اثرمحافظتی پاراآمینوپروپیوفنون (PAPP) در تغییرات فرایند اسپرماتوژنز در اثر تشعشعات گاما در موش صحرایی بالغ

- **بدریه شجاعی**: گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، صندوق پستی: ۳۵۵-۷٤۱۳۵
- **سمانه ذوالقدری***: گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، صندوق پستی: ۳۵۵-۷٤۱۳۵
- **وحید حمایت‌خواه‌جهرمی**: گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، صندوق‌پستی: ۳۵۵-۷٤۱۳۵

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۲

چکیده

پرتوهای یون‌ساز با نفوذ به بافت‌های بدن موجب آسیب و حتی مرگ سلول و بافت می‌شوند. تزریق ترکیبات محافظ پرتوقبل ازپرتوگیری موجب کاهش اثرات زیان‌آور اشعه می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی اثرات تشعشعات گاما بر فرایند اسپرماتوژنز در موش صحرایی بالغ و نقش پارا آمینوپروپیوفنون به‌عنوان محافظت‌کننده است.

PAPP به‌صورت داخل صفاقی در سه دوز ٤۰، ۲۰، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نیم ساعت قبل از تابش اشعه‌ی گاما (۲گری) تزریق شد، حیوانات پس از ۳روز کشته شده و پس از بیرون آوردن بیضه حیوانات و عملیات مربوط به آماده‌سازی اسلاید و مطالعه آن‌ها، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، اسپرم، بینابینی و سرتولی مورد بررسی و شمارش قرار گرفت.

یافته‌ها نشان داد که در گروه تیمار با اشعه گاما با شدت ۲ گری، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتید، اسپرم، سرتولی، بینابینی، در مقایسه با گروه کنترل به‌صورت معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) کاهش یافت. در حالی‌که در تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه گروه تیمار با گاما در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) مشاهده شد.

در پایان، گروه تیمار با PAPP و تشعشعات گاما این عوارض را نشان نداد و عملکرد PAPP به‌عنوان یک محافظت‌کننده به‌خوبی مشخص شد. به نظر می‌رسد PAPP با کاهش اکسیژن‌رسانی و ایجاد هیپوکسی، سلول‌ها و بافت‌ها را از اثرات زیان‌بار رادیکال‌های آزادکه تحت تأثیر تشعشعات گاما حاصل می‌شوند حفظ می‌کند.

کلمات کلیدی: اسپرماتوژنز، تشعشات گاما، پاراآمینوپروپیوفنون، موش صحرایی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: szjahromi@yahoo.com

مقدمه

پرتوهای یونیزان کاربرد فراوانی در علوم مختلف از جمله پزشکی دارند. یکی از روش‌های به‌کارگیری اثرات پرتوها روی سلول‌ها استفاده از رادیوتراپی در درمان تومورهاست. اما اشعه علاوه بر از بین بردن سلول‌های توموری موجب اثرات سوء روی سلول‌های طبیعی نیز می‌شود (۱).

تشعشات یونیزان به‌علت تولید رادیکال‌های آزاد می‌توانند یک اتصال شیمیایی را بشکنند و زنجیره‌ای از وقایع تغییرات زیستی از جمله جهش و آسیب در غشاها را شروع نمایند (۲). اکسیژن می‌تواند با رادیکال‌های آزاد ترکیب شود و در نتیجه یک پراکسید آلی و غیرقابل برگشت به‌وجود می‌آید که باعث تثبیت آسیب‌ها می‌شود. بدون حضور اکسیژن این واکنش روی نمی‌دهد و بسیاری از مولکول‌های یونیزه شده هدف می‌توانند خودشان را ترمیم و قابلیت عمل طبیعی خود را نیز باز یابند (۱۱). در بیش‌تر یاخته‌هایی که در زمان تابش‌دهی در حال تقسیم هستند، ممکن است تقسیم یاخته در مرحله G2 متوقف شود. از آن‌جا که فرایند اسپرماتوژنز فرایندی است که تقسیم میتوز به‌وفور در آن دیده می‌شود، تابش گاما می‌تواند تأثیرات به‌سزایی در آن داشته باشد (۱۴). مطالعات اخیر نیز نشان می‌دهد که تشعشعات می‌توانند بر میزان هورمون‌های جنسی و تعداد اسپرم‌ها اثر داشته باشند (۷) و هم‌چنین می‌توانند باعث کاهش سلول‌های جنسی در موش‌ها شوند (۶). لذا با توجه به عوارض حاصل ازپرتوها، دانشمندان در پی یافتن مواد شیمیایی و داروهای طبیعی و مصنوعی بوده و هستند که این آسیب‌ها را تعدیل کنند. داروهایی که ادعا می‌شود واکنش سلول‌ها را به پرتوها تعدیل می‌کنند، محافظت‌کننده نامیده می‌شوند. این داروها بر حساسیت سلول‌ها نسبت به اشعه تأثیر نمی‌گذارند بلکه از کل حیوان محافظت به‌عمل می‌آورند (۱۰). یکی از این داروها، پاراآمینوپروپیوفنون است که مکانیسم عمل آن بالا بردن سطح مت‌هموگلوبین خون و کاهش اکسیژن در اعضای حساس می‌باشد (۱۳). لذا با توجه به این مطالب و مضرات احتمالی اشعه گاما در رادیوتراپی، هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر تشعشات گاما با شدت ۲ گری را بر بافت بیضه که بافتی پر خون است می‌باشد. هم‌چنین نقش PAPP را به‌عنوان یک محافظت‌کننده مورد مطالعه قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی انجام شد و حیوانات مورد آزمایش ۷۰ سر موش نر بالغ نژاد Wistar با سن حدود ۸۰ تا ۹۰ روز با وزن تقریبی ۲۰ ± ۲۵۰ گرم از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاه شیراز تهیه شدند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آب آشامیدنی حیوانات از لوله‌کشی و تغذیه آن‌ها از خوراک آماده‌ی مخصوص موش‌های صحرایی بود. در بررسی حاضر موش‌های صحرایی به ۱۰ گروه مساوی به شرح زیر تقسیم شدند.

