Archive of SID

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان - جلد ٤، شماره ١ و ٢، پاییز و زمستان ١٣٨١

بررسی اثر قطع طناب نخاعی بر ماست‌سل‌های غده پروستات موش سفید بزرگ آزمایشگاهی

حمیدرضا ثامنی*(M.Sc)

دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، بخش بافت شناسی

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات محققین در مردان با ضایعه نخاعی بیانگر کاهش کیفیت مایع منی و افزایش میزان آنتی‌اسپرم-آنتی‌بادی است. ماست‌سل‌ها با ایجاد اختلال در اسپرماتوژنزیس، ساختار بیضه و لوله‌های منی‌ساز و احتمالاً تغییر در ساختار غدد ضمیمه جنسی منجر به پایین آمدن قابلیت باروری می‌گردند.

روش پژوهش: تعداد ۴۲ رت نر بالغ نژاد اسپراگ در دو گروه شاهد و تجربی قرار گرفتند. در گروه تجربی طناب نخاعی بعد از بیهوشی، تحت عمل لامینکتومی دوطرفه در ناحیه مهره T9 به صورت عرضی قطع شد. در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از جراحی، حیوانات با اتر کشته شدند و غده پروستات آنها ثابت گردید. بعد از انجام کارهای معمول بافت‌شناسی، از نمونه‌ها برش‌های سریال به ضخامت ۴ میکرومتر تهیه و بر روی لام‌های میکروسکوپی انکوبه شدند. سپس برش‌ها با روش‌های H&E، تولوئیدن‌بلو ۱٪ و تری‌کروم‌ماسون رنگ‌آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به گراتیکول چشمی صفحه شطرنجی، دستگاه داینوسکوپ و کامرا لوسیدا مورفومتری شدند. داده‌های حاصل از مطالعات مورفومتری با روش‌های Student T-Test و آنالیز واریانس، تجزیه و تحلیل آماری گردیدند.

یافته‌ها: از لحاظ کیفی، ماست‌سل‌های پروستات گروه تجربی حالت هتروژنوس پیدا کرده و جابجایی معنی‌دار آنها از بافت همبند استروما به دیواره غدد لوله‌ای - آسینی (ماست‌سل‌های مخاطی) مشاهده شد. همچنین در پروستات حیوانات تجربی التهاب، فیبروزیس، افزایش حجم استروما و افزایش ضخامت غشاء پایه آسینی‌ها دیده شد. از لحاظ کمی در گروه‌های تجربی ۷ و ۱۴ روزه تعداد کل ماست‌سل‌ها به ویژه ماست‌سل‌های درجه ۲ و ۳ افزایش یافته بود ($P<0.001$). در گروه تجربی ۲۱ روزه تعداد کل ماست‌سل‌ها به ویژه ماست‌سل‌های درجه یک افزایش نشان داد و اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P<0.05$). تعداد ماست‌سل‌های گروه تجربی ۲۱ روزه نسبت به گروه‌های ۷ و ۱۴ روزه کاهش یافته بود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<0.01$). در گروه‌های تجربی ۷ و ۱۴ روزه (به ویژه ۱۴ روزه) تعداد ماست‌سل‌های مخاطی نسبت به ماست‌سل‌های همبندی افزایش بیشتری پیدا کرده بودند ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان گفت که به دنبال قطع نخاع، ماست‌سل‌های غده پروستات به ویژه ماست‌سل‌های مخاطی افزایش می‌یابند. این سلول‌ها احتمالاً از طریق افزایش آنتی‌اسپرم-آنتی‌بادی و ترشح انواع مدیاتورها (از جمله تریپتاز) باعث ایجاد فیبروزیس و اختلال در ساختار غده پروستات می‌شوند. شاید تغییرات ساختاری غده پروستات ناشی از افزایش ماست‌سل‌ها بعد از قطع نخاع، منجر به کاهش کیفیت و میزان ترشحات آن شده و درنهایت به عنوان یک عامل در کاهش قابلیت باروری مردان نقش داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: ماست‌سل، قطع عصب، قطع نخاع، بافت‌شناسی، رت

*تلفن: ۳۳۳۲۰۸۰ - ۰۲۳۱، نمابر: ۳۳۳۱۵۵۱ - ۰۲۳۱

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در مردان، ترشحات غده پروستات از طریق افزایش قدرت حرکت و بقاء اسپرم، تقویت قابلیت باروری اسپرم، افزایش تراکم هسته، بلوغ اسپرم و کاهش اثرات شوک محیطی بر اسپرم؛ شرایط مناسبی را برای باروری فراهم می‌کند [۳، ۱۰].

