مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال دوم، شماره اول، بهار ۱۳۹۲ (۴۱-۳۳)

ارتباط بین سیمای لیپیدی سرم خون با مقادیر تستوسترون و ساختار بافتی بیضه در بز

علی لویی منفرد[۱]*، عبدالله جعفر زاده[۲]، جعفر یدی[۳]، رضا هوشمندفر[۲]
۱. عضو هیئت علمی گروه علوم پایه دانشگاه ایلام
۲. کارشناس آزمایشگاه بافت‌شناسی، گروه علوم پایه دانشگاه ایلام
۳. عضو هیئت علمی گروه علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۹، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۹/۱۰)

چکیده
مطالعات قبلی نشان داده‌اند که افزودن مکمل‌های غذایی محتوی اسیدهای چرب غیراشباع مناسب به جیره می‌تواند موجب افزایش اسپرماتوژنز و بهبود کیفیت اسپرماتوزوئید شود. به منظور بررسی ارتباط بین لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم خون با فعالیت اسپرماتوژنیک و ساختار هیستومورفومتریک بیضه، از ۳۰ رأس بز نر که به سه گروه مساوی یکساله، دوساله و سه ساله تقسیم بندی شده بودند، نمونه خون از ورید وداج اخذ شد. برای اندازه‌گیری غلظت سرمی کلسترول و تری‌گلیسرید تام از روش آنزیمی، برای اندازه‌گیری لیپوپروتئین‌ها از روش رسوب‌دهی و برای اندازه‌گیری هورمون تستوسترون از روش رادیوایمونواسی استفاده شد. جهت بررسی هیستومورفومتریک، مقاطع پارافینی ۵ میکرونی تهیه و با روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه و همبستگی پیرسون مورد تجزیه و تحلیلی آماری قرار گرفتند ($p \geq ۰/۰۵$). نتایج نشان داد که میزان سرمی کلسترول، تری‌گلیسرید، VLDL-c و LDL-c در سنین مختلف اختلاف آماری معنی‌دار با یکدیگر ندارد. مقادیر HDL-c، تستوسترون، مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز، مساحت بافت بینابینی، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، ارتفاع اپیتلیوم زایا،تعداد و قطر سلول‌های لیدیگ و تعداد اسپرماتید از سن یک سالگی تا دو سالگی افزایش و از سن دو سالگی تا سه سالگی کاهش معنی‌دار نشان داد. میزان سرمی HDL-c با تعداد سلول‌های لیدیگ بیضه و همچنین مقادیر تستوسترون همبستگی مثبت داشت. همچنین مقادیر سرمی تری‌گلیسرید با میزان ارتفاع اپیتلیوم زایای بیضه همبستگی منفی داشت. نتایج بدست آمده نشان داد که افزایش مقادیر سرمی HDL-c و تری‌گلیسرید به ترتیب دارای اثرات مفید و آسیب رسان بر روی فعالیت اسپرماتوژنیک و ساختار هیستومورفومتریک بیضه در بزهای نر بومی استان ایلام می باشد.

واژه‌های کلیدی: لیپید، لیپوپروتئین، بیضه، بز، بافت‌شناسی

Correlation of Serum Lipid Profile with Testosterone Levels and Histological Structure of the Testes in the Goat

A. Louei Monfared[1]*, A. Jaafar Zadeh[2], J. Yadi[3], R. Hooshmandfar[4]
1. Assistant Professor, Ilam University, Ilam
2. Master of Sciense, Histology Laboratory, Ilam University, Ilam, 3. Assistant Professor, Islamic Azad University, Saveh Branch, Saveh
(Received: Sep. 30, 2012; Accepted: Dec. 1, 2013)

Abstract
Previous studies demonstrated that dietary supplementation with appropriate polyunsaturated fatty acids can produce major increases in spermatogenesis and improvement in sperm quality. To investigate the correlation of serum lipids and lipoproteins with spermatogenic activity and histomorphometric structure of the testis, 10 male goats were divided into three equal groups included one, two and three years of age and blood samples were collected from the jugular vein. The serum concentrations of total cholesterol and triglyceride were measured by enzymatic method, serum levels of lipoproteins were determined by precipitation method. The serum levels of testosterone were measured by Radio Immuno Assay method. For histomorphometric study, the 5 µ sections were made and stained with Hematoxyline-Eosin. Data was statistically analyzed by the one way ANOVA and Pearson correlation tests ($p \leq 0.05$). Results showed that serum levels of total cholesterol, triglycerids, VLDL-c and LDL-c had not significant differences between different ages. The serum levels of HDL-c, testosterone, as well as the area of spermatic tubules and testicular interstitium, diameter of seminiferous tubules, germinal epithelium height, number and diameters of the leydig cells; number of spermatid cells had significant increase from one year group to two years group but significant decrease from two years animals to three years group. The serum HDL-c values were significantly correlated with the number of leydig cells as well as testosterone serum levels. Also triglycerides values had correlated with germinal epithelium height. It can be concluded that increased serum levels of HDL-c and triglycerides have respectively a benefit and deleterious effects on the spermatogenic activity and histomorphometric structure of the testes in the male goats of Ilam province.

