Archive of SID

مقدمه

ماست‌سلها در سراسر بدن به ویژه در اطراف عروق خونی پراکنده شده‌اند. این سلولها یک هسته مدور یا بیضی شکل و سیتوپلاسم مملو از گرانولهایی دارند که محتوی مواد مختلفی از قبیل سروتونین، هپارین و آنزیمهای مختلف است. ماست‌سلها دارای رسپتورهای خاص برای IgE بوده و آزاد شدن مدیاتورهای شیمیایی موجود در آنها سبب واکنشهای آلرژیک می‌شود (۱). افزایش تعداد ماست‌سلها یا Mastocytosis در بافت بیضه افراد نابارور، اولین بار بوسیله Maseki و همکاران در سال ۱۹۸۵ بیان شد. آنها پیشنهاد کردند که افزایش تعداد ماست‌سلها یک تغییر ثانویه است که بوسیله فیبروز شدن بافت بینابینی ایجاد می‌شود (۲).

در دستگاه تولید مثل رت، ماست‌سلها به وفور در ارگانهای تناسلی یافت می‌شوند. ماست‌سلهای بافت بیضه در زیر تونیکا آلبوژینه‌آ در اطراف عروق خونی بیضه قرار گرفته‌اند اما در مورد وجود آنها در بافت پری توبولار اطراف لوله‌های منی‌ساز اتفاق نظر وجود ندارد (۳).

تجمع ماست‌سلها در بافت بینابینی در رت اغلب بعد از درمان با استروئیدها و یا بعد از تجویز اتیلن دی متان سولفات (EDS) دیده می‌شود. EDS یک عامل سیتوتوکسین برای سلولهای لیدیک است. علاوه بر آن تجویز آنتاگونیست هورمونهای آزادکننده گنادوتروپین به رت سبب ظهور ماست‌سلها در بافت بینابینی می‌شود (۴,۵).

در رابطه با نمونه‌های انسانی برخی معتقدند که در بیضه افراد بزرگسال، ماست‌سلها در بافت بینابینی تجمع یافته‌اند ولی به هر حال تعداد اندکی از این سلولها در ناحیه لامینا پروپریای لوله‌های منی‌ساز قرار گرفته‌اند (۶).

مطالعات مورفومتریک نشان داده که تعداد ماست‌سلها در بیضه و اپیدیدیم در طی نوزادی افزایش، در طی دوران کودکی کاهش و سپس در دوران بلوغ مجدداً افزایش می‌یابد و جالب آن که در دوران بزرگسالی مجدداً کاهش فزاینده‌ای در تعداد ماست‌سلهای بافت همبند بیضه و اپیدیدیم دیده می‌شود (۷).

بررسیهای هیستولوژیک دیگر بوسیله Agarwar در سال ۱۹۷۸ نشان داد که افزایش تعداد ماست‌سلهای بافت بیضه در افراد نابارور دیده می‌شود، ولی اشاره‌ای به محل تجمع اصلی آنها در بافت بیضه نشده است (۸). از طرف دیگر Hashimoto و همکاران در سال ۱۹۸۸ افزایش حضور ماست‌سلها را در لامینا پروپریای لوله‌های منی‌ساز عنوان کردند (۱).

علاوه بر آن Nagai و همکاران در سال ۱۹۹۲ افزایش تعداد ماست‌سلهایی را گزارش کردند که محتوی کندروتین سولفات بودند (۹). در سال ۲۰۰۰ Meinck و همکاران عنوان کردند که ماست‌سلها در افراد طبیعی اساساً در بافت بینابینی یافت می‌شوند که با نتایج برخی از محققین دیگر همسوئی ندارد. علاوه بر آن محققین مذکور افزایش تعداد ماست‌سلهای محتوی تریپتیاز را در بیماران نابارور با سندرم وجود سرتولی به تنهائی و سندرم توقف اسپرماتوژنزیس گزارش کردند (۱۰).