نتایج برخی مطالعات حاکی از آن است که در مردان نابارور مبتلا به سندرم سلول سرتولی، سندرم توقف سلول ریشه‌ای و آزواسپرمی، تعداد ماست‌سل‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. این یافته‌ها تأکید دارند که ماست‌سل‌ها از طریق ایجاد اختلال در اسپرماتوژنزیس، افزایش ضخامت دیواره لوله‌های منی‌ساز و فیبروزیس بیضه باعث کاهش قابلیت باروری در مردان می‌گردند [۸، ۱۵]. از طرف دیگر متعاقب ضایعه طناب نخاعی بسیاری از شاخص‌های ساختاری و بافت‌شناسی غده پروستات تغییر یافته و در آن التهاب ایجاد می‌شود. همچنین در مردان با التهاب پروستات و نابارور. کیفیت، تعداد و حرکت اسپرم‌ها نسبت به افراد سالم کاهش معنی‌داری می‌یابد [۱۴].

شواهد بسیاری نشان می‌دهند که ماست‌سل‌ها از طریق ترشح مدیاتورهای گوناگون از جمله پروستاگلاندین، لوکوترین، اینترلوکین و پروتئازهای خنثی (کربوکسی‌پپتیداز و تریپتاز) در واکنش‌های مختلف التهابی، فیبروتیک و غیره به عنوان سلول‌های کلیدی و مؤثر، منجر به افزایش تکثیر فیبروبلاست‌ها و تولید کلاژن می‌گردند [۱، ۹، ۱۲، ۱۶].

یافته‌های محققین دیگر دال بر کاهش کیفیت مایع منی و افزایش میزان آنتی‌اسپرم-آنتی‌بادی مایع سمن به دنبال قطع نخاع است؛ بنابراین با توجه به نقش مهم ماست‌سل‌ها در باروری مردان، احتمالاً بعد از قطع نخاع ماست‌سل‌ها از نظر تعداد و مرفولوژی در غده پروستات دستخوش تغییر می‌گردند [۵، ۸، ۱۵].

انگیزه اصلی تحقیق حاضر بررسی تغییرات احتمالی در تعداد و فعالیت ماست‌سل‌های غده پروستات بعد از قطع نخاع می‌باشد.

روش پژوهش

در این پژوهش، تعداد ۴۲ سر موش سفید آزمایشگاهی (Rat) بالغ نژاد اسپراگ انتخاب شدند. مطالعات بر روی دو گروه آزمایش (قطع نخاع) و کنترل در سه مقطع زمانی ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از عمل جراحی انجام گرفت. پس از بیهوشی حیوانات با تیوپنتال سدیم (نسدونال)، در شرایط کاملاً استریل، لامیناهای مهره T9 با عمل لامینکتومی دوطرفه قطع و در این سطح، طناب نخاعی به وسیله تیغ جراحی کاملاً به صورت عرضی بریده شد. پس از حصول اطمینان از قطع کامل نخاع، موضع جراحی ضدعفونی و بخیه گردید [۷].

با توجه به اینکه در موش‌های نخاعی، اندام‌های تحتانی دچار بی‌حسی و فلج می‌شوند، به منظور نگهداری آنها انجام مراقبت‌های ویژه زیر ضروری می‌باشد.

۱ - سعی شود محیط نگهداری حیوانات کاملاً تمیز، استریل و دمای آن مناسب باشد.

۲ - تخلیه مثانه نوروژنیک به دنبال قطع نخاع یکی از مسائل بسیار حیاتی است که در این تحقیق طبق روش Linsenmeyer از روش ماساژ دستی (Handling) به‌عنوان بهترین روش استفاده شد [۷].

۳ - ناحیه تناسلی خارجی حیوانات بعد از هر بار تخلیه مثانه با الکل ۷۰٪ کاملاً تمیز و ضدعفونی گردد [۶].