Keywords: Lipid, Lipoprotein, Testis, Goat, Histology

* نویسنده مسئول: علی لویی منفرد Email: alm722@gmail.com

مقدمه

ناباروری، کم‌باروری و پایین بودن کیفیت اسپرماتوزوئیدهای حیوان مهمترین عواملی هستند که اغلب منجر به عدم موفقیت در جفتگیری شده و بخش عمده‌ای از سرمایه پرورش‌دهنده را هدر می‌دهند. از طرف دیگر شواهدی وجود دارد که افزودن مکمل‌های غذایی محتوی اسیدهای چرب غیراشباع مناسب به خوراک دام و طیور موجب افزایش اسپرماتوژنز، اصلاح ساختار کیفی اسپرماتوزوئید و بالا رفتن میزان باروری می‌شود (Speake *et al.*, 2003). همچنین مطالعات اثبات کرده‌اند که یکی از دلایل ناباروری مردان تغییر اجزای فسفولیپیدی و ترکیب اسیدهای چرب غشای اسپرماتوزوئید می‌باشد (Gulaya *et al.*, 2001). علاوه بر این محققین گزارش نموده‌اند که افزایش سطح تری گلیسرید سرم موجب کاهش تحرک اسپرماتوزوئید در انسان (Ergun *et al.*, 2007)، و اختلال در انجام واکنش آکروزومی در سر اسپرماتوزوئید خرگوش (Diaz-Fontdevilla & Bustos-Obregon, 1993) می‌شود. به‌علاوه، ترکیب فسفولیپیدهای غشای اسپرماتوزوئید ضمن اینکه پیش نیاز عملکرد طبیعی سلول است نقش بسیار مهمی در بارورسازی سلول جنسی ایفا می‌کند (Rana *et al.*, 1991).

لیپوپروتئین‌ها وظیفه جابجایی چربی‌هایی از قبیل کلسترول را بین بافت ترشح کننده آن و اندامهای هدف بر عهده دارند؛ جذب لیپید در ارگان هدف عمدتاً با واسطه گیرنده‌های لیپوپروتئین صورت می‌گیرد (Gwynne *et al.*, 1984; Havel & Kane 2001). همچنین لیپوپروتئین‌ها میزان عرضه استرول مورد نیاز برای انجام برخی از فعالیت‌های سلولی از جمله شکل‌گیری غشاها و سنتز هورمون‌های استروئیدی را تنظیم می‌کنند (Havel & Kane, 2001).

نظر به جنبه‌های اقتصادی پرورش نشخوارکنندگان کوچک و اهمیت موضوع باروری، مطالعاتی بر روی دستگاه تولیدمثل نر و میزان باروری گوسفند و بز صورت گرفته است؛ به‌عنوان مثال عرفانی مجد و همکاران گزارش نموده‌اند که فعالیت اسپرماتوژنیک لوله‌های اسپرم‌ساز قوچ نژاد عربی بسته به فصل سال تغییرات معنی‌داری پیدا می‌کند (Erfani Majd *et al.*, 2009). Zamiri & Heidari (2006) در مطالعه‌ای به بررسی ویژگی‌های تولیدمثلی بز نر رائینی در استان کرمان پرداخته‌اند؛ بر اساس نتایج این مطالعه طی تابستان و اواخر پائیز کیفیت و کمیت منی بزهای مذکور بالاتر از سایر فصول سال می‌باشد. به علاوه Leal *et al.* (2004) به بررسی کارایی سلول‌های سرتولی موجود در ساختار بافتی بیضه بز در تخمین میزان تولید روزانه اسپرماتوزوئید پرداخته‌اند و گزارش کرده‌اند که در بین دام‌های اهلی بالاترین فعالیت جنسی و باروری متعلق به بز می‌باشد.

در مورد مقادیر طبیعی لیپیدها و لیپوپروتئین‌های پلاسمایی بز مطالعات محدودی صورت گرفته است اما راجع به ارتباط بین لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم خون با فعالیت اسپرماتوژنیک و همچنین ساختار هیستومورفومتریک بیضه در بزهای نر مطالعه جامعی صورت نگرفته است، به این دلائل بررسی حاضر صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش در فروردین ماه ۱۳۹۰ و در فصل جفتگیری حیوانات، ۳۰ رأس بز نر بالغ بومی استان ایلام که از نظر معاینات بالینی سالم بودند مورد استفاده قرار گرفت (جدول۱). حیوانات مورد مطالعه از یک واحد پرورش و نگهداری بز که دارای سیستم پرورش بسته با شرایط مدیریتی، تغذیه ای و بهداشتی یکسان بود تهیه گردیدند. قبل از خرید حیوان ضمن پرسش از فروشنده، از عملکرد جنسی حیوانات در گله اطمینان حاصل شد. بزهای مورد بررسی به سه گروه مساوی ده رأسی شامل گروه اول (یکسال و کمتر)، گروه دوم (یکسال تا دو سال) و گره سوم (دو سال تا سه سال) تقسیم شدند.

جدول ۱. مشخصات حیوانات مورد استفاده در تحقیق حاضر

مشخصه	مقادیر		
سن (سال)	≤۱	۱-۲	۲-۳
میانگین ± خطای استاندارد وزن (کیلوگرم)	۳۶/۹±۲	۴۳/۷±۳	۵۷±۲
تعداد حیوانات	۱۰	۱۰	۱۰

آزمایشات مربوط به این تحقیق در محل دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام صورت گرفت. برای اندازه‌گیری غلظت سرمی لیپیدها، لیپوپروتئین‌ها و همچنین تستوسترون خونگیری به عمل آمد. برای این کار حیوانات به مدت ۱۶-۱۲ ساعت در حالت ناشتا قرار داده شدند، سپس از ورید وداج به میزان ۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون گرفته شد. برای جداسازی سرم، نمونه‌های جمع‌آوری شده خون به مدت ۲۰ دقیقه و ۲۵۰۰rpm سانتریفوژ گردید. سپس سرم نمونه‌ها با کمک سمپلر جمع‌آوری و در میکروتیوب‌های استریلی که شماره حیوان و تاریخ نمونه برداری بر روی آنها ثبت شده بود ریخته و تا زمان اندازه‌گیری لیپیدهای سرم و هورمون تستوسترون در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای تعیین میزان کلسترول و تری‌گلیسرید تام سرم از کیت‌های تجارتی شرکت پارس آزمون استفاده شد. به این منظور، معرف یا معرف‌های مربوطه طبق دستورالعمل کیت تهیه و کلسترول تام به روش آنزیمی کلسترول اکسیداز و تری‌گلیسرید تام به روش آنزیمی گلیسرول فسفات دهیدروژناز اندازه‌گیری شدند. کلسترول موجود در لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم (VLDL-c)، با چگالی کم (LDL-c) و با چگالی بالا (HDL-c) به روش دستی و با کیت‌های شرکت زیست‌شیمی اندازه‌گیری شدند. به این منظور، برای تعیین میزان HDL-c از روش رنگ‌سنجی و بر اساس رسوب LDL-c و VLDL-c به وسیله معرف رسوب‌دهنده استفاده شد. سپس HDL-c در لایه شفاف فوقانی با روش آنزیمی توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (Shimadzu-UV.120, Japan) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری LDL-c؛ از روش آنزیمی و رنگ‌سنجی استفاده شد؛ برای اینکار ابتدا LDL-c به وسیله هپارین رسوب می‌کند و بعد از سانتریفوژ، لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا و بسیار کم بر روی سطح شناور قرار می‌گیرند و پس از اندازه‌گیری آنها به روش آنزیمی و کسرشان از کلسترول تام، مقدار LDL-c بدست می‌آید. میزان VLDL-c از کسر مجموع مقادیر LDL-c و HDL-c از کلسترول تام بدست آمد (Bruits & Ashwood, 1994).

