مطالعه هیستولوژی و هیستومورفومتری اپی‌دیدیم متعاقب استرس عدم تحرک در موش سوری

اسماعیل صفوی[1*]، هادی خیاط نوری[1]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، استادیار گروه علوم پایه، تبریز، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: safavi@iaut.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۲/۷/۱۶ پذیرش نهایی: ۹۲/۱۲/۱۲)

چکیده

استرس عدم تحرک به عنوان یک استرس فیزیکی و روانی تاثیرات سوء بر بافت‌های مختلف بدن دارد. مطالعات زیادی در مورد اثرات استرس بر روی دستگاه تناسلی و باروری صورت گرفته است. هدف اصلی از این مطالعه، ارزیابی اثرات استرس عدم تحرک بر بافت اپی‌دیدیم در موش سوری می‌باشد. در این تحقیق تعداد ۱۴۰ سر موش سوری نر بالغ به ۷ گروه تیمار و ۷ گروه شاهد به صورت تصادفی تقسیم شدند. در گروه‌های تیمار موش‌ها به ترتیب ۱، ۳، ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس عدم تحرک قرار گرفتند. درگروه‌های شاهد حیوانات فقط جابه‌جا شدند. پس از اتمام دوره آزمایش، جهت بررسی میزان هورمون‌های تستوسترون و کورتیزول نمونه خون و جهت مطالعات هیستولوژی و هیستومورفومتری نمونه‌های بافت اپی‌دیدیم اخذ گردید. داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار بیان شده و با روش آزمون تی وابسته مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقدار $p<۰/۰۵$ برای تعیین سطح معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌ها در نظر گرفته شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان هورمون تستوسترون تمامی گروه‌ها در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) داشتند. میزان کورتیزول در روزهای ۱، ۳، ۷ و ۱۵ افزایش معنی دار ($p<۰/۰۵$) داشته، ولی در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. مطالعات بافتی نشان داد که در گروه‌هایی که ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس بودند، در سه ناحیه سر، بدنه و دم اپی‌دیدیم، قطر لوله کاهش و بافت بینابینی افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) داشت. ضخامت اپی‌تلیوم در ناحیه سر و بدنه در گروه‌هایی که ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس بودند و در ناحیه دم در گروه‌هایی که ۳۰، ۴۵ و۶۰ روز تحت استرس بودند، کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) داشت. نتایج این مطالعه مؤید اثرات سوء استرس عدم تحرک بر بافت اپی‌دیدیم می‌باشد. با افزایش مدت استرس، اثرات جانبی افزایش می‌یابد.

کلید واژه‌ها: استرس عدم تحرک، اپی دیدیم، هیستولوژی، هیستومورفومتری

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

در قرن حاضر استرس یکی از مهم‌ترین زمینه‌های پژوهش در علوم مختلف به شمار می‌آید. این موضوع توجه دانشمندان مختلف اعم از پزشکان، دامپزشکان، روان‌شناسان، فیزیولوژیست‌ها، زیست‌شناسان و جامعه‌شناسان را به خود جلب کرده است که هر کدام جنبه‌هایی از استرس و عوارض آن را مورد بررسی قرار داده‌اند (خدایاری فرد، ۱۳۹۰). گرچه تعریف جامع و مورد توافق از استرس وجود ندارد ولی استرس، پاسخ به یک محرک داخلی یا خارجی است که در نهایت می‌تواند هومئوستاز بدن را تحت تاثیر قرار دهد (بدل زاده، ۱۳۸۸). پاسخ‌های فیزیولوژیک بدنبال القاء استرس عمدتاً حاصل تحریک سیستم اعصاب مرکزی و سیستم عصبی خودمختار بوده و در نتیجه با تاثیر بر روی مسیر هیپوتالاموس- هیپوفیز- غده فوق کلیوی (HPA) باعث تغییراتی در سیستم اندوکرین بدن می‌گردد (Bruce, 2007). افزایش ترشح ACTH در مواجهه با استرس تقریبا به طور کامل توسط هیپوتالاموس از طریق آزاد شدن CRH صورت می‌گیرد (بدل زاده، ۱۳۸۸). در پاسخ به استرس‌های شدید، افزایش ترشح ACTH حاصل می شود که برای ادامه حیات ضروری است. اینکه چرا سطوح خونی بالای ACTH و متعاقب آن گلوکوکورتیکوئیدها برای مقابله با استرس ضروری می‌باشد تا حد زیادی ناشناخته مانده است (Knol, 1991). مطالعات نشان می‌دهند که در مواجهه با عوامل استرس‌زا دو مکانیسم متفاوت در بدن فعال می‌گردد. در مکانیسم اول که تحت عنوان الگوی جنگ و گریز نامیده می‌شود، با فعال شدن سیستم سمپاتیک در بخش مدولای غده فوق کلیوی مشخص می‌شود و منجر به آزاد شدن کاتکول‌آمین‌ها می‌گردد. در مکانیسم دوم که تحت عنوان عقب‌نشینی و بقا مطرح است، با افزایش فعالیت مسیر هیپوفیزی- غده فوق کلیوی و کاهش استروئیدهای گنادی از جمله تستوسترون مشخص می‌شود (بدل زاده، ۱۳۸۸). استرس مزمن زمانی حاصل می‌گردد که عامل استرس زا در مدت زمان طولانی فرد را تحت فشار قرار دهد. اثرات سوء استرس‌های مزمن کمتر از استرس‌های حاد نیست. در این نوع استرس، بدن به صورت پیوسته در معرض هورمون‌های مترشحه از قبیل هورمون کورتیزول و آدرنالین قرار می‌گیرد و بدنبال فعالیت بیش از حد سیستم اندوکرین، اختلالاتی در سیستم‌های مختلف بدن روی می دهد (Miller and Smith, 2013). در تحقیق حاضر با توجه به نقش دستگاه تناسلی در سلامت حیوان و تزاید نسل، تأثیرات استرس مزمن عدم تحرک بر روی بافت اپی‌دیدیم در مدل موش سوری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی مداخله‌ای حجم نمونه بر اساس مطالعات گذشته (Rai *et al*., 2003) محاسبه گردید. در تحقیق حاضر تعداد ۱۴۰ سر موش سوری نر بالغ نژاد NMRI با وزن ۳۰-۲۰ گرم در شرایط یکسان ۱۲ساعت نور و ۱۲ساعت تاریکی، درجه حرارت ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و جیره‌غذایی یکسان استفاده گردید (Demura *et al*., 1989). موش‌های سوری در ۷ گروه تیمار و۷ گروه شاهد به صورت تصادفی تقسیم‌بندی شدند. در گروه های تیمار موش ها به ترتیب ۱، ۳، ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت تأثیر استرس عدم تحرک قرار گرفتند (Jae sang *et al*.,

