بسم الله الرحمن الرحيم

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و
نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه رازی است.

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست شناسی

گرایش علوم جانوری سلولی تکوینی

عنوان پایان نامه:

اثر ایندومتاسین بر تکوین پس از تولد بیضه موش

استاد راهنما:

دکتر مهری آزادبخت

نگارش:

زینب امینی

اسفند ماه ۱۳۹۲

سپاس

نمی‌توانم معنایی بالاتر از تقدیر و تشکر بر زبانم جاری سازم و سپاس خود را در وصف خدای خودم آشکار نمایم، که هر چه گویم و سرایم، کم گفته‌ام جز این‌که سجده‌ی شکر به‌جا آورم که از سر لطف و عنایتش توفیق به انجام رساندن این پایان‌نامه را به بنده‌ی حقیر عطا فرمود. به مصداق «من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق » بسی شایسته است از استاد فرهیخته و فرزانه‌ام سرکار خانم دکتر آزادبخت، که با کرامتی چون خورشید، سرزمین دلم را روشنی بخشیدند و گلشن سرای علم و دانش ما را با راهنمایی‌های کارساز و سازنده‌شان بارور ساختند، تقدیر و تشکر نمایم.

بر دستان پدر و مادر عزیز، و همسر مهربانم که آرامش روحی و آسایش فکری مرا فراهم نمودند تا با حمایت‌های همه جانبه‌شان در محیطی مطلوب، مراتب تحصیلی و نیز پایان‌نامه درسی‌ام را به نحو احسن به اتمام برسانم، بوسه می‌زنم.

از اساتید فرزانه و دلسوز؛ جناب آقای دکتر نصراله رستگار پویانی و جناب آقای دکتر وحید اکملی، که با حسن خلق و فروتنی، زحمت داوری این پایان‌نامه را به عهده گرفتند کمال تشکر و قدردانی را دارم. و از تک تک دوستان و همکلاسی‌های عزیزم خانم‌ها مریم افکاری، شیرین گراوندی، ژیلا فلاح، کبری سمنگانی، مریم قهرمانی،زهرا محمدی، عزیزه ملکی و خانم مهسا پورمرادی و آقای ژاله تشکر و سپاس‌گذاری می‌کنم.

تقدیم به:

با بوسه بر دستان پدرم:

به او که نمی‌دانم از بزرگی‌اش بگویم یا مردانگی، سخاوت، سکوت، مهربانی و .....

به مادر عزیزتر از جانم:

که سجده‌ی ایثارش گل محبت را در وجودم پروراند و دامان گهربارش لحظه-های مهربانی را به من آموخت.....

به همسرم به صمیمیت باران:

که بزرگترین امید و یاورم در لحظه لحظه‌ی زندگی‌ام است و خواهد بود.....

چکیده

ایندومتاسین یک مهارکننده‌ی غیراختصاصی آنزیم سیکلواکسیژناز (COX) است، که به صورت معمول در غلظت‌های بسیار پایین در نوزاد انسان به عنوان گشاد کننده مجاری سرخرگی استفاده می‌شود. ایندومتاسین مهارکننده پروستاگلندین‌ها است، پروستاگلندین‌ها رشد را القا می‌کنند و به عنوان یک شبه هورمون در بافت‌های مختلف بدن پستاندارن ترشح می‌شوند.

ما فرضیه اثر گذاری ایندومتاسین بر رشد و تکوین بیضه را با تزریق ایندومتاسین به نوزادان تازه متولد شده‌ی موش، آزمایش کردیم، در این مطالعه به نوزادان تازه متولد شده‌ی موش‌های NMRI، در روز صفر تولد (P0) با سه غلظت 25، 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد و گروه دیگری بدون تزریق ایندومتاسین به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. پس از ۳۵ روز نوزادان نر پس از وزن کردن از طریق نخاعی شدن کشته شدند و بیضه‌ی آن‌ها جدا شد، سپس بیضه‌ها برای بررسی‌های میکروسکوپ نوری تثبیت و برش‌گیری و رنگ‌آمیزی شدند.

نتیجه‌ی این مطالعه نشان داد که ایندومتاسین به‌طور معنی‌داری تعداد سلول‌های لوله‌های منی ساز را در غلظت‌های 25، 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش می‌دهد ($P<0.05$). هم‌چنین تعداد لوله‌های منی‌ساز را در همه غلظت‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش می‌هد ($P<0.05$).

طبق یافته‌های این تحقیق، استفاده از ایندومتاسین به عنوان مهارکننده‌ی پروستاگلاندین‌ها در بدو تولد بافت بیضه را تحت تاثیر و کیفیت بیضه را تغییر می‌دهد.