۴ - به منظور پیشگیری از ایجاد بیماری و عفونت، تزریق پنی‌سیلین به میزان ۱ سی‌سی با دوز ۲۰۰۰۰ واحد به صورت داخل‌عضلانی و تزریق داخل‌صفاقی سرم فیزیولوژیک به میزان ۲ سی‌سی، یک بار در روز ضروری است [۶].

۵ - جهت پیشگیری از عمل خودخواری و

www.SID.ir

Archive of SID

دگرخواری حیوانات نخاعی، حفظ اندام‌های فلج، کاملاً ضروری است که برای این منظور از لوله‌های پلاستیکی استریل استفاده شد.

در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از جراحی، حیوانات با اتر کشته شده و نمونه‌های غده پروستات آنها خارج و در محلول‌های فیکساتیو مناسب ثابت گردید. بعد از طی مراحل پردازش، آماده‌سازی بافت و تهیه بلوک‌های پارافینی از نمونه‌ها، برش‌های سریال به ضخامت ۴ میکرون تهیه گردید که با فاصله ۱ به ۵ بر روی لام‌های میکروسکوپی انکوبه شدند. لام‌ها با استفاده از روش‌های هماتوکسیلین - ائوزین و تولوئیدن‌بلو ۱٪ و تری‌کروم ماسون رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری مجهز به گراتیکول چشمی صفحه شطرنجی مورد مطالعه قرار گرفتند [۲].

جهت بررسی تغییرات کمی ماست‌سل‌های غده پروستات از روش‌های مورفومتری استفاده شد. در این مطالعه تعداد ماست‌سل‌ها در کل بافت غده پروستات با استفاده از دستگاه داینوسکوپ و میکروسکوپ نوری مجهز به گراتیکول صفحه شطرنجی با بزرگ‌نمایی عدسی شیئی ۳/۲× و عدسی چشمی ۱۰× شمارش شدند.

جهت بررسی تعداد ماست‌سل‌ها در واحد سطح غده پروستات، ابتدا مقاطع بافتی نمونه‌های مورد مطالعه بر روی کاغذ شطرنجی با استفاده از میکروسکوپ زایس مجهز به دستگاه کامرا لوسیدا ترسیم شد، سپس مساحت کل سطح بافت محاسبه گردید. با استفاده از لام مدرج یک میلی‌متری در بزرگ‌نمایی فوق، مساحت یکی از خانه‌های کوچک کاغذ شطرنجی محاسبه و با شمارش تعداد کل خانه‌های کاغذ شطرنجی موجود در محدوده شکل ترسیم شده، مساحت کل هر برش بر حسب میلی‌مترمربع و در نهایت تعداد ماست‌سل‌ها در هر میلی‌مترمربع از بافت غده پروستات محاسبه گردید [۲،۱۴].

به منظور بررسی دقیق‌تر ماست‌سل‌ها، این سلول‌ها به سه نوع شامل: ماست‌سل‌های درجه یک (کاملاً سالم و بدون دگرانولاسیون)، درجه دو (ماست‌سل‌ها در شروع فاز دگرانولاسیون) و درجه سه (ماست‌سل‌های کاملاً دگرانوله شده) تقسیم شدند و تعداد هریک از انواع ماست‌سل‌ها در کل بافت غده پروستات و بعد در واحد سطح (میلی‌مترمربع) بافت غده و در نهایت تعداد کل آنها محاسبه شد.

نتایج، با آزمون آماری آنالیز واریانس و t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و اختلاف ۰/۰۵ بین گروه‌های مختلف از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