Archive of SID

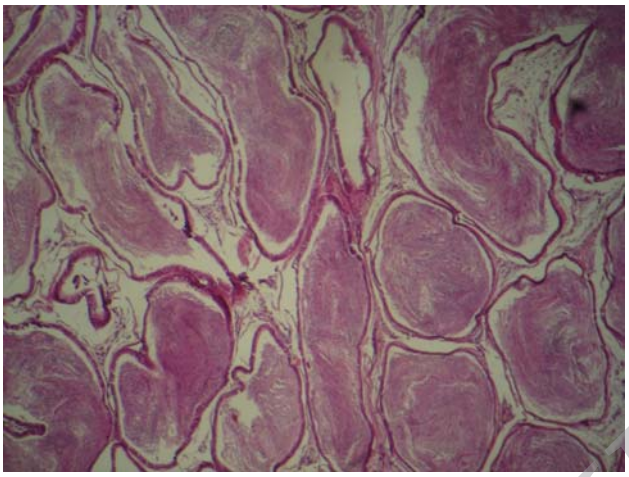
www.SID.ir

2006). در گروه‌های شاهد، موش‌ها در مدت آزمایش همانند موش‌های گروه تیمار به محل آزمایش منتقل شده ولی بدون انجام آزمایش دوباره به قفس خود برگردانده شدند. جهت انجام آزمایش استرس عدم تحرک از مهار کننده‌های مخصوص موش سوری به صورت سیلندرهای پلاستیکی استفاده گردید. موش‌های مورد آزمایش هر روز به مدت ۲ ساعت از ساعت ۱۲-۱۰ صبح تحت استرس عدم تحرک قرار گرفتند (Jae sang *et al.*, 2006). پس از اتمام دوره استرس بلافاصله پس از آخرین استرس، حیوان با استفاده از اتر بیهوش شده و با قطع سر، نمونه‌های خون جهت تعیین میزان هورمون‌های تستوسترون و کورتیزول اخذ گردید. پس از کالبدگشایی حیوان نمونه‌های اپی‌دیدیم جهت تهیه مقاطع بافتی به فرمالین ۱۰٪ منتقل گردید. برای اندازه‌گیری هورمون تستوسترون از روش الایزا و برای اندازه‌گیری هورمون کورتیزول خون از روش رادیوایمونواسی با استفاده از کیت کورتیزول (شرکت کیتا آلمان) استفاده گردید. برای بررسی هیستومورفومتری اپی‌دیدیم پس از تهیه مقاطع هیستولوژی و رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائورین، از عدسی چشمی مدرج ×۱۰ مدل نیکون استفاده شد. این عدسی از ۱۰ قسمت بزرگ که هر قسمت نیز خود به ده قسمت تقسیم شده است، تشکیل گردیده است. بوسیله این عدسی می‌توان قسمت‌های مورد نظر را اندازه‌گیری نمود. سپس اعداد حاصله در ضرایب مخصوصی که برای هر عدسی شیء متفاوت می‌باشد، ضرب شده و اندازه نهایی برحسب میکرومتر محاسبه می‌گردد. در مطالعه مورفومتریک، بافت اپی‌دیدیم در سه قسمت سر، بدنه و دم، از نظر قطر لوله، ضخامت دیوارهٔ لوله، ضخامت بافت همبند بین لوله‌ها در سه ناحیه مختلف به صورت تصادفی اندازه‌گیری شده و در گروه‌های مختلف مقایسه گردید. در پایان داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS با روش آزمون تی وابسته مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقدار $p<۰/۰۵$ برای تعیین سطح معنی‌دار بودن بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

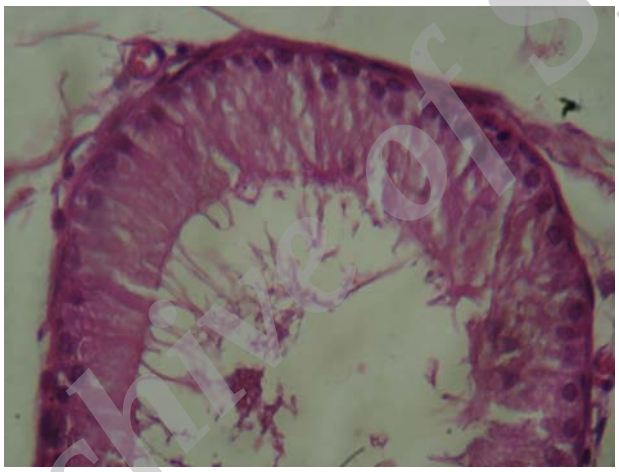
یافته‌ها

مطالعه بافت‌شناسی اپی‌دیدیم در گروه‌های شاهد نشان داد که اپی‌دیدیم از خارج توسط کپسول همبندی سپیدپرده احاطه شده است که در زیر کپسول در برخی نواحی سلول‌های چربی دیده می‌شود. اپی‌دیدیم در قسمت سر دارای قطر کم، اپی‌تلیوم ضخیم و حفره داخلی تنگ می‌باشد. به طرف دم اپی‌دیدیم، حفره میانی لوله وسیع‌تر شده و اپی‌تلیوم نازک‌تر و محتویات داخل لوله‌ها افزایش یافته است، طوری‌که در برخی مقاطع لوله‌ها در دم اپی‌دیدیم، تودهٔ اسپرم تمام حفره داخلی لوله را پر کرده است (شکل ۱). اپی‌تلیوم سر اپی‌دیدیم از نوع استوانه‌ای شبه‌مطبق بوده که در رأس سلول‌های پوششی زوائد سیتوپلاسمی بلند (استروسیل) مشاهده می‌شود (شکل ۲). به طرف دم اپی‌دیدیم اپی‌تلیوم نازک‌تر و در برخی نواحی استوانه‌ای یا مکعبی ساده می‌باشد و تعداد و اندازه مژه‌های ثابت کاهش می‌یابد. در زیر اپی‌تلیوم، سلول‌های عضلانی صاف قرار دارد که به طرف دم تعداد لایه‌ها افزایش می‌یابد. در بافت همبند بین لوله‌ها مقاطع عروق خونی مشاهده می‌شود (شکل ۳).