کلید واژه‌ها: بیضه، ایندومتاسین، موش نوزاد

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱- بیضه ۱
۱-۱-۱- ساختار بیضه بالغ ۱
۱-۱-۲-آناتومی بیضه ۲
۱-۱-۳-اعمال بیضه ۳
۱-۱-۳-۱-اسپرماتوژنز ۴
۱-۱-۳-۱-۱- مراحل اسپرماتوژنز ۵
۱-۱-۳-۱-۱-۱-میتوز ۸
۱-۱-۳-۱-۱-۲- میوز ۱۰
۱-۱-۳-۱-۱-۳-اسپرمیوژنز ۱۲
۱-۱-۴-۱-۵- تنظیم سیکل اسپرماتوژنز ۱۳
۱-۱-۵- تشکیل بیضه ۱۵
۱-۱-۶- نمو بیضه ۱۹
۱-۱-۶-۱- نمو بیضه پیش از تولد ۲۳
۱-۱-۶-۲- نمو بیضه پس از تولد ۲۵
۱-۱-۷- اثر عوامل مختلف بر روی سلول‌های لیدیگ ۲۸
۱-۱-۸- اثر عوامل مخرب بر اجزاء بیضه: ۲۹
۱-۲-پروستاگلاندین ۲۹
۱-۲-۱-عملکرد سیکلواکسیژنازها در سنتز پروستاگلاندین‌ها ۳۰
۱-۲-۲-بیولوژی سیکلواکسیژنازها ۳۰
۱-۲-۳-انواع پروستاگلاندین‌ها ۳۱
۱-۲-۴-مکانیسم اثر پروستاگلاندین‌ها ۳۲
۱-۲-۵- عملکرد پروستاگلاندین‌ها در بدن پستانداران ۳۳
۱-۲-۶- عملکرد پروستاگلاندین‌ها در دستگاه تولید مثلی نر ۳۴
۱-۲-۷-عملکرد پروستاگلاندین‌ها در دستگاه تولید مثلی ماده ۳۵
۱-۳- ایندومتاسین ۳۸
۱-۳-۱- مکانسیم عمل و نقش ایندومتاسین در بدن پستانداران ۳۹
۱-۴- فرضیات تحقیق ۴۰
۱-۵- اهداف تحقیق ۴۱

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱- حیوان آزمایشگاهی و نحوه‌ی نگهداری آنها ۴۳
۲-۲-تهیه‌ی ایندومتاسین ۴۳

۲-۳- تزریق ایندومتاسین..... ۴۵
۲-۳-۱- بررسی ویژگی‌های عمومی حیوانات..... ۴۶
۲-۴-جداسازی بیضه..... ۴۸
۲-۵- آماده سازی نمونه‌ها جهت بررسی‌های میکروسکوپی ۴۹
۲-۵-۱- برداشتن بافت و شماره گذاری..... ۵۲
۲-۵-۲- تثبیت بافت (Fixation) ۵۲
۲-۵-۲-۱- هدف از ثابت کردن بافت ها..... ۵۳
۲-۵-۳- آب گیری (Dehydration) ۵۴
۲-۵-۴- شفاف سازی (Clearing)..... ۵۴
۲-۵-۵- آغشته سازی (Impregnation) ۵۵
۲-۵-۶- قالب گیری (Embedding)..... ۵۶
۲-۵-۷- برش گیری (Sectioning)..... ۵۷
۲-۵-۸- ثابت کردن برش ها بر روی لام ۵۸
۲-۵-۹- رنگ آمیزی (Staining) ۵۹
۲-۵-۱۰- طرز تهیه ی رنگ‌ها و محلول‌های رنگ آمیزی ۶۰
۲-۵-۱۰-۱- طرز تهیه‌ی رنگ هماتوکسیلین (روش هاریس) ۶۰
۲-۵-۱۰-۲- طرز تهیه‌ی محلول ذخیره‌ی الکلی ائوزین یک درصد ۶۰
۲-۵-۱۰-۳- طرز تهیه‌ی محلول کار ائوزین..... ۶۰
۲-۵-۱۰-۴- طرز تهیه‌ی محلول اسید الکل ۶۰
۲-۵-۱۰-۵- طرز تهیه‌ی محلول کربنات لیتیم ۶۱
۲-۵-۱۰-۶- طرز تهیه‌ی محلول فرمالین ٪۱۰ از فرمالدئید ٪۳۷تجارتی ۶۱
۲-۶- روش و مراحل رنگ آمیزی ۶۱
۲-۶-۱- پارافین گیری (Dewax) ۶۲
۲-۶-۲- آب دهی (Rehydration) ۶۲
۲-۶-۳- رنگ آمیزی هسته با هماتوکسیلین ۶۲
۲-۶-۴- شست و شوی لام‌ها در آب جاری..... ۶۳
۲-۶-۵- تمیز کردن لام ها..... ۶۳
۲-۶-۶- تمایز (Differentiation)..... ۶۳
۲-۶-۷- رنگ آمیزی سیتوپلاسم(Cytoplasmic Staining)..... ۶۴
۲-۶-۸- آب گیری(Dehydration & Differentisation)..... ۶۴
۲-۶-۹- شفاف سازی (Clearing)..... ۶۵
۲-۶-۱۰- چسبانیدن (Mounting)..... ۶۵
۲-۷- بررسی‌های میکروسکوپ نوری..... ۶۵
۲-۸- بررسی‌های آماری..... ۶۶