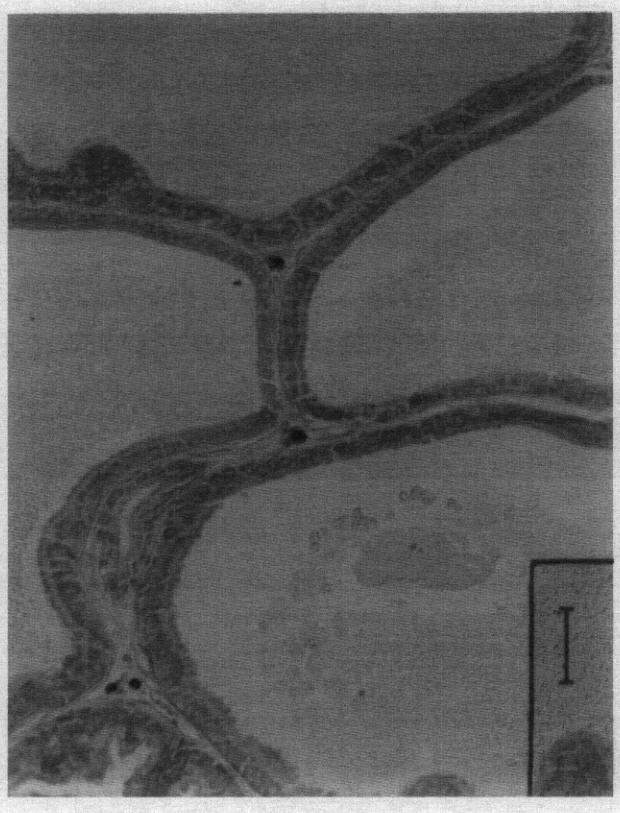
از لحاظ کیفی، ماست‌سل‌های غده پروستات گروه‌های تجربی نسبت به کنترل تغییراتی در مرفولوژی و جایگاه استقرار از خود نشان دادند؛ بدین ترتیب که در گروه‌های تجربی ۷ و ۱۴ روزه جابجایی معنی‌دار ماست‌سل‌ها از بافت همبند استروما به دیواره غدد لوله‌ای - آسینی پروستات دیده شد که این حاکی از افزایش ماست‌سل‌های مخاطی نسبت به ماست‌سل‌های همبندی است (شکل‌های ۳، ۲، ۱). همچنین ماست‌سل‌های گروه‌های تجربی (عمدتاً ۷ و ۱۴ روزه) از لحاظ مرفولوژی حالت هتروژنوس داشته، شکل کروی و یا طویل پیدا کرده بودند و اکثر آنها در حال آزادکردن گرانول‌های ترشحی خود بودند به‌طوری‌که در گروه ۱۴ روزه ماست‌سل‌ها عمدتاً در فاز دگرانولاسیون مشاهده شدند (شکل‌های ۲،۳،۴).

همچنین در غده پروستات گروه‌های تجربی به ویژه گروه ۱۴ روزه تغییراتی شامل: ایجاد التهاب، افزایش حجم استروما، فیبروزیس و افزایش ضخامت غشاء پایه آسینی‌ها و مجاری مشاهده گردید (شکل‌های ۶، ۵).

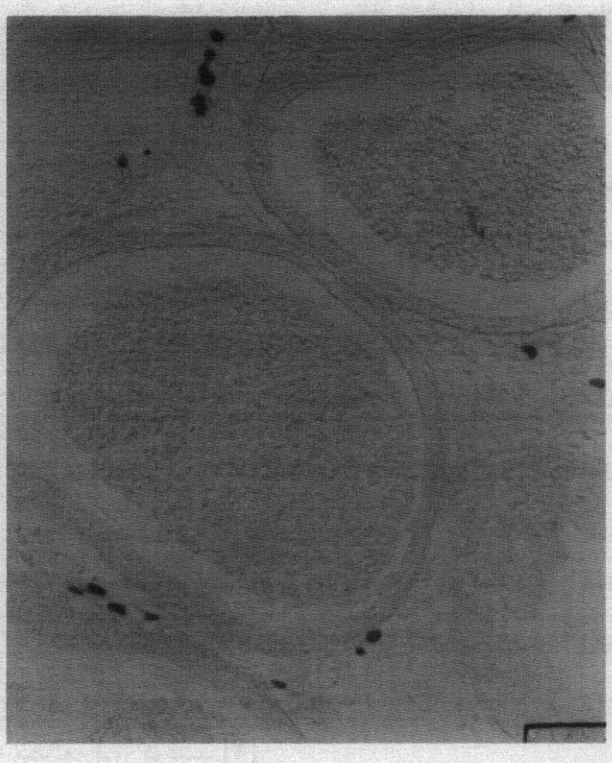
از لحاظ کمی، تعداد کل ماست‌سل‌ها در گروه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

