مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد
سال دوازدهم ، شماره دوم ، تابستان ۱۳۸۳، ص ۷۳

تأثیر درازمدت ضایعه نخاعی بر روی پارامترهای اسپرم رت بالغ

ابوالقاسم عباسی‌سرچشمه [۱] ، دکتر محمدعلی خلیلی [۲] ، دکتر مرتضی انوری [۳]

چکیده

مقدمه: ضایعه نخاعی SCI (Spinal Cord Injury) یک مشکل جدی در سلامت جامعه بشری می‌باشد که خود شخص، خانواده و همچنین جامعه را گرفتار می‌سازد. مطالعات نشان داده است که حدود ۸۰٪ قربانیان SCI، مردان می‌باشند. در سالهای اخیر مطالعات گسترده ای در مورد تأثیر کوتاه مدت و درازمدت SCI بر روی پتانسیل باروری و دوره اسپرماتوژنز در حیوانات آزمایشگاهی به انجام رسیده است که SCI می‌تواند دوره سلولهای اسپرماتوژنز را در حیوانات تحت الشعاع خود قرار دهد. هدف از این مطالعه تجربی آینده نگر، بررسی تأثیر ضایعه نخاعی درازمدت بر روی پارامترهای اسپرم و نیز سلولهای گرد ناحیه اپیدیدیم در رتهای بالغ می‌باشد.

روش بررسی: رتهای بالغ نژادWistar در دامنه وزنی ۲۲۵ الی ۲۷۵ گرم به سه گروه: کنترل (۵ سر)، Sham (۱۰ سر) و در گروه آزمایش ضایعه نخاعی شامل (۱۰ سر) رت تقسیم گردیدند. بر روی حیوانات گروه کنترل هیچگونه عمل جراحی انجام نگردید، حیوانات گروه شم فقط در سطح مهره T10 عمل لامینکتومی شدند و در مورد گروه ضایعه نخاعی پس از عمل لامینکتومی با وزنه ای معادل ۱۰ گرم از ارتفاع ۵ سانتی متری در محل لامینکتومی بر روی نخاع ضربه وارد شد. همه رتها پس از ۵۰ روز (یک سیکل اسپرماتوژنز در رت) نگهداری و مراقبت ویژه، بخشی از ناحیه دم اپیدیدیم آنها طی عمل جراحی برداشته شد. پارامترهای اسپرم از قبیل تعداد ، تحرک ، مورفولوژی و همچنین تعداد سلولهای گرد غیراسپرمی، با کمک Makler Chamber و رنگ آمیزی گیمسا ارزیابی شدند.

یافته‌ها: تحرک پیشرونده بطور معنی‌داری در گروه ضایعه نخاعی کاهش یافت ($p<0.05$). درصد مورفولوژی طبیعی اسپرم در گروه کنترل ۱ $\pm$ ۹۹ بود که بطور معنی‌داری در گروه ضایعه نخاعی به ۳۷/۶۴±۷۴/۹ کاهش یافت. بعلاوه، تعداد اسپرم $X10^6$ در رتهای گروه کنترل و ضایعه نخاعی بترتیب۱۲/۴۳±۶۹/۲ و ۱۳/۶۸±۲۵ بودند ($p<0.01$). همچنین تعداد سلولهای گرد در گروه ضایعه نخاعی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که پارامترهای تحرک پیشرونده ، مورفولوژی و همچنین تعداد اسپرم بطور معنی‌داری بدنبال ضایعه نخاعی درازمدت در رت کاهش یافت که این امر می‌تواند موجب اختلال در پتانسیل باروری اسپرم گردد.

واژه‌های کلیدی: ضایعه نخاعی، پارامترهای اسپرم، رت، سلول گرد

مقدمه

ضایعه نخاعی (SCI) آسیبی است فاجعه مانند، همراه با عواقب متعدد و غیرقابل پیش بینی که مهمترین عوامل ایجاد آن تروما به نخاع بر اثر تصادفات، اصابت تیر و ترکش خمپاره، سقوط، تومور، اختلالات مادرزادی بیماریهای دژنراتیو و عروقی و عفونی نخاع و اعمال جراحی نادرست می‌باشد. حدود ۶۲٪ از ضایعات نخاعی، جوانانی با سن ۳۰-۱۵ سال هستند که جنس

