

بررسی تغییرات مورفولوژیک و مورفومتريک اپی تلیوم مجاری منی ساز، پس از تابش لیزر گالیوم - آلومینیوم - آرسناید (۸۳۰ نانومتر)

✉ معصومه فخر طه ^{M.Sc.}، مجتبی رضا زاده ولوجردی ^{Ph.D.}، تقی طریحی ^{Ph.D.}*

* گروه علوم تشریح دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ وصول: اسفند ماه ۸۱، تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۸۲

چکیده

هدف: بررسی آثار فوری تابش لیزر کم توان گالیوم - آلومینیوم - آرسناید ۸۳۰ نانومتر روی اپی تلیوم مجاری منی ساز **مواد و روشها:** رت‌های شصت روزه نژاد Sprague-Dawley به طور تصادفی در سه گروه کنترل، تجربی ۱ و تجربی ۲ توزیع شدند. قطب تحتانی بیضه چپ تراشیده، شسته و علامت گذاری شد و طی ۱۵ روز در معرض تابش لیزر قرار گرفت، به طوری که مجموع دانسیته‌های انرژی در گروه‌های فوق به ترتیب به ۰، $28/05 \text{ J/cm}^2$ و $46/80 \text{ J/cm}^2$ رسید. نمونه برداری ۲۴ ساعت پس از آخرین تابش صورت گرفت و نمونه‌ها برای بررسی با میکروسکوپ نوری آماده شدند. در تحقیق حاضر؛ علاوه بر مشاهده خصوصیات مورفولوژیک مجاری منی ساز، تغییرات کمی اپی تلیوم توسط روشهای مورفومتري بررسی شد.

یافته‌ها: در گروه تابش $28/05 \text{ J/cm}^2$ ضخامت و سطح اپی تلیوم، قطر مجاری منی ساز و تعداد سلولهای جنسی به ویژه سلولهای پاکي تن و اسپرماتید بالغ افزایش یافت و از نظر مورفولوژیک هیچ گونه آثار تخریبی در اپی تلیوم مشاهده نشد. اما با تابش $46/80 \text{ J/cm}^2$ ضخامت اپی تلیوم کاهش یافت و در اکثر مجاری منی ساز این گروه، شکاف در اپی تلیوم و ریزش سلولهای جنسی نابالغ به داخل لومن مشاهده شد؛ با این وجود در مجاری فاقد ریزش سلولی، مساحت اپی تلیوم و نسبت کلیه سلولهای جنسی مشابه گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان دادند که تغییرات مورفولوژیک و مورفومتريک اپی تلیوم مجاری منی ساز ارتباط قطعی با دانسیته انرژی لیزر دارد، به طوری که تابش با دوزهای پایین، القای آثار تحریکی بر روند اسپرماتوژنز و تابش با دوزهای بالاتر از آستانه تحریک زیستی آثار تخریب در اپی تلیوم و اختلال در روند اسپرماتوژنز را به دنبال دارد.

واژه‌های کلیدی: اپی تلیوم مجاری منی ساز، تابش لیزر، گالیوم - آلومینیوم - آرسناید (۸۳۰ نانومتر)، تغییرات مورفولوژیک، تغییرات مورفومتريک

مقدمه

حیوانات و انسان در حال انجام است [۲]. شواهد نشان می‌دهد که لیزر با شدت پایین سنتز نوکلئیک اسید و تزاید سلولی را، در Hela tumor cells، E. coli، فیبر و بلاست‌ها و لنفوسیت‌ها و سلول‌های تیروئیدی بر می‌انگیزد و این اثرهای تحریکی چند ساعت یا چند روز پس از تابش لیزر به حداکثر می‌رسد [۳]. علاوه بر این محققین افزایش و تسریع در سنتز پروتئین، ATP، RNA و DNA [۲]، تحریک رشد سلولها اعم از سلولهای بافت همبند، تاندون و استخوان، رژنراسیون سلولهای نظیر سلولهای

لیزرها امروزه موقعیت بی نظیر و بسیار مهمی را در میان ابزار پزشکی اشغال نموده‌اند. آنها از درخشان‌ترین و ممتازترین منابع نوری شناخته شده هستند و اثرهای قدرتمندی را روی سیستم‌های بیولوژیک ایفا می‌نمایند. [۱]. لیزر با شدت پایین به عنوان یک ابزار درمانی معرفی شده است و آزمایش‌هایی در

✉ آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، گروه علوم تشریح، صندوق پستی ۱۱۱-۱۴۱۱۵ Email:Thah_TWU73@Yahoo.com

عصبی و رگزایی [۴] را به دنبال تابش لیزر کم توان گزارش نموده‌اند.

با توجه به آثار اساسی بیولوژیک لیزر کم توان روی بافت‌ها و سلول‌ها، بسیار عاقلانه به نظر می‌رسد که درباره امکان استفاده از انرژی لیزر برای تحریک عمل اسپرماتوژنز بیضه در مردان عقیم تحقیق و بررسی شود [۴]. لیزر تاکنون در مواردی نظیر جراحی بیضه [۵] و درمان التهاب‌های سیستم ژنیتال برای برگرداندن ظرفیت باروری در مرد [۸،۷،۶] به کار رفته است. علاوه بر این محققین افزایش در تحرک کلی اسپرم [۹، ۱۰، ۱۱]، تسریع انتقال کلسیم در سلول‌های اسپرم [۱۳، ۱۲]، افزایش فعالیت استروئیدوژنیک سلول‌های لیدیک [۱۴]، افزایش در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی [۱۵] و افزایش در محتوای DNA سلول‌های جنسی [۱۶، ۳] را به دنبال تابش لیزر کم توان گزارش کرده‌اند. در هر حال مطالعات انجام شده در خصوص تاثیر تابش لیزر بر سیستم تناسلی انگشت شمارند و تاکنون اطلاعات کافی در مورد تغییرات کمی و کیفی اپی تلیوم مجاری منی ساز پس از تابش لیزر ارایه نشده است و بررسیهای دقیقی را می‌طلبد.

مواد و روشها

برای انجام بررسی حاضر، تعداد ۲۵ سررت نر شصت روزه نژاد Sprague-Dawley انتخاب و به طور تصادفی در گروه‌های ۷ تایی شاهد، تجربی ۱ و تجربی ۲ و گروه چهارتایی تجربی ۳ واقع شدند و طی دوره تحقیق تحت شرایط یکسان و استاندارد نور، تهویه، تغذیه و دما قرار گرفتند.

در این تحقیق از یک دستگاه لیزر دیودی گالیوم-آلومینیوم-آرسناید مدل Endolaser, 476, Enraf-Nonius ساخت هلند و کالیبره شده توسط شرکت سپهران استفاده شد. خصوصیات کامل دستگاه در جدول ۱ خلاصه شده است.