برای اندازه‌گیری میزان سرمی هورمون تستوسترون، نمونه‌های خون حیوانات با استفاده از روش رادیوایمنواسی و کیت تجاری هورمون تستوسترون (Immunotech SA, France, PI-1119) و دستگاه گاماکانتر (LKB, Sweden) بررسی شدند.

جهت انجام مطالعات بافت شناسی، حیوانات را ذبح نموده و بیضه راست برداشت شد. جهت تهیه مقاطع بافتی، نمونه‌هایی به ضخامت ۰/۵ سانتی‌متر از سه قسمت سری، میانی و دمی بیضه هر حیوان برداشت و به مدت یک روز در محلول تثبیت‌کننده فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. برای به حداکثر رساندن تعداد برش‌های مناسب لوله‌های اسپرم‌ساز در مقطع عرضی، بیضه‌ها در جهت محور طولی برش داده شدند. پس از انجام مراحل معمول آمادش بافتی، از هر بیضه پنج مقطع پارافینی ۵ میکرومتری تهیه و با روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی گردید (Faridha *et al.*, 2006). مقاطع بافتی حاصله با استفاده از میکروسکوپ نوری (Nikon Eclipse E800, Tokyo, Japan) متصل به کامپیوتر و دوربین دیجیتال (Sony camera, Tokyo, Japan)، مورد بررسی و عکسبرداری قرار گرفتند. برای انجام مطالعات هیستومورفومتریک ۹۰ مقطع عرضی کاملاً یا تقریباً مدور از لوله‌های اسپرم‌ساز و همچنین بافت بینابینی بیضه (سلول‌های لیدیگ) در هر حیوان به طور تصادفی انتخاب و عکسبرداری گردید. فتومیکروگراف‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار آنالیز تصویر Motic 2002 تحت بررسی هیستومتری و سیتومتری قرار گرفتند. با استفاده از نرم‌افزار مساحت تمام لوله‌های اسپرم‌ساز موجود در هر فیلد میکروسکوپی از مساحت کل فیلد کسر شد در نتیجه مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز و بافت بینابینی بیضه مشخص شد. این کار برای پنج مقطع مختلف از هر نمونه تکرار شد. برای تعیین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و همچنین میزان ارتفاع اپیتلیوم زایا مقاطع عرضی کاملاً یا تقریباً مدور انتخاب و با استفاده از نرم‌افزار در پنج نقطه از هر مقطع اندازه‌گیری صورت گرفت. علاوه بر این در همه نمونه‌ها میانگین تعداد و قطر هسته سلول‌های لیدیگ، سرتولی، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید به ازای شمارش ۱۰۰ عدد از آن در هر $۱۰^{۳}$ میلی‌متر از بافت بیضه تحت بزرگنمایی میکروسکوپی۴۰۰ اندازه‌گیری و ثبت شد (Leal *et al.*, 2004; Faridha *et al.*, 2006).

به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج، از برنامه کامپیوتری SPSS 16، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One–Way ANOVA) و تست تکمیلی توکی (Tukey) برای مقایسه میانگین پارامترهای مورد بررسی در سنین مختلف استفاده گردید. برای بررسی ارتباط بین مقادیر سرمی لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم با غلظت سرمی تستوسترون و شاخص‌های هیستومرفومتریک بیضه از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. یافته ها به صورت میانگین± خطای معیار بیان شد و ($P\leq۰/۰۵$) به عنوان معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

یافته‌های مربوط به مقادیر لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم خون

تجزیه و تحلیل آماری نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در بزهای مورد مطالعه میانگین مقادیر سرمی کلسترول تام، تری گلیسرید تام، VLDL-c و LDL-c در سنین مختلف اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارد. در حالی که میانگین غلظت سرمی HDL-c در بزهای مورد مطالعه از سن یک سالگی تا دو سالگی افزایش و از سن دو سالگی تا سه سالگی کاهش معنی‌دار پیدا می‌کند ($P\leq۰/۰۵$) (جدول۲).

