Archive of SID

مطالعه تاثیر سلنیت سدیم بر آسیب‌شناسی و هیستومتری بیضه در موش‌های صحرایی سالم و مبتلا به واریکوسل تجربی

لیلا تقی‌زاده [۱]، اکرم عیدی [۱*]، پژمان مرتضوی [۲]، علی حائری‌روحانی [۱]

چکیده

اثرات منفی ناشی از استرس اکسیداتیو در سرم، منی و بافت بیضه مبتلایان به واریکوسل یا در مدل‌های حیوانی نشان داده شده است. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر سلنیت سدیم بر آسیب شناسی و هیستومتری بیضه موش‌های صحرایی سالم و واریکوسلی انجام گرفت. ٤٤ سر موش صحرایی در ۱۱ گروه شامل: گروه کنترل سالم (۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن سرم فیزیولوژی)، گروه کنترل جراحی (انجام عمل جراحی بدون القا واریکوسل به همراه تزریق ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن، سرم فیزیولوژی داخل صفاقی)، گروه کنترل واریکوسل، گروه‌های سالم دریافت‌کننده‌ی داخل‌صفاقی سلنیت‌سدیم با دوزهای ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، و گروه‌های واریکوسلی دریافت‌کننده‌ی داخل‌صفاقی سلنیت‌سدیم با دوزهای ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند. بعد از ایجاد واریکوسل، ٦۰ روز تزریق سلنیت‌سدیم به موش‌های واریکوسلی و سالم ادامه یافت. نمونه‌های بافت بیضه برای مطالعات آسیب شناسی‌شناسی جمع‌آوری شدند. سلنیت-سدیم به‌صورت وابسته به دوز موجب افزایش معنی‌دار ضخامت بافت‌پوششی لوله-های منی‌ساز در موش‌های صحرایی واریکوسلی در مقایسه با گروه کنترل واریکوسل شد ($P<0.01$). ضرایب اسپرمیوژنز (SI) و اسپرماتوژنز (TDI) لوله‌های منی‌ساز تحت تأثیر سلنیت‌سدیم وابسته به دوز در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش نشان دادند. ضرایب SI و TDI لوله‌های منی‌ساز تحت تأثیر شرایط واریکوسل بیضه کاهش معنی-داری در مقایسه با گروه کنترل سالم داشتند ($P<۰/۰۵$). سلول‌های لیدیگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سلنیت‌سدیم در موش‌های صحرایی واریکوسلی در مقایسه با گروه واریکوسل افزایش یافتند($P<۰/۰۱$). نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند درمان سلنیوم اثرات مفیدی بر بافت بیضه موش‌های صحرایی واریکوسلی دارد.

واژگان کلیدی: *سلنیت سدیم، واریکوسل، بیضه، موش صحرایی.*

تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۱۰/۲٦ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۱/۲۲

مقدمه

بیضه به‌عنوان عضو اصلی دستگاه تناسلی نر، تولید سلول‌های جنسی نر را به‌عهده دارد. فرآیند اسپرماتوژنز یک روند پیچیده در لوله‌های منی‌ساز بیضه است. در این فرآیند، ابتدا سلول‌های اسپرماتوگونی با تقسیم میتوز سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه را ایجاد می‌کنند. سپس، اسپرماتوسیت‌های اولیه با تقسیم میوز I اسپرماتوسیت‌های ثانویه را ایجاد می‌کنند. توسط تقسیم میوز II اسپرماتیدها ازاسپرماتوسیت‌های ثانویه ایجاد می‌شوند. نهایتاً این اسپرماتیدها توسط روند اسپرمیوژنز به اسپرماتوزوآی بالغ تبدیل می‌شوند که به داخل حفره داخلی لوله منی‌ساز آزاد می‌شوند (۱). عدم توانایی در تولید تعداد کافی اسپرماتوزوآی سالم از شایعترین علل ناباروری مردان است (۱۱ و ۱). امروزه عوامل مختلف مانند عوامل انسدادی و غیرانسدادی باعث ناباروری در مردان می‌شود. بیماری غیرانسدادی شامل واریکوسل، اختلال کروموزومی، نارسایی اولیه بیضه و اختلالات انزال می‌باشد. واریکوسل یکی از شایع‌ترین علت ناباروری مردان است. واریکوسل اتساع و تورم عروق شبکه نیلوفری در طناب اسپرماتیک است. واریکوسلکتومی رایج‌ترین روش درمان ناباروری ناشی از آن است (۳). در واریکوسلکتومی نشان داده شده است که غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و ویتامین C در پلاسمای منی و در جهت بهبود کیفیت اسپرم افزایش می‌یابد (١٤). باتوجه به عوارض این روش که شامل ایجاد هیدروسل (آب آوردگی بیضه) و آتروفی بیضه است، ضرورت درمان ناباروری با عارضه واریکوسل نیاز به روش‌های درمانی جدید و غیر تهاجمی را مطرح ساخته و آن استفاده از عوامل آنتی-اکسیدانی است که می‌تواند در درمان این گونه بیماران مؤثر واقع شود.

*۱- گروه فیزیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
(akram_eidi@yahoo.com)
۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی اکسیدان‌ها ترکیبات یا موادی بوده که باعث خنثی کردن و سرکوب تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) و یا ممانعت از اعمـال آنها می‌شوند(۱).