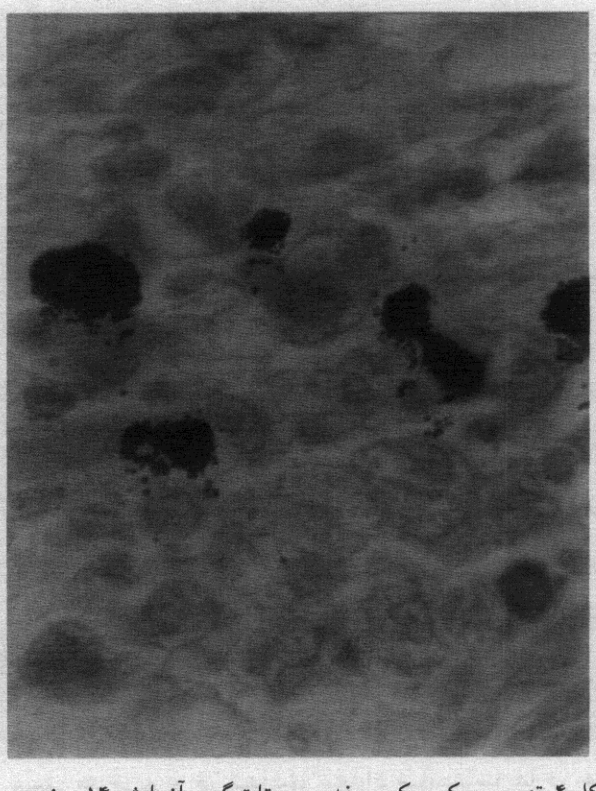


شکل ۱. تصویر میکروسکوپی غده پروستات گروه کنترل. ماست‌سل‌ها (آبی تیره) با فراوانی کم و به صورت پراکنده در استروما مشاهده می‌شوند (تولوئیدن‌بلو، ۲۰۰×).



شکل ۳. تصویر میکروسکوپی غده پروستات گروه آزمایش ۱۴ روزه. به ماست‌سل‌های فراوان موجود در استروما (آبی تیره)، ارتباط نزدیک بعضی از آنها با اپی‌تلیوم آسینی‌ها و افزایش حجم استروما توجه نمائید (تولوئیدن‌بلو، ۲۰۰×).

شکل ۲. تصویر میکروسکوپی غده پروستات گروه آزمایش ۷ روزه. به افزایش تعداد ماست‌سل‌ها (آبی تیره) در استروما و افزایش حجم استروما توجه نمائید (تولوئیدن‌بلو، ۲۰۰×).



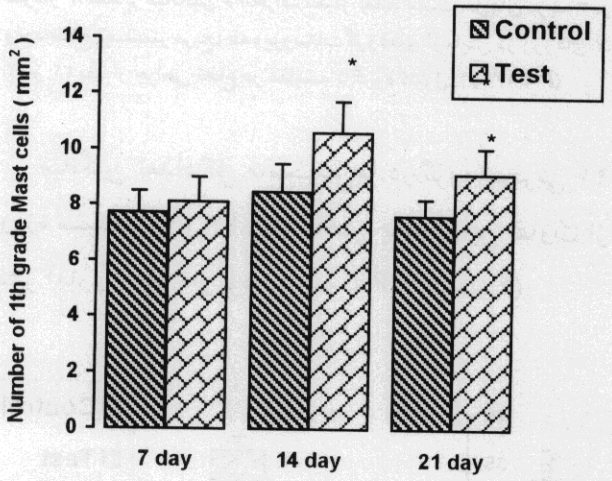
شکل ۴. تصویر میکروسکوپی غده پروستات گروه آزمایش ۱۴ روزه. به ماست‌سل‌های فراوان (آبی تیره) در حال فرایند دگرانولاسیون توجه نمائید (تولوئیدن‌بلو، ۱۰۰۰×).

www.SID.ir

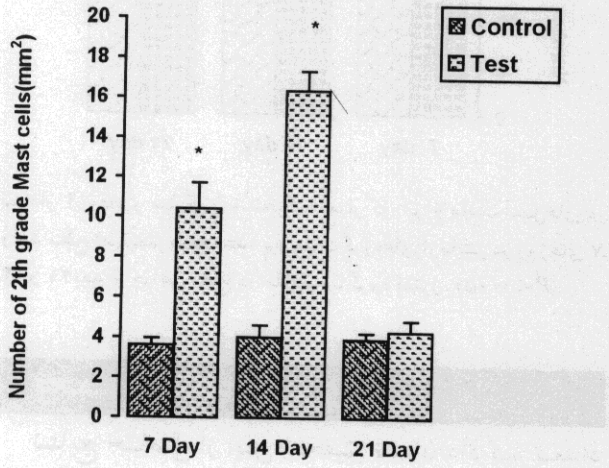
Archive of SID

در گروه تجربی ۲۱ روزه نیز تعداد کل ماست‌سل‌ها افزایش نشان داد ولی عمدتاً ناشی از افزایش ماست‌سل‌های درجه ۱ بود و اختلاف بین دو گروه تجربی و شاهد معنی‌دار نبود ($P<0/05$) (نمودارهای ۱، ۲، ۳).