با وجود اینکه تمامی مطالعات فوق مشخص‌کننده ارتباط بین ماست‌سلها و ناباروری است، اما اطلاعات دقیقی در مورد محل قرارگیری آنها در بافت بیضه وجود ندارد. علاوه بر آن،

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعات انجام شده یا بر روی نمونه‌های حیوانی بوده و یا اینکه بر روی افراد با عنوان کلی بیماران نابارور بوده و وجود اسپرم در بافت بیضه آنها مد نظر نبوده است. لذا با توجه به مطالب فوق ما در این مطالعه سعی نمودیم تا محل تجمع و تعداد ماست‌سلها را در بافت بیضه افراد نابارور با تشخیص آزواسپرمی غیر انسدادی که در نمونه‌های بافت بیضه آنها اسپرم یافت می‌شود، مورد بررسی و مطالعه قرار دهیم.

مواد و روشها

نمونه‌های بافت بیضه مورد بررسی در این مطالعه از تعداد ۱۲ نفر مرد نابارور با تشخیص آزواسپرمی غیر انسدادی، مراجعه‌کننده به کلینیک ناباروری پژوهشکده رویان وابسته به جهاد دانشگاهی علوم پزشکی ایران بود. علت مراجعه این بیماران انجام TESE[1] و ICSI[2] برای درمان ناباروری بود. قبل از انجام درمان، آزمایشات هورمونی و آنالیز مایع منی برای آنها انجام می‌شد.

برای تهیه نمونه‌های بافت بیضه نرمال انسانی برای انجام مقایسه، با بخشهای پاتولوژی بیمارستانهای وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی هماهنگی لازم به عمل آمد و از نمونه ارکیدکتومی ۵ بیمار با کانسر پروستات، نمونه لازم تهیه شد. لازم به ذکر است که نمونه طبیعی از افرادی تهیه شده که در بافت بیضه آنها هیچ گونه مشکلی در پروسه اسپرماتوژنسیس مشاهده نمی‌شد و علت ارکیدکتومی آنها تنها به دلیل کانسر پروستات وابسته به آندروژن بود. برای حصول اطمینان از طبیعی بودن بافت، ابتدا از نمونه‌های تهیه شده، لامهایی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین تهیه و طبیعی بودن اسپرماتوژنسیس در آنها محرز می‌شد. بعد از تهیه نمونه از دو گروه (بیماران و افراد نرمال) نمونه‌ها در داخل ماده فیکساتیو بوئن قرار داده می‌شد و پس از پردازش بافتی، برشهای پارافینی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و با هماتوکسیلین ائوزین و تولوئیدین‌بلو یک درصد رنگ‌آمیزی می‌شد و تعداد و محل ماست‌سلها مورد بررسی قرار می‌گرفت. علاوه بر آن برای اطمینان از اینکه سلولهای مورد شمارش همان ماست‌سلها هستند، تعدادی از آنها با میکروسکوپ الکترونی بررسی شد.

برای شمارش ماست‌سلها از قطعه چشمی کالیبره‌ای که روی میکروسکوپ سوار می‌شد استفاده شد. قطعه چشمی دارای یک صفحه شطرنجی با ۱۲۱ نقطه آزمایش بود. برای شمارش تعداد ماست‌سلها تعداد ۱۰ ناحیه بافت بیضه بطور تصادفی با بزرگنمائی ٤٠ انتخاب شد و تعداد ماست‌سلهایی که در محدوده صفحه شطرنجی قطعه چشمی در بافت بینابینی و بافت پری توبولار اطراف لوله‌های منی‌ساز قرار می‌گرفتند شمارش شد، سپس نتایج بدست آمده با استفاده از روش آماری unpaired t-test ارزیابی گردید.

یافته‌ها

در مشاهدات با میکروسکوپ نوری، در نمونه‌های بیماران مورد مطالعه، ضخامت لامینا پروپریای اطراف لوله‌های منی‌ساز بطور واضح افزایش یافته بود و در بعضی از نمونه‌ها فضاهای شبه واکوئل توخالی در بین سلولهای تشکیل‌دهنده اپیتلیوم ژرمینال قابل مشاهده بود.