به منظور آماده کردن رت‌ها برای تابش لیزر، قبل از شروع دوره درمان، پوست ناحیه قطب تحتانی بیضه چپ تراشیده، شسته و محیط موضع تابش توسط جوهر هندی مشخص گشت. علاوه بر این؛ قبل از آغاز هر جلسه درمانی نیز برای کاهش انعکاس پرتوهای لیزر ناحیه درمان مجدداً تراشیده و با

الکل ۷۰ درصد تمیز شد. رت‌ها با کاربرد روشهای مناسب و بدون وارد شدن استرس روی زانو‌ها ثابت شدند و تابش را از طریق پرآب که عمود بر ناحیه تابش و تا حد ممکن نزدیک پوست قرار داشت، دریافت نمودند. تابش لیزر از سن ۶۱ روزگی رت‌ها آغاز و به مدت ۱۵ روز بین ساعت ۸/۵ تا ۹/۵ صبح تکرار شد. تابش لیزر با انتخاب روش point stimulation و در مرکز حقیقی ناحیه مشخص شده انجام گرفت. دانسیته انرژی در هر جلسه درمانی برای گروه‌های شاهد، تجربی ۱ و تجربی ۲ به ترتیب ۰، ۱/۸۷ و ۳/۱۲ ژول بر سانتی متر مربع و مجموع دانسیته‌ها معادل ۰، ۲۸/۰۵ و ۴۶/۸۰ ژول بر سانتی متر مربع برآورد شد. علاوه بر این؛ میزان اتلاف انرژی نیز طبق بیانات شرکت سازنده دستگاه، محاسبه و طی جلسات درمانی منظور شد. به این ترتیب زمان تابش توسط دستگاه به طور اتوماتیک برای گروه‌های تجربی ۱ و ۲ روی ۶۷ و ۱۱۷ ثانیه تنظیم شد و در مورد گروه کنترل برای تحمل استرس مشابه، دیود به صورت خاموش و به مدت ۹۲ ثانیه به کار رفت. در گروه تجربی ۳ نیز تابش لیزر فقط در یک جلسه درمانی و با دانسیته ۱۵ ژول بر سانتی متر مربع صورت گرفت. قابل ذکر است که دو دوز ۲۸/۰۵ و ۴۶/۸۰ ژول بر سانتی متر مربع قبلاً در مطالعات Bermudez و همکارانش برای بررسی تاثیر تابش لیزر مادون قرمز ۹۰۴ نانومتر روی محتوای DNA سلول‌های جنسی مجاری منی ساز رت به کار رفته است [۱۶، ۳].

نمونه‌برداری در تمام رت‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تابش انجام شد. به این منظور ابتدا رت‌ها را به کمک دوز بالای اتر بیهوش نموده، با ایجاد برش روی اسکروتوم، بیضه‌های چپ جدا شدند و نمونه‌ها از نواحی تابش دیده برداشته و به محلول ثابت کننده بوئن منتقل شدند. پس از ثبوت، مراحل آماده سازی قطعات بافتی طی شد و نمونه‌ها به طور عرضی و با رعایت سطح فوقانی و تحتانی قطعه در داخل قالب پارافین قرار گرفتند تا هنگام برش مقاطع کاملاً عرضی از بیضه و مجاری منی ساز گرد تهیه شود. سپس به وسیله میکروتوم با تیغه ثابت برشهای سریال به ضخامت ۵ میکرون تهیه و برشها به نسبت یک به پنج انتخاب و روی لام منتقل شدند، سپس توسط دو روش H&E

و PAS رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

جدول ۱. خصوصیات دستگاه لیزر مورد استفاده

نام دستگاه و طول موج	دیود نیمه هادی کالیوم-آلومینیوم-آرسناید ۸۲۰ نانومتر
ماکزیمم قدرت خروجی دستگاه	۳۰ میلی وات
قدرت مورد استفاده	۲۵٪ قدرت ماکزیمم
نوع پرتو مورد استفاده	منقطع
فرکانس و دیوریشن پالس	۳۰۰ هرتز و ۱/۷ میلی ثانیه
قطر و سطح مقطع پرتو	۴ میلی متر و ۰/۱۲۵۶ سانتی متر مربع

بررسی شد. بدین ترتیب که ابتدا مساحت اپی تلیوم در هر مجرا به روش قبل محاسبه شد. سپس با استفاده از بزرگنمایی $\times 1000$ ، شمارش سلولی در تمام سطح اپی تلیوم هر یک از این مجاری انجام شد. قابل ذکر است که سلولهای شمارش شده شامل اسپرماتوگونیها، اسپرماتوسیت‌های اولیه در مرحلهٔ پاکی تن، اسپرماتیدهای گرد نابالغ، اسپرماتیدهای طویل بالغ و سلولهای سرتولی بودند و در حین شمارش سلولی معیارهای زیر مد نظر قرار گرفت:

الف - فقط مقاطع عرضی گرد از مجاری منی ساز با غشای پایه کاملاً مشخص برای شمارش سلولی انتخاب شد.
ب - تا حد ممکن مجاری بالومن تمیز و فاقد ریزش سلولی برای شمارش به کار رفتند و از شمارش سلولهای آزاد در لومن اجتناب شد.

ج - فقط تمام سلولهایی که از میان مرکز هندسی (مرکز هسته یا هستک) خود بریده شده بودند، شمرده شدند.

در این مطالعه ارزیابی انواع سلولها بر اساس دو معیار مجزا صورت گرفت. در روش اول از واحد سطح (یک میکرومتر مربع) به عنوان جزء ثابت برای ارزیابی کمی انواع مختلف سلولها استفاده شد و پس از محاسبه سطح اشغال شده توسط اپی تلیوم هر مجرا بر حسب میلی متر مربع، نسبت انواع سلولها در واحد سطح هر مجرا و سپس میانگین تعداد هر سلول در واحد سطح هر بیضه و در نهایت در کل بیضه‌های هر گروه محاسبه و مورد مقایسه قرار گرفت. در روش دوم معیار ارزیابی انواع سلولهای جنسی، سلولهای سرتولی بودند، به این ترتیب که نسبت انواع سلولها بر حسب سلول سرتولی در هر مجرا محاسبه [۱۸] و سپس میانگین نسبت‌ها در هر بیضه و بالاخره در بیضه‌های هر گروه برای مقایسه تعیین شد.

داده‌ها پس از جمع‌آوری و دسته بندی توسط نرم‌افزار SPSS (Version 6.0) تجزیه و تحلیل شد. برای این کار از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد.

یافته‌ها

در مشاهدات هیستولوژیک توسط میکروسکوپ نوری، بیضه‌های گروه کنترل ظاهر طبیعی داشته، شامل مجاری

اندازه‌گیری قطر مجاری منی ساز، ضخامت اپی تلیوم و قطر لومن مجرای منی ساز

برای اندازه‌گیری این پارامترها از میکروسکوپ زایس دارای میکرومتر مدرج و بزرگنمایی $\times 100$ استفاده شد. طول خط کش در عدسی چشمی ۱۰ واحد بود که هر واحد آن ۹۹ میکرون محاسبه شد. روش مطالعه به این صورت بوده که پارامترهای مورد نظر در ۴۰ مجرای منی ساز گرد و یا نزدیک به گرد در هر بیضه اندازه‌گیری شد. برای دقیق بودن این اندازه‌گیریها میانگین قطر بزرگ و کوچک هر مجرای منی ساز محاسبه شد. در پایان میانگین اندازه این پارامترها در هر بیضه و سپس در کل بیضه‌های هر گروه محاسبه و مورد مقایسه قرار گرفت [۱۷].