تجربی ۷ و ۱۴ روزه افزایش یافته بود که عمدتاً ناشی از ازدیاد تعداد ماست‌سل‌های درجه ۲ و ۳ می‌باشد. این اختلاف بین دو گروه تجربی و شاهد معنی‌دار بود ($P<0/001$).

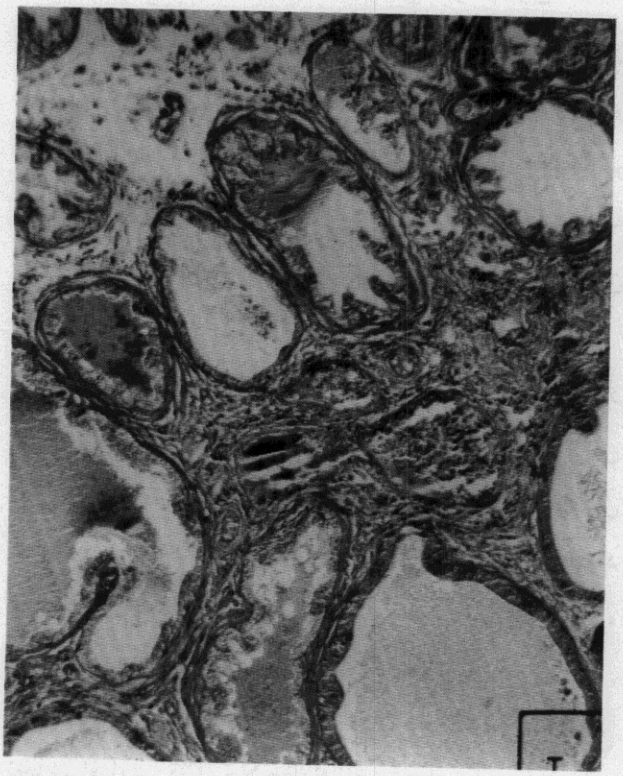


نمودار ۱. مقادیر میانگین + انحراف معیار تعداد ماست سل‌های درجه ۱ در واحد سطح (میلیمتر مربع) غده پروستات گروه‌های آزمایش در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از جراحی نخاع در مقایسه با گروه کنترل. ($P<0/05$)



نمودار ۲. مقادیر میانگین + انحراف معیار تعداد ماست سل‌های درجه ۲ در واحد سطح (میلیمتر مربع) غده پروستات گروه‌های آزمایش در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از جراحی نخاع در مقایسه با گروه کنترل. ($P<0/05$)

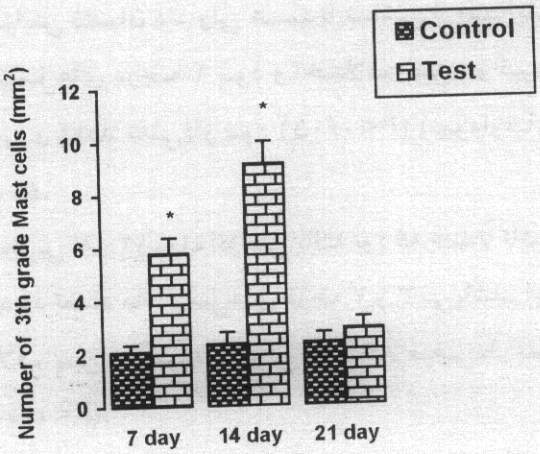
شکل ۵. تصویر میکروسکوپی غده پروستات گروه کنترل. رشته‌های کلاژن (سبز رنگ) در استروما و غشاء پایه آسینی‌ها قابل مشاهده هستند (تری‌کروم‌ماسون، ۲۰۰×).



