مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره پانزدهم، شمارهٔ ۳، اردیبهشت ۱۳۹۲، صفحه ۵۸-۵۱

مقاله تحقیقی

هیستومورفومتری سلولهای بافت بیضه در نسل دوم حاصل از باروری رت های ماده بعد از دریافت داخل صفاقی اسپرم

سیدغلامعلی جورسرایی(PhD)[۱]، اباذر اکبرزاده پاشا(MD)[۲]، یوسف رضا یوسف نیاپاشا(MD)[۱*]، ابراهیم سرابی(MD)[۳]، محمد فرجی(MD)[۳]، رضا علیزاده نوایی (MD)[۴]

۱- مرکز تحقیقات بهداشت باروری و ناباروری فاطمه زهرا (س)، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۲- گروه ارولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۳- دانشگاه علوم پزشکی بابل
۴- دانشگاه علوم پزشکی مازندران

دریافت: ۹۰/۸/۷، اصلاح: ۹۰/۱۱/۱۹، پذیرش: ۹۱/۸/۱۷

خلاصه

سابقه و هدف: با شکل پذیری اسپرم در زمان بلوغ، آنتی ژن روی آنها، همانند یک سلول بیگانه در برابر سیستم ایمنی، عمل می کند. با وارد شدن اسپرم به داخل سیستم عروق خونی، آنتی ژنها در معرض سیستم ایمنی بدن قرار گرفته و باعث تولید آنتی اسپرم آنتی بادی می شوند. این مطالعه به منظور بررسی تاثیر دریافت داخل صفاقی اسپرم، بر روی بافت بیضه رت در نسل دوم انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه به صورت تجربی، آزمایشگاهی بر روی رتهای بالغ از نژاد آلبینوس که حدود ۳ ماه سن و وزنی برابر۳۰۰ -۲۵۰ گرم داشتند، انجام شد. اسپرم های بدست آمده از ۸ سر رت های نر، به صورت داخل صفاقی به ۱۲ سر رتهای ماده، طی چهار مرحله و با رعایت فاصله یک هفته، تزریق شد. سپس تحت شرایط Coupling، از بافت بیضه فرزندان تولد یافته نر (۲۴ سر از نسل دوم) بعد از رسیدن به سن بلوغ، نمونه برداری صورت گرفت. با تهیه برش های بافتی و رنگ آمیزی H&E، قطر مجاری اسپرم ساز، تعداد سلولهای ژرمینال و سلولهای لایدیگ با استفاده از صفحه مدرج اندازه گیری شده و با گروه کنترل مقایسه گردید.

یافته ها: میانگین تعداد سلولهای ژرمینال، در نمونه های کنترل و نسل دوم به ترتیب ۹/۵±۰/۹ و ۸/۲±۱/۱ بود (p<۰/۰۰۱). میانگین سلولهای لایدیگ نیز، ۷/۶۳±۲/۷۴ در گروه کنترل و ۶/۵۵±۲/۲۱ در رت های نسل دوم شمارش گردیدند (p<۰/۰۰۱). قطر مجاری اسپرم ساز در نسل دوم بطور معنی داری (۳/۷±۰/۴۷)، بیشتر از گروه کنترل (۱/۶۲±۰/۰۲۵) بدست آمد (p<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که تزریق داخل صفاقی اسپرم (آنتی ژن) در بدن رت مادر، می تواند باعث افزایش قطر مجاری اسپرم ساز، کاهش سلولهای ژرمینال و کاهش سلولهای لایدیگ در فرزندان آنها شود.

واژه های کلیدی: آنتی اسپرم آنتی بادی ، بافت بیضه، جنین، رت.

مقدمه

سیستم ایمنی بدن در دوران جنینی تکامل می یابد و بعضی از سلول ها برای آن قابل شناسایی نیستند. در زمان بلوغ، آنتی ژنی که بر روی اسپرم ها قرار دارد، بصورت یک سلول بیگانه در برابر دستگاه ایمنی بدن عمل می کند. لذا در اقداماتی مانند وازکتومی (۲و۱) و یا هر روش دیگری که اسپرم وارد سیستم خونی بدن گردد، آنتی ژنها در معرض سیستم ایمنی بدن قرار گرفته و باعث تولید آنتی اسپرم آنتی بادی می شود (۴و۳). ورود اسپرم به داخل خون و تولید آنتی اسپرم آنتی بادی، می تواند بر روی ساختار سلول های بافت بیضه تاثیر گذاشته و باعث تغییراتی در لایه ژرمینال و یا رده های مختلف سلولی شود (۶و۵). این امکان نیز وجود دارد که ویسکوزیته مایع سیمن تغییر یافته و با کاهشی که در پارامترهای اسپرم مانند کاهش در تعداد، حرکت و مورفولوژی طبیعی آن بوجود می آید، فرد را به طرف ناباروری سوق دهد (۷). عده ای بر این باورند که بعد از ورود اسپرم به داخل خون، مخصوصا در افراد چاق (۸) و تولید آنتی بادی، مرگ سلولی در بافت