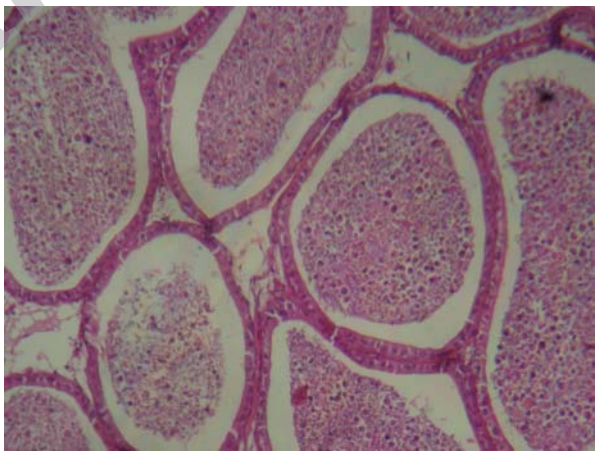
Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- مقطع بافت اپی‌دیدیم در ناحیه دم در گروه شاهد. حفره میانی لوله‌ها انباشته از اسپرم بوده و قطر لوله‌ها زیاد و مقدار بافت همبند بینابینی کم است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×۱۰۰).



شکل ۲- مقطع بافت اپی‌دیدیم در ناحیه سر در گروه شاهد. اپی‌تلیوم ضخیم از نوع استوانه‌ای شبه مطبق به همراه استروسیل مشاهده می‌شود (رنگ-آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×۴۰۰).

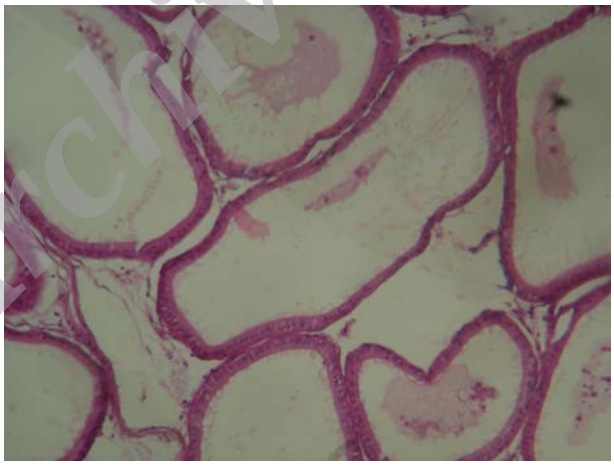


شکل ۳- مقطع بافت اپی‌دیدیم در ناحیه بدنه در گروه شاهد. حفره میانی لوله‌ها انباشته از اسپرم بوده و قطر لوله‌ها زیاد و مقدار بافت همبند بینابینی کم است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×۱۰۰).

Archive of SID

www.SID.ir

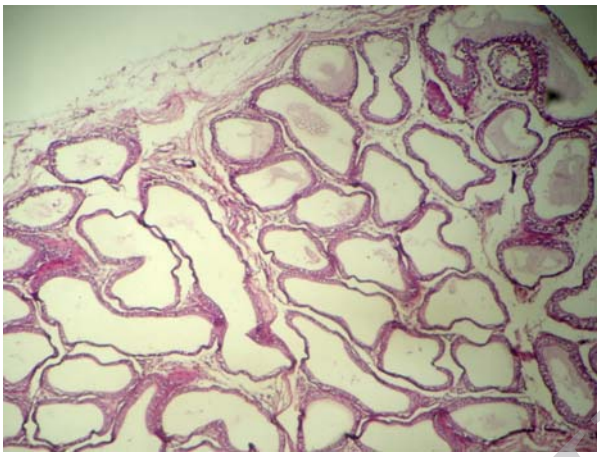
در گروهایی کـه ۱، ۳ و۷ روز تحـت اسـترس عـدم تحرک قرار گرفتند، تغییرات مورفولوژی مشخصـی در بافت اپی‌دیدیم مشـاهده نگردیـد. در گروهـی ۱۵ روز تحت اسـترس قـرار داشـت ، مطالعـه بافـت شناسـی اپی‌دیدیم نشان داد که لوله‌های اپی‌دیدیم اغلـب خـالی بوده و اپی‌تلیوم در این لوله‌ها دارای هسته‌های روشـن بوده و سیتوپلاسم سلول‌های پوششی حالت یکنواختی را نشان می‌دهد. مژه‌های ثابت کوتـاه‌تـر و پراکنـده‌تـر می‌باشند. بافت بینابینی توسـعه چنـدانی نیافتـه اسـت. وسعت عروق خونی افزایش یافته و بـه‌نظـر مـی‌رسـد کپسـول همبنـدی ضـخامت بیشـتری یافتـه اسـت. در گروهایی که ۳۰ و ۴۵ روز تحت استرس عـدم تحـرک قرار گرفتند ، لوله‌های اپی‌دیدیم در قسمت سر، بدنه و دم کاملاً خالی از اسپرم بـوده و در ناحیـه دم مقـداری ترشحات در لوله‌ها دیده می‌شود. ضـخامت اپـی‌تلیـوم کاهش شدیدی را نشان می‌دهد و اندازه قطـر لولـه‌هـا نیـز کاهش یافته و بافـت بـین لولـه‌ای وسـعت بیشـتری نشـان می‌دهد. سلول‌های اپی‌تلیـالی دارای سیتوپلاسـم کـف آلـود بوده و ضخامت عضلات صاف در سر اپی‌دیدیم بیشـتر بـه نظر می‌رسد. سیتوپلاسم در قسمت سر در بالای هسته رنگ پذیری بیشتری نسبت به قاعـده دارد کـه نشـانگر انباشـتگی مواد ترشحی در داخل سیتوپلاسم سلول‌هاست. در گروهی که ۶۰ روز تحت اسـترس عـدم تحـرک قـرار گرفتنـد مقـاطع لولـه‌هـا خـالی از اسـپرم بـوده و سیتوپلاسـم سلول‌های پوششی در هر سه قسمت لوله اپی‌دیدیم بـه صورت غیر یکنواخت مـی‌باشـد (شـکل‌هـای ۴ و ۵). تعداد مژه‌های ثابت شدیداً کاهش یافتـه اسـت (شـکل ۶). در این گروه، بافت بین لولـه‌هـا در برخـی نـواحی انتشار مایع پلاسما و حالت ادم را نشان می‌دهد (شکل ۵).