روش محاسبه مساحت اپی تلیوم

براساس یافته‌های به دست آمده از اندازه‌گیری قطر مجاری منی ساز و قطر لومن در هر مجرا و محاسبه مساحت کل مجرای منی ساز و مساحت لومن آن، سطح اپی تلیوم هر مجرا بر حسب میکرومتر مربع به دست آمد. سپس میانگین داده‌ها در هر بیضه و بالاخره در بیضه‌های هر گروه برای محاسبه تعیین شد.

روش محاسبه تعداد سلولهای اپی تلیوم مجاری منی ساز

برای این منظور تقریباً هر دهمین مقطع از برشهای سریال تهیه شدهٔ بیضه برای بررسی انتخاب و در مقاطع فوق ۲۰ عدد مجاری منی ساز کاملاً گرد در مراحل VII و VIII سیکل سلولی

حذف آنها به درجات متفاوت مشاهده شد. اکثریت این سلولها را سلولهای اسپرماتید گرد نابالغ تشکیل می دادند و در برخی از لومن هانیز آزاد شدن سلولهای اسپرماتوسیت اولیه پاکی تن قابل مشاهده بود. شکاف در اپی تلیوم نیز در مجاری این گروه به فراوانی به چشم می خورد. جالب توجه است که ریزش سلولهای اسپرماتوگونی یا پره لیتوتن در هیچ یک از مجاری مشاهده نشد (شکل ۳).

در رتهای گروه تجربی ۳ نیز ضایعات شدیدی به صورت پارگی عروق، خونریزی شدید، تخریب کامل یا نسبی برخی از مجاری همراه با جدا شدن غشای پایه و نفوذ سلولهای خونی به داخل اپی تلیوم مجاری منی ساز قابل مشاهده بود. البته بررسی بیضه های این گروه به همین مطالعات توصیفی محدود و در مراحل مورفومتری از آنها صرف نظر شد.

از بررسی مورفومتریک مجاری منی ساز در گروههای تابش لیزر و کنترل نیز نتایج زیر حاصل گشت.

۱ - میانگین قطر مجاری منی ساز به ترتیب در گروههای کنترل، آزمایش با دوز کلی $28/05 \text{ J/cm}^2$ و $46/80 \text{ J/cm}^2$ آزمایش با دوز کلی $28/05 \text{ J/cm}^2$ افزایش معنی داری را با $P < 0.05$ نشان داد (جدول ۲).

منی ساز و بافت بینابینی طبیعی بودند. اپی تلیوم مجاری یکدست، فاقد شکاف، عاری از هر گونه ریزش سلولی و از سلولهای سرتولی و جنسی تشکیل شده بود. مطالعه حاضر بیشتر روی مراحل VII و VIII سیکل سلولی متمرکز گشت. در گروه کنترل این مجاری کاملاً طبیعی و شامل سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت های اولیه پره لیتوتن و پاکی تن، اسپرماتیدهای گرد نابالغ و اسپرماتیدهای طویل بالغ در سطح اپی تلیوم بودند (شکل ۱).

در بیضه های گروه تابش با دوز کلی $28/05 \text{ J/cm}^2$ نیز اپی تلیوم مجاری منی ساز کاملاً یکدست، بدون شکاف و فاقد ریزش سلولی بود اما به نظر می رسید که اولاً، در مجاری منی ساز این گروه ضخامت اپی تلیوم و تعداد اسپرماتیدهای بالغ در مراحل VII و VIII سیکل سلولی افزایش یافته است و ثانیاً، در رنگ آمیزی PAS بیضه های این گروه، افزایش در واکنش PAS به خصوص در نواحی غشای پایه و فضای بینابینی به چشم می خورد (شکل ۲).

در بیضه های گروه تابش لیزر با دوز کلی $46/80 \text{ J/cm}^2$ بسته به فاصله مجاری از نقطه تمرکز تابش درجات شدید، متوسط یا خفیفی از ریزش سلولهای جنسی از اپی تلیوم و

جدول ۲. مقایسه میانگین و انحراف معیار قطر مجاری منی ساز، ضخامت اپی تلیوم، قطر لومن مجاری

منی ساز و مساحت اپی تلیوم

گروه های مورد مطالعه	کنترل	گروه آزمایش با دوز کلی $28/05 \text{ J/cm}^2$ ۷ول بر سانتی متر مربع n=7	گروه آزمایش با دوز کلی $46/80 \text{ J/cm}^2$ ۷ول بر سانتی متر مربع n=7	پارامتر
قطر مجاری منی ساز (۱۱)	C ۳۲۰/۳۴۴ (۱۷/۸۰۰)	A ۳۴۹/۱۴۳ (۲۹/۳۴۴)	B ۳۳۳/۷۱۹ (۲۶/۱۹۵)	
ضخامت اپی تلیوم (۱۱)	B ۹۱/۰۶۰ (۷/۸۹۰)	A ۹۴/۲۷۸ (۱۲/۱۵۷)	C ۸۷/۰۸۰ (۹/۶۹۲)	
قطر لومن مجاری منی ساز (۱۱)	B ۱۳۷/۹۸۷ (۱۹/۱۹۶)	A ۱۳۷/۹۳۴ (۳۰/۲۸۴)	A ۱۵۸/۶۷۷ (۲۹/۹۵۷)	
مساحت اپی تلیوم (برحسب میکرومتر مربع)	B ۶۵۵۷۰/۰۰۵ (۶۹۴۷/۱۷)	A ۷۵۳۱۴/۲۶ (۱۲۸۹۳/۲۱)	B ۶۷۳۹۷/۲۰ (۹۵۴۳/۸۰)	

مقدار A یا $P < 0.05$ از مقدار B و مقدار B یا $P < 0.05$ از مقدار C بیشتر است و بین حروف مشابه تفاوت معنی داری وجود ندارد.

اعداد داخل پرانتز نشان دهنده انحراف معیار است.

n : تعداد حیوان

اسپرماتید گرد نابالغ و اسپرماتید طویل بالغ در یک میلی متر مربع از اپی تلیوم مجاری منی ساز در گروه کنترل و گروه آزمایش با دوز کلی ۴۶/۸۰ از لحاظ آماری اختلاف معنی داری نداشت ($P>0.05$) و تغییرات اغلب در گروه آزمایش با دوز ۲۸/۰۵ مشاهده شد، به طوری که میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوگونی و اسپرماتید گرد نابالغ در واحد سطح اپی تلیوم این گروه نسبت به دو گروه دیگر کاهش معنی دار و میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوسیت اولیه در مرحله پاکی تن و اسپرماتید طویل بالغ در واحد سطح این گروه نسبت به گروههای کنترل و آزمایش با دوز ۴۶/۸۰ افزایش معنی داری را با ($P<0.05$) دارا بود (جدول ۳).

۶- با مقایسه مقادیر مربوط به میانگین تعداد سلولهای سرتولی در یک میلی متر مربع از اپی تلیوم مجاری منی ساز بین دو گروه آزمایش تفاوت معنی دار آماری مشاهده نگردید ($P>0.05$)، در حالی که مقادیر مربوط به این پارامتر در هر دو گروه ذکر شده نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را با ($P<0.05$) داشت (جدول ۳).