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۱۳۸۰۱ دانشگاه علوم پزشکی بابل می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: بابل، بیمارستان آیت اله روحانی، گروه ارولوژی، تلفن: ۳-۲۲۳۸۳۰۱-۰۱۱۱
e-mail:rezapasha692@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

بیضه افزایش یافته و همراه با کاهش تعداد اسپرم، زنجیره DNA نیز دچار شکستگی می شود (۹). البته عکس العمل سیستم های ایمنی در برابر این آنتی ژنها، متفاوت است. حتی در گونه های یک گروه از حیوانات نیز فرق داشته و تفاوت های زیادی در تیتر آنتی اسپرم آنتی بادی آنها دیده می شود. به عنوان مثال، میزان آن در رت های نژاد اسپرانگ بسیار کم می باشد ولی در رت های نژاد لویس تا میزان ۸۰٪ بعد از ورود اسپرم به داخل سیستم خونی، قابل مشاهده است (۱۰). آنتی اسپرم آنتی بادی در واقع ایمونوگلوبولین های IgG و IgA و ایزوتوپ های IgM هستند که مستقیما با آنتی ژنهای قسمت های مختلف سر، قسمت میانی و دم اسپرم واکنش نشان می دهند. این ایمونوگلوبولین ها در سرم مایع سیمن و موکوس گردن رحم فرد مونث نیز دیده می شود. پیوند این ایمونوگلوبولین ها با آنتی ژنهای اسپرم از طریق گیرنده های خاصی صورت می گیرد (۱۱). لذا با ورود اسپرم به داخل سیستم عروقی، یک پاسخ ایمنی IgG و یا IgM به اتو آنتی ژنهای اسپرم بعد از یک هفته ایجاد می گردد (۱۳و۱۲). در وازکتومی حتی اگر یک طرفه هم باشد، به دلیل اینکه اسپرم ها به داخل خون ورود پیدا می کنند، این امکان وجود دارد تا بافت هر دو بیضه دچار تغییرات ساختاری در رده های سلولی خود شوند (۱۴). این فرآیند ناشی از حضور آنتی اسپرم آنتی بادی در سرم خون این افراد است که حتی با انجام عمل وازووازستومی نیز، تغییرات بوجود آمده برگشت پذیر نیست و پارامترهای اسپرم ترمیم نمی شوند (۱۷-۵).

گاهی اوقات تغییرات بافت بیضه پس از ورود اسپرم به داخل سیستم خونی، می تواند به علت حضور لنفوسیت ها باشد (۱۹و۱۸). فراوانی آنتی اسپرم آنتی بادی در جمعیت عمومی مردم، حداکثر تا ۲٪ است، ولی در افرادی که وازکتومی شده باشند به ۲۵٪ افزایش پیدا می کند (۲۰). به همین دلیل عوارضی که در سلول های بافت بیضه و پارامترهای اسپرم بوجود می آید می تواند ارتباط مستقیمی با ورود اسپرم به داخل سیستم خونی داشته باشد (۱۴). ورود اسپرم به داخل سیستم خونی، ممکن است باعث تحریک و تولید اتو آنتی بادی های غیر وابسته به اسپرم شده و با بافت های دیگر بدن نیز واکنش نشان دهد (۲۲و۲۱)، تا جایی که تزریق ذرات سلولی گرفته شده از حیوانات وازکتومی شده به حیوانات سالم نیز باعث ایجاد اتو ایمیون در آنها می شود (۲۴و۲۳). عده ای هم بر این نظرند که در وازکتومی یک طرفه، IgM و IgG افزایش پیدا کرده (۲۵) و حتی اگر به روش بستن مجرای دفران باشد، باز نوعی اتو آنتی ژن بوجود می آیند (۲۷و۲۶). آنتی اسپرم آنتی بادی های ناشی از ورود اسپرم به داخل سیستم خونی، احتمالا باعث ناباروری ایمنولوژیک شده و ممکن است از عملکرد طبیعی اسپرم جلوگیری کند (۲۹و۲۸). البته آنتی اسپرم آنتی بادی برای هر اسپرم، اختصاصی است و به عنوان یک نشانگر اتو ایمیون، محدود به اسپرماتوزوآ می باشد. گرچه وجود آن در اسپرم یا مایع فولیکولی تاثیر چندانی بر روی نتایج روش های کمک باروری ندارد (۳۰) ولی شناخت آنتی ژنها، ضرورت داشته و در ناباروری مد نظر قرار می گیرند (۳۱). عده ای هم آن را به دلیل مختل شدن عملکرد غشاء اسپرم، علت اصلی ناباروری ایمنولوژیک می دانند (۳۳و۳۲).