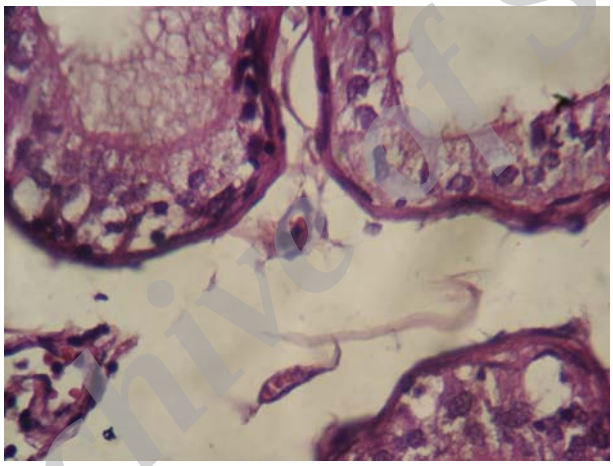
شکل ۴- مقطع بافت اپی‌دیدیم در ناحیه بدنه، در گروهی که ۶۰ روز تحت استرس عدم تحرک قرار گرفته است. ضخامت اپی‌تلیوم و قطر لوله‌ها کم شده و حفره میانی لوله‌ها فاقد اسپرم می‌باشند. مقدار بافت همبندی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، درشت‌نمایی ×۱۰۰).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۵- مقطع بافت اپی‌دیدیم در ناحیه دم، در گروهی که ۶۰ روز تحت استرس عدم تحرک قرار گرفته است. ضخامت اپی‌تلیوم و قطر لوله‌ها کم شده و حفره میانی لوله‌ها فاقد اسپرم می باشد. مقدار بافت همبند افزایش یافته است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی× ۱۰۰).



شکل ۶- مقطع بافت اپی‌دیدیم در ناحیه سر، در گروهی که ۶۰ روز تحت استرس عدم تحرک قرار گرفته است. ضخامت اپی‌تلیوم کم شده و سیتوپلاسم سلول‌های پوششی روشن‌تر شده و از تعداد و طول استروسیل‌ها کاسته شده است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی ×۴۰۰).

آنالیز آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری قطر لوله، ضخامت اپی‌تلیوم لوله و ضخامت بافت بینابینی در سه ناحیه سر، بدنه و دم اپی‌دیدیم نشان داد که بین گروه‌های شاهد تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. بنابراین نتایج همه گروه‌های شاهد ذکر نشده است. مقایسه میانگین پارامترهای هیستومورفومتریک در ناحیه سر اپی‌دیدیم پس از استرس عدم تحرک در موش سوری نشان داد که در گروه هایی که ۱، ۳، ۷ و ۱۵ روز تحت استرس قرار داشتند، قطر لوله در ناحیه سر اپی‌دیدیم در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت. در گروه هایی که ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس قرار داشتند، قطر لوله در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد (جدول ۱). در گروه هایی که ۱، ۳ و ۷ روز تحت استرس قرار داشتند در ناحیه سر اپی‌دیدیم قطر اپیتلیوم در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت، ولی در گروه‌هایی که ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز

Archive of SID

www.SID.ir

تحت استرس قرار داشتند، قطر اپی‌تلیوم در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد (جدول ۱). ضخامت بافت بینابینی در گروه هایی که ۱، ۳، ۷ و ۱۵ روز تحت استرس قرار داشتند، در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد، ولی در گروه هایی که به مدت ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس قرار گرفتند، ضخامت بافت بینابینی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین پارامترهای هیستومورفومتری در ناحیه سر اپی‌دیدیم پس از استرس عدم تحرک در موش سوری (بر حسب میکرومتر)

پارامتر / گروه‌ها	قطر لوله	ضخامت اپی‌تلیوم	ضخامت بافت بینابینی
شاهد	۱۳۶/۱۸ ± ۲/۱۴	۴۰/۱۸ ± ۱/۱۲	۲۷/۱۷ ± ۴/۰۱
۱ روز پس از استرس	۱۳۷/۲۵ ± ۱۱/۱۶	۳۹/۱۹ ± ۷/۶۷	۲۸/۱۹ ± ۱۰/۹۵
۳ روز پس از استرس	۱۳۴/۸۲ ± ۱۰/۰۹	۳۹/۲۴ ± ۱۱/۶۲	۲۸/۳۷ ± ۱۴/۶۸
۷ روز پس از استرس	۱۳۰/۹۲ ± ۱۲/۶۷	۳۹/۰۸ ± ۸/۶۸	۳۰/۵ ± ۹/۶۳
۱۵ روز پس از استرس	۱۲۹/۳۷ ± ۱۶/۴۱	۳۲/۸۷ ± ۷/۱۸*	۲۹/۹۲ ± ۱۰/۰۳
۳۰ روز پس از استرس	۱۱۰/۴۳ ± ۹/۸۹*	۳۲/۲۹ ± ۴/۸۸*	۳۵/۱۰ ± ۸/۴۲*
۴۵ روز پس از استرس	۱۰۶/۱۳ ± ۸/۹۰*	۳۰/۱۹ ± ۸/۰۱*	۳۹/۱۲ ± ۱۰/۱۸*
۶۰ روز پس از استرس	۹۹/۲۸ ± ۱۰/۶۸*	۲۷/۴۴ ± ۱۰/۰۲*	۴۲/۱۵ ± ۷/۳۲*

* تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد در هر ستون ($p<۰/۰۵$).

مقایسه قطر لوله، ضخامت دیوارهٔ لوله و ضخامت بافت همبند بین لوله‌ای در ناحیه بدنه اپی‌دیدیم نشان داد که میانگین قطر لوله در ناحیه بدنه اپی‌دیدیم در گروه‌هایی که به مدت ۱، ۳، ۷ و ۱۵ روز تحت استرس عدم تحرک قرار داشتند در مقایسه با گروه شاهد تغییرات معنی‌دار نشان نداد، ولی در گروه‌هایی که ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس بودند، کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در قطر لوله‌ها در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۲). میانگین ضخامت اپیتلیوم لوله‌ها در ناحیه بدنه اپی‌دیدیم، در گروه‌هایی که به مدت ۱، ۳ و ۷ روز تحت استرس عدم تحرک قرار داشتند در مقایسه با گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان نداد ولی در گروه‌هایی که ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس بودند کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در ضخامت اپیتلیوم لوله‌ها در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۲). میانگین ضخامت بافت بینابینی در ناحیه بدنه اپی‌دیدیم، در گروه‌هایی که به مدت ۱، ۳، ۷ و ۱۵ روز تحت استرس عدم تحرک قرار داشتند در مقایسه با گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان نداد، ولی در گروه‌هایی که ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس بودند افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در ضخامت بافت بینابینی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه میانگین پارامترهای هیستومورفومتری در ناحیه بدنه اپی‌دیدیم پس از استرس عدم تحرک در موش سوری (بر حسب میکرومتر)