۱- مربی گروه مورفوآناتومی
۲و۳- استادیار گروه مورفوآناتومی - مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

مذکر حدود ۸۰٪ گروه مبتلا را تشکیل می‌دهد[۱]. امروزه در کشور ما به علت جنگ تحمیلی، زلزله و بی‌توجهی قشر جوان به مقررات راهنمایی و رانندگی بیماران ضایعه نخاعی حتی با قطع کامل نخاع دیده می‌شود. از جمله دستگاههایی که تحت تأثیر ضایعه نخاعی قرار می گیرد ، دستگاه تولیدمثل است که می‌تواند مشکل ناباروری و یا کاهش باروری را در افراد جوان ایجاد نماید بنابراین نباید از وضعیت تولیدمثل این دسته از افراد که اکثراً مجرد و یا تازه متأهل هستند غافل گردید[۲]. به همین علت بررسی و مطالعه دقیق تأثیر درازمدت SCI بر روی کیفیت اسپرم حایز اهمیت می‌باشد. اخیراً تحقیقات وسیعی در زمینه تأثیر SCI کوتاه و یا درازمدت بر پتانسیل باروری اسپرم و دیگر سلولهای دوره اسپرماتوژنز در حیوانات آزمایشگاهی صورت پذیرفته است. در این راستا، Hirsch و همکاران (۱۹۹۹)، میزان اسپرماتوژنز در مراحل کوتاه مدت(۲هفته) و درازمدت(۲۰هفته) بعد از ایجاد ضایعه نخاعی در ۳۵ رت بالغ را بررسی کردند[۳]. نتایج مطالعه آنها نشان داد که اختلالات اسپرماتوژنز حتی در دوره کوتاه مدت بعد از ضایعه SCI نیز وجود دارد.

Huang و همکاران، میزان کاهش و بهبودی عمل اسپرماتوژنز بعد از SCI درازمدت (بیش از ۴هفته) را در رت بررسی کردند[۴]. البته آنها در پژوهش قبلی خود، گزارش کرده بودند که تغییرات در اسپرماتوژنز در رتهای بالغ SCI در مرحله کوتاه مدت (پس از دو هفته) نیز با کاهش محور هیپوفیز- بیضه‌ای مرتبط است[۵] . آنان در مطالعه اخیر خود نتیجه گرفتند اگر چه میزان هورمونهای جنسی در سرم رتهای SCI در طی یک ماه بهبود می‌یابد ولی دوره اسپرماتوژنز تحلیل رفته و بعد از سه ماه میزان اسپرماتوژنز در ۷۰٪ رتهای SCI کاملاً کاهش می‌یابد و با رژیم دارویی و تزریقات تستوسترون هم اصلاح نمی‌شود. این نتایج تعیین کرد که SCI موجب تحلیل اسپرماتوژنز شده ولی این عمل قابل برگشت است. همچنین فاکتورهای غیرهورمونی در تأثیرSCI بر دوره اسپرماتوژنز دخالت دارند. تجمع سلولهای سرتولی غیرطبیعی در بیضه‌های تحلیل رفته ، به دنبال عدم تکثیر سلولهای اسپرماتوگونی صورت می گیرد که ممکن است در برگشت اسپرماتوژنز بعدی دخیل باشد[۴]. در رت، تحلیل اسپرماتوژنز در طی مراحل مزمن SCI در حضور عملکرد طبیعی محور هورمونی هیپوفیز- بیضه‌ای رخ می‌دهد. بنابراین ، حدس زده می‌شود که مکانیسمهای غیرهورمونی ممکن است در پسرفت اسپرماتوژنز دخالت داشته باشند[۵]. در مطالعه Chow و همکاران بیان گردیده که قطع رشته‌های عصبی به بیضه در روند پسرفت اسپرماتوژنز نقش دارد و چهار هفته بعد از قطع عصب، وزن بیضه‌ها ۲۵٪ کمتر از بیضه‌های رتهای گروه شم بودند ($p<0.01$) . نقایص در اسپرماتوژنز شامل فاگوسیتوز اسپرماتیدهای بالغ، واکولاسیون هسته اسپرماتید، تأخیر در شکل گیری اسپرم و ارتباطات سلولی ناقص در ۶۰٪ لوله‌ها مشاهده شد. در حالی که تنها با قطع عصب اسپرماتیک بطور معنی‌داری روی اسپرماتوژنز تأثیر گذاشت، که این امر تأیید می کند که آسیب عصب اسپرماتیک بر روی اسپرماتوژنز تأثیر می گذارد[۶]. با توجه به مطالب تحقیقی فوق، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر ضایعه نخاعی درازمدت برروی پارامترهای اسپرم و نیز سلولهای گرد استخراج شده از ناحیه دم اپیدیدیم رتهای بالغ بود.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی و به روش آینده نگر بر روی رتهای نربالغ و جوان از نژاد Wistar با وزن ۲۲۵ الی ۲۷۵ گرم (۱۲-۱۰ هفته) که از لانه حیوانات دانشکده پزشکی شهید صدوقی یزد تهیه شده بودند ، انجام شد. در روش انجام کار ۲۵ سر رت در سه گروه کنترل ، Sham و SCI مورد بررسی قرار گرفت.