در همه مردم، حتی در افراد طبیعی نیز، آنتی اسپرم آنتی بادی ممکن است وجود داشته باشد، ولی باید در نظر داشت که پروتئینهای خاصی برروی اسپرم افراد نابارور شناسایی شده اند که با آن واکنش نشان می دهند. لذا با اینکه سرم تمام مردان حاوی این آنتی بادی است، ولی به هیچوجه باعث ناباروری در همه نمی شود (۳۴). در اثر ورود اسپرم به داخل سیستم گردش خون، ممکن است، الیاف زیادی از کلاژن، در اطراف لوله های اسپرم ساز تجمع پیدا کرده و روند اسپرماتوژنزیس را به دلیل رسوب IgG، بشدت مختل نموده و به دنبال آن بافت بیضه نیز نکروزه شود (۳۶و۳۵). حتی اگر حداقل یک ماه هم از ورود اسپرم گذشته باشد، باز احتمال دارد، قطر مجاری اسپرم ساز و ضخامت غشاء پایه افزایش یابد. البته ممکن است عامل اصلی افزایش قطر مجاری اسپرم ساز در مراحل اولیه بعد از وازکتومی، فشار هیدروستاتیک ناشی از بافت داخل بیضه باشد، ولی همین حالت باعث می شود تا لایه ژرمینال، آتروفی گردد (۳۷). کاهش قطر مجاری اسپرم ساز، اسپرماتیدهای به هم چسبیده، حذف سلولهای ژرمینال بالغ و آسیب در سد خونی- بیضه ای، از جمله مواردی است که احتمالا بعد از ورود اسپرم به داخل سیستم خونی دیده می شود (۳۸).

تغییراتی که به دنبال ورود اسپرم به داخل سیستم عروقی در بافت بیضه مشاهده می شود، وابسته به زمان بوده و معمولا در طی شش ماه اول پس از آن ممکن است بیشترین تغییرات بافتی را به دنبال داشته باشد. مجاری اسپرم ساز آتروفی و چروکیده شوند و حتی بعضا هیچ اپیتلیومی در لوله های اسپرم ساز دیده نشود (۳۹). حال با این فرض که در اثر تزریق داخل صفاقی اسپرم، آنتی بادی در داخل سیستم گردش خون بوجود آمده باشد، آیا می تواند با عبور از سد خونی – بیضه ای جنین در دوران بارداری، بر روی بافت بیضه جنین های مذکر تاثیر منفی گذاشته و نسل بعدی را به طرف ناباروری سوق دهد. این مطالعه به منظور بررسی تزریق داخل صفاقی اسپرم بر روی بافت بیضه رت در نسل دوم انجام شد.

مواد و روشها

این مطالعه تجربی، آزمایشگاهی بر روی ۸ سر رت نر بالغ (گروه دهنده اسپرم)، ۱۲ سر رت ماده بالغ از نوع نژاد آلبینوس (گروه آزمایشی) و ۲۴ سر نر بالغ (نسل دوم) در بخش علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی بابل انجام پذیرفت.

انتخاب حیوان: رت های نژاد آلبینوس از انستیتو پاستور کرج تهیه شدند. در زمان انجام آزمایش، حدود ۳ ماه سن و ۳۰۰ –۲۵۰ گرم وزن داشتند. رت ها در قفس های استاندارد تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفته و در محیط ۲±۲۳ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

انتخاب گروه ها: در این مطالعه، چهار گروه رت در نظر گرفته شدند. گروه اول، ۸ سر رت نر بالغی بودند که از بیضه و اپیدیدیم آنها اسپرم جهت تزریق به رتهای ماده تهیه گردید. گروه دوم، ۱۲سر رتهای ماده ای بودند که با روش داخل صفاقی تحت تزریق اسپرم قرار گرفتند. گروه سوم، ۲۴ سر رتهای نر حاصل از زایش گروه دوم (فرزندان رتهای ماده – نسل دوم) بودند که بیضه آنها مورد بررسی قرار گرفت. گروه چهارم نیز شامل ۶ سر رت نر بالغ به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند.

تهیه اسپرم: تعداد ۸ سر رت نر بالغ انتخاب گردید. سپس تحت بیهوشی کامل، برای هر بار تهیه اسپرم، مجاری دفران و اپیدیدیم دو طرف بطور کامل خارج شدند. با قرار دادن آنها در داخل محیط کشت Ham's F_{10}، سعی شد تا با سرنگ انسولین، بافت ها کاملا از هم جدا شوند. ابتدا در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۵۰۰ و به مدت یک دقیقه، تکه های بزرگ بافت از بقیه مایع جدا گردید. سپس با افزودن مقداری از محیط کشت به مایع بدست آمده، حجم آن حدودا به ۱۰

Archive
www.SID.ir

سانتی متر مکعب افزایش یافت. با دور ۱۵۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه، مایع سانتریفیوژ شد تا اسپرم ها در ته لوله رسوب کنند. این کار، دو بار تکرار گردید تا اسپرم ها خوب شسته شوند. نهایتا اسپرم ها را در داخل یک سی سی محیط کشت نگهداشته و با تهیه اسمیر، پارامترهای آن مثل تعداد، حرکت و مورفولوژی آن مورد بررسی قرار گرفت تا نرم طبیعی داشته و برای تزریق داخل صفاقی مناسب باشند. نمونه بدست آمده ای که حاوی اسپرم (آنتی ژن) بود، در یک اندازه ده برابر و با افزودن محیط کشت رقیق شدند (یک میلی لیتر برای هر حیوان). سپس اسپرم آماده شده به صورت داخل صفاتی به ۱۲ رت ماده بالغ، طی چهار مرحله و با فاصله یک هفته (به مدت یک ماه) تزریق گردیدند (۴۰).