پارامتر / گروه‌ها	قطر لوله	ضخامت اپی‌تلیوم	ضخامت بافت بینابینی
شاهد	۲۱۵/۱۸ ± ۳/۱۱	۲۷/۳۸ ± ۴/۳۳	۱۷/۴۷ ± ۲/۰۲
۱ روز پس از استرس	۲۱۵/۲۵ ± ۶/۱۸	۲۶/۸۹ ± ۷/۴۶	۱۸/۰۹ ± ۴/۹۵
۳ روز پس از استرس	۲۱۰/۳۲ ± ۱۱/۰۸	۲۶/۲۴ ± ۱۴/۹۲	۱۸/۳ ± ۲/۵۳
۷ روز پس از استرس	۲۱۱/۹۳ ± ۲۳/۶۷	۲۶/۰۸ ± ۹/۶۸	۱۸/۵ ± ۳/۲۹
۱۵ روز پس از استرس	۲۰۸/۳۶ ± ۱۲/۱۱	۲۰/۸۵ ± ۱/۸۵*	۱۹/۷۲ ± ۱/۰۳
۳۰ روز پس از استرس	۱۷۰/۳۲ ± ۱۸/۲۰*	۲۰/۱۲ ± ۲/۳۹*	۲۴/۱۳ ± ۳/۸۵*
۴۵ روز پس از استرس	۱۵۹/۸۶ ± ۱۳/۵۲*	۱۶/۸۹ ± ۵/۵۰*	۳۰/۳۲ ± ۴/۲۳*
۶۰ روز پس از استرس	۱۵۲/۲۱ ± ۱۱/۹۷*	۱۵/۳۴ ± ۱/۱۴*	۳۱/۱۵ ± ۲/۱۳*

* تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد در هر ستون ($p<۰/۰۵$).

مقایسه قطر لوله، ضخامت دیوارهٔ لوله و ضخامت بافت همبند بین لوله‌ای در ناحیه دم اپی‌دیدیم نشان داد که قطر لوله‌های اپی‌دیدیم در ناحیه دم اپی‌دیدیم در گروه‌هایی که به مدت ۱، ۳، ۷ و ۱۵ روز تحت استرس قرار داشتند، قطر لوله‌ها در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت، ولی در گروه هایی که به مدت ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس قرار داشتند قطر لوله‌ها در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد (جدول ۳). میانگین ضخامت اپیتلیوم لوله‌ها در ناحیه دم اپی‌دیدیم، در گروه‌هایی که به مدت ۱، ۳، ۷ و ۱۵ روز تحت استرس عدم تحرک قرار داشتند در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نشان نداد، ولی در گروه‌هایی که به مدت ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس بودند ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌ها در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد (جدول ۳). میانگین ضخامت بافت بینابینی در ناحیه دم اپی‌دیدیم در گروه‌هایی که به مدت ۱، ۳، ۷ و ۱۵ روز تحت استرس عدم تحرک قرار داشتند در مقایسه با گروه شاهد تغییرات معنی‌دار نشان نداد، ولی در گروه‌هایی که ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس بودند افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در ضخامت بافت بینابینی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

Archive of SID

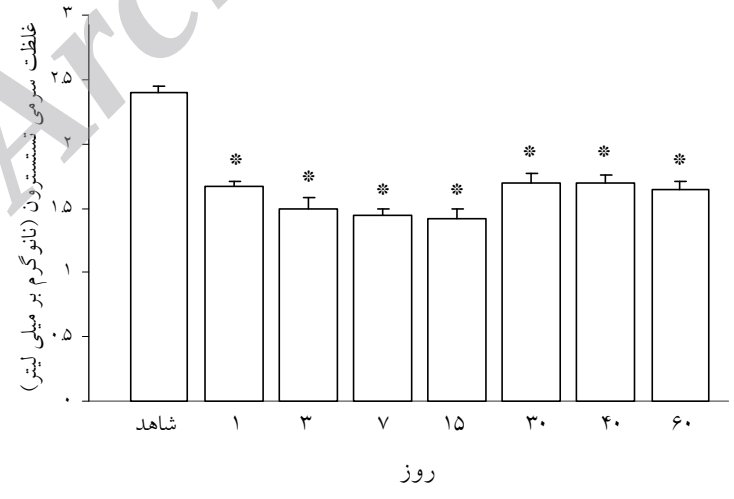
www.SID.ir

جدول ۳- مقایسه میانگین پارامترهای هیستومورفومتری در ناحیه دم اپی‌دیدیم پس از استرس عدم تحرک در موش سوری (بر حسب میکرومتر)

پارامتر / گروه‌ها	قطر لوله	ضخامت اپی‌تلیوم	ضخامت بافت بینابینی
شاهد	۶۱۹/۵۱ ± ۱۳/۵۲	۹/۲۸ ± ۰/۸۵	۱۱/۹۰ ± ۱/۲۱
۱ روز پس از استرس	۶۲۰/۱۵ ± ۱۶/۰۸	۱۰/۸۹ ± ۱/۰۶	۱۱/۴۲ ± ۰/۹۵
۳ روز پس از استرس	۶۱۷/۳۲ ± ۱۲/۲۸	۱۰/۲۴ ± ۰/۹۲	۱۱/۳۰ ± ۰/۵۶
۷ روز پس از استرس	۶۱۸/۹۳ ± ۲۱/۲۷	۹/۱۸ ± ۰/۸۳	۱۳/۲۵ ± ۱/۲۹
۱۵ روز پس از استرس	۵۹۸/۲۲ ± ۱۳/۲۱	۸/۸۷ ± ۰/۳۸	۱۳/۷۳ ± ۳/۰۳
۳۰ روز پس از استرس	*۴۸۶/۲۲ ± ۱۲/۲۰	*۶/۴۰ ± ۰/۳۵	*۱۹/۸۲ ± ۳/۱۱
۴۵ روز پس از استرس	*۴۵۰/۲۳ ± ۲۳/۱۱	*۶/۰۹ ± ۰/۸۲	*۲۱/۴۲ ± ۱/۹۵
۶۰ روز پس از استرس	*۴۱۱/۲۹ ± ۱۳/۹۸	*۵/۸۹ ± ۰/۹۵	*۳۱/۴۵ ± ۳/۴۱

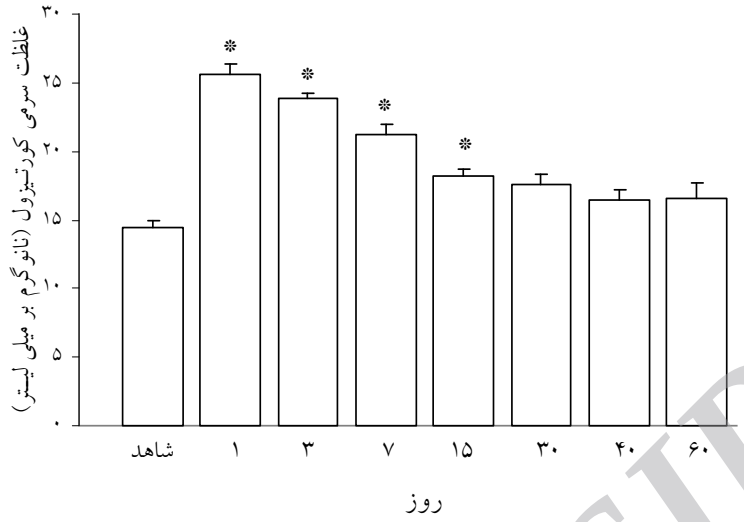
* تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد در هر ستون ($p<۰/۰۵$).