فصل سوم: نتایج

۳-۱-نتایج بررسی ویژگی‌های عمومی حیوان..... ۶۷
۳-۲- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر وزن موش‌ها..... ۶۸
۳-۳- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر وزن بیضه‌ها..... ۶۹
۳-۴- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر قطر بیضه‌ها..... ۶۹
۳-۵-نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر قطر لوله‌های اسپرم ساز..... ۶۹
۳-۶- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر قطر اپی‌تلیوم منی ساز ۷۰
۳-۷- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر قطر لایه‌ی تونیکا آلبوژینه..... ۷۱
۳-۸- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر تعداد لوله‌های اسپرم ساز..... ۷۱
۳-۹- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی..... ۷۲
۳-۱۰- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه..... ۷۲
۳-۱۱- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر تعداد سلول‌های اسپرماتید ۷۳
۳-۱۲- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر تعداد اسپرم‌ها ۷۳
۳-۱۳- نتایج حاصل از تاثیر ایندومتاسین بر تعداد سلول‌های سرتولی ۷۳

فصل چهارم: بحث

۴-۱بحث..... ۷۵
۴-۲-پیشنهادات..... ۷۶
منابع ۷۴

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- سیستم تولید مثلی در موش. دستگاه تولید مثلی شامل بیضه، اپی‌دیدیم، مجاری دفران، و غدد جنسی ۹
شکل ۱-۲- تصویر سلول‌های زایا نر در روند اسپرماتوژنز ۱۳
شکل۱-۳- روند اسپرماتوژنز. ۱۷
شکل ۱-۴- روند تکوین بیضه در رویان ۲۱
شکل ۱-۵- شماتیکی از نسل سلول‌های لیدیگ ۲۲
شکل۱-۶- مسیر بیوسنتز پروستانوئیدها ۲۶
شکل ۱-۷- مسیرهای پیام‌رسانی پروستاگلاندین‌ها ۲۷
شکل ۱-۸- ساختار مولکولی ایندومتاسین ۲۸
شکل ۱-۹- مکانیسم اثرایندومتاسین ۳۱

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار ۳-۱- مقایسه‌ی وزن موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه.....۴
نمودار۳-۲- مقایسه‌ی وزن بیضه‌ها در گروه‌های مورد مطالعه ۹
نمودار۳-۳- مقایسه‌ی قطر بیضه‌ها در گروه‌های مورد مطالعه
.....۱۳
نمودار۳-۴- مقایسه‌ی میانگین قطر لوله‌های اسپرم ساز در گروه‌های مورد مطالعه ۱۷
نمودار۳-۵- مقایسه‌ی قطر اپی‌تلیوم منی ساز در گروه های مورد مطالعه ۲۱
نمودار۳-۶- مقایسه‌ی قطر تونیکا آلبوژینه در گروه‌های مورد مطالعه ۲۵
نمودار۳-۷- مقایسه‌ی تعداد لوله‌های اسپرم ساز در گروه‌های موردمطالعه ۲۶
نمودار۳-۸- مقایسه‌ی تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه‌های مورد مطالعه ۲۷
نمودار۳-۹- مقایسه‌ی تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه‌های مورد مطالعه ۲۹
نمودار۳-۱۰- مقایسه‌ی تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه‌های مورد مطالعه.....۳۰
نمودار۳-۱۱- مقایسه ی تعداد اسپرم‌ها در گروه‌های مورد مطالعه.....۳۰
نمودار۳-۱۲- مقایسه‌ی تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های مورد مطالعه.....۳۱

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱: بررسی وزن موش‌ها و وزن بیضه‌ها در گروه‌های مورد مطالعه ۶۶
جدول ۳-۲: بررسی قطر بیضه‌ها، قطر لوله‌های منی ساز، قطر اپی‌تلیوم منی ساز، قطر تونیکا آلبوژینه در گروه‌های مورد مطالعه ۶۸
جدول ۳-۳: بررسی تعداد توبول‌ها، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت، تعداد سلول-های اسپرماتید، تعداد اسپرم، تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های مورد مطالعه.....۶۹

فصل اول

مقدمه

۱-۱- بیضه[1]

بیضه‌ها جزئی از دستگاه تولید مثلی نر می‌باشند، که در پستانداران اندامی پیچیده با سلول‌های گوناگونی هستند که به بررسی آن می‌پردازیم.