یافته‌های آندوکرینی

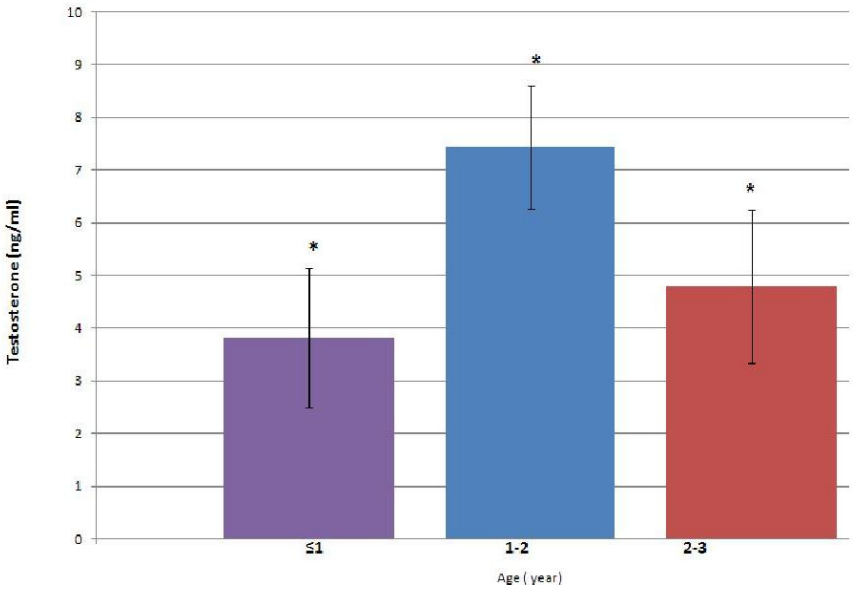
بر اساس نتایج مطالعه حاضر میانگین غلظت سرمی

تستوسترون در بزهای نر بومی استان ایلام از سن یکسالگی (۳/۸±۱/۳) تا دو سالگی (۷/۴±۱/۱) افزایش و از سن دوسالگی تا سه‌سالگی (۴/۹±۲/۱) کاهش معنی‌دار پیدا می‌کند (P≤۰/۰۵) (نمودار۱).

جدول ۲. میانگین ± خطای معیار غلظت لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم خون بزهای نر بومی ایلام بر اساس سن

گروه‌های سنی / لیپید و لیپوپروتئین سرم	یکسال و کمتر	یک تا دو سال	دو تا سه سال
کلسترول تام (mg/dl)	۴۴/۰۳± ۱/۴	۴۶/۳۴± ۲/۲۵	۴۷/۲۵± ۲/۹
تری گلیسرید تام (mg/dl)	۴۸/۴± ۱/۲	۴۶/۱± ۲/۹	۴۶/۶± ۱/۵
VLDL-c (mg/dl)	۱۰/۸± ۰/۹	۱۰/۴± ۰/۴	۱۰/۳± ۲/۸
LDL-c (mg/dl)	۱۷/۷± ۰/۴	۱۷/۲± ۰/۶	۱۷/۸± ۱/۱
HDL-c (mg/dl)	* ۱۶/۸± ۱/۲	* ۲۲/۴± ۱/۴	* ۱۸/۱± ۰/۹

درج علامت * در هر ردیف نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین سنین مختلف در حد P ≤۰/۰۵ می‌باشد.



نمودار ۱- میانگین ± خطای معیار غلظت سرمی تستوسترون

نمودار ۱. میانگین ± خطای معیار غلظت سرمی تستوسترون در بزهای نر بومی ایلام بر اساس سن

درج علامت * در بالای هر ستون نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین سنین مختلف در حد P ≤۰/۰۵ می‌باشد.

یافته‌های هیستومورفومتریک

یافته‌های این تحقیق نشان داد که در ساختار بافتی بیضه‌های مورد مطالعه؛ مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز، مساحت بافت بینابینی بیضه، میانگین قطرلوله‌های اسپرم‌ساز، میانگین ارتفاع اپیتلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز، میانگین تعداد و قطر هسته سلول‌های لیدیگ و همچنین میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید؛ از سن یکسالگی تا دوسالگی افزایش و از سن دوسالگی تا سه‌سالگی کاهش معنی‌دار پیدا می‌کند. به علاوه میانگین تعداد سلول‌های سرتولی، اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه و همچنین میانگین قطر هسته سلول‌های سرتولی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتوگونی و اسپرماتید تغییرات معنی‌دار نشان‌نداد. مقاطع بافتی مربوط به قسمت‌های سری، میانی و دمی بیضه از نظر شاخص‌های مورد بررسی تفاوتی با یکدیگر نداشت (جدول۳) (شکل‌های ۱ تا ۳).

ارتباط لیپیدها و لیپوپروتئین های سرم خون با فعالیت اسپرماتوژنیک و ساختار هیستومورفومتریک بیضه

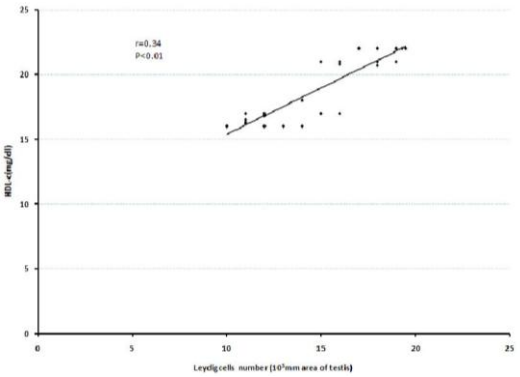
نتایج این مطالعه نشان داد که در بزهای مورد بررسی؛ بین میانگین غلظت سرمی HDL-c و تعداد سلول‌های لیدیگ در ساختار بافتی بیضه همبستگی مثبت وجود دارد (r=۰/۳۴،

P≤۰/۰۱) (نمودار۲). همچنین بین میزان غلظت سرمی HDL-c و مقادیر تستوسترون همبستگی مثبت مشاهده شد (r=۰/۳۶، P≤۰/۰۵) (نمودار۳). به علاوه بین میانگین مقادیر سرمی تری‌گلیسرید تام و ارتفاع اپیتلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز در بافت بیضه همبستگی منفی دیده شد (r=۰/۱۷-، P ≤۰/۰۵) (نمودار۴).