با این حال، درمان آنتی‌اکسیدانی نیز به‌عنوان یک روش جدید می‌تواند به جای روش جراحی واریکوسلکتومی در نظر گرفته شود. اخیراً مطالعاتی با هدف درمان جایگزین برای بهبود شرایط واریکوسل انجام شده است. این مطالعات اثرات مثبت قابل توجه داروها و عصاره‌های گیاهی در مدیریت ناباروری مردان مبتلا به واریکوسل را اثبات کرده‌اند (۹ و ۳).

سلنیوم یک ماده مغذی ضروری برای انسان و سایر موجودات محسوب می‌شود. به‌دلیل اینکه سلنیوم جزئی از سلنو ـ پروتئین‌ها و سلنو ـ آنزیم‌ها دارای عملکردهای بیولوژیک ضروری است برای بسیاری از فرآیندهای سلولی اهمیت دارد. علاوه بر این، بسیاری از مطالعات اثبات کرده‌اند که دوزهای مناسب سلنیوم می‌تواند از سرطان‌های انسان و حیوانات جلوگیری کند (۱۷). سلنیوم به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی قادر به کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد. گزارش شده است که کمبود این عنصر در رژیم غذایی موش‌های صحرایی باعث آسیب لوله‌های منی‌ساز، کاهش تحرک و تعداد اسپرم می‌شود. این عنصر برای سیستم آنتی‌اکسیدانی داخل سلولی به‌عنوان کوفاکتور آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز است (٦). مطالعات نشان داده‌اند که بیضه یکی از اندام‌های اصلی هدف برای سلنیوم بوده و نقش کلیدی در سیستم تناسلی نر ایفا می‌کند (٤). مطالعه حاضر با هدف بررسی نقش محافظتی سلنیوم بر تغییرات ضرایب اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز و نیز ساختار هیستومورفومتری بافت بیضه ناشی از واریکوسل در موش‌های صحرایی نژاد ویستار انجام شد.

مواد و روش کار

برای انجام این مطالعه تجربی، سلنیت‌سدیم از شرکت سیگما ـ آلدریچ (St. Louis, MO) و موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران خریداری شدند.

طرح آزمایش و آماده‌سازی حیوانات- ٤٤ سر موش صحرایی نر به ظاهر سالم با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم به مدت یک هفته به‌منظور سازش با شرایط محیطی در مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران نگهداری شدند. تمام حیوانات تحت شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور و دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت٤٠ تا ٦٠ درصد و با غذای استاندارد و دسترسی آزاد به آب نگهداری شدند. سپس، به‌منظور ایجاد و تحریک واریکوسل در بیضه چپ موش‌های صحرایی نر از روش ترنر (Turner) استفاده شد (۷). پس از القای بیهوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین۱۰درصد (مرک، آلمان) و با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۲درصد (مرک، آلمان) و با دوز۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم، موشها به صورت شکمی بر روی میز جراحی قرار داده شدند. سپس سطح شکمی موشها آماده سازی و اسکراپ شده و یک برش خط وسط عمودی در شکم ایجاد شد. پس از مشاهده ورید کلیوی چپ و محل ورود ورید اسپرماتیک داخلی به آن، با دقت اطراف آن آزاد گردید و یک سوزن شماره(Gauge) ۲۰ به موازات ورید قرار داده شد و با نخ نایلون ۰-٤ روی ورید کلیوی چپ گره زده شد. سپس محل برش با نخ بخیه ۰-۳ در دو لایه (عضله و پوست) بخیه زده شد. نهایتاً، واریکوسل دو ماه پس از جراحی در بیضه چپ موش‌ها القا گردید. پس از این مدت و القای واریکوسل، ٤٤ سر موش صحرایی به‌طور تصادفی و برابر به ۱۱ گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل سالم باتزریق روزانه داخل صفاقی سرم فیزیولوژی به مقدار ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم.

۲- گروه کنترل جراحی که مراحل جراحی روی آنها انجام شد ولی القاء واریکوسل صورت نگرفت و نیز روزانه به مقدار

www.SID.ir

Archive of SID

۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم سرم فیزیولوژی داخل صفاقی دریافت کردند.

۳- گروه ٦-۳ (حیوانات سالم تجربی) که سلنیت سدیم را به‌صورت تزریق داخل صفاقی در دوزهای ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند.

۴- گروه ۷ (واریکوسل تجربی) که تحت عمل جراحی و القای واریکوسل قرار گرفتند.

۵- گروه ۱۱- ۸ (واریکوسل تجربی) که سلنیت سدیم را به‌صورت تزریق داخل صفاقی در دوزهای ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند و تحت عمل جراحی و القای واریکوسل قرار گرفتند.

مدت درمان و تجویز سلنیت سدیم برای تمام گروه‌ها دو ماه ادامه داشت.

۲٤ ساعت پس از آخرین تجویز، موش‌های صحرایی به آزمایشگاه منتقل گردیدند و پس ازالقاء بیهوشی باتزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین۱۰٪ و با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۲٪ و با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موش‌ها بیهوش و با رعایت ملاحظات اخلاقی آسان‌کشی شدند. بیضه چپ موش‌ها با دقت از ضمائم اپیدیدیم آن جدا شد و به‌منظور ارزیابی هیستومورفومتری بافت بیضه در محلول ثبوتی بوئن قرار داده شد.

