

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



مورفولوژی اسپرم در دام‌های اهلی

برای دریافت تصاویر رنگی، به پروفایل کتاب در تارنمای انتشارات
دانشگاه فردوسی مشهد به نشانی زیر مراجعه فرمایید:

press.um.ac.ir

جی.اچ. کوزیول؛ سی.آل. آرم‌استرانگ

ترجمه:

دکتر حمید قاسم‌زاده نوا

دانشیار دانشگاه تهران

دکتر جواد جعفری

دکتر علی تیرگری

سرشناسه:	کوزیول، جنیفر اچ، ۱۹۸۶ - م.	Koziol, J. H., 1986-(Jennifer H.)
عنوان و نام پدیدآور:	مورفولوژی اسپرم در دام‌های اهلی / جی. اچ. کوزیول، سی. آل. آرم‌استرانگ؛ ترجمه حمید قاسم‌زاده نوا، جواد جعفری، علی تیرگری.	
مشخصات نشر:	مشهد: دانشگاه فردوسی مشهد، انتشارات، ۱۴۰۳.	
مشخصات ظاهری:	۱۶۰ ص.	
فروست:	انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۹۰۸.	
شابک:		ISBN: 978-964-386-604-4
وضعیت فهرست‌نویسی:	فیپا.	
یادداشت:	عنوان اصلی:	Sperm morphology of domestic animals, 2022.
یادداشت:	کتابنامه: ص. ۱۴۵ - ۱۵۸. نمایه.	
موضوع:	فیزیولوژی دلی	Veterinary physiology Domestic animals -- Spermatozoa -- Morphology Armstrong, C. L., 1950-(Clinton L.)
شناسه افزوده:	آرم‌استرانگ، کلینتون ال، ۱۹۵۰ - م.	
شناسه افزوده:	قاسم‌زاده نوا، حمید، ۱۳۴۱ - مترجم	
شناسه افزوده:	جعفری، جواد، ۱۳۷۲ - مترجم	
شناسه افزوده:	تیرگری، علی، ۱۳۷۴ -	
شناسه افزوده:	دانشگاه فردوسی مشهد، انتشارات.	
رده‌بندی کنگره:	QL۹۶۶	
رده‌بندی دیویی:	۵۷۱/۸۴۵۱	
شماره کتابشناسی ملی:	۹۵۷۳۸۵۷	

مورفولوژی اسپرم در دام‌های اهلی

پدیدآورندگان: جی. اچ. کوزیول؛ سی. آل. آرم‌استرانگ
ترجمه: دکتر حمید قاسم‌زاده نوا؛ دکتر جواد جعفری؛ دکتر علی تیرگری
ویراستار علمی: دکتر عباس پرهام
ویراستار ادبی: هانیه اسدپور فعال مشهد
مشخصات: وزیری، ۲۰۰ نسخه، چاپ اول، بهار ۱۴۰۳
چاپ و صحافی: چاپخانه دقت
بها: ۱/۵۰۰/۰۰۰ ریال
حق چاپ برای انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد محفوظ است.



مراکز پخش:

فروشگاه و نمایشگاه کتاب پردیس: مشهد، میدان آزادی، دانشگاه فردوسی مشهد، جنب سلف یاس
تلفن: ۳۸۸۰۲۶۶۶ - ۳۸۸۳۳۷۲۷ (۰۵۱)
مؤسسه کتابیران: تهران، میدان انقلاب، خیابان کارگر جنوبی، بین روانمهر و وحید نظری، بن‌بست
گشتاسب، پلاک ۸ تلفن: ۶۶۴۸۴۷۱۵ (۰۲۱)
مؤسسه دانشیران: تهران، خیابان انقلاب، خیابان منیری جاوید (اردیبهشت) نبش خیابان نظری، شماره ۱۴۲
تلفکس: ۶۶۴۰۰۲۲۰ - ۶۶۴۰۰۱۴۴ (۰۲۱)