۱-۱-۱- ساختار بیضه بالغ

هر یک از بیضه‌ها به بخش‌هایی به نام لوبول تقسیم می‌شوند، که هر لوبول با لوله‌های منی‌ساز[2] اشغال شده، و وظیفه‌ی تولید اسپرم را به عهده دارند (Anson, 1996). لوله‌های منی‌ساز توسط بافت پیوندی بینابینی[3] سست پشتیبانی شده‌اند. فضای بینابینی[4] اطراف لوله‌های منی‌ساز شامل رگ‌های خونی و لنفی پراکنده، اعصاب، سلول‌های فیبروبلاستی، ماکروفاژها، لنفوسیت‌ها، سلول لیدیگ[5] و مقدار کمی ماست سل است (Bernard *et al*., 2002).

در مدیاستینوم بیضه[6] (میان بیضه) روی لبه‌ی خلفی بیضه، لوله‌های منی‌ساز، اسپرم را به لوله‌های مستقیم[7] و شبکه بیضه[8] تخلیه می‌کنند، در نهایت چند شبکه‌ی بیضه با هم یکی شده و مجرای وابران[8] را می‌سازند. مجاری وابران اسپرم را به داخل اپی‌دیدم[9] انتقال می‌دهند (Zachary klaassen, 2011).

اپی‌دیدیم در بالا و کنار خلفی هر بیضه قرار داشته، و دارای سه بخش سر، تنه و دم می‌باشد، که در فاگوسیت کردن اسپرماتوزوئیدهای ناقص، جذب مایع اضافی و افزایش غلظت اسپرماتوزوئیدها و ترشح مواد (اسید سیالیک، گلیسریل، فسفوریل، کولین) که در رسیدگی و بلوغ اسپرماتوزوئیدها و ظرفیت‌گیری آن‌ها موثر است، نقش دارند. در انتهای تحتانی دم اپی‌دیدیم این مجرا به مجرای منی‌بر یا دفران ختم می‌شود (Ovalle & Nahirney, 2007).

1.Testis
2.Seminiferous tubule
3. .Interstitial
4. Interstitium
5.Leydig cell
6. Mediastinum testis
7.Straight tubules
8.Rete testis
9.Epididymis
10.Deferens Duct

مجرای دفران[1]، لوله‌ای مستقیم است که از دم اپی‌دیدیم شروع و تا کیسه‌ی منی ادامه دارد و اسپرم را به مجرای انزالی[2] منتقل می‌کند، این مجرا توسط تعدادی الیاف ارتجاعی حمایت می‌شود. پوشش عضلانی مجرا، شامل سه لایه عضلات صاف ضخیم است که خارجی‌ترین لایه غنی از رگ‌های خونی و عصب است. مجرای دفران بخشی از طناب اسپرماتیک[3] را تشکیل می‌دهد، طناب اسپرماتیک علاوه بر مجرای دفران شامل شریان بیضه‌ای، شبکه‌ی وریدی و اعصاب می‌باشد، مجرای دفران قبل از ورود به پروستات اتساع یافته و ناحیه‌ای به نام آمپول[4] را به‌وجود می‌آورد. در بخش انتهایی آمپول، کیسه‌های منوی[5] به آن می‌پیوندند (Anson, 1996). از سمینال وزیکول به بعد، مجرای دفران وارد پروستات شده و به داخل پیشابراه پروستاتی باز می‌شود، به این بخش که وارد پروستات شده مجرای انزالی گفته می‌شود (Standring, 2008).

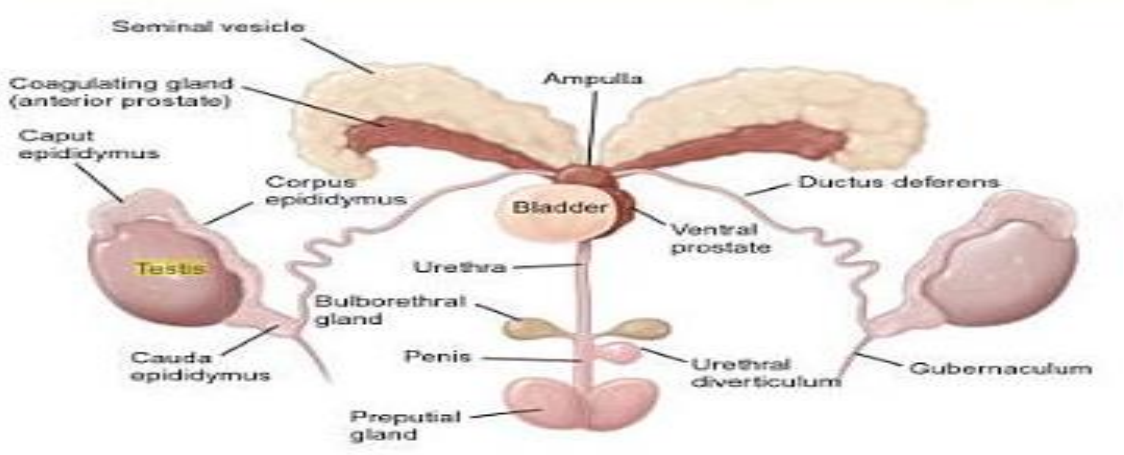
پروستات[6]، در موش به چهار لوب مشخص تقسیم می‌شود: قدامی، پشتی، شکمی و جانبی. لوب‌های پشتی و جانبی اغلب با هم به عنوان لوب پشتی-جانبی نامیده می‌شود، که این لوب‌ها پیشابراه را در بر گرفته-اند (Anson, 1996).