۱- گروه کنترل: آب و غذای استاندارد آزمایشگاهی در طی دوره آزمایش استفاده کردند.

۲- گروه شاهد: گروه تیمار شده با اتانول ۹۶٪ به عنوان حلال PAPP که میزان ۱ سی‌سی به‌ازای یک کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند.

۳- گروه حداقل دارو: گروه تیمار شده با PAPP که سه روز متوالی غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، دارو دریافت نمودند.

۴- گروه متوسط دارو: گروه تیمار شده با PAPP که سه روز متوالی غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، دارو دریافت نمودند.

۵- گروه حداکثر دارو: گروه تیمار شده با PAPP که سه روز متوالی غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، دارو دریافت نمودند.

۶- گروه اشعه: این گروه تحت تأثیر اشعه گاما به‌میزان ۲ گری قرار گرفتند.

۷- گروه حلال + اشعه: این گروه سه روز متوالی و هم‌چنین نیم‌ساعت قبل از پرتودهی اتانول به‌میزان ۱ سی‌سی به‌ازای یک کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند، سپس تحت تأثیر اشعه گاما به‌میزان ۲ گری قرار گرفتند.

۸- گروه حداقل دارو + اشعه: این گروه سه روز متوالی و هم‌چنین نیم‌ساعت قبل از پرتودهی، PAPP با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر کیلوگرم، دریافت نمودند. سپس تحت تأثیر اشعه گاما به‌میزان ۲ گری قرار گرفتند.

۹- گروه متوسط دارو + اشعه: این گروه سه روز متوالی و هم‌چنین نیم‌ساعت قبل از پرتودهی، PAPP با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر کیلوگرم دریافت نمودند. سپس تحت تأثیر اشعه گاما به‌میزان ۲ گری قرار گرفتند.

۱۰- گروه حداکثر دارو + اشعه: این گروه سه روز متوالی و هم‌چنین نیم‌ساعت قبل از پرتودهی، PAPP با غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر کیلوگرم دریافت نمودند. سپس تحت تأثیر اشعه گاما به‌میزان ۲ گری قرار گرفتند.

پرتودهی موش‌ها توسط چشمه سزیم ۱۳۷ با انرژی ۶۶۲ کوین متعلق به مرکز تحقیقات تابش دانشگاه شیراز انجام گرفت. پرتودهی موش‌ها در فاصله معین از چشمه با احتساب یکنواخت بودن میدان نسبت به طول موش‌ها و محاسبه زمان، به‌میزان ۲ گری انجام گردید. پس از گذشت سه روز از شروع آزمایشات حیوانات به‌وسیله‌ی کلروفروم بی‌هوش شده و سپس حیوان را به پشت بر روی تشتک تشریح خوابانده و دست‌ها و پاها را بر روی آن سنجاق کرده سپس بیضه و اپیدیدیم را از اسکلروتوم خارج کرده و بیضه در محلول تثبیت‌کننده فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد و پس از انجام عملیات آماده‌سازی بافت (فیکس کردن، بلوک کردن، برش، رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین) مقاطع بافتی به‌صورت مقاطع پشت سرهم (Serial Section) به فاصله‌ی ۴۰ میکرومتر به‌ضخامت ۵ میکرومتر جهت مطالعات بافت‌شناسی تهیه شد. لام‌های تهیه شده از بیضه‌های چپ و اپیدیدیم موش‌ها به‌وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰۰× شمارش شد. برای شمارش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، اسپرماتوزوئید، سرتولی، لایدیگ، از هر نمونه در هر گروه ۱۰ فیلد تصادفی انتخاب کرده و سلول‌های موجود در آن‌ها شمارش گردید و میانگین ۱۰ فیلد گرفته شد. نتایج آماری به‌دست آمده براساس برنامه آماری SPSS، آزمون T-student و تجزیه واریانس و آزمون Duncan یک‌طرفه با ($P\leq ۰/۰۵$) مورد بررسی قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