۲- میانگین ضخامت اپی تلیوم مجاری منی ساز در گروه آزمایش با دوز کلی $46/80 \text{ J/cm}^2$ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار و گروه آزمایش با دوز کلی ۲۸/۰۵ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد ($P<0.05$) (جدول ۲).

۳- میانگین قطر لومن مجاری منی ساز در دو گروه آزمایش با دوزهای ۲۸/۰۵ و ۴۶/۸۰ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت ($P<0.05$) اما اختلاف مقادیر پارامتر فوق بین دو گروه آزمایش از لحاظ آماری معنی دار نبود ($P>0.05$) (جدول ۲).

۴- میانگین مساحت اپی تلیوم بر حسب کیلومتر مربع در گروههای کنترل و تابش لیزر با دوز کلی ۴۶/۸۰ فاقد اختلاف آماری بود ($P>0.05$) اما اندازه پارامتر فوق در گروه تابش لیزر با دوز کلی ۲۸/۰۵ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد ($P<0.05$) (جدول ۲).

۵- میانگین تعداد سلولهای جنسی یعنی سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه در مرحله پاکی تن،

جدول ۳. مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد سلولهای اپی تلیوم مجاری منی ساز

گروههای مورد مطالعه	کنترل	گروه آزمایش با دوز کلی ۲۸/۰۵ ژول بر سانتی متر مربع n=7	گروه آزمایش با دوز کلی ۴۶/۸۰ ژول بر سانتی متر مربع n=7
تعداد اسپرماتوگونی (در 1mm^2)	A ۹۰۶/۲۸۴ (۵۷/۱۰۷)	B ۸۷۹/۸۲۳ (۱۰۵/۰۲۲)	A ۸۸۵/۲۳۲ (۹۰/۶۹۱)
تعداد اسپرماتوسیت اولیه در مرحله پاکی تن (در 1mm^2)	B ۶۰۹/۸۲۹ (۷۳/۰۶۶)	A ۶۲۰/۴۳۰ (۸۳/۶۸۶)	B ۵۸۳/۹۹۹ (۸۸/۳۲۳)
تعداد اسپرماتید گرد نابالغ (در 1mm^2)	A ۲۱۵۹/۰۴۵ (۱۸۶/۱۲۱)	B ۲۰۷۳/۷۹۷ (۲۹۹/۱۸۰)	A ۲۰۹۲/۰۰۳ (۲۶۱/۲۷۴)
تعداد اسپرماتید طویل بالغ (در 1mm^2)	B ۹۵۳/۳۶۴ (۲۲۴/۳۷۰)	A ۱۰۱۹/۳۵۸ (۱۸۷/۷۸۰)	B ۹۰۷/۹۸۰ (۱۷۸/۰۰۷)
تعداد سرتولی (در 1mm^2)	A ۱۱۲/۱۸۲ (۳۱/۷۲۸)	B ۹۲/۵۳۶ (۲۸/۴۹۰)	B ۹۶/۴۹۷ (۳۰/۵۴۱)

اعداد داخل پرانتز نشان دهنده انحراف معیار است.

مقدار A از مقدار B بیشتر است.

n: تعداد حیوان

جدول ۴. مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد سلولهای جنسی برحسب سلول سرتولی در اپی تلیوم مجاری منی سازه VII و VIII سیکل سلولی.

گروههای مورد مطالعه	کنترل	گروه آزمایش با دوز کلی ۲۸/۰۵ ژول بر سانتی متر مربع n=7	گروه آزمایش با دوز کلی ۴۶/۸۰ ژول بر سانتی متر مربع n=7
اسپرماتوگونی / سرتولی	B ۸/۴۵ (۲/۹۷)	A ۱۰/۲۰ (۴/۶۱)	AB ۱۰/۰۳ (۵/۶۰)
اسپرماتوسیت اولیه/سرتولی	B ۵/۹۱ (۲/۰۰)	A ۷/۴۷ (۳/۱۴)	AB ۶/۸۴ (۳/۷۱)
اسپرماتیدگردنا بالغ/سرتولی	B ۲۰/۷۷ (۶/۲۲)	A ۲۴/۹۰ (۹/۸۷)	AB ۲۴/۵۸ (۱۳/۹۳)
اسپرماتید طویل بالغ/سرتولی	B ۹/۱۴ (۳/۳۶)	A ۱۲/۳۰ (۵/۳۰)	B ۱۰/۸۷ (۶/۸۵)

مقدار A یا $P < 0.05$ از مقدار B و مقدار B یا $P < 0.05$ از مقدار C بیشتر است و وجود حروف مشابه در یک ردیف نشان می دهد که بین دو گروه تفاوت معنی دار وجود ندارد ($P > 0.05$).

اعداد داخل پرانتز نمایانگر انحراف معیار است.

n: تعداد حیوان

کلی $46/80 \text{ J/cm}^2$ اثرهای تخریبی لیزر بر اپی تلیوم مجاری منی ساز مشاهده شده و این آثار به صورت شکاف در اپی تلیوم، ریزش سلولهای جنسی نابالغ به داخل لومن مجاری و حذف آنها به درجات مختلف و کاهش ضخامت اپی تلیوم بروز کرد. دوز بیش از حد لیزر در یک جلسه درمانی در گروه تجربی ۳ نیز سبب بروز واکنشهای تخریبی وسیع به شکل پارگی عروق و خونریزی شدید، تخریب نسبی یا کامل مجاری منی ساز و نفوذ سلولهای خونی به داخل مجاری و ریزش سلولهای جنسی نابالغ به داخل لومن مجاری شد.

اثر وابسته به دوز پرتوهای لیزر قبلاً نیز توسط محققین گزارش شده است. به عنوان مثال Bermudez و همکارانش افزایش در محتوای DNA سلولهای جنسی را به دنبال تابش لیزر مادون قرمز گزارش نمودند و ابراز کردند که این افزایش به دوز انرژی به کار رفته، دوره استراحت بعد از تابش و مرحله رشد سلول جنسی بستگی دارد. Karu نیز یک نقش تحریکی برای تابش لیزر در دوزهای پایین نشان داد [۳].

برای توجیه مکانیسم مولکولی آثار وابسته به دوز لیزر می توان به بیانات Karu در سال ۱۹۹۸ رجوع نمود. Karu

۷ - از مقایسه میانگین تعداد انواع سلولهای جنسی بر حسب سلول سرتولی در گروههای تابش لیزر و کنترل نیز مشخص شد که میانگین انواع سلولها بر حسب سلول سرتولی در دو گروه کنترل و تابش لیزر با دوز $46/80$ فاقد اختلاف آماری بود ($P > 0.05$)، در حالی که مقادیر پارامترهای فوق نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد ($P < 0.05$) (جدول ۴).