1 - Testicular sperm extraction
2 - Intracytoplasmic sperm Injection

www.SID.ir

Archive of SID

علاوه بر آن، فیبروز بافت بینابینی (ما بین لوله‌های منی‌ساز) نیز مشخص بود (تصاویر ۱,۲).

در مشاهدات با میکروسکوپ الکترونی، علاوه بر واضح بودن ضخیم شدگی در لامینا پروپریا و فیبروز بافت بینابینی، گرانولهای سلولهای ماست‌سل کاملاً واضح بود (این قسمت از مطالعه بوسیله میکروسکوپ الکترونی صرفاً جهت اطمینان به این امر بود که سلولهای مورد شمارش همان ماست‌سلها هستند). در مورد سلولهای ماست‌سل نتایج به این صورت بود که در گروه کنترل و بیماران ماست‌سلها هم در بافت بینابینی و هم در فضای پری توبولار بافت بیضه قابل مشاهده بودند، بطوریکه تعداد ماست‌سلهای بافت بینابینی در هر دو گروه مورد مطالعه بیشتر از ماست‌سلهای پری توبولار بود. علاوه بر آن تعداد ماست‌سلها در گروه بیماران بطور معناداری بیشتر از گروه طبیعی بود. نکته دیگر اینکه افزایش تعداد ماست‌سلهای گروه پری توبولار بیشتر از افزایش ماست‌سلهای گروه بافت بینابینی بود (جدول ۱).

جدول شمارهٔ ۱: تعداد ماست‌سلهای شمارش شده در بافت بیضه

گروهها	گروه کنترل Mean ±SE	گروه بیماران Mean ±SE	P value
تعداد کلی ماست‌سلها	۷/۷۱٦ ± ۰/۳۲۱	۱٦/۵۸۳ ± ۰/۵۵٦	P<۰/۰۰۱
تعداد ماست‌سلهای پریتوبولار	۲/۵ ± ۰/۲٦۱	۸/۲۵ ± ۰/۳۷۱	P<۰/۰۰۱
تعداد ماست‌سلهای بافت بینابینی	٤/۷٦٦ ± ۰/۳۲۱	۱۰/۲۵ ± ۰/٤۲۸	P<۰/۰۰۱

تصویر۱ـ نمونه یک بافت نرمال تستیس با رنگ آمیزی H&E بزرگنمائی ٤۰×

www.SID.ir

Archive of SID

تصویر۲ـ ضخیم شدگی لامینا پروپریا اطراف لوله‌های منی‌ساز در گروه بیماران
با رنگ‌آمیزی H&E کاملاً مشخص است (بزرگنمایی: X40)

تصویر ۳ـ فیبروز بافت بینابینی (IT) و فضاهای توخالی در بین سلولهای تشکیل دهندهٔ
اپی‌تلیوم ژرمینال در گروه بیماران با رنگ‌آمیزی H&E کاملاً مشخص است (بزرگنمایی: X40)

www.SID.ir

Archive of SID

تصویر شماره ٤- تصویر میکروگراف الکترونی از یک ماست‌سل (MS) با گرانولهای مشخص در سمت راست تصویر در گروه بیماران. علاوه بر آن فیبروز بافت بینابینی و یک سلول میوئید در سمت چپ تصویر نیز مشخص است. (بزرگنمایی: X 4400)

بحث

ماست‌سلها در بسیاری از بافتهای محیطی بدن و بیضه انسان وجود دارند و نقش مهمی را در التهاب و افزایش حساسیت و بیماریهای فیبرو ایفا می‌کنند. این سلولها از سلولهای پایه‌ای هماتوپویتیک منشاء گرفته و پیش‌سازهای آن به بافتهای محیطی مهاجرت کرده، در آنجا تحت کنترل فاکتورهای موضعی تکثیر و تمایز می‌یابند (۱۱).