نتایج حاصل از شمارش سلول‌های اسپرماتوگونی: بررسی تغییرات تعداد سلول‌های اسپرماتوگنی در ۱۰گروه، همان‌طوری که در جدول ۱ آمده است، نشان می‌دهد میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه‌های اشعه تنها و حلال + اشعه نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در سطح احتمال $P\leq ۰/۰۵$ نشان می‌دهد.

در مطالعه حاضر، میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه حداقل PAPP + اشعه نیز نسبت به گروه اشعه تنها و حلال + اشعه تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهد به این معنی که PAPP در غلظت حداقل نتوانسته تأثیر خاصی بر روند آسیب‌رسانی اشعه بر سلول‌های اسپرماتوگونی ایجاد کند اما PAPP با غلظت متوسط در گروه (PAPP + اشعه) توانسته است تا حد زیادی آسیب وارده را جبران کند که این مطلب از مقایسه این گروه با گروه اشعه دیده به‌دست آمده است. البته لازم به‌ذکر است در این دوز از PAPP، کماکان بین گروه متوسط PAPP + اشعه و کنترل اختلاف معنی‌دار است ولی همان‌طور که در شکل ۴ نیز مشاهده می‌گردد PAPP در دوز حداکثر سبب حفظ وضعیت سلول‌های اسپرماتوگونی و عدم آسیب‌رسانی پرتو به آن‌ها گردیده است (جدول ۱).

نتایج حاصل از شمارش سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه: بررسی تغییرات تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه نشان می‌دهدکه میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در گروه‌های اشعه تنها و حلال + اشعه نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری در سطح احتمال $P\leq ۰/۰۵$ نشان می‌دهد. این امر نشان‌دهنده تأثیر اشعه بر سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه می‌باشد (جدول ۲).

در حالی‌که تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در گروه حداقل PAPP + اشعه نیز نسبت به گروه اشعه تنها و حلال + اشعه تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهد این امر نشان‌دهنده عدم تأثیر دوز حداقل PAPP بر آسیب ناشی از اشعه بر سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه می‌باشد. اما بررسی گروه‌های متوسط PAPP + اشعه و حداکثر PAPP + اشعه نسبت به گروه کنترل تغییر چندانی نشان نمی‌دهد. این امر نشان‌دهنده اثر حفاظتی وابسته به دوز PAPP بر تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه می‌باشد (جدول ۲).

نتایج حاصل از شمارش سلول‌های اسپرماتید: همان‌طوری که جدول ۳ مربوط به تغییرات تعداد سلول‌های اسپرماتید آمده است، تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه‌های تیمار با اشعه نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در سطح احتمال $P\leq ۰/۰۵$ نشان می‌دهند.

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید درگروه حداقل PAPP همراه با اشعه نسبت به گروه‌های اشعه تنها و حلال + اشعه تغییر چندانی نشان نمی‌دهند. در حالی‌که گروه‌های تیمار با ماده PAPP و اشعه گاما در دوزهای متوسط و حداکثر تغییر چندانی نسبت به گروه کنترل نشان نمی‌دهند. پس به نظر

می‌رسد که داروی PAPP می‌تواند اثرات محافظتی در برابر اثرات مخرب اشعه داشته باشد (جدول ۳).

نتایج حاصل از شمارش سلول‌های اسپرم: جدول ۴ مربوط به تغییرات تعداد سلول‌های اسپرم نشان‌دهنده این مطلب است که در گروه‌های تیمار با ماده PAPP و اشعه گاما در دوزهای متوسط و حداکثر نسبت به گروه کنترل، تغییرات تعداد اسپرم‌ها قابل ملاحظه نیست در صورتی‌که در گروه‌های اشعه تنها و حلال + اشعه و حتی دوز حداقل PAPP همراه با اشعه نسبت به گروه کنترل به وضوح کاهش نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد PAPP توانسته به‌ویژه در دوز متوسط و حداکثر اثرات اشعه را تخفیف دهد (جدول ۴).