بحث

نتایج به دست آمده از بررسی حاضر نشان داد تابش لیزر سبب القای تغییرات کمی و کیفی در اپی تلیوم مجاری منی ساز می شود. این تغییرات ارتباط قطعی با دوز انرژی به کار رفته دارد، به طوری که با به کار بردن دوز کلی $28/05 \text{ J/cm}^2$ اثر تحریک زیستی لیزر گالیوم - آلومینیوم - آرسناید 830 نانومتر بر روند اسپرماتوژنز مشاهده شد و این تغییرات در قالب افزایش ضخامت و سطح اپی تلیوم مجاری منی ساز و افزایش تعداد سلولهای جنسی به ویژه سلولهای پاکی تن و اسپرماتید طویل بالغ در بررسی مورفومتریک و ظاهر طبیعی اپی تلیوم در بررسی های هیستولوژیک بروز کرد. برعکس با به کار بردن دوز

یا سلولهای پره‌لپتوتن به درون لومن کاملاً واضح است که بخش قاعده‌ای اپی تلیوم طی تابش کاملاً سالم و دست نخورده باقی مانده است و اتصالات آن به قوت خود باقی است.

۲ - Muffy و همکارانش در سال ۱۹۹۳ اظهار نمودند که تستوسترون هورمون اصلی برای تکمیل روند اسپرماتوژنز طبیعی است. تستوسترون و FSH در محیط کشت برای به حداکثر رساندن اتصال اسپرماتید به سلولهای سرتولی لازمند و وقوع این اتصالات برای فرایند اسپرمیوژنیک گام اساسی است [۲۲]. Celani و همکارانش نیز افزایش در فعالیت استروئیدوژنیک سلولهای لیدیگ را به دنبال تابش لیزر مادون قرمز منقطع ۹۰۴ نانومتر گزارش نموده‌اند [۲۳]. بنابراین مکانیسم احتمالی دیگر برای توجیه اثرهای متفاوت دو دوز ۲۸/۰۵ و ۴۶/۸۰ این است که تابش لیزر با دوزهای پایین با تاثیر مثبتی که روی سلولهای لیدیگ در جهت افزایش ترشح تستوسترون اعمال می‌نماید، موجب افزایش و تسریع در روند اسپرماتوژنز می‌شود. از طرفی اتصالات بین سلولهای سرتولی و سلولهای جنسی در این گروه در حد ماکزیمم بوده، پدیده اسپرمیوژنز به حداکثر خود می‌رسد. در حالی که تابش لیزر با دوزهای بالاتر سبب بروز نتایج مخالفی می‌شود. در هر حال برای اخذ چنین نتیجه‌ای انجام بررسی‌هایی در این زمینه ضروری است.

۳ - مکانیسم احتمالی سوم این است که فرا ساختار سلولهای سرتولی متعاقب تابش دوزهای بالای لیزر به گونه‌ای تغییر نماید که قادر به حمایت کافی از سلولهای جنسی نباشند.

محققین برای بررسی‌های موفومتریک روند اسپرماتوژنز روشهای مختلفی از جمله نسبت بین انواع مختلف اسپرماتوگونی، بررسی کمی بیوپسی‌های انسان بر اساس تعداد انواع مختلف سلول در واحد طول محیط مجاری منی ساز و برآورد تولید روزانه اسپرم از هموژنیت‌های بیضه را مطرح نموده‌اند. علاوه بر این؛ Rowley در مطالعات خود، سلولهای سرتولی را به عنوان یک جزء ثابت برای آنالیز تعداد انواع مختلف سلولهای جنسی به کار برده است [۱۸]. در تحقیق حاضر نیز علاوه بر روش Rowley در بررسی مجاری منی از واحد سطح به عنوان یک جزء ثابت برای آنالیز کمی اپی تلیوم مجاری

معتقد است که پذیرنده‌های نوری یکسانی مسئول عملکرد تحریکی و مهاری نورلیزر هستند و اثر نهایی بستگی به دوز و شدت نور دارد. وی اجزای زنجیره تنفسی را به عنوان پذیرنده نوری اولیه معرفی می‌کند و معتقد است که کنترل وابسته به نور متابولیسم سلولی از نقطه نظر تحریکی فقط در دامنه باریکی از دوزهای نوری صورت می‌گیرد و به تدریج که دوز تابش افزایش می‌یابد، پذیرنده‌های نوری آسیب می‌بینند و اثر فوتوبیولوژیک کاهش می‌یابد. افزایش بیشتر در دوز نیز سبب تخریب پذیرنده‌ها شده، با مهار رشد و کشندگی سلولها همراه می‌شود [۱۹].

در تحقیق حاضر برای دستیابی به آثار تحریکی یا مهاری نورلیزر بر روند اسپرماتوژنز به بررسیهای مورفومتریکی و هیستولوژیک مجاری منی ساز پرداخته شد. در بررسیهای هیستولوژیک بیضه‌ها توسط میکروسکوپ نوری مشخص شد که بیضه‌های گروه کنترل و تابش $28/05 \text{ J/cm}^2$ ظاهر طبیعی داشته و هر دو شامل مجاری منی ساز و بافت بینابینی طبیعی بودند، در حالی که به دنبال تابش لیزر با دوز کلی $46/80 \text{ J/cm}^2$ شکاف در اپی تلیوم، ریزش سلولهای اسپرماتوسیت اولیه پایی تن و اسپرماتید گرد نابالغ و حذف سلولهای جنسی به درجات متفاوت مشاهده شد. ما برای بیان علت پاتولوژیک ریزش سلولهای اپی تلیوم به سه مکانیسم احتمالی اشاره می‌نماییم:

۱ - Karu معتقد است که از نظر تئوری تابش لیزر مادون قرمز با ایجاد توانایی چرخش و ارتعاش در مولکولهای غشایی که کانالهای کلسیمی را می‌سازند، می‌تواند عملکرد این کانالها را تغییر داده، مکانیسمی برای اثر درمانی تابش لیزر با شدت پایین فراهم آورد [۲۰] می‌دانیم که بین سلولهای سرتولی و جنسی در حال بلوغ کمپلکس‌های اتصال شامل دسموزوم‌ها و اتصالات روزنه دار وجود دارد که ساختمان و توزیع آنها بر حسب مراحل اسپرماتوژنز بسیار متغیر است [۲۱]. بعید نیست که تابش لیزر مادون قرمز به خصوص با دوزهای بالا با توانایی ایجاد چرخش و ارتعاش در مولکولهای غشایی روی اتصالات فوق اثر کرده، با حذف یا کاهش آنها به ریزش سلولی منجر شود. در هر حال با توجه به عدم ریزش سلولهای اسپرماتوگونی

حاصل شد: الف - میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوگونی در یک میلی متر مربع از اپی تلیوم گروه تابش ۲۸/۰۵، نسبت به دو گروه کنترل و ۴۶/۸۰ کاهش معنی دار و میانگین تعداد سلولهای پاکی تن در یک میلی متر مربع از اپی تلیوم در گروه فوق نسبت به دو گروه دیگر افزایش معنی داری را نشان داد. سه مکانیسم احتمالی در پیدایش تغییرات فوق قابل طرح است:

۱ - کاهش تعداد اسپرماتوگونی‌ها متعاقب تابش ۲۸/۰۵ می‌تواند از تعداد کم تقسیمات میتوزی آنها قبل از ایجاد اسپرماتوسیت اولیه ناشی شود. یعنی ریتم میتوزی کند شده باشد.

۲ - ممکن است سرعت میوز افزایش یافته باشد که در این صورت به تسریع در روند اسپرماتوژنز منجر می‌شود.