بعد از پایداری کامل بافت بیضه، به‌روش استاندارد تهیه مقاطع بافتی عمل گردید. در این روش پس از ثبوت و شستشو با آب جاری، مراحل مختلف پاساژ شامل آبگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی با پارافین انجام گرفت. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شده و با استفاده از میکروتوم دورانی برش‌هایی با ضخامت٦-۵ میکرومتر تهیه و با استفاده از روش هماتوکسیلین ـ ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شدند. با استفاده از میکروسکوپ نوری پارانشیم و داربست بافت بیضه از نظر ساختار بافت‌شناسی و تراکم لوله‌های منی‌ساز و مقایسه آن در گروه‌های مختلف آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت. ساختار هیستومتری بیضه‌ها شامل تغییرات بافت پوششی از نظر ضخامت و تعداد سلول‌های لیدیگ (در مقیاس ثابت)، تعداد سلول‌های سرتولی و اسپرماتوسیت در لوله‌های منی‌ساز، ارزیابی اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز از طریق ضرایبSpermiogenesis Index(SI) و Tubular Differentiation Index(TDI) و قطر لوله‌های منی‌ساز مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی TDI، درصد لوله‌های منی‌ساز که شامل چهار یا بیش از چهار ردیف از سلول‌های تمایز یافته از اسپرماتوگونی نوع A می‌باشند، محاسبه شدند. برای بررسی SI، درصد لوله‌های منی‌ساز که دارای سلول‌های رده اسپرماتید هستند به‌عنوان لوله‌های SI مثبت و لوله‌های فاقد سلول‌های اسپرماتید به‌عنوان لوله‌های SI منفی در نظر گرفته شدند. برای مطالعات هیستومتری از لنز دیجیتال Dino-lite، نرم افزار Dino Capture 2 و عدسی چشمی مدرج استفاده شد. برای شمارش و اندازه‌گیری هر یک از مشخصه‌های مورد مطالعه، ۱۵ میدان دید به‌صورت تصادفی از ٤ مقطع بافتی هر یک از نمونه‌ها اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها برای هر مشخصه محاسبه گردید (۱).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS-18 و توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one - way ANOVA) و پس آزمون توکی (Tukey) بررسی گردید. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف از معیار ارائه گردید. ملاک استنتاج آماری P< ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

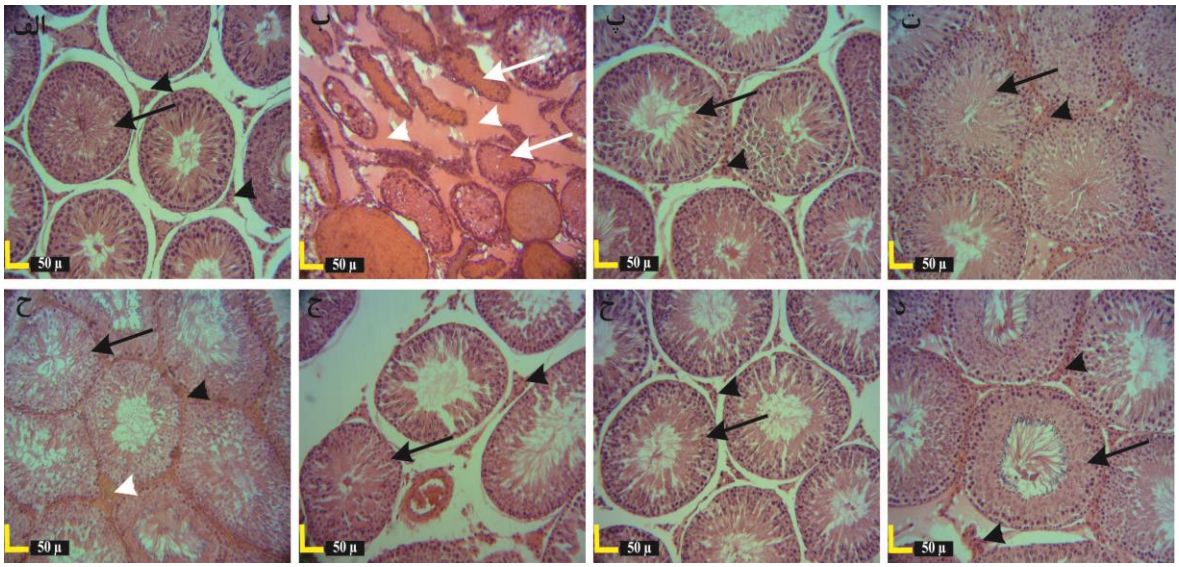
آسیب شناسی بیضه ـ مطالعه بافت‌شناسی بیضه در گروه کنترل نشان داد که لوله‌های منی‌ساز به‌طور فشرده کنار یکدیگر قرار داشته و بافت همبند بینابینی در پیرامون لوله‌ها همراه با عروق خونی و پارین کاملاً واضح بود. فضای داخلی در اکثر لوله‌های منی‌ساز بیضه در گروه کنترل کم و با اسپرماتوزوآها پر شده بودند. تعداد لایه‌های سلولی در بیشتر لوله‌های منی‌ساز بیش از

www.SID.ir

Archive of SID

٤ ردیف دیده شدند. سلول‌های سری اسپرماتوژنز در بافت پوششی زایای لوله‌ها نیز به‌طور پیوسته در کنار یکدیگر قرار داشتند. سلول‌های لیدیگ در داخل بافت بینابینی با سیتوپلاسم وسیع و اسیدوفیلی با هسته یوکروماتین و با هستک مشخص به‌صورت منفرد یا مجتمعدر پیرامون عروق خونی مشاهده گردید. واکوئل‌های کوچک و بزرگی در داخل سیتوپلاسم این سلول‌ها مشاهده شد که احتمالاً محل ذخیره چربی می‌باشد. همچنین، اسپرماتوزوئیدهای در حال تکامل با هسته باریک و تیره رنگ به‌صورت دسته‌های چندگانه به طرف دیواره لوله منی‌ساز در لوله‌هایی که مراحل پایانی اسپرمیوژنز در آن‌ها در حال وقوع بود قرار داشتند به‌طوری که دم آن‌ها داخل حفره میانی لوله‌های منی‌ساز کشیده شده بود(نگاره ۱).