جدول ۱ : مقایسه تعدادسلول‌های اسپرماتوگونی در ۱۰ گروه مورد مطالعه

گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین	گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین
کنترل	۷	۸۱/۳۳±۱/۹۰۹c	اشعه تنها	۷	۸/۲۵±۱/۳۷۶a
شاهد	۷	۷۹/۵۰±۲/۰۲۰c	حلال + اشعه	۷	۷/۸۰±۰/۳۷۴a
حداقل دارو	۷	۸۰/۳۳±۰/۸۸۱c	حداقل PAPP + اشعه	۷	۹/۵۰±۰/۷۶۳a
متوسط دارو	۷	۸۱/۵۰±۲/۵۹c	متوسط PAPP + اشعه	۷	۷۲/۸۰±۲/۴۷۷b
حداکثردارو	۷	۸۸/۶۶±۴/۴۸d	حداکثرPAPP + اشعه	۷	۹۱/۶۰±۲/۳۷۹c

* میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

جدول ۲ : مقایسه تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در ۱۰ گروه مورد مطالعه

گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین	گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین
کنترل	۷	۶۶/۱۶±۲/۶۵۰a	اشعه تنها	۷	۹۳/۰۰±۱/۶۸۳b
شاهد	۷	۶۲/۷۵±۲/۴۹۵a	حلال + اشعه	۷	۸۵/۰۰±۱/۶۴۳b
حداقل دارو	۷	۶۴/۶۶±۵/۲۳۸a	حداقل PAPP + اشعه	۷	۸۴/۰۰±۴/۳۲۸b
متوسط دارو	۷	۶۶/۰۰±۱/۷۷۹a	متوسطPAPP + اشعه	۷	۷۱/۸۰±۳/۶۳۸a
حداکثردارو	۷	۶۶/۶۶±۴/۴۰۹a	حداکثرPAPP + اشعه	۷	۶۸/۶۰±۲/۷۸۵a

* میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

جدول ۳: مقایسه تعداد سلول‌های اسپرماتید در ۱۰ گروه مورد مطالعه

گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین	گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین
کنترل	۷	۹۵/۵۰±۶/۹۶۰cd	اشعه تنها	۷	۱۰/۵۰±۱/۱۹۰a
شاهد	۷	۸۷/۵۰±۳/۳۷۸bc	حلال + اشعه	۷	۹/۸۰±۰/۳۷۴a
حداقل دارو	۷	۹۵/۳۳±۲/۹۰۵cd	حداقل PAPP + اشعه	۷	۱۱/۱۶±۰/۶۰۰۹a
متوسط دارو	۷	۹۷/۵۰±۲/۲۵۴cd	متوسط PAPP + اشعه	۷	۷۲/۲۰±۱۲/۵۴b
حداکثردارو	۷	۱۱۲/۶۶±۳/۹۲۹d	حداکثر PAPP + اشعه	۷	۸۷/۸۰±۷/۹۷۱bc

* میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

جدول ۴: مقایسه تعداد سلول‌های اسپرم در ۱۰ گروه مورد مطالعه

گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین	گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین
کنترل	۷	۹۳/۶۶±۶/۴۸۹cd	اشعه تنها	۷	۱۱/۰۰±۱/۰۸۰a
شاهد	۷	۸۷/۵۰±۲/۹۵۸bc	حلال + اشعه	۷	۱۰/۰۰±۱/۳۰۳a
حداقل دارو	۷	۸۳/۶۶±۹/۸۳۷bc	حداقل PAPP + اشعه	۷	۱۱/۱۶±۰/۷۹۲a
متوسط دارو	۷	۹۸/۲۵±۲/۳۲۲cd	متوسطPAPP + اشعه	۷	۷۲/۰۰±۱۲/۷۴۷b
حداکثردارو	۷	۱۱۳/۶۶±۴/۴۰۹d	حداکثرPAPP + اشعه	۷	۸۸/۰۰±۷/۷۷۸bc

* میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

نتایج حاصل از شمارش سلول‌های سرتولی: با توجه به جدول ۵ مشاهده می‌شود میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های تیمار با اشعه نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در سطح احتمال $P\leq ۰/۰۵$ نشان می‌دهد.

میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه تیمار با ماده PAPP و اشعه گاما در دوز حداکثر تغییر چندانی نسبت به گروه کنترل نشان نمی‌دهند در حالی‌که دوزهای متوسط PAPP + اشعه و حداقل PAPP همراه با اشعه نسبت به گروه‌های اشعه تنها و حلال + اشعه تغییر چندانی نشان نمی‌دهد (جدول ۵).