شکل ۶. تصویر میکروسکوپی غده پروستات گروه آزمایش ۲۱ روزه. به افزایش و تجمع رشته‌های کلاژن (سبز رنگ) و ایجاد فیبروز در استروما به‌ویژه اطراف آسینی‌ها و مجاری توجه نمائید (تری‌کروم‌ماسون، ۱۰۰×).

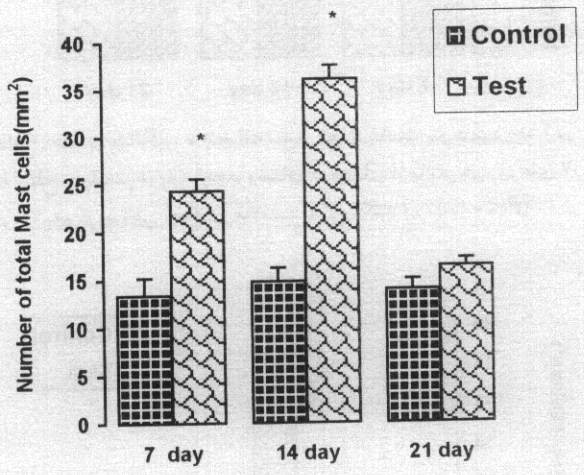
www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳. مقادیر میانگین + انحراف معیار تعداد ماست سل‌های درجه ۳ در واحد سطح (میلیمتر مربع) غده پروستات گروه‌های آزمایش در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از جراحی نخاع در مقایسه با گروه کنترل. ($P<0/05$)

میانگین تعداد کل ماست‌سل‌ها در گروه تجربی ۲۱ روزه نسبت به ۷ و ۱۴ روزه کاهش یافته و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<0/01$) (نمودار ۴).



نمودار ۴. مقادیر میانگین + انحراف معیار کل انواع ماست سل‌های در واحد سطح (میلیمتر مربع) غده پروستات گروه‌های آزمایش در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از جراحی نخاع در مقایسه با گروه کنترل. ($P<0/05$)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تعداد ماست‌سل‌های غده پروستات در گروه‌های تجربی ۷ و ۱۴ روزه افزایش معنی‌داری پیدا کرده بود ولی این افزایش در گروه تجربی ۲۱ روزه از نظر آماری معنی‌دار نبود که احتمالاً به دلیل آن است که در این زمان روند التهاب در حال کاهش است. همچنین مقایسه تعداد ماست‌سل‌های گروه‌های تجربی حاکی از افزایش قابل ملاحظه تعداد این سلول‌ها در هفته دوم بعد از قطع نخاع است که آن را می‌توان به اوج شدت فرایند التهاب در این زمان نسبت داد.

در تحقیق حاضر مشخص شد که تعدادی از ماست‌سل‌ها به ویژه در گروه تجربی ۱۴ روزه، در ارتباط بسیار نزدیک با اپی‌تلیوم آسینی‌ها و مجاری قرار دارند که یافته‌های قبلی این سلول‌ها را تحت عنوان ماست‌سل‌های مخاطی نامیده‌اند. به طور کلی اگر در روند تولید ماست‌سل‌ها (ماستوپوئیزیز) سلول‌های پیش‌ساز، تحت تأثیر لنفوکین‌های مترشحه از لنفوسیت‌های T قرار گیرند (مثل IL3) به ماست‌سل‌های مخاطی تبدیل می‌شوند که این سلول‌ها با مهاجرت به داخل اپی‌تلیوم، ویژگی گلبول سفید خون را کسب کرده و حاوی تعداد کمی گرانول‌های متاکروماتیک می‌شوند و دارای آنزیم‌های پروتئاز و IgE داخل سلولی بوده و عمر کوتاه‌تری دارند؛ ولی اگر سلول‌های پیش‌ساز، تحت تأثیر فاکتورهای رشد مترشحه از فیبروبلاست قرار گیرند به ماست‌سل‌های همبندی تبدیل می‌شوند که حاوی هپارین و گیرنده خارج سلولی برای IgE هستند [۱۱،۴].