واریکوسل ایجاد شده در گروه واریکوسل تجربی موجب از بین رفتن اسپرماتوژنز بیضه، کاهش ضخامت بافت‌پوششی زایای منی‌ساز، تغییرات تحلیل‌برنده در لوله‌های منی‌ساز، افزایش ادم در بافت بینابینی اطراف لوله‌های منی‌ساز و افزایش قطر حفره داخلی لوله‌های منی‌ساز گردید. اختلال در انسجام و پیوستگی سلول‌های اسپرماتوژنز تحت تأثیر واریکوسل در بیضه موش‌های صحرایی مشاهده گردید. واکوئل‌های پراکنده در میان بافت‌پوششی زایای لوله‌های منی‌ساز بیضه نیز مشاهده شد. توقف بلوغ و فقدان اسپرماتوزوآ در حفره داخلی بسیاری از لوله‌های منی‌ساز بیضه موش‌های صحرایی مبتلا به واریکوسل قابل توجه بود (نگاره ۱). بجز گروه واریکوسل تجربی، لوله‌های منی‌ساز تحلیل رفته در سایر گروه‌های مطالعه وجود نداشت. تجویز سلنیت سدیم وابسته به دوز به موش‌های مبتلا به واریکوسل موجب انسجام ساختار در بافت بیضه و افزایش بیشتر لوله‌های با اسپرماتوژنز فعال در لوله‌های منی‌ساز گردید. در گروه‌های دریافت‌کننده سلنیت سدیم، واکوئل‌ها و بهم-ریختگی و اختلال ساختار بافت‌پوششی در لوله‌های منی‌ساز بیضه مشاهده نشد (نگاره ۱).



نگاره ۱- ساختار بافتی بیضه موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (. لوله‌های منی‌ساز غیرفعال و تحلیل‌رفته (پیکان‌های سفید)، ادم در بافت همبندی (سر پیکان‌های سفید)، واکوئل‌های پراکنده و ناپیوستگی سلولی در بافت‌پوششی زایا (پیکان‌های سیاه) در بافت بیضه گروه واریکوسل در مقایسه با دیگر گروه‌ها قابل مشاهده است. افزایش لوله‌های منی‌ساز فعال (پیکان‌های سیاه) و افزایش سلول‌های بینابینی(لیدیگ)(سر پیکان‌های سیاه)و بافت همبندی در بیضه گروه‌های دریافت‌کننده سلنیت سدیم در دوزهای مختلف مطالعه دیده می‌شوند. همچنین، افزایش ضخامت بافت پوششی، قطر و تراکم لوله‌های منی‌ساز بیضه در گروه‌های دریافت‌کننده سلنیت سدیم (وابسته به دوز) در مقایسه با گروه‌های واریکوسل و کنترل سالم قابل مشاهده است. الف: کنترل؛

www.SID.ir

Archive of SID

ب: واریکوسل؛ پ: سلنیت‌سدیم ۰/۲؛ ت: سلنیت‌سدیم ۰/٤؛ ح: واریکوسل+سلنیت‌سدیم ۰/۰۵؛ ج: واریکوسل+ سلنیت‌سدیم ۰/۱؛ خ: واریکوسل+ سلنیت‌سدیم ۰/۲؛ د: واریکوسل+ سلنیت‌سدیم ۰/٤ رنگ‌آمیزی H&E).

هیستومتری بافت بیضه ـ دریافت سلنیت سدیم بطور وابسته به دوز موجب افزایش ضخامت بافت پوششی لوله‌های منی‌ساز بیضه در موش‌های مبتلا به واریکوسل در مقایسه با گروه واریکوسل گردید (P<۰/۰۱). ضخامت بافت‌پوششی لوله‌های منی ساز بیضه تحت تأثیر واریکوسل تجربی در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵) (نمودار ۱). قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه واریکوسل در مقایسه با گروه کنترل کاهش غیرمعنی‌دار نشان داد. در مقابل، گروه‌های دریافت‌کننده سلنیت سدیم وابسته به دوز موجب افزایش قطر لوله‌های منی‌ساز شدند. از لحاظ آماری این افزایش قطر بین گروه‌های تیمار با سلنیت سدیم با دوزهای ۰/٤ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرمدر مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). همچنین، گروه‌های واریکوسلی که سلنیت سدیم را دریافت کردند در مقایسه با گروه‌های واریکوسل و کنترل افزایش قطر لوله‌های منی‌ساز را نشان دادند که از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند (جدول ۱). تحت تأثیر سلنیت سدیم تعداد سلول‌های سرتولی در مقایسه با گروه کنترل افزایش نشان داد که تنها در گروه سلنیت سدیم تیمار شده با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود (P<۰/۰۱). علاوه بر این، تجویز سلنیت سدیم به موش‌های واریکوسلی موجب افزایش غیرمعنی‌دار تعداد سلول‌های سرتولی در مقایسه با گروه واریکوسل گردید (جدول ۱). تعداد سلول‌های لیدیگ در گروه واریکوسل در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۱). تجویز سلنیت سدیم به گروه‌های واریکوسلی بطور وابسته به دوزموجب افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های لیدیگ در مقایسه با گروه واریکوسل شد (P<۰/۰۱). هرچند تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه واریکوسل در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان داد اما در این پارامتر بین گروه‌های مورد مطالعه تغییر معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۱).