۳ - ممکن است هر دو روند میتوز و میوز افزایش یافته باشد.

با توجه به افزایش سلولهای پاکی تن پس از تابش لیزر با دوز $28/05 \text{ J/cm}^2$ مکانیسم دوم محتمل‌تر از مکانیسم اول به نظر می‌رسد. از طرفی نظر به افزایش تعداد سلولهای اسپرماتوگونی بر حسب سلول سرتولی در گروه فوق، مکانیسم سوم قطعیت می‌یابد. در این صورت می‌توان دریافت که اولاً گرچه تراکم اسپرماتوگونی‌ها در واحد سطح (D) کاهش یافته است، با در نظر گرفتن افزایش سطح اپی تلیوم (A)، تعداد کلی اسپرماتوگونی‌ها (AxD) افزایش یافته است. ثانیاً تابش لیزر روی سیکل سلولی موثر است و احتمالاً باعث می‌شود که زمان فاز G1 و G2 کاهش یابد، به علاوه در کاهش فاصله زمانی بین میتوز و میوز نیز موثر است.

پیش از این تحقیق، Bermudez و همکارانش نیز احتمال تاثیر تابش لیزر مادون قرمز ۹۰۴ نانومتر را بر فازهای سیکل سلولی در اسپرماتوگونی‌ها مطرح کرده‌اند [۱۶]. در حالی که Morales و همکارانش در بررسی اثر لیزر هلیوم - نئون با دانسیته‌های انرژی متفاوت هیچ اثری را بر فازهای سیکل سلولی در سلولهای آدنوکارسینومای کولون مشاهده نکردند [۲۴].

ب - میانگین تعداد سلولهای اسپرماتید گرد بالغ در یک میلی متر مربع در گروه تابش $28/05 \text{ J/cm}^2$ نسبت به دو گروه دیگر کاهش معنی دار و میانگین تعداد سلولهای اسپرماتید طویل بالغ

منی ساز استفاده شد. در کل در بررسیهای مورفومتریک نتایج زیر به دست آمد:

● ضخامت و سطح اپی تلیوم در گروه تابش با دوز کلی $28/50 \text{ J/cm}^2$ افزایش یافت. این تغییر بیانگر افزایش در تعداد سلولهای جنسی و به عبارتی تحریک روند اسپرماتوژنز است که با شمارش سلولی نیز تایید شد. بی شک نقش سلولهای سرتولی نیز در این میان قابل انکار نیست، به عبارتی افزایش حجم سلولهای سرتولی نیز می‌تواند در جهت افزایش این دو پارامتر باشد. در حالی که کاهش ضخامت اپی تلیوم در گروه آزمایش با دوز کلی $46/80$ می‌تواند بیان کننده کاهش تولید یا حذف سلولهای جنسی از اپی تلیوم باشد که ریزش سلولی متعاقب تابش لیزر تایید کننده آن بود. لومن مجاری نیز در هر دو دوز نسبت به گروه کنترل افزایش یافت، بنابراین با وجود کاهش ضخامت اپی تلیوم و عدم اختلاف معنی دار سطح اپی تلیوم در گروه تابشی $46/80$ نسبت به گروه کنترل، افزایش قطر مجاری این گروه از افزایش قطر لومن ناشی شده است.

● میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه پاکی تن، اسپرماتید گرد نابالغ و اسپرماتید طویل بالغ در یک میلی متر مربع از اپی تلیوم مجاری منی ساز در دو گروه کنترل و تابش $46/80 \text{ J/cm}^2$ از لحاظ آماری تفاوت معنی داری نداشت. علاوه بر این میانگین تعداد انواع سلولهای جنسی بر حسب سلول سرتولی نیز در دو گروه فوق فاقد اختلاف آماری بود. لذا با توجه به عدم تفاوت سطوح اپی تلیوم در مجاری منی ساز این دو گروه می‌توان دریافت که روند اسپرماتوژنز در مجاری منی ساز گروه کنترل و مجاری منی ساز فاقد ریزش سلولی در گروه آزمایش با دوز $46/80 \text{ J/cm}^2$ مشابه است. با این وجود دو نکته را باید به خاطر سپرد: اول اینکه بسیاری از مجاری منی ساز در گروه آزمایشی فوق به خصوص در نواحی تمرکز تابش دارای ریزش سلولی بوده‌اند. دوم اینکه با توجه به آثار تخریبی مشاهده شده در مجاری منی ساز این گروه، طبیعی بودن سلولهای جنسی تولید شده در این مجاری به خصوص از نظر فراساختاری و ژنتیکی مورد سؤال است.

● در بررسیهای مورفومتریک تعداد سلولهای اپی تلیوم مجاری منی ساز گروه آزمایش با دوز کلی $28/05$ نیز نتایج زیر

سلولهای سرتولی طی بلوغ جنسی در حیوانات متحمل تقسیمات میتوزی نمی‌شوند. بنابراین می‌توانند به عنوان یک جزء ثابت در بیضه حفظ شوند [۱۸]. با این تفسیر می‌توان دریافت که احتمال اینکه تابش لیزر سبب از بین رفتن یا کاهش در تعداد سلولهای سرتولی شود، منتفی می‌شود، در عوض به نظر می‌رسد که تابش لیزر با هر دو دوز فوق به هاپیروتروفی این سلولها منجر شده است و این افزایش حجم را می‌توان در قالب کاهش تعداد سلول در واحد سطح اپی تلیوم مجاری مشاهده کرد و مسلماً افزایش حجم ناشی از تابش ۲۸/۰۵ در سلولهای سرتولی با افزایش حمایت آنها از سلولهای جنسی افزایش یافته، مرتبط است و در عوض ازدیاد حجم ناشی از تابش ۴۶/۸۰ ممکن است بیانگر افزایش فعالیت فاگوسیتوزی سلولهای سرتولی این گروه باشد.

در انتها توجه به بیانات Karu در سال ۱۹۸۹ نیز خالی از لطف نیست. Karu معتقد است که دامنه تحریک زیستی لیزر به حالت فیزیولوژیک سلول در لحظه تابش بستگی دارد این امر توضیح می‌دهد که چرا اثر تابش همیشه محسوس نیست. به عبارتی اگر یک سلول کاملاً عملکردی باشد، جایگاهی برای تحریک ناشی از لیزر باقی نمی‌ماند و هیچ مزیت درمانی به دنبال تابش مشاهده نخواهد شد. به همین دلیل است که به نظر می‌رسد لیزر درمانی در مواردی نظیر ضایعات شدید مثل زخم‌های تروفاک موثر است اما تاثیر نور بر زخم‌های با روند ترمیم طبیعی ممکن است حتی در صورت وجود، نامحسوس باشد [۲۵].

با در نظر گرفتن این دیدگاه Karu و با توجه به اینکه ما در بررسی حاضر از رتھای سالم و طبیعی استفاده نمودیم، تعمیم نتایج حاصل به موارد اسپرماتوژنز غیرطبیعی نظیر آواسپرمی و الیگواسپرمی مورد تردید است، به عبارتی ممکن است اثر لیزر درمانی در این موارد از نتایج حاصل از تحقیق حاضر فوآتر باشد، بنابراین ضرورت بررسی آثار تابش لیزر در موارد اسپرماتوژنز غیرطبیعی به قوت خود باقی است.