جدول ۳. میانگین ± خطای معیار شاخص‌های هیستومورفومتریک بیضه در بزهای نر بومی ایلام بر اساس سن

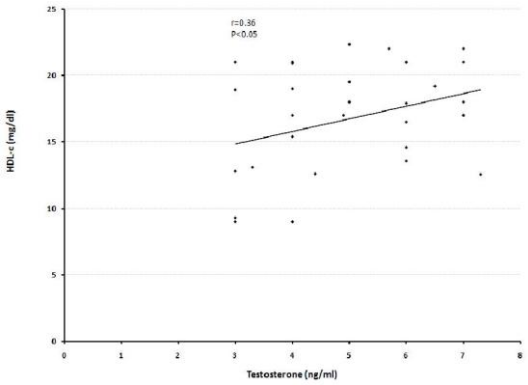
گروه های سنی / شاخص‌های هیستومورفومتریک بیضه	یکسال و کمتر	یک تا دو سال	دو تا سه سال
مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز (٪)	*۸۱/۵	*۸۹/۳	*۸۳/۴
مساحت بافت بینابینی بیضه (٪)	*۶/۴	*۹/۳	*۷/۳
قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (µm)	*۲۱۸/۱± ۳/۹	**۲۸۴/۹± ۴/۶	*۲۱۵/۷± ۳/۷
ارتفاع اپیتلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز (µm)	*۶۷/۳± ۱/۱	**۸۳/۴± ۰/۴	*۷۲/۹± ۰/۹
تعداد سلول‌های لیدیگ ($\times$ mm area of testis 10^3)	*۱۰/۴± ۰/۱	*۱۹/۵± ۱/۵	*۱۲/۴± ۰/۱
تعداد سلول‌های سرتولی ($\times$ mm area of testis 10^3)	۲/۶± ۱/۶	۲/۵± ۰/۲	۲/۶± ۰/۵
تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ($\times$ of testis mm area 10^3)	۱۶/۲± ۱/۱	۱۶/۰± ۲/۳	۱۵/۲± ۲/۷
تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه ($\times$ of testis mm area 10^3)	۱۵/۴± ۲/۱	۱۶/۱± ۲/۳	۱۵/۵± ۲/۴
تعداد سلول‌های اسپرماتید ($\times$ of testis area mm 10^3)	*۹/۵± ۱/۳	**۴۴/۸± ۲/۳	*۲۸/۲± ۲/۶
قطر هسته سلول‌های لیدیگ (µm)	*۱/۵± ۰/۴	*۴/۶± ۰/۵	*۳/۱± ۰/۱
قطر هسته سلول‌های سرتولی (µm)	۳/۱± ۰/۷	۳/۳± ۰/۲	۳/۱± ۰/۴
قطر هسته سلول‌های اسپرماتوگونی (µm)	۱/۲± ۰/۳	۱/۳± ۰/۵	۱/۳± ۰/۹
قطر هسته سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه (µm)	۴/۳± ۰/۱	۴/۴± ۰/۵	[a] ۴/۴± ۰/۷
قطر هسته سلول‌های اسپرماتید (µm)	۱/۰± ۰/۲	۱/۱± ۰/۱	۱/۰± ۰/۴

درج علامت‌های * و ** در هرردیف نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین سنین مختلف در حد P ≤۰/۰۵ و P ≤۰/۰۱ می‌باشد.



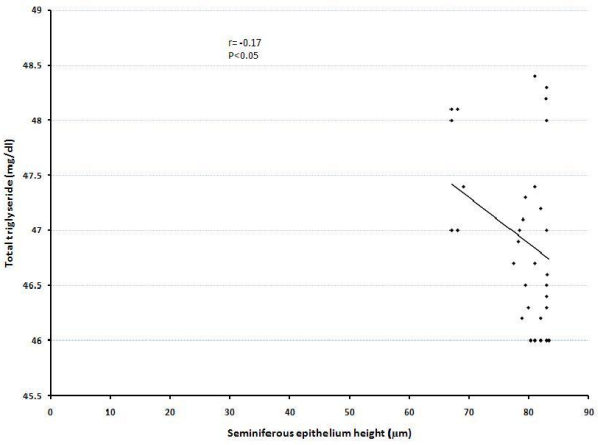
نمودار ۲. ارتباط بین میزان غلظت سرمی HDL-c و تعداد سلول‌های لیدیگ در ساختار بافتی بیضه بزهای نر بومی ایلام.

در این نمودار بین میزان غلظت سرمی HDL-c و تعداد سلول‌های لیدیگ در ساختار بافتی بیضه همبستگی مثبت مشاهده می‌شود.



نمودار ۳. ارتباط بین میزان غلظت سرمی HDL-c و میزان تستوسترون در بزهای نر بومی ایلام.

در این نمودار بین میزان غلظت سرمی HDL-c و میزان تستوسترون همبستگی مثبت مشاهده می‌شود.



نمودار ۴. ارتباط بین میزان غلظت سرمی تری‌گلیسرید تام و ارتفاع اپیتلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه در بزهای نر بومی ایلام.
در این نمودار بین میزان تری‌گلیسرید تام و ارتفاع اپیتلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه همبستگی منفی مشاهده می‌شود.

بحث

در مطالعه حاضر آنالیز آماری نتایج نشان داد که عامل سن بر روی میزان سرمی کلسترول و تری‌گلیسرید تام تأثیر ندارد (جدول۲) این یافته با نتایج مطالعه نظیفی و همکاران در مورد بز مطابقت دارد (Nazifi *et al.*, 2002)؛ هر چندکه تأثیرگذاری سن بر روی مقادیر سرمی کلسترول تام در اسب کرد (Bahari *et al.*, 2000)، اسب ترکمن (Nazifi *et al.*, 2003) و شتر (Nazifi *et al.*, 2000) نشان داده شده است. به نظر می‌رسد که مهمترین دلیل وجود اختلاف بین نتایج مطالعات فوق، تفاوت‌های گونه‌ای باشد.