۱- گروه کنترل: تعداد ۵ سر رت هر کدام جداگانه به مدت ۵۰ روز در قفس نگهداری شده و سپس با انجام عمل بیهوشی از ناحیه دم اپیدیدیم نمونه برداری شد و پارامترهای اسپرم از قبیل تعداد اسپرم به میلیون در هر میلی لیتر نمونه ($X10^6$) درصد تحرک پیشرونده و درجا، مرفولوژی طبیعی و نیز سلولهای گرد (Round Cells) مثل لکوسیتها و سلولهای ژرمینال نابالغ بررسی گردید.

۲- گروه Sham : تعداد ۱۰ سر مورد عمل لامینکتومی قرار

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

گرفتند. نحوه آزمایش روی اینها بدین ترتیب بود که قبل از عمل جراحی، وزن رتها مشخص شد و سپس جهت بیهوش کردن، ترکیبی از داروی کتامین (80mg/kg) و زایلیزین(10mg/kg) بر اساس وزن آنها تزریق گردید. و پس از بیهوشی کامل به منظور جلوگیری از خشکی قرنیه یک قطره Mineral.Oil در هر کدام از چشمهای آنها ریخته شد. سپس موهای موجود در ناحیه پشتی تنه رت تراشیده و پس از ضدعفونی با الکل و بتادین در زیر میکروسکوپ جراحی با برش دادن پوست این ناحیه و کنار زدن عضلات پاراورتبرال عمل لامینکتومی در محل مهره T10 انجام شد. علامت مهم جهت پیدا کردن این مهره، چسبیدن زایده خاری آن با زایده خاری مهره پایینی آن می‌باشد[۳]. سپس عضلات و پوست این ناحیه را بطور جداگانه بخیه و محل جراحی با محلول هیدروژن پراکسید و بتادین ضدعفونی گردید. سپس مقدار ۱۰ سی سی سرم فیزیولوژیک بطور زیر جلدی تزریق شد. همچنین با تهیه داروی آنتی‌بیوتیک سفازولین که هر آمپول با ۱۰ سی‌سی آب مقطر مخلوط کرده و به مدت ۵ روز با ۰/۲ سی‌سی بطور زیر جلدی تزریق گردید. هر کدام از رتها در قفسهای جداگانه با مراقبت کامل نگهداری شدند و پس از ۵۰ روز نگهداری، مانند گروه کنترل عمل نمونه برداری انجام شد و سپس پارامترهای اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی گیمسا در Makler Chamber مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفت[۸].

۳- گروه SCI : تعداد ۱۰ سر رت همانند گروه Sham لامینکتومی شده و با توجه به دستورالعمل Hirsch و همکاران به روش زیرSCI گردیدند. ابتدا با قرار دادن رت در زیر یک دستگاه ساده که از پیش طراحی شده بود، یک وزنه به میزان ۱۰ گرم با قطر ۲/۵ میلیمتر از فاصله ۵ سانتی‌متری بطور مستقیم به نخاع در محل T10 ضربه وارد شد[۳]. سپس در زیر میکروسکوپ تشریحی با رؤیت کبودی در ناحیه نخاع، ضایعه نخاعی قابل تشخیص بود و همانند گروه قبلی ، پوست را بخیه کرده و مراقبتهای ضدعفونی و تزریق بعد از عمل انجام می‌گرفت.