نسل دوم: رتهای ماده با نرهای سالم آمیزش داده شدند و پس از طی شدن دوران بارداری، از بافت بیضه فرزندان نر تولد یافته (نسل دوم) بعد از رسیدن به سن بلوغ، نمونه برداری بافتی انجام پذیرفت.

تهیه بافت بیضه: برای فیکس نمودن بافت، بیضه طرف راست به مدت ۲۴ ساعت در داخل فرمالین ۱۰٪ نگهداری شدند. سپس بیضه ها در مقطع عرضی به سه قسمت مساوی برش داده شده و قسمت میانی آن نیز به مدت ۲۴ ساعت دیگر در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. مراحل آماده سازی بافت شامل آب گیری، شفاف کردن و آغشتگی در پارافین انجام گرفت. سپس با رعایت سطوح فوقانی و تحتانی، در داخل قالب پارافین قرار داده شدند. در مرحله بعد برشهای سریالی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و از هر بیضه ۱۰ نمونه بر روی لام کشیده شد. سپس بعد از رنگ آمیزی با H&E و با در نظر گرفتن Interval مناسب، ۲۴ برش انتخاب گردید. در هر برش سه ناحیه مورد ارزیابی قرار گرفته و گروه نسل دوم با گروه کنترل مقایسه شدند.

بررسی مورفومتری: قطر مجاری اسپرم ساز، تعداد سلولهای ژرمینال و سلولهای لایدیگ با استفاده از گراتیکول (eye piece) که بر روی میکروسکوپ نوری Zeiss سوار شده است، اندازه گیری و شمارش شدند.

روش آماری: داده ها توسط نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون آماری Mann- Whitney آنالیز گردیدند و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

سلولهای ژرمینال: با شمارش سلولهای ژرمینال به صورت سریالی و با استفاده از صفحه مدرج گراتیکول، مشخص گردید که میانگین تعداد آنها در نمونه های مربوط به گروه کنترل، برابر ۹/۵±۰/۹ می باشد. این تعداد در برش بافت بیضه رت های حاصل از باروری در نسل دوم برابر ۸/۲±۱/۱ بدست آمد ($p<0/001$).

سلول های لایدیگ: با شمارش سلولهای لایدیگ به صورت سریالی در برشهای بافتی تهیه شده، مشخص گردید که میانگین تعداد آنها در مقاطع میکروسکوپی از بیضه رتهای گروه کنترل، برابر ۷/۶۳±۲/۷۴ می باشد. این عدد در نسل دوم پس از دریافت اسپرم داخل صفاقی توسط مادران آنها، حدود ۶/۵۵±۲/۲۱ بدست آمد. میانگین تعداد سلولهای لایدیگ در مقاطع بافتی مربوط به دو گروه نیز از نظر آماری معنی دار بود ($p<0/001$).

مجاری اسپرم ساز: در اندازه گیری مجاری اسپرم ساز، که توسط عدسی چشمی خط کش دار صورت گرفت، مشخص گردید که میانگین قطر مجاری اسپرم ساز در گروه نسل دوم (۳/۷±۰/۴۷) که مادران آنها اسپرم را به صورت داخل صفاقی دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل، (۱/۶۲±۰/۰۲۵) افزایش معنی داری نشان داده است ($p<0/001$).

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، تعداد سلولهای ژرمینال و لایدیگ در رت های نسل دوم به صورت معنی داری کاهش یافت. قطر لوله های اسپرم ساز نیز افزایش پیدا کرد. نسل دوم، رتهای نری بودند که مادران آنها طی چند مرحله اسپرم را به صورت داخل صفاقی دریافت کرده بودند. در بسیاری از مطالعات به این موضوع اشاره شده است که به هر دلیلی، اگر اسپرم به داخل عروق خونی راه پیدا کند، سیستم ایمنی بدن فعال شده و آنتی اسپرم آنتی بادی ساخته خواهد شد (۴۴-۴۱). آنتی اسپرم آنتی بادی توانایی آن را دارد تا سلول های جنسی را تخریب نماید (۴۵). لذا عده ای بر این باورند که شاید بتوان در آینده ای نه چندان دور، با الگو پذیری از ژن کنترل کننده آنتی اسپرم، از آن به عنوان یک واکسن برای جلوگیری از باروری مردان استفاده نمود (۴۶).