References

1. Parrish JA. Current and future trends in laser medicine. photochem photobiol. 1991; 53(6): 731-738
2. Loevschall H, Bindslev DA. Effect of low level diode

در یک میلی متر مربع از اپی تلیوم این گروه افزایش معنی داری را نشان داد. این تغییرات نیز با یکی از مکانیسم‌های زیر قابل توجیه است:

۱- ممکن است سلولهای جنسی در مرحله پاکی تن یک توقف داشته باشند که در این صورت به کاهش اسپرماتیدهای گرد نابالغ و اسپرماتیدهای طویل بالغ منجر می‌شود.

۲- ممکن است روند بلوغ اسپرماتیدها از سرعت بیشتری برخوردار شود که در این صورت به افزایش در اسپرماتیدهای طویل بالغ منجر خواهد شد.

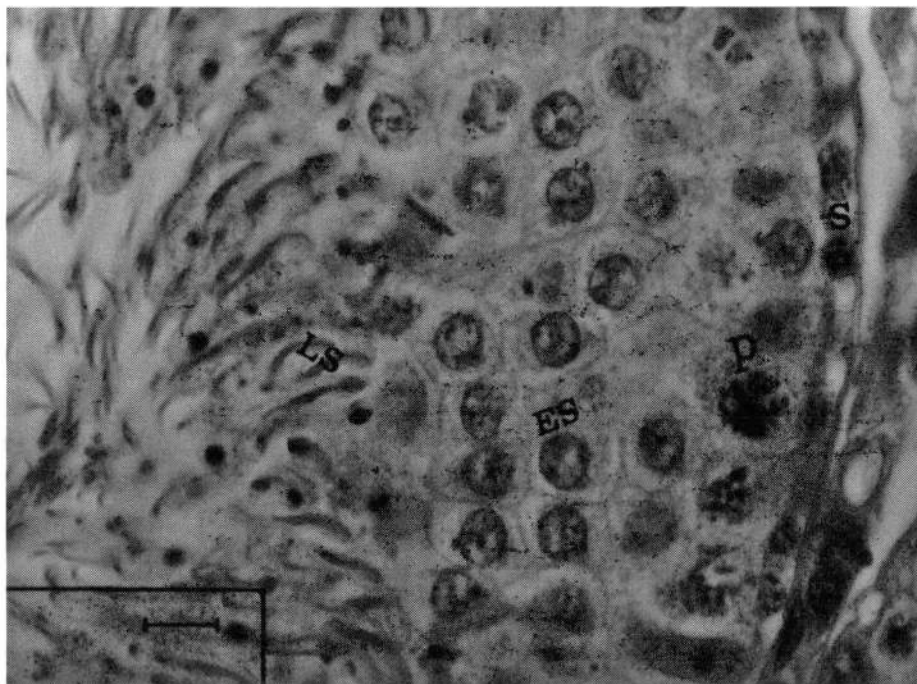
با توجه به افزایش تعداد اسپرماتیدهای طویل بالغ در این گروه مکانیسم دوم محتمل به نظر می‌رسد و مکانیسم اول نفی می‌شود. از طرفی با در نظر گرفتن افزایش نسبت سلولهای اسپرماتید گرد نابالغ به سلولهای سرتولی در گروه فوق می‌توان دریافت که گرچه تعداد این سلولها در واحد سطح اپی تلیوم (D) کاهش یافته است، با توجه به افزایش سطح اپی تلیوم (A)، تعداد کلی این سلولها ($A \times D$) نیز در اپی تلیوم افزایش یافته است. با این تفاسیر واضح است که در گروه تابش با دوز کلی $28/05 \text{ J/cm}^2$ افزایش در تمام رده‌های سلول جنسی رخ داده است و این افزایش به خصوص در سلولهای پاکی تن و اسپرماتید طویل بالغ از شدت بالاتری برخوردار است که در کل بیانگر تسریع و افزایش در روند اسپرماتوژنز در مجاری منی ساز این گروه است.

● میانگین تعداد سلولهای سرتولی در واحد سطح از اپی تلیوم مجاری منی ساز در دو گروه آزمایش تفاوت معنی داری نداشت اما، در هر دو گروه فوق نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری مشاهده شد که می‌تواند بیان کننده تغییراتی در سلولهای سرتولی باشد.

می‌دانیم که تعداد سلولهای سرتولی در حیوانات بالغ طبیعی ثابت است و طی تغییرات بیضه دچار دگرگونی نمی‌شود مقاومت آنها به تغییر، متعاقب درمانهایی نظیر تشعشع و حذف اثرهای هورمونهایی هیپوفیزی گزارش شده است. به علاوه

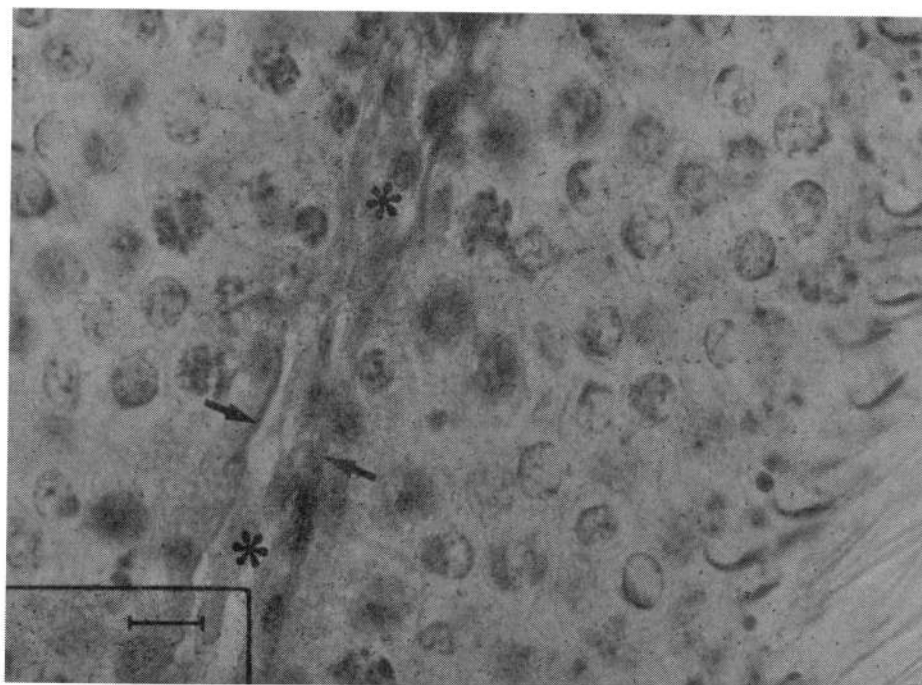
- laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts in vitro. Lasers surg med. 1994;14:347-354
3. Bermudez D, Carrasco F, Vargas IP. Effect of Laser