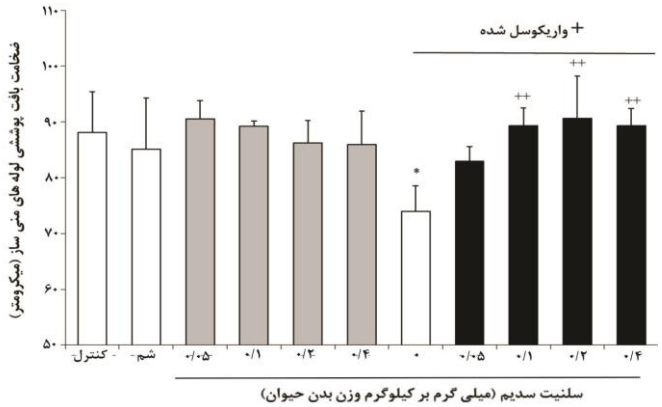
جدول ۱- مقایسه تاثیرسلنیت‌سدیم بر مشخصه‌های بافت بیضه در موش‌های صحرایی مورد مطالعه.

گروه‌ها	قطرلوله منی‌ساز(میکرومتر)	تعداد اسپرماتوسیت	تعداد لیدیگ	تعدادسرتولی
کنترل	۲٤۳/۷ ۱۵±/٦	٤۳/۵ ۳±/۱	۱۵/۳ ۲±/۷	۲۲/۵ ٤±/۳
شاهد	۲۳۹/٦ ۱۰±/۰	٤۱/۵ ۲±/٦	۱٤/۳ ۲±/٦	۲۱/۱±۰/۸
سلنیت‌سدیم (۰/۰۵ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن)	۲۵۱/۲ ۲۲±/۳	٤۱/۲ ۳±/٤	۱٦/۲ ۱±/۳	۲۵/۱ ۱±/۳
سلنیت‌سدیم (۰/۱ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن)	۲٦۸/۱ ۷±/۹**	۳۸/۱ ٦±/۵**	۱٦/٤ ۲±/۹	۳۳/۱ ۵±/۰**
سلنیت‌سدیم (۰/۲ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن)	۲٤۹/۳±۰/۰	٤۱/٤ ٤±/۲	۱٤/۲ ۱±/۱	۲۸/۸ ٤±/۹
سلنیت‌سدیم (۰/٤ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن)	۲۷٤/۳ ۱۱±/۱*	٤۱/۹ ٤±/۰	۱۵/۰±۰/٤	۲٤/۹ ۰±/٤
واریکوسل	۲۳۷/۳ ٤±/۱	۳٦/۳ ۲±/۸	۹/۵ ۱±/۲**	۱۹/۱ ۳±/۹
واریکوسل+سلنیت‌سدیم(۰/۰۵میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن)	۲۳۸/۳ ٦±/٤	٤۸/۵ ۰±/٦	۱۵/۱ ۱±/۹++	۲۳/۳ ۵±/٦
واریکوسل+سلنیت سدیم(۰/۱میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن)	۲۵۳/۷ ۵±/٤	٤۳/۱ ۳±/۱	۱٤/۰±۰/۷+	۲۰/۷ ۲±/۳
واریکوسل+سلنیت سدیم(۰/۲میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن)	۲٦۰/۸ ۱۰±/۳	۵۰/۲ ۱±/۲	۱٤/۷ ۲±/۰+	۲۳/٤ ۲±/۷
واریکوسل+سلنیت سدیم(۰/٤ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن)	۲٤۹/٦±۰/۳	٤۱/٤ ۱±/۹	۱۵/۸ ۰±/۵++	۲۳/٤ ۲±/۷

www.SID.ir

Archive of SID

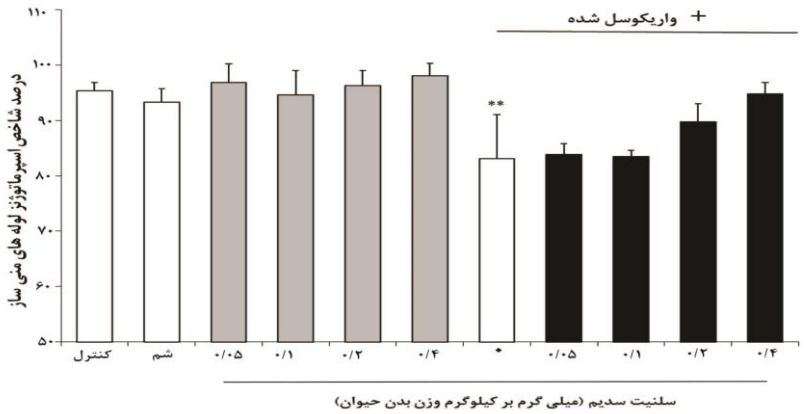
P**<۰/۰۱ ، P*<۰/۰۵ نشان دهنده اختلاف از گروه کنترل سالم می باشد. P<۰/۰۱ ++ ، P<۰/۰۵ + نشان دهنده اختلاف از گروه واریکوسل می باشد.



نمودار ۱-مقایسه تغییرات ضخامت بافت‌پوششی لوله‌های منی‌ساز بیضه در موش‌های صحرایی مورد مطالعه.

P*<۰/۰۵ ، نشان دهنده اختلاف از گروه کنترل سالم می باشد.

