطراف مجرا وجود دارد، انقباضات دودی قدرتمندی ایجاد می کند که در بیرون ریزی اسپروماتوزوئیدها در حین انزال نقش دارند. اختلال در انزال می تواند یکی از علل مهم ناباروری مردان تلقی شود. هر گونه نقص در عملکرد مجرای دفران می تواند باروری را تحت تاثیر قرار دهد. در ضمن نباید از نقش این مجرا در توانایی باروری و بهتر شدن کارایی و بقاء اسپرماتوزوئیدها غافل ماند (۳۱ و ۳۳).

۱-۳- اهداف و فرضیات (OBJECTIVE & HYPOTHESIS) :

الف- هدف اصلی طرح (General Objective):

تعیین اثرات استرس ازدحامی بر بیضه، اپیدیدیم و مجرای دفران موش سوری

ب- اهداف فرعی (Specific Objectives) :

* تعیین اثر استرس بر تعداد سلول های سرتولی بیضه
* تعیین اثر استرس بر تعداد سلول های لایدیگ بیضه
* تعیین اثر استرس برقطر لومن لوله های سمنی فروز بیضه
* تعیین اثر استرس بر وزن بیضه
* تعیین اثر استرس بر وزن موش
* تعیین اثر استرس بر ارتفاع اپیتلیوم اپیدیدیم
* تعیین اثر استرس بر قطر لومن اپیدیدیم
* تعیین اثر استرس بر ارتفاع اپیتلیوم کانال دفران
* تعیین اثر استرس بر قطر کانال دفران
* تعیین اثر استرس بر میزان هورمون کورتیزول
* تعیین اثر استرس بر میزان هورمون تستوسترون