غدد بولبو پیشابراهی، غدد ضمیمه تنظیم کننده‌ی آندروژن هستند که عملکرد آن مشابه غدد کوپر در انسان است، این غدد در موش چند لوبی هستند.

۱-۱-۲-آناتومی بیضه

بیضه‌ها در پستانداران درون کیسه‌ای به نام کیسه‌ی بیضه یا اسکروتوم[6] قرار می‌گیرند، اما در سایر مهره-داران درون حفره‌ی عمومی بدن و غالباً در جلو یا کنار کلیه‌ها مستقر می‌باشند. اسکروتوم به عنوان تنظیم کننده دما عمل می‌کند تا برای اسپرماتوژنز طبیعی دما را کمتر از مرکز بدن نگاه دارد. بیضه‌های بسیاری از پستانداران به‌طور دوره‌ای از اسکروتوم به درون حفره شکمی باز می‌گردند، اما بیضه‌های برخی دیگر از پستانداران همیشه در اسکروتوم باقی می‌مانند (Amann & Veeramachaneni, 2007). در موش از نظر این‌که بیضه‌ها با حفره شکمی از طریق کانال اینگوینال در ارتباط هستند منحصر بفرد است، که برای تمام طول عمر باز می‌باشد، کانال اینگوینال با تنه چربی اپی‌دیدیمی در بر گرفته شده است. در انسان کانال اینگوینال به‌طور نرمال بعد از نزول بیضه‌ها در طول تکوین بسته می‌شوند.

1. Ejaculatory duct
2.Ampulla Spermatic Cord
3.Ampulla
4.Seminal Vesicles
5.Prostate
6.Scrotum



شکل ۱-۱: سیستم تولید مثلی در موش. دستگاه تولید مثلی شامل بیضه، اپی‌دیدیم، مجاری دفران، و غدد جنسی ضمیمه که شامل یک جفت سمینال وزیکول، لوب‌های پروستات، غدد آمپولا، غدد بولبوپیشابراهی، غدد preputial، و پنیس (Piper *et al*., 2012).

۱-۱-۳-اعمال بیضه

اعمال تولیدمثلی بیضه‌ها را می‌توان به دو قسمت عمده تقسیم کرد: اسپرماتوژنز و تولید هورومون‌های جنسی (Schlatt *et al*., 1997).

بیضه‌ی پستانداران شامل انواع مختلفی از سلول‌های زایا است. سلول‌های زایا اسپرماتوگونیاهایی هستند که در سمت لومن غشای پایه‌ی لوله‌های منی‌ساز قرار دارند، جائی‌که آن‌ها متحمل تقسیم میتوزی متوالی می‌شوند تا به اسپرماتوگونیای تمایز یافته و اسپرماتوسیت‌های اولیه تبدیل شوند. پس از آن دو تقسیم میوز برای تولید اسپرماتیدهای هاپلوییید[1]، که از آن‌ها سرانجام اسپرماتوزوآ[2] شکل می‌گیرد، لازم است. این اسپرم نابالغ پس از آن، از طریق کانال‌های مختلف به اپی‌دیدم منتقل شده و در آن‌جا بالغ شده و به شکل آماده برای انزال در می‌آید (Themaat *et al*., 2009). در بافت بینابینی بیضه، سلول‌های لیدیگ سازنده‌ی استروئید[3] با عملکرد اولیه‌ی تولید تستوسترون قرار دارند (Griffin & Wilson, 2002). سلول‌های لیدیگ از سلول‌های مزانشیمی منشأ گرفته‌اند که تستوسترون و آندروژن‌های[4] مورد نیاز برای تکوین دستگاه تناسلی داخلی و خارجی نر را در طول زندگی جنینی ترشح می‌کنند. دو جمعیت مجزا از سلول‌های لیدیگ در بیضه‌ی پستانداران حضور دارد: ۱) سلول‌های لیدیگ رویان، مسئول پاسخ‌گویی به آندرژن‌های تولید شده برای نر شدن رویان بوده، و منبع اولیه‌ی تستوسترون بیضه‌ای در دوران نوزادی است. ۲) سلول‌های لیدیگ