در این مطالعه دامنه تغییرات مقادیر سرمی VLDL-c، LDL-c و HDL-c در حیوانات تحت بررسی به ترتیب ۱۰/۸-۱۰/۳، ۱۷/۸-۱۷/۲ و ۲۲/۴-۱۶/۸ (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بود (جدول۲). در این رابطه نظیفی و همکاران گزارش کرده اند که در بزهای نر با افزایش سن، غلظت سرمی VLDL-c کاهش یافته ولی میزان LDL-c، تغییر معنی‌دار پیدا نمی‌کند (Nazifi *et al.*, 2002). در این مطالعه کاهش میزان سرمی VLDL-c از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ این عدم همخوانی، ممکن است به دلیل متفاوت بودن نژاد، شرایط فیزیولوژیکی؛ از جمله تغذیه و همچنین شرایط آب و هوایی در دو مطالعه باشد. همچنین در این رابطه، محققین گزارش کرده‌اند که در انسان با افزایش سن، غلظت سرمی LDL-c و VLDL-c افزایش، اما مقادیر سرمی HDL-c کاهش می‌یابد (Nishimura *et al.*, 2000) این عدم همخوانی با نتایج مطالعه حاضر، ممکن است ناشی از تفاوت های گونه ای و تغذیه ای باشد.

آنالیز آماری نتایج نشان داد که در سنین مختلف، غلظت سرمی تستوسترون تغییرات معنی‌داری پیدا می‌کند (نمودار۱). این یافته با نتایج مطالعات دیگر مبنی بر تغییرات میزان تستوسترون سرم، همراه با بالا رفتن سن در بزهای آنگلونوبیان (Anglo-Nubian) مطابقت دارد (Souza *et al.*, 2011). مطالعات نشان می‌دهند که میزان فعالیت ترشحی سلول‌های لیدیگ همراه با تکثیر و تزاید سلول‌های جنسی، یکی از مهمترین عواملی است که به بلوغ حیوان منجر می‌شود (Nishimura *et al.*, 2000). همچنین رشد و تکوین کامل اپیتلیوم زایا در لوله‌های اسپرم‌ساز در بزهای بومی ژاپن، در هفته ۲۶ زندگی پایان می‌یابد (Nishimura *et al.*, 2000)؛ بنابراین افزایش مقادیر سرمی تستوسترون مشاهده شده در بررسی حاضر از سن یک سالگی تا دو سالگی می‌تواند منعکس‌کننده افزایش فعالیت سلول‌های لیدیگ پس از رسیدن حیوان به سن بلوغ باشد. از طرف دیگر در مطالعه حاضر کاهش سطح سرمی تستوسترون پس از رسیدن به بالاترین میزان خود، با نتایج مطالعات دیگر در مورد بزهای آنگلونوبیان مطابقت دارد (Souza *et al.*, 2011). این پایین آمدن غلظت سرمی تستوسترون می تواند بدلیل اثر فیدبک منفی آن بر روی هیپوتالاموس و در نتیجه کاهش میزان تولید هورمون GnRH و در مرحله بعد میزان ترشح LH بوسیله هیپوفیز باشد.

در مطالعه حاضر تغییرات پارامترهای هیستومورفومتریک بیضه مطابق با تغییرات میزان سرمی تستوسترون در سنین مختلف صورت گرفت. این نتایج با یافته های محققین دیگر در مورد وجود ارتباط مثبت بین تعداد و اندازه سلول‌های لیدیگ با میزان تستوسترون سرم در گاوهای نر برهمن (Nolan *et al.*, 1990) مطابقت دارد. دلیل این امر سنتز و ترشح هورمون تستوسترون در شبکه های آندوپلاسمی صاف سلول‌های لیدیگ است. از آنجایی که مطالعات نشان می‌دهند

که برای تولید تعداد طبیعی سلول‌های جنسی، ابقای اسپرماتوژنز و تولید حجم کافی تستوسترون بوسیله سلول‌های لیدیگ شرط لازم و ضروری می‌باشد (Orth *et al.*, 1988)، بنابراین می‌توان استنباط نمود که در مطالعه حاضر میزان ترشح تستوسترون از سن یکسالگی به دوسالگی افزایش یافته سپس این هورمون موجب تحریک افزایش جمعیت سلول‌های جنسی در بافت بیضه شده و متعاقب آن افزایش مساحت لوله‌های اسپرم‌ساز شده است. همچنین کاهش میزان هورمون تستوسترون از سن دو سالگی تا سه سالگی سبب کاهش شاخص‌های هیستومورفومتریک بیضه شده است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در بین لیپوپروتئین های سرمی تنها مقادیر HDL-c با تعداد سلول‌های لیدیگ و همچنین غلظت سرمی تستوسترون همبستگی مثبت دارد، بنابراین شاید بتوان گفت که در بزهای مورد بررسی، عمدتاً HDL-c در مقایسه با سایر لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم برای سنتز تستوسترون در شبکه‌های آندوپلاسمی صاف سلول‌های لیدیگ بافت بیضه به کار می‌رود. در این مورد محققین نشان داده‌اند که سلول‌های لیدیگ بیضه موش صحرایی برای استروئیدوژنز عمدتاً کلسترول موجود در HDL-c را مورد استفاده قرار می‌دهند (Klinefelter & Ewing, 1989). مهمترین استدلال‌هایی که در مورد به کارگیری HDL-c در مقایسه با سایر لیپوپروتئین‌های سرم برای سنتز تستوسترون در بافت بیضه می‌توان نمود موارد ذیل است.

الف) از نظر ساختار بیوشیمیایی؛ HDL-c در بین بقیه لیپوپروتئین‌ها دارای بیشترین درصد فسفولیپید و کمترین درصد تری‌گلیسرید است (Garrett & Grisham, 2007)، بنابراین هیدرولیز HDL-c توسط لیپوپروتئین لیپاز سرمی منجر به تولید مقادیر فراوانی فسفولیپید می‌شود. فسفولیپید حاصله به راحتی از سدهای لیپیدی اکثر بافت‌ها از جمله بیضه عبور می‌نماید (Bauchart, 1992; Frye & Friou, 1975).