یافته‌های قبلی نشان دادند که در افراد نخاعی و نابارور تیتر آنتی‌اسپرم-آنتی‌بادی در مایع منی افزایش می‌یابد [۱۳]. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق شاید یکی از دلایل افزایش آنتی‌بادی در مایع منی افراد نخاعی، وجود و افزایش تعداد ماست‌سل‌ها به‌ویژه ماست‌سل‌های مخاطی، پس از قطع نخاع باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که به دنبال قطع نخاع، افزایش قابل ملاحظه‌ای در تعداد ماست‌سل‌های غده پروستات (به‌ویژه ماست‌سل‌های مخاطی) ایجاد می‌شود. از آن‌جایی که ماست‌سل‌ها با تولید و ترشح

www.SID.ir

Archive of SID

مدیاتورهای مختلف (از جمله تریپتاز) احتمالاً در ایجاد فیبروزیس، افزایش ضخامت دیواره آسینی‌ها و مجاری و اختلال در ساختار غده پروستات نقش دارند؛ بنابراین می‌توان گفت احتمالاً این سلول‌ها با کاهش کیفیت و میزان ترشحات غده پروستات منجر به کاهش قابلیت باروری در مردان می‌گردند.

منابع

[1] Abe, M., Kurosawa, M., Ishikawa, O. and Miyachi, Y., Effect of mast cell derived mediators and mast cell related proteases on human dermal fibroblast proliferation and type I collagen production, J. Allergy clin. Immunol., 160 (2000) 78-84.

[2] Bancroft, J. and Stevens, A.,Theory and practice of histological techniques. Third edition, Churchil Livingstone, (1990) 21-81.

[3] Bandhauer, K., Barthch, G. and Frick, J., Disturbance in male fertility, Springer, Berlin, Heidelberg, New york, (1982) 164-189.

[4] Flint, K.C., Bronchoalveolar mast cells and asthma, Springer Verlag, Dorset press, (1987) 164-192.

[5] Hiersh, I., Jeyendran, R. and Rosercans, R., Biochemical analysis of electroejaculates in spinal cord injured men: Comparison to normal ejaculate, J. Urol., 145 (1991) 73-76.

[6] Linsenmeyer, T.A. and Perkash, I., Infertility in men with spinal cord injury, Arch. Phys. Med. Rehabil., 72 (1991) 747-754.

[7] Linsenmeyer, T.A., Pogach, L.M., Otten-weller, J.E. and Hauang, H.F.S., Spermatogenesis and the pituitary-testicular hormone axis in Rats during the acute phase of spinal cord injury, J. Urol., 152 (1994) 1302-1307.

[8] Meinek, V., Frungieri, M.B., Jessberger, B., Vog, T.H. and Mayerhofer, A., Human testicular mast cells contain tryptase: Increased mast cell number and atterad distribution in the testes of infertil men, Ferti. Steril., 74(2) (2000) 239-244.

[9] Mekori, T.A. and Metcalfe, D.D., Mast cells is innate immunity, Immunology. 173 (2000) 131-140.

[10] Parsons, S. and Lipshullz, ., The effects of prostatic secretions on male fertility. The prostate, New York, Churchil Livingstone, (1989) 53-59.

[11] Pelaz, A.R., Mayo, J.C., Sainz, R.M. and Peres, M., Development and hormonal regulation of mast cell in the harderian gland of syrian hamsters, Anat. Emberyol., 186 (1992) 91-97.

[12] Lo-Trautmann, A., Toksoy, A., Engelhardt, E., Borcker, E.B. and Gillitzer, R., Mast cell involvement in normal human skin wound healing, J. Pathol., 190(1) (2000) 100-106.

[13] Upadhyaya, M., Hibbard, B.M. and Walker, S.A., Antisperm antibodies and male infertility, Br. J. Urol., 56 (1984) 531-536.

[14] Wing, T.Y. and Christensen, A.K., Morphometric studies on rat seminiferous tubules, Am. J. Anat. 165 (1982) 13-25.

[15] Woosly, R.M. and Young, R.R., Clinical

www.SID.ir

Archive of SID

disorders of the spinal cord, Sanuders press, (1991) 275-323.

[16] YamanaKa, K., Fujisawa, M., Tanaka, H., Akada, H. and Arakawa, S., Significance of human testicular mast cells and their subtype in male infertility, Human Reproduction, 15(7) (2000) 1543-47.

[17] Yamanoto, T., Hartman, K., Eckes, B. and Krieg, T., Mast cells enhance contraction of three-dimensional collagen lattices by fibroblasts by cell-cell interaction, Immunology, 99(3) (2000) 435-39.

www.SID.ir