آنتی اسپرم آنتی بادی در اثر مکانیسم های مختلفی مانند وازکتومی، تروما، فرآورده های خونی و یا از طریق زخم های ناحیه ژنیتال، در بدن انسان تولید می گردد. لذا عبور آن از سد خونی- بیضه ای در دوران جنینی که هنوز خوب تکامل نیافته، چندان بعید نیست (۴۷و۳). بیشتر محققین به جز عده ای که به مسئله تهیه اسپرم از طریق بیوپسی اشاره دارند (۴۸)، معتقدند که بعد از ورود اسپرم به داخل سیستم خونی، میزان آنتی اسپرم آنتی بادی افزایش پیدا می کند (۴۱و۱۴) و ممکن است باعث ناباروری ناشی از اختلالات ایمنولوژیکی گردد (۴۹و۲). گرچه آنتی اسپرم آنتی بادی در اکثر افراد نابارور وجود دارد، اما اینکه آیا بر روی نتایج روشهای کمک باروری، اثر منفی خواهد داشت یا نه، موضوعی است که بعضی از محققین آنرا رد می کنند و معتقدند که در انجام روشهای کمک باروری به خصوص در سنین پایین تاثیر خاصی ندارد (۵۰ و۲). اما این موضوع نمی تواند ناباروری ایمنولوژیک را نادیده بگیرد (۵۱).

لذا مطالعات مختلفی عموماً بر تغییرات بافت بیضه اشاره داشته و بر این نظریه پافشاری می نمایند که آنتی بادی باعث می گردد تا بافت بیضه به مرور زمان دستخوش یک سری تغییرات هیستوپاتولوژیک گردد. هیپرتروفی بیضه ها، آتروفی مجاری اسپرم ساز، کاهش سلولهای ژرمینال در اپیتلیوم لوله های اسپرم ساز، ضخیم شدن و چین خوردگی غشای پایه، افزایش فضای بین لوله های اسپرم ساز، ظهور سلولهای ژرمینال نابالغ، اسپرماتیدهای چند هسته ای و افزایش در اندازه سلولهای سرتولی، از جمله مواردی هستند که مورد اتفاق نظر اکثر محققین است (۵۲).

بیشتر مطالعات اشاره به اثر مستقیم آنتی بادی داشته و اینکه اگر به صورت غیر مستقیم، مانند انتقال از مادر به جنین اتفاق افتاده باشد، چندان اشاره ای نکرده اند و مطالعات بسیار کمی در این زمینه وجود دارد. این مطالعه که به دنبال اثر غیر مستقیم آنتی اسپرم آنتی بادی از طریق عبور آن از جفت و تاثیر بر روی بافت بیضه جنین های نر می باشد، به این نتیجه دست یافت که، تعداد سلولهای ژرمینال نسبت به حالت طبیعی کاهش پیدا کرده اند، لذا این نظریه را قوت می بخشد که امکان عبور آنتی اسپرم آنتی بادی از طریق جفت وجود داشته و متعاقباً بافت بیضه در حال تشکیل را تحت تاثیر قرار داده است. تا جایی که ممکن

Archive of SID
www.SID.ir

است باعث حذف سلولهای ژرمینال بالغ نیز گردد (۳۹و۳۸). بیشتر مطالعات، اشاره به اثر مستقیم آنتی اسپرم آنتی بادی داشته و از مطالعات آنها چنین بر می آید که همراه با تحت تاثیر قرار گرفتن سلولهای ژرمینال، بقیه رده های سلولی نیز دچار تغییر خواهند شد، لذا شاید بتوان گفت، در صورتی که همین تاثیر منفی را در بافت بیضه نسل دوم رتها داشته باشیم، مسلما رده های بعدی سلولها تحت تاثیر قرار خواهند گرفت. لذا کاهش سلول های ژرمینال که می تواند ناشی از دژنره شدن و یا کاهش تقسیم میتوزی آنها باشد، باعث می گردد تا در نهایت اسپرمهای کمتری ساخته شوند. باید در نظر داشت که آسیب، ابتدا به صورت پراکنده و در قسمتهای مختلف بافت بیضه دیده می شود تا اینکه گسترش پیدا می کند. البته درگیری بافت بیضه فقط مربوط به سلول های ژرمینال و یا رده های سلولی آن نخواهد بود، بلکه سلول های لایدیگ نیز ممکن است آسیب ببینند. بعضی معتقدند که سلولهای لایدیگ، ظاهر طبیعی خود را حفظ نموده و تغییری در آنها دیده نمی شود (۳۸). ولی عده ای دیگر کاهش تعداد سلولهای لایدیگ را پس از تشکیل آنتی بادی، گزارش کرده اند (۵۲).

در مطالعه ما نیز تعداد سلول های لایدیگ کاهش پیدا کرده است. گرچه کاهش این سلول ها ناشی از اثر مستقیم آنتی بادی نیست، اما آن چه از مطالعات مختلف بر می آید، حضور آنتی اسپرم آنتی بادی می تواند برروی سلولهای لایدیگ تاثیر منفی بگذارد و به همین دلیل ممکن است تاثیر غیر مستقیم آن را از طریق مادر و جفت مشاهده نمود که همین نتیجه در مطالعه ما نیز به دست آمده است. مطالعات مختلفی نیز در مورد تغییر مجاری اسپرم ساز وجود دارد. بعضی کاهش قطر مجاری اسپرم ساز (۵۳) و عده ای افزایش آن را گزارش نمودند (۵۴).