مقایسه میانگین میزان هورمون تستوسترون و کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌لیتر) پس از ایجاد استرس عدم تحرک در موش سوری نشان داد که در تمام گروه‌های تحت استرس، کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در میزان تستوسترون سرم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ۱). میزان هورمون کورتیزول هم در گروه‌هایی که ۱، ۳، ۷ و ۱۵ روز تحت استرس قرار داشتند، افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد، ولی در گروه‌هایی که ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز تحت استرس قرار داشتند، تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل مشاهده نشد (نمودار ۲).



نمودار ۱- میانگین میزان هورمون تستوسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) پس از ایجاد استرس عدم تحرک در روزهای مختلف در موش سوری.
*: $p<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد می باشد.

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۲- میانگین میزان هورمون کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌لیتر) پس از ایجاد استرس عدم تحرک در روزهای مختلف در موش سوری.
*: $p<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد می باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات فراوانی در مورد تاثیر استرس بر بافت‌های مختلف بدن در انسان و حیوانات مختلف صورت گرفته است (Rivier *et al*., 1986). گروهی از این بررسی‌ها اختصاصاً به بررسی اثرات استرس بر مکانیسم باروری در حیوان نر و تغییرات بافتی بیضه متمرکز گردیده است (Jae sung *et al*., 2006). اکثر نتایج بیانگر اثرات سوء استرس‌های مختلف بر روند اسپرماتوژنز و ایجاد اختلال در باروری حیوانات بوده است (Almeida *et al*., 1998). در مطالعه حاضر پس از ایجاد استرس عدم تحرک که هم به‌عنوان استرس فیزیکی و هم به‌عنوان یک استرس روانی مطرح است (Rai *et al*., 2003) تغییرات مورفولوژیکی و مورفومتری بافت اپی‌دیدیم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از تحقیقات مختلف نیز مؤید اثرات مهار استرس بر روند اسپرماتوژنز و تغییرات حاصله بر بافت بیضه می‌باشند. به طوری‌که رای و همکاران پس از ایجاد استرس مزمن عدم تحرک روزانه ۴ ساعت و به مدت ۶۰ روز کاهش اندازه و تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه و تغییر شکل آنها و مشاهده هسته‌های خارج از مرکز، کروماتولیز برخی سلول‌ها، کاهش شدید سلول‌های اسپرماتوسیت ثانویه و اسپرماتید رهاسازی سلولهای زایا به داخل حفره لومن لوله های منی‌ساز را مشاهده کردند (Rai *et al*., 2003). در مطالعه انجام شده توسط المیدا و همکاران، تاثیر استرس عدم تحرک مزمن (به مدت ۶۰ روز و روزانه ۶ ساعت) بر موش‌های صحرایی نابالغ ۴۰ روزه مورد بررسی قرار گرفت. آنها کاهش سلول‌های زایا، به‌خصوص سلول‌های اسپرماتید را گزارش نمودند (Almeida *et al*., 1998). بر اساس گزارش ادوارد و همکاران تغییرات حاصله در بافت بیضه و به‌ویژه اپی‌تلیوم لوله های منی‌ساز عمدتاً به‌واسطه کاهش هورمون تستوسترون پس از ایجاد استرس عدم تحرک می‌باشد و

Archive of SID
www.SID.ir

با توجه به تاثیرات مستقیم هورمون بر اپی‌تلیوم زایگر و سلول‌های رده اسپرماتوژنز پس از ایجاد استرس، روند اسپرماتوژنز دچار اختلال می‌گردد (Edward *et al.*, 1994). محققین پس از ایجاد استرس عدم تحرک روزانه ۵ ساعت به مدت ۴۵ روز کاهش معنی‌دار در وزن اپی‌دیدیم و همچنین تغییرات هیستولوژی در بافت اپی‌دیدیم را گزارش نمودند (Sing and Sharma, 2011). همچنین کاهش محسوس در تعداد اسپرم‌ها در حفره میانی لوله‌های اپی‌دیدیم به همراه تعدادی سلول زایای نابالغ به صورت توده به‌هم چسبیده مشاهده شده است. تعداد زیادی از اسپرم ها نیز شکل و ظاهر مورفولوژی طبیعی خود را از دست داده بودند. در اپی‌تلیوم لوله‌ها کاهش اندازه هسته سلول‌ها و کاهش تعداد استروسیل‌ها و ناهنجاری هسته‌ها نیز مشاهده گردیده‌است (Sing and Sharma, 2011). در یک مطالعه انجام شده پس از ایجاد استرس عدم تحرک، کاهش ارتفاع سلول‌های پوششی و قطر لوله‌های اپی‌دیدیم در گروه‌های تحت استرس گزارش شده‌است (Sing and Sharma, 2011). در یک تحقیق دیگر که توسط فرد و همکاران صورت گرفت، نشان داده شد که پس از ایجاد استرس‌های مختلف به مدت ۱۰ روز، قطر لوله‌های اپی‌دیدیم و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌ها در گروه‌های تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد (Fard *et al.*, 2012). در بررسی انجام شده توسط قاسمی و همکاران، پس از ایجاد استرس اجتماعی(Social stress) در موش سوری نر مشخص گردید که در گروه‌های تحت استرس یک‌ماهه، قطر مجاری اپی‌دیدیم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۰). فیشر و همکاران نیز نشان دادند که استرس اجتماعی موجب کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز و کاهش ضخامت اپی‌تلیوم اپی‌دیدیم همراه با افزایش میزان سلول‌های زایای نابالغ در قسمت دم اپی‌دیدیم می‌شود (Fischer *et al.*, 1985). ولی نتایج متفاوتی نیز در برخی گزارشات موجود است به طوری‌که در یک بررسی، استرس عدم تحرک روزانه ۲ ساعت و به مدت یک ماه، تغییرات معنی‌داری در وزن بیضه، اپی‌دیدیم و وزیکول‌سمینال در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد (Murthy *et al.*, 1988).