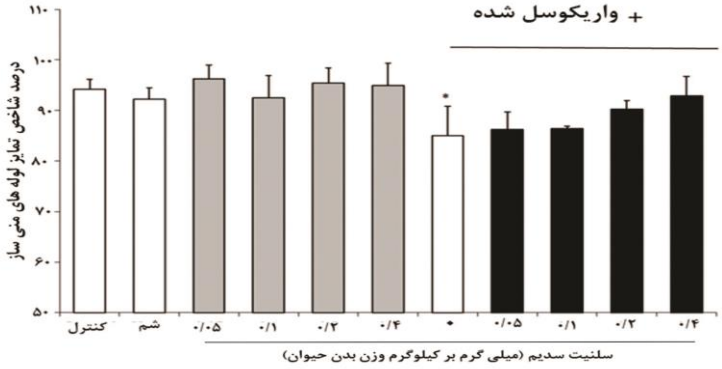
P<۰/۰۱ ++ ، نشان دهنده اختلاف از گروه واریکوسل می باشد.



نمودار ۲-مقایسه تغییرات درصد شاخص اسپرماتوژنز لوله‌های منی‌ساز بافت بیضه در موش‌های صحرایی مورد مطالعه.

P**<۰/۰۱ ، نشان دهنده اختلاف از گروه کنترل سالم می باشد.

P<۰/۰۱ ++ ، نشان دهنده اختلاف از گروه واریکوسل می باشد.



نمودار ۳-مقایسه تغییرات درصد شاخص تمایز لوله‌های منی‌ساز بافت بیضه در موش‌های صحرایی مورد مطالعه.

P*<۰/۰۵، نشان دهنده اختلاف از گروه کنترل سالم می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

تجویز سلنیت سدیم به موش‌های واریکوسلی موجب افزایش ضرایب SI و TDI در مقایسه با گروه واریکوسل گردید. همچنین، گروه‌های دریافت کننده سلنیت سدیم در مقایسه با گروه کنترل افزایش ضرایب SI و TDI را نشان دادند. از لحاظ آماری این تغییرات معنی‌دار نبودند. در مقابل، ضرایب اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز (SI و TDI) در گروه واریکوسل در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی‌دار نشان دادند ($P<0/01$) (نمودارهای ۲ و ۳).

بحث

با تجویز سلنیت‌سدیم به موش‌های واریکوسلی تجربی در مطالعه حاضر افزایش معنی‌دار ضخامت بافت پوششی لوله‌های منی‌ساز بیضه در مقایسه با گروه واریکوسل تجربی دیده شد. همچنین، میزان درصد ضرایب SI و TDI(از شاخص‌های مهم اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز ارزیابی بافتی لوله‌های منی‌ساز بیضه) تحت تأثیر وابسته به دوز سلنیت‌سدیم افزایش پیدا کرد. مطالعات مختلف در سال‌های اخیر نشان داده‌اند که ضخامت بافت‌پوششی و ضرایب اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز لوله‌های منی‌ساز بیضه از فاکتورهای بسیار مهم ارزیابی بافت بیضه در شرایط بیماری‌زا و یا سالم هستند (۱۶ و ۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تحت تأثیر شرایط واریکوسل تجربی بیضه درصد ضرایب SI و TDI و ضخامت بافت‌پوششی لوله‌های منی‌ساز بیضه در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش می‌یابد. علاوه بر این، در بیضه موش‌های صحرایی گروه واریکوسل تجربی لوله‌های منی‌ساز تحلیل‌رفته دیده شدند به‌طوریکه این لوله‌های منی‌ساز فقط توسط سلول‌های سرتولی پوشیده شده بودند. ارزیابی‌های بافت‌شناسی از بیوپسی بیضه در مردان نابارور مبتلا به واریکوسل تغییرات بافتی را در لوله‌های منی‌ساز و بافت بینابینی را نشان داده و بیان نمودند که مدل تجربی واریکوسل بافت بیضه موجب تغییرات وسیع بافتی و تغییر در میزان کلی توانایی باروری می‌گردد (۷)، که مشابه با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. Stefani و همکاران گزارش کردند که بعد از تحریک واریکوسل در موش‌های صحرایی، بافت پوششی لوله‌های منی‌ساز بیضه تنها توسط سلول‌های سرتولی پوشیده می‌شود (۷). Kass و همکاران در سال ۱۹۸۷ اختلالات بافت شناسی قابل توجهی را در بیضه نوجوانان مبتلا به واریکوسل گزارش داده‌اند (۱۲). در مطالعه حاضر، تعداد سلول‌های سرتولی در گروه واریکوسل تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان داد. سلول‌های سرتولی دارای سیتوپلاسم نسبتاً اندک و هسته کشیده با هستک کوچک هستند، و با سلول‌های زایای در حال تشکیل آمیخته شده‌اند. عملکرد این سلول‌ها پشتیبانی و تغذیه اسپرماتوزوای در حال تشکیل است. اسپرماتیدهای در حال بلوغ به غشای سلولی سلول‌های سرتولی چسبیده‌اند. هر سلول سرتولی می‌تواند بالغ بر ۵۰ سلول زایا را پشتیبانی کند. این سلول‌ها یکی از سلولهای بسیار مقاوم بدن در برابر شرایط بد تغذیه، هیپوکسی، اشعه‌ها، دما و غیره هستند (۱۸ و ۸). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که احتمالاً تعداد این سلول‌ها به شرایط واریکوسل تجربی بافت بیضه نیز مقاوم بوده و واریکوسل بر روی این سلول‌ها تأثیری ندارد. در حالی‌که تعداد سلول‌های سرتولی در گروه دریافت‌کننده سلنیت‌سدیم با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان داد. گزارش شده است که تعداد سلول‌های لوله منی‌ساز در شرایط بهبود تغذیه-ای، تحت تأثیر عصاره‌های گیاهی، افزایش تستوسترون و مواد آنتی‌اکسیدان افزایش چشمگیری می‌یابند (۱۳ و ۱) که همسو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. در مطالعات میکروسکوپ الکترونی روی بیضه افراد مبتلا به واریکوسل تغییرات فراساختاری سلول‌های سرتولی شامل واکوئله‌شدن سیتوپلاسم رأسی، اتساع شبکه اندوپلاسمی صاف و اختلال و تغییر در محل اتصال سرتولی ـ سلول زایا گزارش شده است (۵).