1.Haploid
2.Spermatozo
3.Stroide
4.Anderogens

بالغ که با همتاهای رویانی‌اشان نسبتی ندارند و پس از تولد از پیش‌سازهای سلول لیدیگ مزانشیمی دور لوله-ای از فضای بینابینی بیضه‌ای تمایز می‌یابند. بیشترین جمعیت مربوط به سلول‌های لیدیگ بالغ است که منبع اولیه‌ی آندرژن‌ها در بیضه پستانداران بالغ می‌باشند (Ariyaratne *et al*., 2000).

FSH و LH گنادوتروپین‌های گلیکوپروتئینی هستند که از هیپوفیز قدامی ترشح می‌شوند که در پاسخ به هورمون آزادکننده‌ی گنادوتروپین[1] (GRH) از هیپوتالاموس آزاد می‌شوند. در جنس مذکر، LH تولید تستوسترون از سلول‌های بینابینی بیضه را (سلول‌های لیدیگ) تحریک می‌کند، FSH رشد بیضه‌ای را تحریک می‌کند، هم‌چنین باعث تحریک سلول‌های سرتولی میشود. بدون وجود این تحریک، تبدیل اسپرماتیدها به اسپرماتوزوئید به انجام نخواهد رسید (Nussey & Whitehead, 2001). به طور خلاصه LH و FSH به گردش خون آزاد می‌شوند و رسپتورهای روی سلول‌های لیدیگ و سلول‌های سرتولی را فعال می-کنند که به ترتیب باعث تحریک تولید تستوسترون و اسپرماتوژنزیز[2] می‌شوند (Kauffman *et al*., 2007). در بیضه‌ی پستانداران سلول‌های سرتولی جزء اصلی ساختار اپی‌تلیوم منی‌ساز هستند، وجود سلول‌های سرتولی جهت آغاز اسپرماتوژنز در زمان بلوغ و برای حفظ آن پس از بلوغ جنسی ضروری است (Sharpe *et al*., 2003).

۱-۱-۳-۱-اسپرماتوژنز

اسپرماتوژنز یک رویداد پیچیده‌ی بیوشیمیایی است که در پستانداران با هدف تولید اسپرم سازماندهی می‌شود و شامل مشارکت هورمون GnRH هیپوتالاموسی و دو هورمون LH و FSH هیپوفیز می‌باشد، به این ترتیب مسیر هیپوتالاموس–هیپوفیز بیضه محور نظارتی حیاتی برای عملکرد بیضه‌ها می‌باشد (Chang *et al*., 2009). در بافت بیضه موش و دیگر پستانداران اسپرماتوژنز در داخل اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز که قطری حدود ۱۵۰-۲۰۰ میکرومتر دارند روی می‌دهد، در این اپی‌تلیوم سلول‌های زایای[3] بسیاری در مراحل مختلف وجود دارند (Russell *et al*., 1990). اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز حاوی سلول‌های زایا و سلول‌های سرتولی است (Hess & Franca, 2008). سلول‌های سرتولی سلول‌های استوانه‌ای هستند که از غشای پایه به لومن لوله‌های منی‌ساز کشیده شده‌اند، این سلول‌ها به وسیله اتصالات محکم[4] خاصی (پل‌های سیتوپلاسمی) به یکدیگر متصل شده‌اند، تا یک سد انتشاری را تشکیل دهند که به نام سد خونی–بیضه‌ای[5] (BTB) خوانده می‌شود (Cheng *et al*., 2010). عملکرد اولیه BTB، جریان بین سلولی مواد از جمله (آب، الکترولیت‌ها، یون‌ها، موادغذایی، هورمون‌ها، فاکتورهای پاراکراین، و ملکول‌های زیستی) در سراسر اپی‌تلیوم سلول‌های

1.Gonadotropin Releasing Hormon
2.Spermatogenesis
3.Germ Cells
4.Tithg Junction
5.Blood-Testis- Barrier