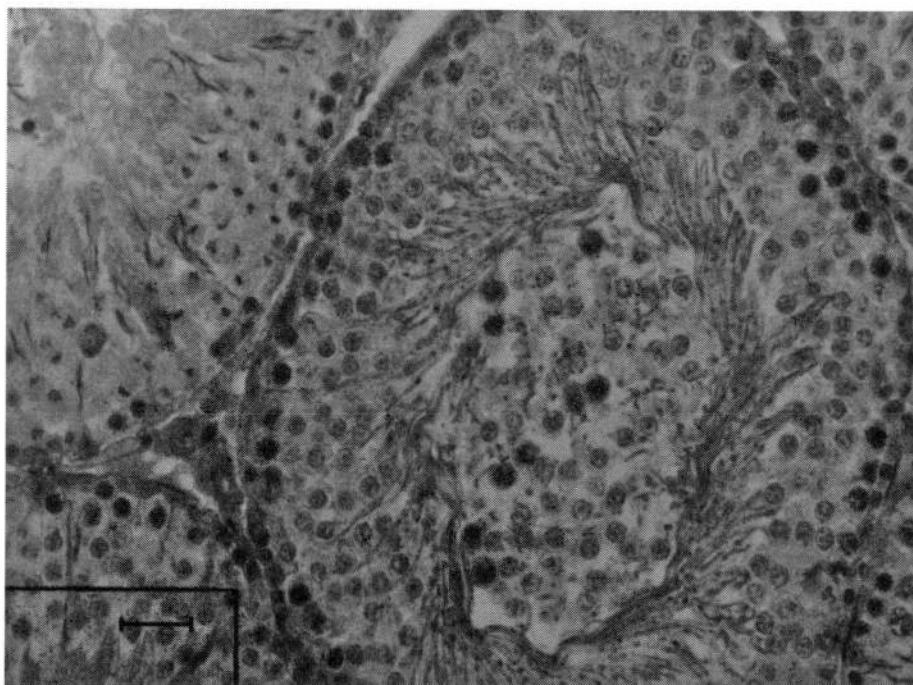
- radiation on germ cell DNA content after one cycle of seminiferous epithelium. Arch Androl. 1993; 37: 177-181
4. **Kert J, Rose L.** Clinical laser therapy, low level laser therapy. Scandavian Med Technol. 1989
5. **Linkova GN, Eliseenko VI.** Amorphological characteristics of testicular tissue in animals subjected to unilateral laser castration. Radiobiologiya. 1985; 25 (5) : 695-698.
6. **Arbuliev MG, Mikhailov SK, Alibekova SA.** choice of the treatment method in patients with acute inflammatory diseases of the scrotal organs. Urol Nefrol (Mosk). 1989; 3: 17-20
7. **Miroshnikov BI, Reznikov LL, Ogurtsov RP, khachatrian SA.** Immunological characteristics of the course of acute nonspecific epididymitis in relation to the treatment performed. Vestn khir Im I I Gerk. 1992; 148 (2) : 156-161
8. **Terashima Y, Kitagawa M, Takeda O, Sago H, Onda T, Nomuro K.** Clinical application of LLLT in the field of obstetrics and gynaecology. In : progress in laser therapy. edit by ohshiro T, calderhead RG. chichester. New York, 1991, pp 191-196
9. **Kovalev EV.** The effect of low-intensity laser radiation on spermatogenesis in men. Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult. 1990; 5: 33-36
10. **Sato H, Landthaler M, Haina D, Schill WB.** The effect of laser light on sperm motility and Velocity in Vitro. Androl. 1984; 16(1): 23-25
11. **Singer R, Sagiv M, Barnet M, Levinsky H, Segenreich E, Fuchs Y, Mendes E.** Low energy narrow band non-coherent infrared illumination of human semen and isolated sperm. Androl. 1991; 23: 181-184
12. **Cohen N, Lubart R, Rubinstein S, Breitbart M.** Light irradiation of mouse spermatozoa: stimulation of in vitro fertilization and calcium signals. Photochem Photobiol. 1998; 68(3) : 407-413
13. **Lubart R, Friedmann H, Levinshal T, Lavie R, Breitbart H.** Effect of light in calcium transport in bull sperm cells. J Photochem Photobiol B Biol . 1992; 15: 337-341
14. **Celani MF, Gilioli G, Montanini V, Morrama P.** Further evidence that mid laser radiations may stimulate leydg cell steroidogenesis. IRCS Med Sci. 1985; 13: 336-337
15. **Porras MD, Bermudez D, parrado C** Effects biologicos de Ia radiation laser IR Sobre el epitelio seminifero. Invest Clin Laser. 1986; 3: 57-60
16. **Bermudez D, carrasco F, Diazf , Vargas IP.** Germ cell DNA quantification shortly after IR laser radiation. Andrologia. 1991; 23: 303-307
17. **Wing TY, Christensen AK.** Morphometric studies on rat seminiferous tubules. Am J Anat. 1982; 165: 13-25
18. **Rowley MJ, Heller CG.** Quantification of the cells of the seminiferous epithelium of the human testis employing the sertoli cells as a constant. Z Zellforsch. 1971; 115: 473-493
19. **Karu TI.** Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser radiation . Lasers Life Sci. 1988; 2(1) : 53 - 74
20. **Smith KC.** Light and life : The photobiological basis of the therapeutic use of radiation from lasers. In: Progress in laser therapy. 1th edition. edited by ohshiro T, calderhead RG. chichester. New York . 1991; 11-18.
21. **Guraya SS.** The comparative cell biology of accessory somatic (or sertoli) cells in the animal testis . Int Rev Cytol. 1995; 160: 163-220
22. **Muffy KF, Nazian SJ, Cameron DF.** Junction - related sertoli cell cytoskeleton in testosterone - treated hypophysectomized rats. Biol Reprod. 1993; 49(5): 1122-1132
23. **Celani MF, Gilioli G, Fano AR.** The effect of laser radiation on leydy cells: functional and morphological studies . IRCS Med Sci. 1984; 12: 883-884.
24. **Morales JA, Ruiz-Gomez MJ, Gil-CarmonaL.** He-Ne laser has no effect on cell cycle phases of human colon adenocarcinoma cells. Rev ESP Fisiol. 1995; 51 (1) : 43-47
25. **Karu TI.** Photochemical effects upon the cornea, skin and other tissues: photobiology of low - power laser effects. Health Physics. 1989; 56(5) : 691-704



▲ شکل ۱. هیستوگراف بافت بیضه در گروه کنترل در مرحله VIII سیکل سلولی. S: سلولهای اسپرماتوگونی، P: اسپرماتوسیت‌های پاکی تن ES: اسپرماتید گرد نابالغ، LS: اسپرماتید طویل بالغ و سلول سرتولی. رنگ‌آمیزی: H&E، بزرگنمایی: $\times 1000$

▼ شکل ۲. هیستوگراف بافت بیضه در گروه تابش با دوز $28/05 \text{ J/cm}^2$ ، که مجرای منی ساز در مرحله VII سیکل سلولی را نشان می‌دهد. رنگ‌آمیزی: PAS، بزرگنمایی: $\times 1000$





▲ شکل ۳. هیستوگراف بافت بیضه در گروه تابش با دوز $46/80 \text{ J/cm}^2$ که مجرای منی ساز با ریزش شدید سلولهای اسپرماتید گرد نابالغ و اسپرماتوسیت اولیه در مرحله پاکتی تن را نشان می‌دهد. رنگ آمیزی: H & E، بزرگنمایی: $\times 400$