در مطالعه حاضر، قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه‌های دریافت کننده سلنیت‌سدیم در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار

www.SID.ir

Archive of SID

نشان داد. در حالی‌که در قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه‌های واریکوسل و واریکوسل تیمار شده با سلنیت سدیم در دوزهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. در مطالعه‌ای با بررسی بافت‌شناسی لوله‌های منی‌ساز موش گزارش شده که تحت تأثیر مواد آنتی‌اکسیدان و ویتامین E قطر لوله‌های منی‌ساز افزایش می‌یابد (۱) که با نتایج مطالعه حاضر مشابه است. از طرفی گزارش شده است که مکانیسم تأثیر واریکوسل بر روی بیضه ناشی از ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو است (۲). همچنین، گزارش شده است شرایط استرس اکسیداتیو موجب کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز بیضه می‌گردد (۱)، لذا تغییر در قطر لوله‌های منی‌سازدر بیضه موش‌های مبتلا به واریکوسل در مطالعه حاضر مغایر با نتایج مطالعات فوق می‌باشد. در مطالعه Hamada و همکاران سال۲۰۱۵ گزارش شده که هیپواسپرماتوژنز (هیپوپلازی سلول‌های زایا) که نشان‌دهنده کاهش تعداد سلول‌های زایا در لوله‌های منی‌ساز است به‌طور رایج در واریکوسل دیده می‌شود. همچنین، تغییرات بافتی تحت تأثیر واریکوسل شامل موارد: ۱- توقف بلوغ، که اختلال و شکست در فرآیند تبدیل سلول‌های زایا به مراحل بعدی و بالاتر اسپرماتوژنز است. ۲- حضور تنها سلول‌های سرتولی در غیاب سلول‌های زایا (آپلازی سلول‌های زایا) در هر مرحله از فرآیند اسپرماتوژنز که به نام سندرم «فقط ـ سلول ـ سرتولی» شناخته می‌شود و ۳- هیالینه‌شدن لوله‌ای می‌باشد. به ضخیم شدن غشاء پایه لوله‌های منی‌ساز، هیپرپلازی بافت بینابینی و وجود واکنش‌های التهابی اطراف لوله‌ای نیز اشاره شده است (۱۰). در مطالعه حاضر، تغییرات بافت بینابینی و اطراف لوله‌ای تحت تأثیر واریکوسل شامل افزایش ادم و کاهش معنی‌دار تعداد سلول‌های لیدیگ در مقایسه با گروه کنترل سالم بود که همسو با نتایج مطالعه Hamada و همکاران در سال ۲۰۱۵ می‌باشد. تجویز سلنیت‌سدیم بطور وابسته به دوز در موش‌های واریکوسلی موجب بهبود ساختار بافتی و عدم وجود ادم در بافت بینابینی لوله‌های منی‌ساز گردید. تعداد سلول‌های لیدیگ در این گروه‌ها در مقایسه با گروه واریکوسل افزایش معنی‌دار نشان دادند. همچنین، تحت ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو کاهش تعداد و اندازه سلول‌های لیدیگ بافت بینابینی و متعاقب آن کاهش هورمون تستوسترون در موش‌های صحرایی گزارش شده است (۸ و ۱) که همسو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد.

در مورد مکانیسم اثر واریکوسل اختلاف نظر وجود دارد اما مهم‌ترین مکانیسم تأثیر واریکوسل را برهم زدن تعادل پرو ـ اکسیدان/آنتی‌اکسیدان می‌دانند (۲). مروتی و همکاران در سال ۱۳۹۶ گزارش کردند که ضرایب SI و TDI به شدت تحت شرایط برهم خوردن تعادل پرو ـ اکسیدان/ آنتی‌اکسیدان موجود در بافت بیضه تنزل می‌یابند و در نهایت این امر منجر به کاهش باروری می‌گردد (۱). لذا می‌توان گفت که در مطالعه حاضر احتمالاً واریکوسل با ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو موجب کاهش ضرایب SI و TDI لوله‌های منی‌ساز و اختلال در ساختار بافتی بیضه شده است. در مقابل، سلنیوم به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی مانع ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از واریکوسل و در نتیجه بهبود ساختار بافتی بیضه شده است. همچنین، همسو با این نتایج در مطالعه حاضر، Olson و همکاران اظهار داشتند که نقص و اختلال در لوله‌های منی‌ساز و ساختار بافتی بیضه، و کاهش در تعداد و حرکت اسپرم‌ها در موش‌های صحرایی دارای کمبود سلنیوم رخ می‌دهند (۱۵). بسیاری از مدل‌های تجربی مختلف با هدف باز تولید و ایجاد الگویی مناسب از واریکوسل در انسان و در نتیجه بهبود دانش فیزیوپاتولوژی این بیماری مطرح شده است. مدل موش صحرایی به دلیل خرید، زاد و ولد ارزان، طول دوره اسپرماتوژنز یکسان (حدود ۶۰ تا۷۰ روز) و مشابهت آناتومی و ساختار بافتی بیضه آن با انسان می‌تواند بهترین انتخاب باشد (۷ و ۱۸). برای شناسایی مسیرهای دقیق سیگنالینگ مولکولی و سلولی اثرات سلنیوم بر روی ساختار بافتی در بیضه موش‌های صحرایی تحریک شده با واریکوسل تحقیقات کامل‌تری لازم می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

در مجموع می‌توان گفت که ایجاد واریکوسل تجربی در موش‌های صحرایی باعث ایجاد اختلال در ساختار بافتی و کاهش پارامترهای هیستومتری بیضه می‌گردد.