رتهای گروه SCI بعلت فلج شدن پاها و احتباس ادراری ناشی از ضربه به نخاع احتیاج به مراقبت دقیق‌تر و کامل‌تری داشتند که بایستی در این مدت ۵۰ روز بخصوص در روزهای اولیه انجام می‌گردید. بنابراین، هر روز در دو نوبت با فشار دادن مثانه، ادرار آنها تخلیه میگردید تا دچار پارگی مثانه و یا عفونت ادراری نگردند. پس از مدت ۵۰ روز با بیهوشی کامل، اپیدیدیم تشریح شده و پارامترهای اسپرم بررسی گردیدند.

تهیه بافت نخاع

جهت بررسی ساختمان آناتومیکی بافت نخاع از ناحیه T10 رتهای گروه کنترل و SCI برشهای عرضی تهیه گردید. بدین منظور پس از انجام برش عرضی از ناحیه مزبور و فیکس نمودن در محلول فیکساتیوفرمالین ۱۰٪ مراحل آبگیری و رنگ آمیزی اختصاصی انجام گرفت و تعدادی لام میکروسکوپی تهیه گردید تا بوسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۲۰۰ مورد مطالعه مورفولوژیکی قرار گرفتند.

مشکلات اجرایی

انجام این تحقیق همراه با مشکلات زیادی از جمله تلف شدن رتها در مراحل متعدد لامینکتومی، ضایعه نخاعی و نگهداری پس از آن بود. بطوری که در مجموع ۶۴ سر رت که مورد آزمایش قرار گرفتند، فقط ۲۵ سر زنده ماندند مهمترین مشکل نگهداری رتهای SCI بمدت ۵۰ روز بود. بیشترین تلفات مربوط به گروه SCI بخصوص در دو هفته اول بعد از عمل جراحی بود که علت آن زخم کردن و خوردن پنجه‌های پا بر اثر بی‌حسی و در نتیجه عفونت شدید یا پاره شدن مثانه بطور خودبخود بر اثر احتباس ادراری و یا پاره شدن آن در حین تخلیه بر اثر فشار بوده است. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه های چندگانه استفاده گردید و $p<0.05$ معنی‌دار محسوب شد.

نتایج

وضعیت عمومی حیوانات پس از عمل جراحی: تعداد ۵ حیوان حین عمل بیهوشی تلف شدند. همچنین تعداد ۹ سر رت در حین عمل SCI و تعداد ۲۵ سر رت در مراحل بعد از عمل جراحی نظیر پارگی مثانه در حین تخلیه مثانه و یا عفونت بر اثر جویدن دست و پایشان از بین رفتند. شایان ذکر است که تمام حیوانات فوق از دور مطالعه خارج گردیدند. بعد از عمل SCI و به هوش

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

آمدن رتها، اندام تحتانی آنها بطور کامل بی حرکت بود و به مرور زمان وضعیت حرکتی آن بهبود یافت.

هیستولوژی بافت نخاع: بافت نخاعی حیوان در دو گروه کنترل و SCI مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفته و دو لایه سفید و خاکستری به همراه ساختار سلولی در نمونه‌ها مورد مقایسه قرار گرفتند. دو لایه سفید و خاکستری نخاع از حیوان گروه کنترل دارای مورفولوژی کاملاً طبیعی بود و رشته‌های عصبی و سلولهای نورونی دارای وضعیت طبیعی بودند. اما، نتایج نشان داد که ساختار و نظم دو لایه سفید و خاکستری حیوان SCI کاملاً غیرطبیعی و وضعیت پروانه ای شکل لایه خاکستری کاملاً مخدوش شده بود. ادم سلولی و آسیب رشته‌های عصبی از دیگر تغییرات مورفولوژیکی نمونه‌های نخاع گروه SCI بود.