چنانکه از این مطالعات بر می آید، احتمال آسیب بافت بیضه تا حدود زیادی اجتناب ناپذیر است. لذا تاثیر غیر مستقیم هر روشی که باعث ورود اسپرم به داخل سیستم خونی گردد، باعث حضور آنتی اسپرم آنتی بادی در خون مادر می شود و احتمال عبور آن از طریق جفت و تاثیر منفی بر روی بافت بیضه، که مطالعه ما نیز موید همین مطلب می باشد، منتفی نخواهد بود.

گزارشات گوناگون، اطلاعات بسیار مهمی را در مورد اثر آنتی اسپرم آنتی بادی بر روی بیضه انسان نشان می دهد. لذا بیان این نکته که پس از بوجود آمدن آنتی اسپرم آنتی بادی در بدن رت های ماده، فرزندان آنها دچار تغییرات مهمی نظیر افزایش قطر مجاری اسپرم ساز، کاهش سلولهای ژرمینال و کاهش سلولهای لایدیگ در بافت بیضه خود شوند، از اهمیت خاصی برخوردار بوده و ممکن است بر روی میزان باروری آنها تاثیر منفی بگذارد. لذا اگر در مطالعات گسترده تری، این تغییرات به اثبات برسد و کاربردی تر شود، باید از تزریق خون افرادی که دارای تیتر بالای آنتی اسپرم آتنی بادی هستند، به افرادی که در سنین باروری خود قرار دارند، احتیاط لازم را در نظر گرفت. زیرا این کار می تواند آینده کودکان آنها را به خطر انداخته و باعث اختلال در باروری آنها شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از آقای دکتر کریم اله حاجیان، پرسنل بخش علوم تشریحی خانم عالیه سوهان فرجی، آقایان جعفری، موسوی و منصف و همچنین از دانشجویان رشته پزشکی آقایان؛ قابلی، خلیلی و سوادکوهی تشکر و قدردانی می گردد.

Archive
www.SID.ir

Histomorphometric Evaluation of Testis Tissue in Second Generation after Intraperitoneal Sperm Injection in Female Rats

S.G.A. Jorsaraei (PhD) [1], A. Akbarzadeh Pasha (MD) [2], Y.R. Yousefnia Pasha (MD) [1*], E. Sarabi (MD)[3], M. Faraji (MD)[3], R. Alizadeh-Navaei (MD)[4]

1. Fatemeh Zahra Infertility and Reproductive Health Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
2. Department of Urology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
3. Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
4. Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

J Babol Univ Med Sci; 15(3); May 2013; pp: 51-58

Received: Oct 29th 2011, Revised: Feb 8th 2012, Accepted: Nov 7th 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: When the sperm finds its final form at maturity, its antigen acts as a foreign cell against an immune system. With the sperm entrance into the blood vessel system, the immune system is exposed to antigens, and anti-sperm antibodies can be produced. The aim of this study was to evaluate the effect of intraperitoneal sperm injection on rat testis tissue in second generation.

METHODS: This experimental- laboratory study was performed on adult Albino rats of 3 months of age and weight approximately 250 to 300 grams. Sperms obtained from 8 rats, were injected into 12 female rats, during 4 stages at one week interval. Then under coupling, the testes of male offspring born (24 rats of the second generation) were biopsied after reaching the age of maturity. Tissue slices were prepared and stained with H&E. Seminiferous tubule diameter, number of germ cells and leydig cells were measured by using the eyepiece and compared with control group.

FINDINGS: Average number of germ cells in control and second generation was 9.5±0.9 and 8.2±1.1, respectively ($p<0.001$). Average leydig cells were counted 7.63±2.74 in the control group and 6.55±2.21 in second generation rats ($p<0.001$). Diameter of seminiferous tubules in the second generation (3.7±0.47) was significantly higher than the control group (1.62±0.025) ($p<0.001$).

CONCLUSION: Intraperitoneal injection of sperm (antigens) in the body of the mother rats can cause changes including the increase in seminiferous tubule diameter and decrease in germ cells and leydig cells in their offspring.

KEY WORDS: *Antisperm antibody, Testis tissue, Embryo, Rat.*

[*]**Corresponding Author;**
Address: Department of Urology, Ayatollah Roohani Hospital, Babol, Iran
Tel: +98 111 2238301-3
E-mail: rezapasha692@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

References

1.Geierhaas B, Bornstein SR, Jarry H, Scherbaum WA, Herrmann M, Pfeiffer EF. Morphological and hormonal changes following vasectomy in rats, suggesting a functional role for Leydig-cell associated macrophages. Horm Metab Res 1991;23(8):373-8.

2.Alexander NJ. Tung KS. Immunological and morphological effects of vasectomy in the rabbit. Arat Rec 1977;188(3): 399-50.

3.Grygielska B, Fiszer D, Domagala A, Kurpisz M. Reconstruction of humoral response to sperm antigens in scid mice. Ginekol Pol 2000;71(6):577-85.