جدول ۵ : مقایسه تعداد سلول‌های سرتولی در ۱۰ گروه مورد مطالعه

گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین	گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین
کنترل	۷	۱۷/۸۳±۰/۷۴۹d	اشعه تنها	۷	۱۲/۷۵±۱/۱۰۸ab
شاهد	۷	۱۷/۲۵±۰/۴۷۸cd	حلال + اشعه	۷	۱۰/۶۰±۰/۹۲۷a
حداقل دارو	۷	۱۷/۶۶±۰/۳۳۳cd	حداقل PAPP + اشعه	۷	۱۲/۵۰±۰/۷۶۳ab
متوسط دارو	۷	۱۷/۰۰±۰/۴۰۸cd	متوسط PAPP + اشعه	۷	۱۵/۰۰±۰/۸۳۶bc
حداکثردارو	۷	۱۷/۶۶±۱/۴۵۲cd	حداکثرPAPP + اشعه	۷	۱۶/۰۰±۰/۷۰۷cd

* میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

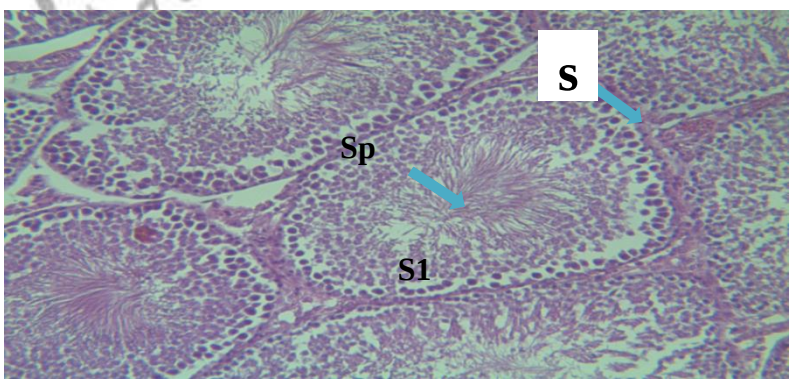
نتایج حاصل از شمارش سلول‌های بینابینی: بررسی جدول ۶ بیانگر این موضوع است که تعداد سلول‌های بینابینی در گروه‌های تیمار با اشعه تنها و حلال + اشعه نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در سطح احتمال P≤۰/۰۵ نشان می‌دهند.

میانگین تعداد سلول‌های لیدیگ در گروه تیمار با ماده PAPP و اشعه گاما در دوزهای حداکثر و متوسط تغییر چندانی نسبت به گروه کنترل نشان نمی‌دهند در حالی‌که دوز حداقل PAPP همراه با اشعه بسیار نزدیک به گروه‌های اشعه تنها و حلال + اشعه می‌باشد. هم‌چنین ایجاد خیز یا ادم و فاصله گرفتن لوله‌های اسپرم‌ساز از هم در بافت بیضه و پیدایش بی‌نظمی در اپی‌تلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های تیمار با اشعه تنها و حلال + اشعه (شکل ۲ و ۳) مشاهده گردید که این تغییرات در سایر گروه‌ها و هم‌چنین گروه تیمار با PAPP و گاما دیده نشد (جدول ۶).

جدول ۶ : مقایسه تعداد سلول‌های بینابینی در ۱۰ گروه مورد مطالعه

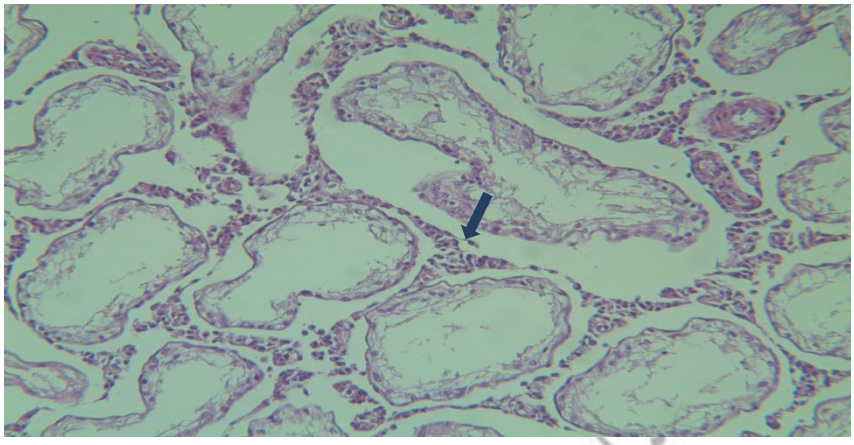
گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین	گروه	تعداد نمونه‌ها	خطای معیار ± میانگین
کنترل	۷	۱۵/۳۳±۰/۸۴۳b	اشعه تنها	۷	۱۱/۵۰±۰/۶۴۵a
شاهد	۷	۱۵/۰۰±۰/۴۰۸b	حلال + اشعه	۷	۱۱/۰۰±۰/۷۰۷a
حداقل دارو	۷	۱۵/۰۰±۰/۵۷۷b	حداقل PAPP +اشعه	۷	۱۱/۱۶±۰/۷۴۹a
متوسط دارو	۷	۱۵/۲۵±۱/۴۹۳b	متوسطPAPP +اشعه	۷	۱۲/۸۰±۰/۸۶۰ab
حداکثردارو	۷	۱۵/۳۳±۱/۷۶۳b	حداکثرPAPP +اشعه	۷	۱۴/۴۰±۰/۶۷۸b

* میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.