نتایج مطالعه حاضرنشان می دهد که تیمار با سلنیت‌سدیم میزان فعالیت، عملکرد و ساختار بافتی لوله‌های منی‌ساز بیضه را بهبود بخشیده وسلنیوم به‌صورت وابسته به دوز اثرات بازدارندگی قوی بر اثرات مخرب واریکوسل در بافت بیضه موش‌های مبتلا دارد.

فهرست منابع

۱- مروتی، ح.، مرادی، ح.ر.، ادیب مرادی، م.، شیبانی، م.ت.، سالار آملی، ج. (۱۳۹۶): تأثیر عصاره جوانه گندم بر ساختار هیستولوژیک و هیستومتریک بیضه و پارامترهای اسپرم موش صحرایی مواجهه شده با سرب، مجله دانشکده دامپزشکی تهران، ۷۲ (۱): ۱۰۱-۸۷.

2- Agarwal, A., Sharma, R.K., Desai, N.R., Prabakaran, S., Tavares, A., Sabanegh, E. (2009): Role of oxidative stress in pathogenesis of varicocele and infertility. Urology. 73(3): 461-469.

3- Azizollahi, G., Azizollahi, S., Babaei, H., Kianinejad, M., Baneshi, M.R., Nematollahi-mahani, S.N. (2013): Effects of supplement therapy on sperm parameters, protamine content and acrosomal integrity of varicocelectomized subjects. J. Assist. Reprod. Genet. 30(4): 593-599.

4- Behne, D., Weiler, H., Kyriakopoulos, A. (1996): Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats. J. Reprod. Fertil. 106(2): 291-297.

5- Cameron, D.F., Snydle, F.E., Ross, M.H., Drylie, D.M. (1980): Ultrastructural alterations in the adluminal testicular compartment in men with varicocele. Fertil. Steril. 33(5): 526-533.

6- Chabory, E., Damon, C., Lenoir, A., Henry-Berger, J., Vernet, P., Cadet, R., Saez, F., Drevet, J.R. (2010): Mammalian glutathione peroxidases control acquisition and maintenance of spermatozoa integrity1. J. Anim. Sci. 88(4): 1321-1331.

7- De Stefani, S., Silingardi, V., Micali, S., Mofferdin, A., Sighinolfi, M.C., Celia, A., Bianchi, G., Giulini, S., Volpe, A., Giusti, F. (2005): Experimental varicocele in the rat: early evaluation of the nitric oxide levels and histological alterations in the testicular tissue. Andrologia. 37(4): 115-118.

8- Dorostghoal, M., Seyyednejad, S., Jabari, A. (2014): Protective effects of Fumaria parviflora L. on lead-induced testicular toxicity in male rats. Andrologia. 46(4): 437-446.

9- Garg, H., Kumar, R. (2016): An update on the role of medical treatment including antioxidant therapy in varicocele. AJA. 18(2): 222-228.

10- Hamada, A., Esteves, S.C., Agarwal, A. (2015): Varicocele and male infertility: current concepts, controversies and consensus. Springer, USA.

11- Hsu, G.L., Ling, P.Y., Hsieh, C.H., Wang, C.J., Chen, C.W., Wen, H.S., Huang, H.M., Einhorn, E.F. (2005): Tseng, Guo-Fang. Outpatient varicocelectomy performed under local anesthesia. AJA. 7(4): 439-444.

12- Kass, E.J., Chandra, R.S., Belman, A.B. (1987): Testicular histology in the adolescent with a varicocele. Pediatrics. 79(6): 996-998.

13- Morovvati, H., Najafzadehvarzi, H., Rashidi, K. (2013): Effect of urtica dioica extract on histological and histometrical changes of testis of hamster after testosterone administration. ZJRMS. 15(11): 4-8.

14- Mostafa, T., Anis, T., El-Nashar, A., Imam, H., Othman, I.A. (2001): Varicocelectomy reduces reactive oxygen species levels and increases antioxidant activity of seminal plasma from infertile men with varicocele. Int. J. Androl. 24(5): 261-265.

15- Olson, G.E., Winfrey, V.P., Hill, K.E., Burk, R.F. (2004). Sequential development of flagellar defects in spermatids and epididymal spermatozoa of selenium-deficient rats. Reproduction. 127(3): 335-342.

www.SID.ir

Archive of SID

16- Rezvanfar, M., Sadrkhanlou, R., Ahmadi, A., Shojaei-Sadee, H., Rezvanfar, M., Mohammadirad, A., Salehnia, A., Abdollahi, M. (2008): Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. Hum. Exp. Toxicol. 27(12): 901-910.
17- Sun, H.J., Rathinasabapathi, B., Wu, B., Luo, J., Pu, L.P., Ma, L.Q. (2014): Arsenic and selenium toxicity and their interactive effects in humans. Environ. Int. 69: 148-158.
18- Treuting, P.M., Dintzis, S.M. (2011): Comparative anatomy and histology: a mouse and human atlas (expert consult). Academic Press, USA. P: 285-308.

www.SID.ir