نتایج این مطالعه نشان داد که ماست‌سلهای بافت بیضه انسانی را بر اساس محل قرارگیری، می‌توان به دو گروه تقسیم کرد: ماست‌سلهای بافت بینابینی و ماست‌سلهای پری توبولار. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در بافت بیضه انسانی نرمال، ماست‌سلهای گروه بافت بینابینی بیشتر از گروه دیگر است، علاوه بر آن در افراد نابارور مورد مطالعه در تحقیق حاضر هر دو گروه ماست‌سلها هم از نظر تعداد و هم از نظر حجم افزایش یافته بود، بطوریکه ماست‌سلهای پری توبولار افزایش بیشتری داشتند که به لوله‌های منی‌ساز متصل بودند، که این نتایج با نتایج محققین دیگر همسوئی دارد (۱,۲,۱۲). چند فاکتور در افزایش تعداد ماست‌سلهای بافت بینابینی و پری‌توبولار دخیل هستند. یکی از آنها افزایش میزان لامینا پروپریای اطراف لوله‌های منی‌ساز و همچنین افزایش میزان ماتریکس خارج سلولی در بین لوله‌ها است. ماست‌سلهای انسانی به اجزاء ماتریکس خارج سلولی مانند لامینین، فیبرونکتین و ویبرونکتین متصل می‌شوند. این سلولها با بیان رسپتورهای اینتگرین باعث اتصال ماست‌سلها به ماتریکس می‌شوند، بنابر این افزایش مقدار ماتریکس خارج سلولی در لامینا پروپریا اتصال

www.SID.ir

Archive of SID

ماست‌سلها را تسهیل می‌کند (٦). افزایش میزان ماتریکس خارج سلولی و همچنین ضخامت لامینا پروپریا در این مطالعه بوسیله میکروسکوپ نوری و در مطالعه قبلی ما بوسیله میکروسکوپ الکترونی نشان داده شده است (۱۳). ضمناً فاکتورهای پاراکرینی از سلولهای میوئید، سرتولی و اسپرماتوژنیک می‌توانند به این پروسه کمک کنند (٦).

ماست سلها را به عنوان یک عامل القایی در ایجاد فیبروزیس می‌شناسند، مشخص شده که ماست‌سلها، فیبروبلاستها را فعال کرده و سنتز کلاژن را سبب می‌شوند. تغییرات فیبروتیک دیواره لوله‌های منی‌ساز در این مطالعه و مطالعات دیگر گزارش شده است. علاوه بر آن اختلال عملکرد سد خونی بیضه‌ای را به افزایش تعداد ماست‌سلها نسبت داده‌اند (۱۲,۱٤).

ماست‌سلها دارای گرانولهای سیتوپلاسمیک هستند که محتوی تعدادی مدیاتورهای شیمیایی است که بعد از تحریکات آلرژیکی و ایمونولوژیکی به بافتهای بدن آزاد می‌شوند. بنابر این می‌توان گفت که یک رابطه تنگاتنگ بین بیماریهای بافت بیضه و افزایش تعداد ماست‌سلها وجود دارد (۹).

مطالعه ایمونوهیستوشیمی نشان داده که میزان افزایش ماست‌سلهایی که محتوی کندروتین سولفات هستند در مقایسه با آنهایی که محتوی هپارین هستند بیشتر است، ولی مشخص نشده که چرا و چگونه تغییر در انواع ماست‌سلها می‌تواند منجر به بیماریهای بیضه (ناباروری) گردد. یکی از فرضیاتی که در این خصوص مطرح است، این است که فیبروز بافتی در بیضه احتمالاً منجر به این تغییر در ماست‌سلها شده است. فرضیه دیگر در این مورد، اختلالات ایمونولوژیکی است که محققین، وجود سلولهای لنفوسیت T را در پارانشیم بافت بیضه افراد اولیگو اسپرمیا گزارش داده‌اند که این یافته، اختلال ایمنی سلولار را در بافت بیضه افراد نابارور مطرح می‌کند (۹,۱۵). برای تعمیم این یافته به مطالعه حاضر، نیاز به انجام مطالعات ایمونوهیستوشیمی است که متأسفانه بدلیل عدم دسترسی به آنتی‌بادیهای مربوطه انجام آن مقدور نبود.