سرتولی به داخل بخش رأسی را محدود می‌کند، به دلیل این‌که عروق خونی، مویرگ‌ها، عروق لنفی، و یا حتی اعصاب در بافت بینابینی بین لوله‌های منی‌ساز قرار دارند و به اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز نفوذ نکرده‌اند، بنابراین BTB ورود مواد غذایی(از جمله قندها، آمینواسیدها) و مولکول‌های حیاتی(از جمله هورمون‌ها، الکترولیت‌ها) و مواد سمی خطرناک(از جمله مواد سمی اطراف، داروها، موادشیمیایی)، در بخش رأسی جائی‌که تکوین سلول زایای پس میوزی[1] (اسپرمیوژنز، تشکیل اسپرم) اتفاق می‌افتد، را تنظیم می‌کند (Cheng *et al*., 2010). بنابراین سلول‌های سرتولی باعث پشتیبانی ساختاری و حمایت تغذیه‌ای برای سلول-های بنیادی اسپرماتوگونی می‌شوند (Brinster, 2002). سیتوپلاسم سلول‌های سرتولی همانند بازوهای باریکی اطراف تمام سلول‌های زایا امتداد می‌یابد تا هنگام فرایند اسپرماتوژنز، ارتباطات سلولی خود را تقویت و حفظ نمایند. این سلول‌ها به‌عنوان فاگوسیت‌ها عمل می‌کنند، که عمل اصلی آن‌ها مصرف سیتوپلاسم باقی‌مانده در روند اسپرماتوژنز است (Kolasa *et al*., 2011). مراحل اصلی اسپرماتوژنز براساس تغییراتی است که در ناحیه گلژی اسپرماتیدها یعنی همان ناحیه‌ای که محل تشکیل سیستم آکروزومی[2] است رخ می‌دهد (Amann, 2008).

۱-۱-۳-۱-۱- مراحل اسپرماتوژنز:

اسپرماتوژنز در پستانداران با تبدیل گونوسیت‌ها[3] به سلول‌های زایای اسپرماتوگونی[4] (SSCs) آغاز می-شود، که در لوله‌های منی‌ساز روی می‌دهد. اسپرماتوژنز در جوندگان ۶-۵ روز بعد از تولد، و در انسان ۱۳-۱۰ روز بعد از تولد آغاز می‌شود (Dym *et al*., 2009). سلول‌های زایای اسپرماتوگونی (SSCs) پایه‌ای برای تولید مداوم روزانه میلیون‌ها اسپرماتوزوآ در بیضه بزرگسالان در طول زندگی یک فرد نر هستند (Yoo *et al*., 2010)، که شامل سه بخش عمده فرایندهای بیولوژیکی اساسی است:

۱)تجدید سلول‌های بنیادی و تولید و گسترش سلول‌های اجدادی (میتوز)، ۲)کاهش تعداد کروموزوم‌ها به نصف تعداد اولیه در هر سلول اجدادی (میوز) و ۳)تمایز منحصر بفرد سلول‌های هاپلوئید (اسپرمیوژنز). در انسان، هر یک از این مراحل در آغاز بلوغ و در طول زندگی ادامه می‌یابد (Cathry *et al*., 2010). سلول-های زایا ابتدا با تقسیمات میتوزی مکرر تکثیر می‌یابند، سپس طی میوز اسپرماتیدهای کروی هاپلوئید تولید می‌شوند. میوز منجر به مضاعف شدن کروموزوم‌ها، نوترکیبی ژنتیکی و سپس کاهش کروموزوم‌ها طی دو تقسیم سلولی می‌شود و پس از آن اسپرماتیدها به اسپرماتوزوآهای بسیار متراکم تمایز یافته و به حفره‌ی مرکزی لوله آزاد می‌گردند (Hess & Franca, 2008).

1.Post Miosis
2.Acrosom
3.Gonosites
4. Spermatogonia Stem Cells

۱-۱-۳-۱-۱-۱-میتوز[1]:

اسپرماتوگونیاها سلول‌های زایای دیپلوئیدی[2] (2n) هستند، که به صورت ساکن در قسمت قاعده‌ای توبول‌های اسپرم‌ساز در غشأ پایه مستقر می‌شوند و با انجام تقسیمات میتوزی منجر به تولید دو سلول دیپلوئید به نام اسپرماتوسیت اولیه[3] می‌شوند (De Rooij & Russell, 2000). در بیضه‌ی جوندگانی مثل رت و موش چهار کلاس اسپرماتوگونیا وجود دارد: اسپرماتوگونیاهای تمایز نیافته‌ی نوع A شامل: نوع A منفرد[4] (As)، نوع A زوج شده[5] (Apr) و نوع A ردیف شده[6] (Aal)، هم‌چنین اسپرماتوگونیاهای تمایز یافته‌ی نوع A (A1, A2, A3, A4)، اسپرماتوگونیاهای میانی[7] (In) و اسپرماتوگونیاهای نوع B که توسط پل‌های سیتوپلاسمی با یکدیگر در ارتباط هستند (Hermo *et al*. 2010). دو سلول دختری مشتق شده از یک اسپرماتوگونیای As می‌تواند تشکیل یک جفت اسپرماتوگونی Apr را بدهد، با توجه به سیتوکینز[8] ناقص اسپرماتوگونی‌های Apr توسط پل‌های سیتوپلاسمی به‌هم متصل هستند (Aponte *et al*., 2005). تقسیم میتوزی در اسپرماتوگونی نوع Apr باعث تولید زنجیره‌ای از چهار اسپرماتوگونی Aal می‌شود، در شرایط عادی در بیضه‌ی بالغ، اسپرماتوگونی نوع Aal بدون انجام میتوز به اسپرماتوگونی نوع A1 (اولین نوع از سلول‌های تمایز یافته) تبدیل می‌شود (De Rooij & Russell, 2000). سلول‌های A1 با تقسیم میتوز سلول‌های A2 و این‌ها نیز به نوبه‌ی خود تقسیم شده و سلول‌های A3، این سلول‌ها نیز با تقسیم میتوز خود اسپرماتوگونی‌های A4 و دو تقسیم میتوز دیگر اسپرماتوگونی‌های In و B را ایجاد می‌کنند. اسپرماتوگونی‌های A1-A4، In و B در مراحل خاصی از چرخه‌ی اپی‌تلیوم منی‌ساز رخ می‌دهند (Phillips *et al*., 2010). در این گونه‌های جانوری، کلاس‌های اسپرماتوگونیایی را می‌توان توسط میکروسکوپ TEM و میکروسکوپ نوری بر اساس حضور و توزیع هتروکروماتین مشخص نمود (Chiarini *et al*., 2001)، هم‌چنین پیشنهاد شده است که ریز محیط‌هایی از اپی‌تلیوم منی‌ساز که اسپرماتوگونیاهای تمایز نیافته شامل As یا سلول بنیادی در آن مستقر هستند توسط سلول سرتولی فراهم می‌گردد (Ryu *et al*., 2006).

۱-۱-۳-۱-۱-۲- میوز:

تقسیم کاهشی به وسیله‌ی میوز مکانیسم بیولوژیکی است که با تغییر در تعداد کروموزوم‌ها، اسپرم‌ها که سلول‌های تولیدمثلی در جنس مذکر هستند ایجاد می‌شوند. اسپرماتوگونیاهای نوع B با انجام تقسیم میتوز، دو

1.Mitosis
2.Diploide
3.Primery Spermatosytes
4.Single
5.Paired
6.Aligned
7.Intermediate
8.Cytokinasis

اسپرماتوسیت پیش لپتوتن[1] را ایجاد می‌کنند سنتز DNA در اسپرماتوسیت پیش لپتوتن رخ می‌دهد. این‌ها سلول‌هایی هستند که نمایان‌گر آغاز مرحله‌ی میوزی می‌باشند یعنی سلول‌های کوچکی هستند که روی غشای پایه باقی می‌مانند. ولی اسپرماتوسیت‌های لپتوتن[2] و زیگوتن[3] از غشای پایه گذشته و از میان سد خونی–بیضه‌ای (سد سرتولی-سرتولی) حرکت می‌کنند (Russell, 1990). اسپرماتوسیت‌های پیش لپتوتن، لپتوتن و زیگوتن در مراحل خاصی قرار دارند و توسط میکروسکوپ عادی قابل تشخیص هستند. تثبیت بافتی سبب می‌شود که سلول‌های لپتوتن و زیگوتن متصل به غشاء پایه دیده شوند. اسپرماتوسیت‌ها در تمام مراحل یافت می‌شوند زیرا میوز در یک دوره‌ی طولانی اسپرماتوژنز انجام می‌شود که در موش حدود ۱۴ روز طول می‌کشد بنابراین هر تلاشی برای تشخیص مراحل خاص اسپرماتوژنز باید شامل آنالیز مولکولی سلول‌های این مرحله باشد (Hess & Franca., 2008). تقسیم میوز با سه دسته بندی به پیش می‌رود که همگی در مرحله XII اتفاق می‌افتند. الف: میوز I، تقسیم سلول‌های 4n ب: تشکیل اسپرماتوسیت‌های ثانویه[4] 2nکه از اسپرماتیدهای گام یک بزرگترند، اما اغلب تنها اسپرماتوسیت‌های مقطع عرضی لوله نیستند و ج: تقسیم اسپرماتوسیت‌های ثانویه 2n در میوز II برای تشکیل اسپرماتیدهای گرد هاپلوئید 1n. مطالعات انجام شده در رت‌ها افزایش قابل توجه اندازه‌ی اسپرماتوسیت‌ها را از پیش لپتوتن تا دیپلوتن نشان داده است (Franca *et al*., 2005). در هنگام اسپرماتوژنز این افزایش به کاهشی نمادین در اندازه‌ی سلول تغییر یافته و اندازه سلول کاهش می‌یابد که علت آن تغییراتی است که در چگالی کروماتین و هسته ایجاد می‌شود (Hess & Franca, 2008).

1. preleptotene
2.Leptotene
3.Zygotene
4.Secondary Spermatosytes