وضعیت پارامترهای اسپرم ناحیه اپیدیدیم: نتایج نشان داد که درصد تحرک پیشرونده اسپرم استخراج شده از ناحیه اپیدیدیم در حیوانات گروه SCI کاهش شدیدی پیدا کردند (ازمیزان ۱۷/۵۳ ± ۲۳/۶۰ به ۴/۷۳±۲/۲۰ درصد ($p<0.05$) . همچنین، تعداد اسپرم به میلیون در هر میلی‌لیتر نمونه در حیوانات SCI کاهش شدیدی نشان داد. با این وجود تعداد سلولهای گرد در حیوانات Sham افزایش شدیدی پیدا کرد (کنترل۰/۸۰±/۵۷ به ۳۱/۴۸±۱۰/۴۰ ، $p<0.01$). پارامتر مورفولوژی طبیعی اسپرم در گروه Sham و SCI در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان داد ولی این کاهش فقط در گروه SCI در مقایسه با حیوانات گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار بود (جداول۱و۲). بطورکلی، نتایج نشان داد که آسیب نخاعی در درازمدت باعث کاهش پارامترهای اسپرم شده است.

جدول۱ : مقایسه پارامترهای تحرک و مرفولوژی اسپرمهای حاصله از ناحیه اپیدیدیم در سه گروه مورد مطالعه

گروه	درصدتحرک پیش‌رونده	درصدتحرک درجا	درصدمرفولوژی طبیعی
کنترل	۲۳/۶۰±۱۷/۵۳	۵۶/۰±۱۷/۶۷	۹۹/۰±۱/۰
Sham	۱۵/۹۰±۲۱/۱۱	۴۷/۴۰±۲۲/۴۹	۹۲/۵۰±۵/۸۱
SCI	۲/۲۰±۴/۷۳ (۱)	۴۶/۹۰±۲۸/۶۰	۷۴/۹۰±۳۷/۶۴ (۱)

Sham= حیواناتی که فقط عمل Laminectomy بر روی آنها انجام شد.

SCI= حیواناتی که بعد ازعمل Laminectomy ، ضایعه نخاعی بر روی آنها انجام گردید.

جدول۲.مقایسه پارامترهای تعداد اسپرم و سلول گرد حاصله از ناحیه اپیدیدیم رت

گروه	تعداد اسپرم $X10^6$	سلول گرد $X10^6$
کنترل	۶۹/۲۰±۱۲/۴۳	۰/۸۰±۰/۵۷
Sham	۵۲/۸۰±۱۳/۵۳ (۳)	۱۰/۴۰±۳۱/۴۸ (۳)
SCI	۲۵/۰±۱۳/۶۸ (۲)	۴/۱۰±۷/۴۷

(۱)مقایسه گروه SCI با کنترل ($p<0.05$)

(۲) مقایسه گروه SCI با کنترل ($p<0.01$)

(۳) مقایسه گروه Sham با کنترل ($p<0.01$)

بحث

اخیراً تحقیقات وسیعی در زمینه تأثیر ضایعه نخاعی کوتاه و یا درازمدت بر پتانسیل باروری اسپرم و دیگر سلولهای دوره اسپرماتوژنز در حیوانات آزمایشگاهی صورت پذیرفته است [۶،۳]. Huang در مطالعه ای وضعیت اسپرماتوژنز بعد از ایجاد SCI درازمدت در رت بالغ بررسی نمود [۳]. نتایج او نشان داد که در طی یک ماه اول هورمونهای جنسی به وضعیت طبیعی خود بازگشت نمودند. در ضمن، بعد از سه ماه، دوره اسپرماتوژنز در ۷۰ درصد از رتهای SCI هنوز دچار اختلال بوده که بیشترین آسیب مربوط به سلولهای اسپرماتوگونی بود. با این حال، دوره فعال اسپرماتوژنز در ۹ سر از رتها بعد از ۶ ماه مشاهده شد. نتایج کلی نشان داد که SCI باعث آسیب شدید به سلولهای اسپرماتوژنز گردیده که به مرور زمان قابل بازگشت می‌باشد. قابل توجه آنکه Huang و همکاران گزارش نمودند که تغییرات اسپرماتوژنز تحت تأثیر هورمونهای جنسی نمی‌باشد و احتمالاً فاکتورهای غیرهورمونی در تحلیل دوره اسپرماتوژنز بعد از SCI دخیل می‌باشند[۳]. در مطالعه حاضر فقط تأثیر SCI درازمدت بر روی پارامترهای اسپرم تهیه شده از ناحیه دم اپیدیدیم که شامل تعداد، درصد مورفولوژی، درصد تحرک پیشرونده و درجا و تعداد سلول گرد بود، مورد مطالعه قرار گرفت. از آن جایی که اپیدیدیم محلی برای ذخیره، تکامل و تحرک نهایی اسپرمها می‌باشد لذا از ناحیه دم اپیدیدیم نمونه‌برداری شد تا اسپرمها حداکثر بلوغ خود را بدست آورده باشند. شایان ذکر است که