ب) HDL-c اصلی‌ترین لیپوپروتئین در پلاسمای نشخوارکنندگان است و بالغ بر ۸۰٪ لیپوپروتئین‌های تام پلاسما را تشکیل می‌دهد در حالی که مقادیر LDL-c و VLDL-c در پلاسمای نشخوارکنندگان بسیار ناچیز است (Bauchart, 1992)؛ بنابراین شاید دلیل به کارگیری عمده HDL-c توسط بافت بیضه، بالا بودن میزان آن است.

ج) تعداد گیرنده‌های بافتی و تئوری آندوسیتوز وابسته به گیرنده HDL-c، یکی دیگر از علل قابل طرح برای اثرات مثبت HDL-c بر روی فعالیت آندوکرینی بافت بیضه می‌باشد. در این مورد، برخی محققین تعداد گیرنده‌های HDL-c در بافت‌های مختلف مطالعه کرده اند و نشان داده اند که ورود HDL-c به سلول‌های گرانولوزای تخمدان (Bauchart, 1992) و همچنین سلول‌های کورتکس آدرنال (Gwynne *et al.*, 1984) عمدتاً بر اساس آندوسیتوز وابسته به گیرنده می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت که ممکن است تعداد گیرنده‌های HDL-c در بافت بیضه بیشتر از گیرنده‌های سایر لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها باشد.

علاوه بر موارد فوق، اثبات شده است که سلول‌های سرتولی نقش تغذیه سلول‌های جنسی موجود در بیضه با مواد مغذی مختلف من‌جمله لیپیدها را برعهده دارند (Speake *et al.*, 2003). همچنین داربست موجود در بین لوله‌های اسپرم‌ساز و مویرگ‌های خونی بیضه، از عبور و مرور LDL-c و VLDL-c جلوگیری نموده و تنها اجازه تبادل ذرات HDL-c و تحویل کلسترول موجود در آن به سلول‌های سرتولی را می‌دهد (Maboundou *et al.*, 1995)؛ بنابراین می توان نتیجه گرفت که در ساختار بیضه، کلسترول موجود در HDL-c در مقایسه با سایر ترکیبات لیپیدی سرم، علاوه بر به‌کارگیری برای سنتز تستوسترون، جهت تغذیه سلول‌های جنسی در حال ساخت نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. موافق با این یافته‌ها، گزارش شده است که در انسان بین مقادیر HDL-c سرمی و زنده‌مانی و همچنین دانستیه اسپرماتوزوئید همبستگی مثبت وجود دارد (Padron *et al.*, 1989).

نتایج این تحقیق نشان داد که بین غلظت سرمی تری گلیسرید تام و ارتفاع اپیتلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه همبستگی منفی وجود دارد، از جمله دلایل این ارتباط منفی این است که لیپیدهای غیرقطبی مانند تری‌گلیسرید به میزان ناچیز در ساخت اسپرماتوزوئید مورد استفاده قرار می‌گیرند (Speake *et al.*, 2003). همچنین لیپیدهای موجود در غشای پلاسمایی اسپرماتوزوئید بز عمدتاً فسفولیپید (۷۰٪) و به میزان کم لیپیدهای خنثی منجمله تری‌گلیسرید (۲۸٪) و گلیکولیپیدها (۲٪) می‌باشد (Rana *et al.*, 1991). از آنجایی که تنها در صورت حضور تری‌گلیسریدهایی چون اولئیک اسید در ساختار غشای سلولی اسپرم، آنزیم فسفولیپاز A فعال شده و به تخریب آن می‌پردازد (Diaz-Fontdevilla & Bustos-Obregon, 1993)، لذا به نظر می‌رسد که اثرات سوء تری‌گلیسرید بر روی سلول‌های جنسی موجود در لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه بز، به دلیل آسیب رساندن به غشای سلولی آن و اختلال در تمامیت، سیالیت و ثبات آن باشد (Meizel, 1984). مطابق با این یافته

محققین گزارش نموده اند که در انسان افزایش تری‌گلیسرید سرمی اثرات زیان باری بر روی اسپرماتوژنز به جا می‌گذارد و موجب کاهش تحرک اسپرماتوزوئید می‌شود (Ergun *et al.*, 2007). به علاوه، گزارش شده است که در انسان بین غلظت سرمی دی‌هیدروتستوسترون و مورفولوژی اسپرم با سطح تری‌گلیسرید تام (Padron *et al.*, 1989)، همچنین بین نسبت تری‌گلیسرید به آپولیپوپروتئین‌های B پلاسما، با سطح سرمی تستوسترون (Perova, 1979) همبستگی منفی وجود دارد. به علاوه نشان داده شده است که هیپرتری گلیسریدمی در خرگوش موجب کاهش توانایی انجام واکنش آکروزومی در اسپرماتوزوئید و اختلال در ساختار آن می‌شود (Diaz-Fontdevilla & Bustos-Obregon,1993).

به‌طورکلی نتایج این مطالعه نشان داد که میزان HDL-c سرم با جمعیت سلول‌های جنسی و پشتیبان بافت بیضه و همچنین فعالیت ترشحی سلول‌های لیدیگ بیضه ارتباط مثبت دارد. همچنین هیپرتری گلیسریدمی در بزهای نر به عنوان یک معضل موجب کاهش تعداد سلول‌های جنسی و پشتیبان در بافت بیضه می‌شود و ممکن است بر روی باروری حیوان اثرات مخربی داشته باشد؛ با این وجود مطالعات بیشتری از جمله انجام بررسی‌های بافتی در سطح میکروسکوپ الکترونی جهت نائل آمدن به مکانیسم یا مکانیسم‌هایی که طی آن تأثیرات فوق‌الذکر اعمال می‌شود لازم است.

REFERENCES

Bahari AA, Chalehchaleh AA, Rahi H, Pourkabir MA (2000) References range for 8 serum biochemical values in Kurd horses. J. Vet. Res, 55(3); 83-86.

Bauchart D (1992) Lipid absorption and transport in ruminants. J. Dairy Sci, 76: 3864-3881.