در تحقیق حاضر جهت ارزیابی تاثیرات مهم تغییرات هورمونی به‌خصوص هورمون تستوسترون بر بافت‌های تناسلی، میزان هورمون تستوسترون و کورتیزول گروه‌های مختلف تحت استرس عدم تحرک اندازه‌گیری و آنالیز گردید. همانطور که نتایج نشان داد در تمام گروه‌های تحت استرس، میزان تستوسترون کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. هر چند در روزهای اول، این کاهش شدیدتر بود. میزان هورمون کورتیزول هم در روزهای اول افزایش معنی‌دار نشان داد ولی در روزهای ۳۰، ۴۵ و ۶۰ تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل نداشت. نتایج حاصله بیانگر آن است که پس از تکرار استرس در روزهای متوالی به تدریج حیوان به شرایط استرس‌زا خو گرفته و حالت آداپتاسیون ایجاد می‌شود که نتایج حاصل از بررسی‌های دیگر نیز مؤید همین مطلب است (Bruce and Alfred, 2007). تحقیقات گسترده‌ای در مورد مکانیسم تاثیر استرس بر تغییرات هورمون تستوسترون صورت گرفته است. تحقیقات مشخص نموده است که استرس همزمان موجب افزایش فعالیت محور هیپوتالاموس، هیپوفیز–

Archive of SID
www.SID.ir

فوق کلیه (HPA) و مهار سیستم هیپوتالاموس- هیپوفیز- بیضه(HPT) می‌شود (Knol,1991). در بررسی انجام شده توسط ادوارد و همکارانش پس از ایجاد استرس عدم تحرک در موش صحرایی کاهش ۴۷ درصدی غلظت تستوسترون پلاسما مشاهده گردید ولی در میزان LH پلاسما تغییری حاصل نشد (Edward *et al*., 1994). کاهش استروئیدوژنز بیضوی مستقل از گنادوتروپین‌ها و بوسیله کورتیکواستروئیدها می‌تواند هم به علت کاهش تعداد گیرنده‌های LH سلول‌های لیدیک و هم اشغال ظرفیت این گیرنده‌ها باشد (Knol, 1991). میزان تستوسترون گردش خون مناسب با ظرفیت استروئیدوژنز هر سلول لیدیک و نیز تعداد کل سلول‌های لیدیک در هر بیضه می‌باشد. مشخص گردیده که قرار گرفتن در معرض کورتیزول به مقدار زیاد سبب ایجاد آپوپتوز در سلول‌های لیدیک موش صحرایی شده و با کاهش ظرفیت استروئیدوژنز سلول‌ها موجب کاهش تستوسترون خون می‌شود (Jao *et al*., 2002). برخی از محققین پس از ایجاد استرس عدم تحرک در موش‌های صحرایی بالغ، گروهی را بلافاصله پس از اتمام استرس و گروه‌های دیگر را یک هفته و دو هفته پس از آخرین استرس مورد مطالعه قرار دادند. نتایج بررسی آنها نشان داد که بلافاصله پس از اتمام استرس غلظت کورتیکوسترون خون افزایش و میزان هورمون LH و تستوسترون خون کاهش یافته و میزان FSH خون بدون تغییر باقی می‌ماند، ولی پس از یک هفته استراحت هورمون‌های فوق به حالت طبیعی باز می‌گردند (Jae sung *et al*., 2006). در بررسی‌های انجام شده دیگری کاهش سریع میزان تستوسترون در ۳۰ دقیقه پس از ایجاد استرس مشاهده شده است (Qiang *et al*., 2004). برخی از محققین دریافتند که تأثیر استرس عدم تحرک به صورت حاد بر کاهش میزان تستوسترون خون می‌تواند به‌واسطه افزایش سنتز نیتریک اکسید در حجم بالا در بافت‌های مختلف بدن باشد. مشخص شده‌است که وجود نیتریک اکسید به‌عنوان یک رادیکال آزاد فعال به طور مؤثر بیوسنتز تستوسترون را مهار می‌کند (Weissman *et al*., 2007). استرس و سایر شرایطی که موجب افزایش ACTH و کورتیزول در گردش خون می‌شوند منجر به کاهش میزان تستوسترون خون می‌شوند (Knol, 1991). افزایش میزان تستوسترون پلاسما در طی استرس حاد صوتی (noise stress) و در طی مراحل اولیه استرس عدم تحرک مشاهده شده است (Knol, 1991). بر خلاف مطالعات فوق، برخی از مطالعات نیز نشان می‌دهد که استرس، تاثیری در میزان تستوسترون پلاسما در گاوهای نر نداشته است (Minton *et al*., 1981).

با توجه به مباحث فوق به طور خلاصه چنین استنباط می‌شود که استرس با فعال کردن سیستم‌های هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنالین (HPA) و به دنبال آن مهار محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- بیضه (HPT) موجب کاهش میزان LH و تستوسترون می‌گردد. عملکرد اپی‌تلیوم اپی‌دیدیم بستگی به هورمون تستوسترون مترشحه از سلول‌های لیدیک در بیضه دارد (Smitvic and Yong, 2001). فقدان ترشح تستوسترون به هر دلیل مانند عدم ترشح LH و یا GNRH می‌تواند باعث آتروفی اپی‌تلیوم اپی‌دیدیم و عدم تامین تغذیه اسپرم‌ها و به دنبال آن عدم باروری گردد (Fan and Robaire, 1998). محققین نشان داده‌اند که ارتفاع اپی‌تلیوم و قطر اپی‌دیدیم تحت تاثیر هورمون اندروژن

Archive of SID

www.SID.ir

مترشحه از سلول‌های لیدیک بافت بیضه افزایش می‌یابد (Fan and Robaire, 1998). علت احتمالی تغییرات حاصله در قطر اپی‌دیدم و سلول‌های اپی‌تلیوم، کاهش میزان تستوسترون پلاسما می‌باشد که فعالیت‌های متابولیکی سلول‌های اپی‌دیدیم را تغییر می‌دهد (Sing and Sharma, 2011). بنابراین نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج مطالعات قبلی همخوانی داشته و به دور از انتظار نمی‌باشد.

نتایج این مطالعه مؤید اثرات سوء استرس عدم تحرک بر بافت اپی‌دیدیم در موش صحرایی می‌باشد. با افزایش مدت استرس، اثرات جانبی نیز افزایش می‌یابد. مکانیسم احتمالی دخیل در این تغییرات ممکن است به دلیل تغییرات هورمون‌های تستوسترون و کورتیزول خون باشد. البته نقش استرس در روند تولیدمثلی انسان و تغییرات حاصله از آن نیاز به مطالعات تکمیلی و دقیق‌تر دارد.