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

هدف اصلی از ایجاد SCI که بروش استاندارد انجام پذیرفت نوع درازمدت آن بود تا یک دوره اسپرماتوژنز که در رت بیش از ۴۰ روز می‌باشد طی گردد. بنابراین، تغییرات پارامترهای اسپرم نشانگر تأثیر SCI بر روی آنها می‌باشد. شایان ذکر است که روش ضایعه نخاعی درازمدت با مشکلات عدیده ای نظیر عفونت، پارگی مثانه در حین تخلیه و بطور کلی با افزایش مرگ و میر حیوانات روبروست زیرا حیوانات را باید برای ۵۰ روز پس از ایجاد SCI در لانه حیوانات نگهداری نمود. از جمله نتایج مهم، پارالیز شدن رتها بعد از دوره حاد ضایعه نخاعی در تحقیق ما بود که بتدریج تحرک حرکتی خود را به مرور زمان باز یافتند که این مسئله با مطالعه Huang و همکاران نیز همخوانی دارد[۵]. اما کاهش وزن در حیوانات SCI بعد از مرور زمان مشاهده نگردید. آسیب طولانی مدت سلولهای دوره اسپرماتوژنز در رتهای SCI طولانی مدت نشانگر اثر طولانی مدت تأثیر SCI بر روی دوره اسپرماتوژنز می‌باشد. این ممکن است در رابطه با اختلال در عملکرد سلولهای سرتولی باشد چرا که Huang و همکاران در مطالعه خود بیان نمودند که سلولهای اسپرماتوژنیک که آسیب ژنتیکی دیده باشند قبل از دوره اسپرماتوژنز از بین می روند[۹].

همچنین عوامل عصبی می‌توانند در عملکرد و کنترل سلولهای سرتولی نقش داشته باشد. بنابراین سلولهای سرتولی آسیب دیده از SCI نمی‌توانند نقش حیاتی خود را در اسپرماتوژنز انجام دهند که احتمالاً به علت اختلال در پالسهای عصبی باشد. در نتیجه اسپرماتیدهای معیوب ممکن است اختلالات اسپرمی را در طی دوره اسپرماتوژنز بوجود آورند و تغییرات پارامترهای اسپرمی را باعث شوند[۱۰] در این تحقیق، فقط از ناحیه دم اپیدیدیم حیوانات نمونه‌گیری شد تا بتوان تحرک پیشرونده و درجا با Makler Chamber مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گیرد. بیشترین آسیب به تحرک پیشرونده وارد شده بود که از میزان ۲۴٪ در حیوانات سالم گروه کنترل به میزان ۲٪ حیوانات SCI کاهش یافتند. البته باید توجه داشت که میزان تحرک پیشرونده در حیوانات گروهSham حدود ۱۶٪ بود که این کاهش در مقایسه با گروه کنترل احتمالاً می‌تواند به علت استرس وارده به حیوانات این گروه در طی عمل بیهوشی و عمل Laminectomy باشد. قابل توجه آنکه اگر چه تحرک در جای اسپرم بعد از SCI تحت تأثیر قرار گرفته بود ولی این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مطالعه‌ای دیگر که توسط Ohl و همکاران انجام گرفت، تأثیر SCI (در ناحیه T7) بر روی تغییرات اسپرماتوژنز و مایع انزال تعداد ۷ سگ بررسی شد[۱۱]. نتایج آنها نشان داد که سه هفته بعد از آسیب نخاعی تحرک اسپرمها از ۶۲/۹٪ به ۲۰/۱٪ کاهش یافت و همچنین شمارش اسپرمها به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. در مطالعه ما، تعداد اسپرم در گروه کنترل $۶۹/۲۰ \times ۱۰^{۶}$ بود که به حد ۲۵×۱۰^{۶} در حیوانات ضایعه نخاعی کاهش معنی‌دار یافته بود. البته باید توجه داشت که Ohl و همکاران مطالعه را بر روی سگ انجام داده بودند و فقط پارامتر تعداد اسپرم را در ناحیه بیضه مطالعه کرده بودند. کمتر مطالعه‌ای در زمینه اثر SCI درازمدت بر روی پتانسیل باروری و یا پارامترهای اسپرمی استخراج شده از ناحیه اپیدیدیم انجام شده است. همچنین جالب توجه آنکه در این تحقیق، وضعیت سلولهای گرد ناحیه اپیدیدیم نیز مطالعه گردید. نتایج نشان داد که SCI درازمدت باعث افزایش تعداد سلول گرد می‌شود که احتمالاً به علت واکنش سلولهای گرد از جمله گلبولهای سفید نسبت به تغییرات پارامترهای اسپرمی بعد از ضایعه نخاعی باشد. همچنین Billups و همکاران متوجه شدند که تحرک اسپرمهای ناحیه اپیدیدیم رت بعد از ایجاد SCI کاهش می‌یابد. در این مرحله آنها بیان نمودند که احتمالاً اتیولوژی این اختلال در رابطه با تغییرات نورولوژیکی باشد[۱۲]. در تحقیقی دیگر توسط Hirsch و همکاران تغییرات اسپرماتوژنز در تعداد ۹ رت مشاهده شد. همچنین تست Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA) بیانگر آن بود که ساختار هسته اسپرمهای حاصله از ناحیه اپیدیدیم در هفته ۱۲-۲ بعد از SCI دچار تغییرات مورفولوژی می‌شود. بطور کلی نتایج آنها نشان داد که تغییرات اسپرمی در ناحیه اپیدیدیم و اسپرماتوژنز از دو هفته بعد از مرحله حاد SCI شروع می‌شود و می‌تواند برای چندین هفته ادامه داشته باشد. این تغییرات می‌تواند به علت اختلالات در سیستم حرارتی بیضه بعد از SCI ایجاد شود که اتیولوژی آن به denervation برمی‌گردد[۳]. مطالعات Bindley نیز نشان داد که عمل