Bruits CA, Ashwood RF (1994) Tietz textbook of clinical chemistry, 2nd Ed, W.B. Saunders, Philadelohia,1002-1093.

Diaz-Fontdevilla M, Bustos-Obregon E (1993) Cholestrol and polyunsaturated acid enriched diet: effects on kinetics of the acrosome reaction in rabbit spermatozoa. Mol. Reprod, 35:176-180.

Erfani Majd N, Dorostqoal M, Goorani Nejad S (2009) Seasonal changes of spermatogenic activity in Khouzestan Arabian rams. J. Vet. Res, 64 (4):311-318.

Ergun A, Kose SK, Aydos K, Ata A, Avci A (2007) Correlation of seminal parameters with serum lipid profile and sex hormones .Arch. Androl, 53: 21-23.

Faridha A, Faisal K, Akbarsha MA (2006) Duration-dependent histopathological and histometric changes in the testis of aflatoxin B1-treated mice. J. Endocrinol. Reprod, 102: 117-133.

Frye LD, Friou GJ (1975) Inhibition of mammalian cytotoxic cell by phosphatidylcholine and its analogue, Nature, 258: 333-335.

Garrett RH, Grisham CM (2007) Biochemistry, 3rd Ed., Belmont, CA: Thomson/Brooks Cole.

Gulaya NM, Margitich VM, Govseeva NM, Klimashevsky VM, Gorpynchenko II, Boyko MI (2001) Phospholipid composition of human sperm and seminal plasma in relation to sperm fertility. Arch. Androl, 46(3): 169-175.

Gwynne JT, Hess B, Hughes T, Rountree R, Mahaffee D (1984-1985) The role of serum high density lipoproteins in adrenal steroidogenesis. Endocr. Res, 10(3-4): 411-430.

Havel RJ, Kane JP (2001) Introduction: structure and metabolism of plasma lipoproteins. In The metabolic and molecular basis of inherited disease(ed. C. R. Scriver, A. L. Beaudet, W. S. Sly, D. Valle, B. Childs, K. W. Kinzler and B. Vogelstein), pp. 2705-2716. New York: McGraw-Hil.

Klinefelter GR, Ewing LL (1989) Maintenance of testosterone production by purified adult rat leydig cells for 3 days in vitro. In Vitro Cell Dev. Biol., 25(3 Pt 1): 283-288.

Leal MC, Becker-silva SC, Chiarini-Garcia H, Franca LR (2004) Sertoli cell efficiency and daily sperm production in goats (*Capra hircus*). Anim. Reprod. (1): 122-128.

Maboundou JC, Fofana M, Fresnel J, Bocquet J, Le Goff D (1995) Effect of lipoproteins on cholesterol synthesis in rat sertoli cells. Biochem. Cell Biol, 73(1-2): 67-72.

Meizel S (1984) The importance of hydrolitic enzymes to an exocytotic event, the mammalian sperm acrosome reaction. Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 59(1): 125-157.

Nazifi S, Gheisari HR, Abbasali Poorkabir, M, Saadatfar S (2000) Serum lipid and lipoproteins inclinically healthy male camels (*Camelus dromedaries*). Vet. Res. Commun, 24: 527-531.

Nazifi S, Gheisari HR, Shaker F (2002) Serum lipids and lipoproteins and their correlations with thyroid hormones in clinically healthy goats .Veterinarski Archive, 72(5): 249-257.

Nazifi S, Saeb M, Abedi M (2003) Serum lipid profiles and their correlation with thyroid hormones in clinically healthy Turkaman horses. Comp. Clin. Pathol, 12: 49-52.

Nishimura S, Okano K, Yasukouchi K, Gotoh T, Tabata S, Iwamoto H (2000) Testis development and puberty in the male Tokara (*Japanese native*) goat. Anim. Reprod. Sci, 64: 127-131.

Noguchi N (1993) Dynamics of the oxidation of low density lipoprotein induced by free radicals. Biochem. Biophysica. Acta, 1168; 348-357.

Nolan CJ, Neuendorff DA, Godfrey RW, Harms PG, Welsh TH, Mcarthur NH, Pandel RD (1990) influence of dietary energy intake on prepubertal development of Brahman bulls. J. Anim. Sci, 68:1087-1096.

Orth JM, Gunsalus GL, Lampert AA (1988) Evidence from sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of sertoli cells produced during preinatal development. Endocrinol, 122: 787-794.

Padron RS, Mas J, Zamora R, Riverol F, Licea M, Mallea L, Rodriguez (1989) Lipids and testicular function. Int. Urol. Nephrol, 21(5): 515-519.

Pellicer-Rubio MT, Combarnous Y (1998) Deterioration of goat spermatozoa in skimmed milk-based extenders as a result of oleic acid released by the bulbourethral lipase BUSgp 60. J. Reprod. Fertil, 112(1): 95-105.

Perova NV (1979) Alteration of apoproteins of very low density lipoprotein from blood plasma in hypertriglyceridemia. Vopv. Med. Khim, 25: 185.

Rana APS, Majumder GC, Misra S, Ghosh A (1991) Lipid changes of goat sperm plasma membrane during epididymal maturation. Biochimica. Biophysica. Acta, 1061: 185-196.

Souza LEB, Craz JF, Neto MRT, Nunes RCS, Cruz MHC (2011) Puberty and sexual maturity in Anglo-Nubian male goats raised in semi-intensive system. Revista Brasileira de Zootecnia, 40(7): 1533-1539.

Speake BK, Surai PF, Rooke JA (2003) Regulation of avian and mammalian sperm production by dietary manipulation. In: De Vriese SR, Christophe AB., editors. Male fertility and lipid metabolism. Champaign, Illinois: AOCS Press. 96-117.

Zamiri MJ, Heidari AH (2006) Reproductive characteristics of Rayini male goats of Kerman province in Iran. Anim. Reprod. Sci, 96: 176-185.