<http://press.um.ac.ir>

Email: press@um.ac.ir

فهرست مطالب

پیشگفتار مترجمان	۵
پیشگفتار مؤلفان	۶
مقدمه	۷

بخش ۱: ناهنجاری‌های قسمت سر

فصل ۱. سر گلابی شکل و مخروطی شکل	۲۳
فصل ۲. واکنش شدن هسته، از جمله نقص سر تاجی شکل	۳۱
فصل ۳. اسپرم با سر بزرگ و کوچک	۴۱
فصل ۴. سندروم سر پیچ خورده - سر تاج هسته‌ای - سر غول پیکر	۴۴
فصل ۵. متراکم شدن غیر طبیعی DNA	۴۷
فصل ۶. ناهنجاری‌های آکروزوم	۵۰
فصل ۷. سرهای طبیعی جدا شده و سرهای غیر طبیعی آزاد	۵۹
فصل ۸. نقص سر بریده در اسپرم	۶۳

بخش ۲: ناهنجاری‌های قسمت میانی

فصل ۹. قطره سیتوپلاسمی قدامی	۶۷
فصل ۱۰. قطره کاذب	۷۴
فصل ۱۱. نقایص غلاف میتوکندری	۷۶
فصل ۱۲. نقص اسپرم ماریچی	۸۳
فصل ۱۳. نقص دم دگ (پیچ خورده)	۸۶
فصل ۱۴. خمیدی بخش خلفی قطعه میانی	۹۱
فصل ۱۵. قطعات میانی کمانی	۹۷
فصل ۱۶. قطرات سیتوپلاسمی خلفی	۹۹
فصل ۱۷. قطعه میانی فرامحوری	۱۰۳

بخش ۳: ناهنجاری‌های قسمت دم (قطعه اصلی)

- فصل ۱۸. نقص توده خلفی دم جمع شده ۱۰۷
- فصل ۱۹. پیچ‌خوردگی قطعه اصلی دم ۱۱۰
- فصل ۲۰. آشکال دوتایی و دم‌های اضافی ۱۱۴
- فصل ۲۱. قطعه‌های اصلی خمیده ۱۱۹
- فصل ۲۲. نقص دم کوتاه ۱۲۲

بخش ۴: اختلالات رنگ‌آمیزی و سایر سلول‌ها در انزال

- فصل ۲۳. اشکالات مربوط به رنگ‌آمیزی ۱۲۷
- فصل ۲۴. ناهنجاری‌های مربوط به شوک سرمایی ۱۳۱
- فصل ۲۵. سلول‌های کروی در انزال ۱۳۲
- فصل ۲۶. تراوتیدها ۱۳۶
- فصل ۲۷. سلول‌هایی به شکل ستاره دریایی ۱۳۹
- فصل ۲۸. اختلالات کیفیت منی ۱۴۰
- منابع ۱۴۵
- نمایه ۱۵۹

پیشگفتار مترجمان

در دنیای امروزی و با توجه به گسترش پرورش حیوانات برای فراهم کردن نیازهای بشر، نیاز به دامپزشکی بیش از پیش احساس می‌شود و این علم روزبه‌روز در حال پیشرفت است. مامایی، تولیدمثل، تلقیح مصنوعی و همچنین روش‌های نوین اصلاح نژاد دام یکی از مهم‌ترین شاخه‌های علوم دامپزشکی است. این شاخه از منظرهای مختلفی مانند اقتصادی، جلوگیری از انقراض حیوانات در معرض خطر و همچنین بهبود نتایج حاصله بسیار حائز اهمیت است. از لحاظ اقتصادی می‌توان به تولید شیر، گوشت، مواد دامی و منابع غذایی با منشأ دامی اشاره کرد. به دلیل شکار بی‌رویه حیوانات و همچنین مشکلات هم‌خونی در حیوانات حیات وحش (مانند یوزپلنگ آسیایی به دلیل مشکلاتی که در اسپرم وجود دارد، در نمونه‌های اخذشده بیش از ۷۰٪ اسپرم‌ها غیرطبیعی هستند)، این شاخه از دامپزشکی اهمیت بسزایی دارد. بیماری‌های مختلف با به خطر انداختن سلامت دام‌ها و نتایج آن‌ها به کاهش کارایی نتایج و ایجاد ناراحتی برای صاحبان دام منجر می‌شود. با توجه به اینکه تولیدمثل ضامن بقای موجودات است، تشخیص به موقع ناهنجاری‌های موجود در اسپرم، یکی از مهم‌ترین ابزار مدیریتی است که از آن می‌توان در جهت بهبود کیفیت و کارایی نتایج حاصله و همچنین رفع مشکلات هم‌خونی در حیوانات در معرض خطر استفاده کرد. هدف این کتاب توضیح برخی از مسائل مربوط به ناهنجاری‌های موجود در اسپرم حیوانات اهلی و یکی از کتاب‌های کاربردی است که در زمینه ناهنجاری‌های مورفولوژی اسپرم حیوانات اهلی تدوین شده است. محتوای این کتاب شامل مسائل مختلفی از جمله ناهنجاری‌های قسمت سر، ناهنجاری‌های قسمت میانی، ناهنجاری‌های قسمت دم (قطعه اصلی) و اختلالات رنگ آمیزی و سایر سلول‌ها در انزال است که در هر بخش توضیح داده شده است.