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

denervation باعث افزایش درجه حرارت ناحیه اسکروتوم و بیضه مردان ضایعه نخاعی می‌شود که این باعث کاهش کیفیت سمن می گردد[۱۳]. شایان ذکر است که گروه تحقیقاتی Hirsch فرضیه ارتباط اختلالات هورمونی بعد از SCI و تأثیر آن بر روی اسپرم و دوره اسپرماتوژنز را مطرح نمودند. آنها به استناد نتایج خود بیان کردند که اختلالات تولید مثلی تا چهار ماه بعد از SCI در رت مشاهده گردید که این موضوع نیز حایز اهمیت بوده که تغییرات هورمونهای جنسی در دوره کوتاه مدت SCI مشاهده شده است ولی حتی با بازگشت تغییرات هورمونی به وضعیت نرمال ، اختلالات اسپرمی و اسپرماتوژنز برای ماهها در حیوانات و سالها در انسانها وجود دارد. آنچه در حال حاضر مشخص شده این است که SCI باعث تغییرات اسپرماتوژنز در انسان و همچنین حیوانات می‌شود که این در دوره کوتاه مدت و درازمدت SCI مشاهده گردیده است[۳]. همچنین Chow و همکاران با انجام Chronic SCI در رت بیان نمودند که اختلالات اسپرماتوژنز حاصله بعد ازSCI درازمدت وابسته به اتیولوژی آندوکرینی نیست. آنها نشان دادند که نواقص عصبی، به خصوص در عصب Superior Spermatic Nerve (SSN) می‌تواند باعث اختلالات اسپرماتوژنز بعد از ایجاد SCI شود. این عصب، عروق بیضه ای و قسمت بالایی بیضه (Upper Testicular Pole) را عصب‌دهی می‌کند[۶]. البته باید توجه داشت که احتمالاً تغییرات اولیه در دوره حاد SCI می‌تواند ناشی از اختلالات هورمونی باشد. بطور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که پارامترهای اسپرم و همچنین سلولهای غیر اسپرمی استخراج شده از ناحیه اپیدیدیم رت بالغ می‌تواند تحت تأثیر SCI درازمدت قرار گیرد. در این راستا باید توجه داشت که بیشترین آسیب به وضعیت تحرک پیشرونده، مرفولوژی طبیعی و تعداد سلول اسپرمی می‌باشد که همگی به طور قابل چشمگیری کاهش یافتند. در ضمن نتایج نشان داد که حتی عمل Laminctomey باعث کاهش وضعیت پارامترهای اسپرمی و افزایش تعداد سلول گرد شود که احتمالاً به علت استرس وارده به حیوان در طی عمل جراحی و دوره بعد از عمل می‌باشد. با توجه به نتایج حاصله، SCI درازمدت می‌تواند باعث کاهش پتانسیل باروری اسپرم در حیوان آزمایشگاهی شود.