هنوز مشخص نشده که آیا فیبروز بافت بیضه منجر به افزایش تعداد و تغییر ماست‌سلها می‌شود یا اینکه افزایش تعداد ماست‌سلها منجر به فیبروز بافت بیضه می‌شود. Frungieri و همکاران در سال ۲۰۰۱ عنوان کردند که ماست‌سل‌ها، تکثیر فیبروبلاستها را که در پروسه فیبروزیس نقش‌اصلی را بر عهده دارند، تحریک‌می‌کنند و نشان دادند که یکی از تولیدات ماست‌سلها Serine protease tryptase است که به عنوان فعال‌کننده Protease – activated receptor 2 است که سبب تکثیر فیبرو بلاستها می‌شود. بنابر این حدس زده می‌شود که این وقایع (فیبروزیس و ناباروری) با ماست‌سلها از طریق تریپتاز در ارتباط باشند که قادر به شروع و ایجاد فیبروزیس است. علاوه بر آن مشخص شده که تریپتاز یک فاکتور رشد فیبروبلاستی است (۱٤).

با توجه به مطالب گفته شده، می‌توان بطور قاطع گفت که بین افزایش تعداد ماست‌سلها و ناباروری رابطه‌ای وجود دارد. بطوریکه محققین مختلف تأثیر داروهای مهارکننده تولید ماست‌سلها را در درمان ناباروری در بهبود کیفیت مایع منی گزارش داده‌اند. Yamamoto و همکاران در سال ۱۹۹۵ در بیماران اولیگواسپرمیا با تجویز Tranilast

www.SID.ir

Archive of SID

(که یک مهار کننده ماست‌سل است) توانستند کیفیت پارامترهای مایع منی را بهبود ببخشند (۱۶). علاوه بر Matski و همکاران در سال ۲۰۰۰ با استفاده از ebastin (که یکی دیگر از مهار کننده تولید ماست‌سل است) و همچنین Hibi و همکاران در سال ۲۰۰۱ با استفاده از Tranilast، نتایج مطالعه Yamamoto را تأئید کردند (۱۷,۱۸). ولی Cayan و همکاران در سال ۲۰۰۳ نتایج مطالعات فوق را با استفاده از داروی Fexofenadine (یک مهارکننده ماست‌سل) تائید نکردند (۱۱).

بنابر این احتمالاً اختلال در اسپرماتوژنسیس و ایجاد ناباروری در بیماران مورد مطالعه در این تحقیق را می‌توان به افزایش تعداد ماست‌سلها نسبت داد و در صورت درمان بیماران مذکور با مهارکننده‌های تولید ماست‌سل شاید بتوان به درمان ناباروری آنها کمک نمود.

سپاسگزاری

این مقاله قسمتی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب «پژوهشکدهٔ رویان» وابسته به جهاد دانشگاهی علوم پزشکی ایران است و نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولان آن مرکز ابراز می‌دارند.

References:

1. Hashimoto J, Nagai T, Takaba H. Increased mast cells in the limiting membrane of seminiferous tubules in testis of patients with idiopathic infertility. Urol Int 1988, 43: 129-132.
2. Maseki Y, Miyake K, Kitmura H, Yamada K. Mastocytosis occurring in the testis from patients with idiopathic male infertility. Fert Steril 1981, 36: 814-817.
3. Gaytan F, Aceitero J, Lucena C. Simultaneous proliferation and differentiation of mast cells and leydig cells in the rat testis. J of Androlo 1992, 13(5): 387-397.
4. Gaytan F, Bellido C, Carrera G, Aguilar E. Differentiation of mast cells during postnatal development of neonatally estrogen-treated rats. Cell Tissue Res 1990, 259: 25-31.
5. Jackson AE, Qleary PC, Ayers MM: The effects of ethaylene dimethane sulphonate (EDS) on rat leydig cells. Biol Reprod 1980, 35: 425-437.
6. Jezek D, Banek L, Hittmair A. Mast cells in testicular biopsies of infertile men with mixed atrophy of seminiferous tubules. Andrologia 1999, 31: 203-210.
7. Nistal M, Santamaria L, Paniagua K. Mast cells in the human tesis and epididymis from birth to adulthood. Acta Anat 1884, 119: 155-160.
8. Agarwal S, Choudhury M, Banerjee A. Mast cells and idiopathic male infertility. Int J Ferril 1987, 32: 282-286.
9. Nagai T, Takaba H, Miyake K. Testicular mast cells heterogeneity in idiopathic male infertility. Fertil sterli 1992, 57: 1331-1336.