پیشگفتار مؤلفان

کتاب مورفولوژی اسپرم حیوانات اهلی برای درک بیشتر ارزیابی مورفولوژی اسپرم در سگ، گاو، نر، گوزن و قوچ به رشته تحریر درآمده است. این کتاب برای دانشجویان و دام‌پزشکان نوشته شده است. ارزیابی مورفولوژی اسپرم بخش مبهم از معاینه در باروری محسوب می‌شود. تصاویر و اشکال فراوانی برای ایجاد درک واقعی در طول ارزیابی منی اضافه شده است. نویسندگان صمیمانه امیدوارند که اشکال اضافه شده به وضوح بتواند برای بخش پیچیده و اغلب مبهم در ارزیابی باروری کمک کننده باشند. ارزیابی مورفولوژی اسپرم یک حوزه همیشه در حال تکامل از رشته مامایی و بیماری‌های تولیدمثل است و این کتاب با آخرین اطلاعات از مقالات فعلی نوشته شده است.

نویسندگان مایل‌اند از مریان خود و سایر راهنمایان در زمینه مامایی و بیماری‌های تولیدمثل که الهام بخش برتری در تمام کارهایی هستند که برای به انجام رساندن آن اقدام می‌کنند، تشکر کنند. این کتاب بدون حمایت سخاوتمندانه وایلی¹ امکان پذیر نبود.

1. Wiley

مقدمه

ارزیابی اسپرم یک روش غیرتهاجمی برای ارزیابی عملکرد بیضه و اپیدیدیم ارائه می‌دهد که اطلاعاتی مشابه با بیوپسی بیضه به دست می‌آید. اسپرمیوگرام^۱ غیرطبیعی با شواهد حمایتی از تاریخچه و ارزیابی فیزیکی می‌تواند به دلایل عملکرد غیرطبیعی بیضه و در نتیجه امکان پیش‌آگهی، بهبود یا درمان بالقوه را ایجاد کند. هنگامی که در ارزیابی، موارد غیرطبیعی مشاهده می‌شود، انواع و تعداد ناهنجاری‌ها همراه با تاریخچه در ارتباط با محیط، تغذیه و وضعیت سلامتی می‌تواند برای گردآوری یک دلیل در ارتباط با اختلالات اسپرمیوگرام مورد استفاده قرار گیرد. دام‌پزشک می‌تواند از این اطلاعات در تشخیص و پیش‌آگهی برای بهبودی از بیماری استفاده کند.

آگاهی از فرایند انتقال اسپرم در دستگاه تولیدمثلی جنس ماده در درک رابطه بین کیفیت اسپرم و باروری و در نتیجه سطح نواقصی که می‌تواند وجود داشته باشد و همچنان در میزان آبستنی معقول، کمک‌کننده است. گردن رحم، رحم و ناحیه اتصال بین اویدوکت و رحم (UTJ)^۲ تعداد اسپرم‌های غیرطبیعی را که می‌تواند به محل لقاح برسند، کاهش می‌دهند. گردن رحم اسپرم‌های دارای نواقص دمی را پایش می‌کند، درحالی‌که اسپرم‌های دارای نواقصی در قسمت سر در سطح گردن رحم، رحم و لوله‌های رحمی پایش می‌شوند. با این حال، سیستم پایش کامل نیست و برخی از اسپرم‌های دارای نواقص ممکن است به تخمک برسند و به لقاح منجر شوند (۱، ۲).