سپاسگزاری

مقاله حاضر نتیجه مطرح تحقیقاتی مصوب در مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری دانشگاه می‌باشد که بدین وسیله از همکاری آقایان : دکتر عباس افلاطونیان ریاست محترم مرکز و مدیریت پرتلاش آن ، محمدعلی شیروانی که در زمینه اجرای این پژوهش همکاری داشته‌اند و نیز از زحمات دکتر حسین فلاح‌زاده مشاور آماری، دکترعلیرضا طالبی، دکتر حسین هادی ودکتر فرزاد سعدلو مشاورین علمی تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

References

1- Rajasekaran M , Monga M . ***Cellular and Molecular Causes of Male Infertility in Spinal Cord Injury.*** J. Andrology , 1999 , 20:326-30.

2- Khalili MA , Rabchevsky AG. ***Restoration of spermatogenesis by adenoviral gene transfer into injured spinal cord of rats.*** Iranian J. Rep.Med , 2003 , 1:7-11.

3- Hirsch I , Huang B , Chancellor M , Ravis D, Salzman S , Jost L, Evenson D. ***Spermatogenesis in early and chronic phase of experimental spinal cord injury in the rodent model.*** J.Andrology , 1999 , 20:63-74.

4- Huang HF, Linsenmeyer TA, Anesetti R, Giglio W, Ottenweller JE, pogach L. ***Suppression and***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]

recovery of spermatogenesis following spinal cord injury in the rat. J.Andrology , 1998 ,19:72-80.

5- Huang HF, Lisenmeyer TA. LIMT. Giglio W. Anesetti R , Von Hagen J , oottenweller JE, Serenas C , Pogach L. ***Acute effects of spinal cord injury on the pitutary-testicular hormon axis and sertoli cell functions: a time course study.*** J.Andrology , 1995 , 16: 148-157 .

6- Chow SH, Giglio W, Anesetti R, Ottenweller JE, Pogach LM, Huang HF. ***The effects of testicular denervation on spermatogenesis in the sprague-dawley rat .*** J Neuroendocrinology , 2000 , 72(1): 37-45 .

7- Rabchevsky AG , Fungaccia I , Sullivan PG, Blades DA , Scheff SW. ***Efficacy of methylprednisolone therapy for the injured rat spinal cord.*** J Neurosci Res, 68: 7-18; 2002

8- World Health Organiztion WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm cervical muws interaction. 4th ed. Cambridge university press 1999.

9- Huang HF. LIMT, Wang G, Ottenweller JE, Ottenweller JE. ***Spinal cord contusion impairs sperm motility in the rat without disrupting spermatogenesis.*** J Andrology, 2003 , 24(3): 371-380.

10- Perkash I, Martin DE, Warner H, Blank MS, Collins DC. ***Reproductive biology of parplegics: results of semen collection, testicular biopsy and serum hormones*** J Urology, 1985 , 134:285-288.

11- Ohl DA, Sonksen J, Wedemeyer G, Zaborniak MC, Dam TN, Menge AC, Putzi MJ, papadopoulos SM. ***Canine model of infertility after spinal cord injury: time course of acute changes in semen quality and spermatogenesis.*** J Urology. 2001 , 166: 1181-1184 .

12- Billups KL, Tillman SL, Chang TS. ***Reduction of epididymal sperm motility after ablation of the inferior mesenteric plexus in the rat.*** J Fertil Steril, 1990 , 53: 1076.

13- Brindley GS . ***Deep scrotal temperature and the effect of it on clothing, air, temperature, activity, posture and paraplegia.*** J Clin Endocrinol Metab 1997 , 44: 530-535.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-29]