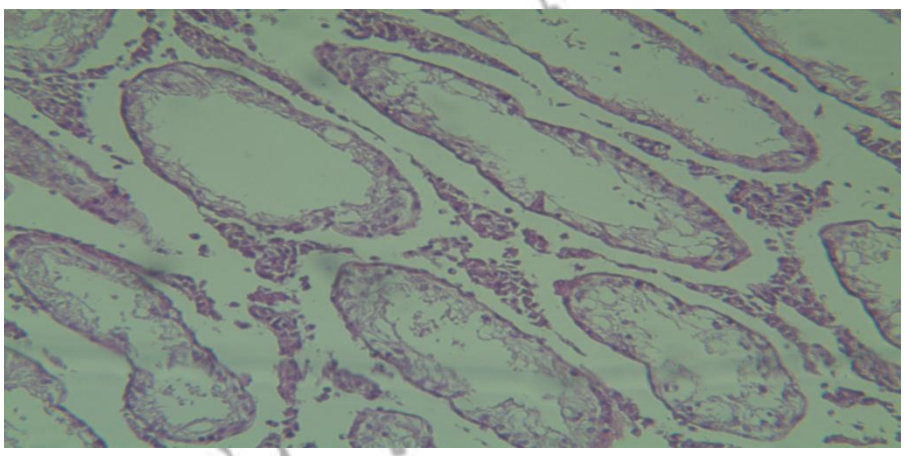
شکل ۱: فتومیکروگراف از لوله‌های اسپرم‌ساز گروه کنترل (بزرگ‌نمایی ۱۰۰x رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین)

S: اسپرماتوگونی **s1**: اسپرماتوسیت اولیه **sp**: اسپرم

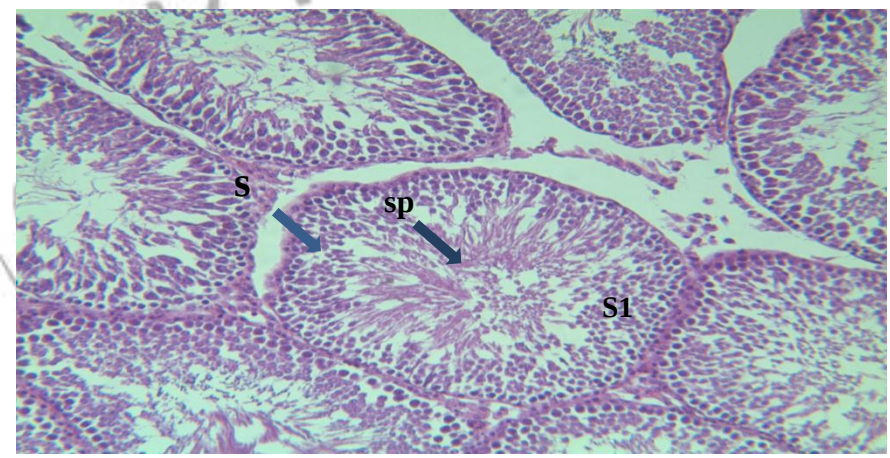


شکل ۲: فتومیکروگراف از لوله‌های اسپرم‌ساز گروه اشعه (بزرگ‌نمایی ۱۰۰x رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین)

به خالی بودن لوله‌های اسپرم‌ساز (نوک فلش) و فاصله گرفتن آن‌ها از هم توجه کنید.



شکل ۳: فتومیکروگراف از لوله‌های اسپرم‌ساز گروه حلال + اشعه (بزرگ‌نمایی ۱۰۰x رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین)



شکل۴: فتومیکروگراف از لوله‌های اسپرم‌ساز گروه حداکثر PAPP + اشعه (بزرگ‌نمایی ۱۰۰x رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین)

S: اسپرماتوگونی **s1**: اسپرماتوسیت اولیه **sp**: اسپرم

به تعداد زیاد سلول‌های اسپرماتوگونی و اسپرم (نوک فلش) توجه کنید.