4.Chavez-Badiola A, Drakeley AJ, Finney V, Sajjad Y, Lewis-Jones DI. Necrospermia, antisperm antibodies, and vasectomy. Fertil Steril 2008;89(3):723.e5-7.

5.Jarow JP. Goluboff ET, Chang TS, Marshall FF. Relationship between antisperm anitibodies and testicular histologic changes in humans after vasectomy. Urology 1994;43(4):521-4.

6.McDonald SW. Cellular responses to vasectomy. Int Rev Cytol 2000;199:295-339.

7.Al-Daghistani HI, Hamad AW, Abdel-Dayem M, Al-Swaifi M, Abu Zaid M. Evaluation of serum testosterone, progesterone, seminal antisperm antibody, and fructose levels among Jordanian males with a history of infertility. Biochem Res Int 2010;2010:409640.

8.Hinz S, Rais-Bahrami S, Kempkensteffen C, Weiske WH, Miller K, Magheli A. Effect of obesity on sex hormone levels, antisperm antibodies, and fertility after vasectomy reversal. Urology 2010;76(4):851-6.

9.O'Neill DA, McVicar CM, McClure N, et al. Reduced sperm yield from testicular biopsies of vasectomized men is due to increased apoptosis. Fertil Steril 2007;87(4):834-41.

10.Flickinger CJ, Howards SS, Carey PO. Testicular alterations are linked to the presence of elevated antisperm antibodies in Sprague-Dawley rats after vasectomy and vasovasectomy. J Urol 1988:140(3):647-31.

11.Bhande S, Naz RK. Molecular identities of human sperm proteins reactive with antibodies in sera of immunoinfertile women. Mol Reprod Dev 2007;74(3):332-40.

12.Wakle MS, Joshi SA, Khole VV. Monoclonal antibody from vasectomized mouse identifies a conserved testis-specific antigen TSA70. J Androl 2005;26(6):761-71.

13.Flickinger CJ, Howards SS, Bush LA, Baker LA, Herr JC. Temporal recognition of sperm autoantigens by IgM and IgG autoantibodies after vasectomy and vasovasostomy. J Reprod Immunol. 1994;27(2):135-50.

14.Gouletsou PG, Galatos AD, Fthenakis GC. Clinical, ultrasonographic and pathological features following unilateral vasectomy in rams. Anim Reprod Sci 2008;103(1-2):52-68.

15.West DA, Chehval MJ, Wintelman T, Martin SA. Effects of vasovasectomy on contralateral testicular damage associated with unilateral vasectomy in mature and immature Lewis rats. Fertil Steril 2000:73(2):238-41.

16.Chehval MJ, Doshi R. Kidd CF, Winkelman T, Chahval V. Antisperm autoantibody response after unilateral vas deferens ligation in rats: when does it develop? J Androl 2002;23(5):669-73.

17.Cavallaro G, Cavallaro E. Vasectomy reversal and spermatic granuloma: experimental investigation. Microsurgery 2003;23(5):437-9.

18.O'Neill DA, McVicar CM, McClure N, et al. Reduced sperm yield from testicular biopsies of vasectomized men is due to increased apoptosis. Fertil Steril 2007;87(4):834-41.

19.Heidenreich A, Bonfig R, Wilbert DM, Strohmaier WL, Engelmann UH. Risk fastors for antisperm antibodies in infertile men. Am J Repord Immunol 1994:31 (2-3):69-76.

20.Kipersztok S, Kim BD, Morris L, Drury KC, Williams RS, Rhoton-Vlasak A. Validity of a rapid assay for antisperm antibodies in semen. Fertil Steril 2003;79(3):522-8.