سپاسگزاری

با تقدیر و تشکر از معاونت پژوهشی و کلیه همکاران حوزه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز که این مقاله از طرح تحقیقاتی که با بودجه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به انجام رسیده است، استخراج شده است.

منابع

- بدل زاده، ر. (۱۳۸۸). کلیات فیزیولوژی پزشکی، (ترجمه). تالیف: کانونگ ویلیام، انتشارات جهان ادیب، تهران، ایران، صفحات: ۳۴۳-۳۳۹.
- خدایاری فرد،م. و پرند، ا. (۱۳۹۰). استرس و روش‌های مقابله با آن. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران، صفحات: ۱۲-۱۰.
- قاسمی، م.، رجایی، ف.، محمد نژاد، د. و جوادی، ا. (۱۳۹۰). اثرات هیستوپاتولوژیک استرس اجتماعی بر مجاری تناسلی موش سوری نر. مجله دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، دوره یازدهم، شماره چهارم، صفحات:۳۶۲- ۳۵۴.
- Almeida, S., Petenusci, J., Anselmo, A. and Rosa, S. (1998). Decreased spermatogenic and androgenic testicular function in adult rats submitted to immobilization – induced stress from prepuberty. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 31(11): 1443-1448.
- Bruce, S. and Alfred, E. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. Physiological Reviews, 87: 873-879.
- Demura, R., Suzuki, T., Nakamura, S., Komatsu, H. and Demuar, H. (1989). Effect of immobilization stress on testosterone and inhibin in male rat. Journal of Andrology, 10(3): 210-213.
- Edward, T., Matthew, F., Taylor, T. and Angank, K. (1994). Acute immobilization stress disrupts testicular streidogenesis in adult male rats by inhibiting the activities of 17a-hydroxylas and 17, 20 lyase without affecting the binding of LH/HCG receptors. Journal of Andrology, 15(4): 302-308.
- Fard, M, Rajaei, F. and Javadi, A. (2012). The effect of chronic multiple sequential stress on rat epididim. Journal of Fertility and Sterility, 6(1): 57-62.

Archive of SID

www.SID.ir

- Fan, X. and Robaire, B. (1998). Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in epididymis. Endocrinology, 139(4): 2128-2136.
- Fischer, H., Heinzeller, T. and Raab, A. (1985). Gonadal response to psychosocial stress in male shrews tree (Tupaia belangeri) morphometry of testis, epididymis and prostate. Andrologia. 17(3): 262-275.
- Gao, H., Tong, M., Hu, Y., Guo, Q., Ge, R. and Hardy, M. (2002). Glucocorticoid induces apoptosis in rat Leydig cells. Endocrinology, 143(1): 130-138.
- Jae sang, J., Kwangsung, P., Kyu, A. and Yang, P. (2006). The effect of long term immobilization stress on spermatogenesis and testostrone production. Korean Journal of Urology, 7(1): 1197-1203.
- Knol, B. (1991). Stress and the endocrine hypothalamus-pituitary-testis system: A review. Veterinary Quarterly, 13(2): 104-114.
- Miller, L. and Smith, A. (2013). The different kind of stress. http:/www.apa.org/helpcenter/stress kind.aspx.
- Minton, J., Wetteman, R., Meyerhoeffer, D. and Turman, E. (1981). Serum testosterone in bulls during exposure to elevated ambient temperature. Journal of Animal Science, 53(6): 1551-1558.
- Murthy, N., Wary, S., Melville, G., Wynter, N., Ram, N. and Haran, N. (1988). Testicular function in rat following immobilization stress. International Journal of Gynaecology and Obstetrics. 26(2): 297-299.
- Qiang, D., Antonio, S., Chantal, M., Enmei, N., Holms, M. and Matthew, P. (2004). Rapid glucocorticoid mediation of suppressed testosterone biosynthesis in male mice subjected to immobilization stress. Journal of Andrology, 25(6): 973-981.
- Rai, J., Pander, S. and Srivastava, R. (2003). Effect of immobilization stress on spermatogenesis of albino rats. Journal of the Anatomical Society of India. 52(1): 55-57.
- Rivier, C., Rivier, J. and Vale, W. (1986). Stress-induced inhibition of reproductive functions: Role of endogenous corticotropin-releasing factor. Science, 231(4738): 607-609.
- Singh, A. and Sharma, R. (2011). Effect of stress on epididymis in albino rat. International Journal of Medical and Clinical Research, 2(1): 20-21.
- Smithwick, E. and Young, L. (2001). Histological effects of androgen deprivation on the adult chimpanzee epididymis. Tissue and Cell, 33(5): 450-461.
- Weissman, B., Chantal, M., Ping, Z. and Iadecola, C. (2007). Testosterone production in mice lacking indicible nitric oxide synthase expression is sensitive to restrain stress. American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism, 292(2): 615-620.

Archive of SID

www.SID.ir

Histologic and histomorphometric study of epididymis after immobilization stress in mice

Safavi, E.[1*], khayatnoori, H.[1]

1-Assistant Professor, Department of Basic Science, College of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
[*]Corresponding author email: safavi@iaut.ac.ir
(Received: 2013/10/8 Accepted: 2014/3/3)

Archive of SID

Abstract

Immobilization stress as a physical and psychological stress, has adverse effects on various body tissues. Numerous studies have been conducted on the effects of stress on reproductive system and fertility. The Main aim of this study is evaluation of effect of immobilization stress on epididymal tissue in mice. In this study 140 adult male mice were randomly divided in to 7 groups as test and 7 groups as control animals. In test groups, the animals were subjected to immobilization stress for 1, 3, 7, 15, 30 and 60 days respectively. In control groups, the animals were only handled. After the experimental periods, blood samples were collected for measurements of serum cortisol and testosterone and epididymal tissue samples were obtained for histologic and histomorphometric study. The results of this study showed that level of testostrone in all test groups significantly decreased in comparison to the control groups ($p<0/05$). Cortisol level in test group at 1, 3, 7, and 15 days significantly increased ($p<0/05$) and in other groups no significant difference was observed. Histological study showed that in groups which were stressed for 30,45 and 60 days ,in head ,body and tail of epididym ,diameter of tubules were decreased and interstitial tissue significantly increased ($p<0/05$). thickness of epithelium in head and body of epididym and in the tail region significantly decreased ($p<0/05$) in groups which were under stress for 15, 30, 45 and 60 days and 30, 45 and 60 days respectively ($p<0/05$). Result of this study confirmed adverse effect of immobilization stress on epididymal tissue with increase in time of stress, side effects also increases.

Key words: Immobilization stress, Epididymis, Histology, Histomorphometry

www.SID.ir