www.SID.ir

Archive of SID

10. Meineke V, Frungieri MB, Jessberger B, Vogt V. Human testicular mast cells contain tryptase: increased mast cells number distribution in the testis of infertile men. Ferti Steri 2000, 74: 239-44.
11. Cayan S, Apa D, Akboy E. Effect of fexofenadine, a mast cell blocker, in infertile men with significantly increased testicular mast cells. Asian J Androlo 2002, 4(4): 291-4.
12. Apa DP, Sayans, Polat A, Akbay E. Mast cells and fibrosis on testicular biopsies in male infertile. Arch Androl 2002, 48(5): 337-44.
۱۳. کریمی پور دکتر مجتبی و همکاران: بررسی فراساختار غشاء پایه لوله‌های سمی نفروس بافت بیضه در بیماران آزواسپرمی غیر انسدادی. مجله پزشکی یاخته، ۱۳۸۰، شماره ۱۲، صفحات ۲۰۲ – ۱۹۷
14. Frungieri B, Weidinger S, Kohn M. Proliferative action of mast cell tryptase is mediated by PAR_2, COX_2, prostaglandins, and PPAR: Possiblerevance to human fibrotic disorders. Proc Natl Acad Sci USA 2002, 12 (23): 15072-7.
15. Demiry M, Elton R, Hargreave TB, James K. Immunocompetent cells in human testis in health. Fertil Sterli 1987, 48: 470-9.
16. Yamamoto M, Hibi N, Miyakek. New treatment of idiopathic severe oligazospermia with mast cell blocker: results of a single-blind study Fertil Steril 1995, 64(6): 1221-3.
17. Matsuk: S, Hibi H, Miyake K. The use of ebastine, a mast cell blocker, for treatment of oligoazospermia. Arch Androl 2000, 44: 129-32.
18. Hibi H, Kato K, Mitsui K, Taki T: The treatment with tranilast, a mast cell blocker, for idiopathic oligoazospemia. Arch Androl 2001, 47(2): 107-11.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of Number and Site of Mast Cells In Human Testicular Tissue In Infertile Men

Karimipour M., Ph.D.[1], Amidi F., Ph.D.[2], Pour Heidar B., M.Sc[3].

ABSTRACT

Introduction: The exact places of mast cells in human testicular tissue remains unclear. This study was conducted to show places of mast cell accumulation and relation between number of mast cell and infertility in non- obstructive azoospermia patients.

Materials & Methods: 12 biopsies from the testis tissues of non obstructive azoospermia patients referred to *Royan institue* (patient group) and 5 biopsies from persons with prostatic cancer (control group) were used in this study. Light and electron microscopic studies were performed on processed tissues. 1% toluidine blue staining were used for counting the number of mast cells.

Results: Thickening of lamina properia and basement membrane of seminiferous tubule and fibrosis in interstitial tissue was observed in patient group. The total number of mast cells in patients group were significantly increased in comparison to control group.

Conclusion: Results of this study revealed fibrosis in interstitial and peritubular tissues of patient group. Observed fibrotic changes in testicular tissues of patient group resulted from the increased number of mast cells.

Key words: Mast cells, Non-0bstructive azoospermia, Testicular tissue, Electron Microscopy

1. Assistant Professor of Anatomy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Corresponding Author.
2. Assistant Professor of Anatomy, Kurdistan University of Medical Sciences.
3. Master of Anatomy, Urmia Kurdistan University of Medical Sciences.

www.SID.ir