Archive of SID

www.SID.ir

21.Bhande S, Naz RK. Molecular identities of human sperm proteins reactive with antibodies in sera of immunoinfertile women. Mol Reprod Dev 2007;74(3):332-40.
22.Teusher C, Wild GC, Johnson E, Tung KS. Vasectomy: an experimental autoimmune disease state. Ric Clin Lab 1981:11(4):313-20.
23.Jessop TS, Ladds PW. The immunopathology of unilateral vasectomy in the ram. Vet Immunol Immunopathol 1995;41(1-2):123-33.
24.Bohring C, Krause W. The role of antisperm antibodies during fertilization and for immunological infertility. Chem Immunol Allergy 2005;88:15-26.
25.Flickinger CJ, Baran ML, Howards SS, Herr JC. Sperm autoantigens recognized by autoantibodies in developing rats following prepubertal obstruction of the vas deferens. J Androl 1996;17(4):433-42.
26.Chen D, Huang Y. Advances in research on the target antigens of antisperm antibodies. Zhonghua Nan Ke Xue 2004;10(6):458-60,464.
27.Hendry WF. Vasectomy and vasectomy reversal. Br J Urol 1994;73(4):337-44.
28.Bohring C, Krause W. The role of antisperm antibodies during fertilization and for immunological infertility. Chem Immunol Allergy 2005;88:15-26.
29.Vujisic S, Lepej SZ, Jerkovic L, Emedi I, Sokolic B. Antisperm antibodies in semen. Sera and follicular fluids of infertile patients: relation to reproductive outcome after in vitro fertilization. Am J Repord Immunol 2005;54(1):13-20.
30.Dorr H, Bohring C, Krause W. Are antisperm antibodies indeed sperm-specific? Andrologia 2005:37(5):185-7.
31.Bohring C, Krauge W. Characterization of spermatozoa surface antigens by antisperm antibodies and its influence on acrosomal excytosis. Am J Repord Immunol 2003:50(5):411-9.
32.Chiu WW, Chamley LW. Use of antisperm antibodies in differential display Western blotting to identify sperm proteins important in fertility. Hum Repord 2002;17(4):984-9.
33.Paradowska A, Bohring C, Krause E, Krause W. Identification of evolutionary conserved mouse sperm surface antigens by human antisperm antibodies (ASA) from infertile patients. Am J Reprod Immunol 2006;55(5):321-30.
34.Gubin DA, Dmochowski R, Kutteh WH. Multivariant analysis of men from infertile couples with and without antisperm antibodies. Am J Reprod Immunol 1998;39(2):157-60.
35.Dobson CC, Reid O, Bennett NK, McDonald SW. Effect of vasectomy on the seminiferous tubule boundary zone in the Albino Swiss rat. Clin Anat 2000;13(4):277-86.
36.Aydos K, Soygur T, Kupeli B, et al. Testicular effects of vasectomy in rats: an ultrastructural and immunohistochemical study. Urology 1998;51(6):1051-6.
37.Whyte J, Sarrat R, Cisneros AI, et al. The vasectomized testis. Int Surg 2000;85(2):167-74.
38.Flickinger CY. Herr JC. Howard SS. Early testicular changes after vasectomy and vasovasectomy in Lewis rats. Anat Rec 1990;227(1):37-46.
39.Sarrat R, Whyte J, Torres A, Lostale F, Diaz MP. Experimental vasectomy and testicular structure. Histol Histopathol 1996;11(1):1-6.
40.Yoshinaga K, Saxena DK, Oh-oka T, Tanii I, Toshimori K. Inhibition of mouse fertilization in vivo by intra-oviductal injection of an anti-equatorin monoclonal antibody. Reproduction 2001;122(4):649-55.
41.Chamley LW, Clarke GN. Antisperm antibodies and conception. Semin Immunopathol 2007;29(2):169-84.
42.Chavez-Badiola A, Drakeley AJ, Finney V, Sajjad Y, Lewis-Jones DI. Necrospermia, antisperm antibodies, and vasectomy. Fertil Steril 2008;89(3):723.e5-7.
43.Arap MA, Vicentini FC, Cocuzza M, et al. Late hormonal levels, semen parameters, and presence of antisperm antibodies in patients treated for testicular torsion. J Androl 2007;28(4):528-32.

Archive of SID

www.SID.ir

44.Flickinger CJ, Vagnetti M, Howards SS, Herr JC. Antisperm autoantibody response is reduced by early repair of a severed vas deferens in the juvenile rat. Fertil Steril 2000;73(2):229-37.
45.Komori K, Tsujimura A, Miura H, et al. Serial follow-up study of serum testosterone and antisperm antibodies in patients with non-obstructive azoospermia after conventional or microdissection testicular sperm extraction. Int J Androl 2004;27(1):32-6.
46.Naz RK. Antisperm contraceptive vaccines: where we are and where we are going? Am J Reprod Immunol 2011;66(1):5-12.
47.Vivas AG, Lozano HJ, Velasco J. Immune-testicular regulation and cytokines. Invest Clin 2007;48(1):107-21.
48.Ozturk U, Ozdemir E, Dede O, et al. Assessment of anti-sperm antibodies in couples after testicular sperm extraction. Clin Invest Med 2011;34(3):E179-83.
49.Dimitrova D. Kalaydjiev S. Hristov L, Nikolov K, Nokav L. Antichlamydial and antisperm antibodies in patients with chlamydial infections. Am J Repord Immunol 2004;52(5):330-6.
50.Zini A, Lefebvre J, Kornitzer G, et al. Anti-sperm antibody levels are not related to fertilization or pregnancy rates after IVF or IVF/ICSI. J Reprod Immunol 2011;88(1):80-4.
51.Check JH. Antisperm antibodies and human reproduction. Clin Exp Obstet Gynecol 2010;37(3):169-74.
52.Mehtora RP, Nath P, Singh KM, et al. Changes in seminiferous tubules after vasectomy. Indian J Pathol Microbiol 1985;28(4):371-78.
53.Aitken H, Kumarakuru S, Orr R, Reid O, Bennett NK, McDonald SW. Effect of long-term vasectomy on seminiferous tubules in the guinea pig. Clin Anat 1999;12(4):250-63.
54.Dobson CC, Reid O, Bennett NK, McDonald SW. Effect of vasectomy on the seminiferous tubule boundary zone in the Albino Swiss rat. Clin Anat 2000;13(4):277-86.

Archive of SID

www.SID.ir