بحث

بررسی بافت‌شناختی بافت بیضه، پیدایش بی‌نظمی در اپی‌تلیوم زایای بافت بیضه در موش‌های صحرایی تحت تأثیر تشعشعات گاما و هم‌چنین فواصل زیاد بین لوله‌ها را نشان داد. این امر پیدایش تخریب سلول‌ها و حالت ادم در بیضه را مطرح می‌سازد که یکی از نشانه‌های آسیب بافتی به‌شمار می‌رود (۷ و ۸). نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی سلول‌های اسپرماتوگونی نشان‌دهنده کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی تحت تأثیر تشعشعات گاما می‌باشد. از آن‌جایی که اسپرماتوگونی جزء سلول‌های پایه‌ای و تمایز نیافته بیضه بوده و براساس یافته‌های محققین حساسیت سلول‌های بازال و تمایز نیافته نسبت به اشعه خیلی بالا می‌باشد (۱۲)، این سلول‌ها در اثر تابش زود تخریب می‌شوند. با توجه به این‌که تحقیقات قبلی نشان داده است که سلول‌های قابل تقسیم نسبت به پرتوها حساس‌ترند (۱۴) و با عنایت به این‌که مکانیسم ذکر شده برای میدان و پرتوها مشابه ذکر گردیده (۹)، بنابراین می‌توان گفت اثر مخرب تشعشات گاما با ایجاد توقف رشد و انهدام سلول‌های اسپرماتوگونی موجبات کاهش تعداد سلول‌ها را فراهم آورده است (۵) که این با یافته‌های محققین قبلی مطابقت دارد. از طرف دیگر تزریق PAPP به‌ویژه در دوز حداکثر هم‌زمان با قرارگیری حیوان در معرض تشعشات گاما مانع از پیدایش اثرات سوء تابش گاما شده و از کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی جلوگیری می‌نماید. در این مورد می‌توان گفت PAPP با ایجاد حداکثر مت هموگلوبین باعث کاهش اکسیژن‌رسانی می‌شود (۱۳)، در نتیجه میزان اکسیژن در بافت‌ها را کاهش می‌دهد و کاهش اکسیژن از تشکیل رادیکال آزاد جلوگیری کرده و بدین ترتیب باعث کاهش اثرات مضر تشعشعات گاما بر سلول‌های اسپرماتوگونی می‌گردد.

هم‌چنین قرارگیری حیوان در معرض تشعشات گاما با شدت ۲ گری باعث افزایش تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه می‌گردد. در مورد توجیه این مطلب می‌توان گفت که تشعشعات گاما با اثرگذاری بر DNA سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه باعث توقف سیر تکاملی سلول‌ها شده و از تبدیل سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه به رده‌ی بعد جلوگیری می‌کند (۴). این امر در پایان باعث می‌شود تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه افزایش یابد. هم‌چنین نتایج حاصل از این بررسی در گروه‌های مختلف آزمایش و کنترل نشان‌دهنده‌ی کاهش تعداد اسپرم در گروه‌های تحت تأثیر اشعه تنها و حلال + اشعه بوده بنابراین در این مورد نیز می‌توان گفت توقف سیر تکاملی اپی‌تلوم ژرمینال تحت تأثیر تشعشعات نهایتاً منجر به کاهش تعداد اسپرم‌های بالغ در لوله‌های اسپرم‌ساز می‌گردد (۵). تزریق PAPP به حیوانات تحت تأثیر اشعه گاما به‌ویژه در دوز حداکثر از پیدایش اثرات فوق براساس مکانیسم ایجا هیپوکسی و پائین آمدن مقدار اکسیژن و در نتیجه کم شدن مقدار رادیکال آزاد جلوگیری نموده و در این مورد اثر محافظتی PAPP را نشان می‌دهد. در خصوص سلول‌های سرتولی و بینابینی کاهش معنی‌داری در گروه‌های تیمار با اشعه تنها وحلال+ اشعه نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. تشعشعات یون‌ساز منجر به وقوع آپوپتوزیس و القاء مرگ سلولی در بافت بیضه می‌شود (۳). بنابراین می‌توان گفت کاهش تعداد سلول‌های سرتولی و بینابینی احتمالاً به دلیل آپوپتوزیس و القاء مرگ سلولی در بافت بیضه باشد. تزریق PAPP قبل از تابش اشعه توانست تا حدودی اثرات زیان‌بار تشعشات گاما را بر روی سلول‌های سرتولی و بینابینی کاهش دهد.

در خاتمه می‌توان نتیجه گرفت که تشعشعات گاما باعث ایجاد آسیب در اپی‌تلیوم زایای بافت بیضه می‌شود و تزریق PAPP به‌ویژه در دوز حداکثر می‌تواند از اثرات زیان‌بار تشعشعات گاما در روند اسپرماتوژنز جلوگیری کند.

منابع

۱. **کانکلین، جمیر. جی،والکر. ریچارد،آی. ترجمه: مزدارانی، ح.، ۱۳۷۴.** عواقب انفجارهای اتمی از دیدگاه پزشکی. چاپ اول، تهران. دانشگاه امام حسین(ع).

2. **Benkhaled, L.; Barrios, L.; Mestres, M.; Caballin, M.; Ribas, M. and Barquinero, J.F., 2006.** Analysis of gamma-raysinduced chromosome aberrations: a fingerprint evaluation with a combination of pan-centromeric and pantelomericprobes. Int J Radiat Biol. Vol. 82, pp. 869-875.
3. **Bustos-Obregon, E. and Rodriguez, H., 1991.** Testicular x-ray irradiation in adult Mice as amodel to studyspermatogonial proliferation. J Andrologia. Vol. 23, pp. 447–50.
4. **Casaret, G., 1963.** Cellular Basis and Aeltiology of late somatic Effects of ionizing Radiation, New York, Academic. pp: 197-223.
5. **Kashiwabara, S.; Kashimoto, N.; Sanoh, S.; Uesaka, T.; Katoh, O. and Watanabe, H., 2003.** Damage of themouse testis bytritiated

water and 137Cs-gamma-rays. Hiroshima J Med Sci. Vol. 52, pp. 53-58.

6. **Lee, J.S.; Ahn, S.S.; Jung, K.C.; Kim, Y.W. and Lee, S.K., 2004.** Effects of 60 Hz electromagnetic field exposure on testiculargerm cell apoptosis in mice. Asian J Androl. Vol. 6. pp. 29-34.
7. **Ozguner, M.; Koyu, A.; Cesur, G.; Ural, M.; Ozguner, F. and Gokcimen, A., 2005.** Biologicaland morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. Saudi Med J. Vol. 26. pp. 405-41۰
8. **Porter, K.L.; Shetty, G. and Meistrich, M.L., 2006.** Testicular edema is associated withspermatogonial arrest in irradiatedrats. Endocrinology. 147 p.
9. **Portess, D.I.; Bauer, G.; Hill, M.A. and O'Neill, P., 2007.** Low-dose irradiation of nontransformed cells stimulates theselective removal of precancerous cells via intercellular induction of apoptosis. Cancer Res. Vol. 67, pp. 1246-1253.
10. **Pospisil, M.; Hofer, M.; Vacek, A.; Netikova, J.; Pipalova, I. and Viklicka, S., 1993.** Noradrenaline reduces cardiovascular effects of the combined dipyridamole and AMP administration but preserves radioprotective effects of these drugs on hematopoiesis in mice. Physiol Res. Vol. 42. pp. 333-340.
11. **Puck, T.T. and Marcus, P.I., 1956.** Action of X-Rays on mammalian Cells. J Exp Med. Vol. 103, pp. 653-666.
12. **Sigdestad,C.P.; Bergquist, B.L. and Grdina, D.J., 1991.** The effect of chemical radiation protectors on cell cycleprogression after gamma or neutron Irradiation. Cell prolif. Vol. 24, No. 3, pp. 271-80.
13. **Strrer, J.B. and Julius, M., 1950.** Protective Effect of Para-aminopropiophenone Against Lethal Doses of X-Radiation. ExpBiol Med. Vol. 74, No. 1, pp. 202-204.
14. **Subbotina,T.I.;Tereshkina,O.V.; Khadartsev, A.A. and Yashin, A.A., 2006.** Effect of low-intensityextremely high frequency radiation on reproductive function in wistar rats. Bull ExpBiol Med. Vol. 142, pp. 189-190.

The protective effect of Para Amino Propiophenone (PAPP) on spermatogenesis after gamma irradiation in adult rats

- **Badriyeh Shojaei:** Department of Biology, Islamic Azad University Jahrom Branch, P.O.Box: 355-74135, Jahrom, Iran
- **Samaneh Zolghadri*:** Department of Biology, Islamic Azad University Jahrom Branch, P.O.Box: 355-74135, Jahrom, Iran
- **Vahid Hemaiatkhah:** Department of Biology, Islamic Azad University Jahrom Branch, P.O.Box: 355-74135, Jahrom, Iran

Received: August 2013 Accepted: September 2013

Key words: Spermatogenesis, Gamma irradiation, Propiophenone (PAPP), rats

Abstract

Ionizing radiation cause damage and even cell death to body tissues. Protective compounds are administered before radiotherapy to reduce the harmful effects of irradiation. The aim of this study was to investigate the effects of gamma radiation on spermatogenesis in adult rats and the protective role of Para amino propiophenone.

PAPP was injected intraperitoneally at different doses 40, 20, 10 mg / kg half an hour before exposure to gamma rays (2 Gy). The animals after 3 days were killed. After removing the testes of animals and preparation of slides, the number of spermatogonia, primary spermatocytes, spermatids, spermatozoa, Leydig and Sertoli were counted.

The results showed significantly reduction of the number of spermatogonia, spermatids, spermatozoa, Sertoli, Leydig, in the group that treated with 2 Gy of gamma rays, compared with the control group ($P \leq 0.05$). While the number of primary spermatocytes in the gamma treatment groups compared with the control group increased significantly ($P \leq 0.05$).

PAPP role as a protector was well represented. It seems that PAPP protects cells and tissues from damaging effects of free radicals under the influence of gamma radiation with low oxygen delivery and hypoxia generation.

* Corresponding Author's email: szjahromi@yahoo.com