سه معیار اصلی که باید در هنگام ارزیابی مورفولوژی اسپرم غیرطبیعی مورد توجه قرار گیرد، عبارت‌اند از:

- ۱- ناهنجاری‌های هسته‌ای که اجازه نفوذ به تخمک و واکنش زونا را می‌دهند، اما لقاح و یا رشد رویانی در سطوح بیشتر از ۱۵-۲۰٪ بدون کاهش نرخ آبستنی را نمی‌توان انتظار داشت.
- ۲- ناهنجاری‌های ناحیه آکروزوم و دم اسپرم که با توانایی اسپرم طبیعی برای بارور کردن تخمک‌ها تداخلی ندارند، لذا این گونه ناهنجاری‌ها تا مقادیر ۲۵٪ قابل انتظار می‌باشد.
- ۳- حداقل ۷۵-۷۰٪ از اسپرم‌ها باید طبیعی باشد (۳).

انواع و درصد نواقص باید در هر دو سیستم‌های جفت‌گیری طبیعی و تلقیح مصنوعی مورد توجه قرار گیرند.

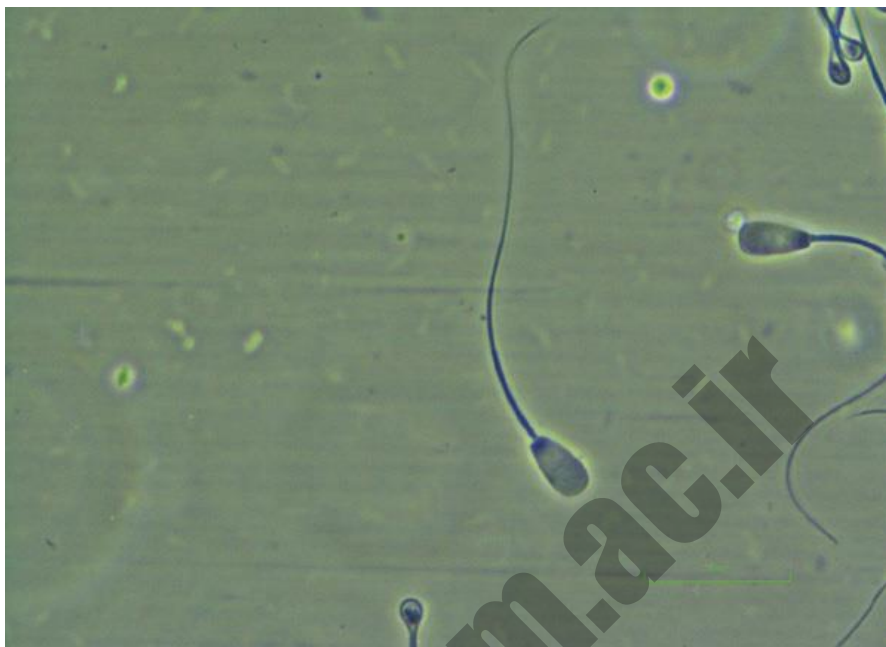
1. Spermogram
2. Uterotubal Junction

۱- تولید اسپرم^۱

درک کامل از اسپرم‌سازی طبیعی و غیرطبیعی، درک و تفسیر اسپرمیوگرام را تسهیل می‌کند (شرح مورفولوژی اسپرم در طول ارزیابی) (شکل م-۱ الی م-۴). بیضه‌ها به‌طور عمده از مجاری منی‌ساز و بافت بینابینی تشکیل شده‌اند. بافت بینابینی بین مجاری اسپرم‌بر قرار گرفته و عمدتاً از سلول‌های لیدینگ تشکیل شده است که هورمون‌های استروئیدی را تولید و ترشح می‌کند. همچنین شامل عروق خونی و لنفاوی است که پارانشیم بیضه را پشتیبانی می‌کند.



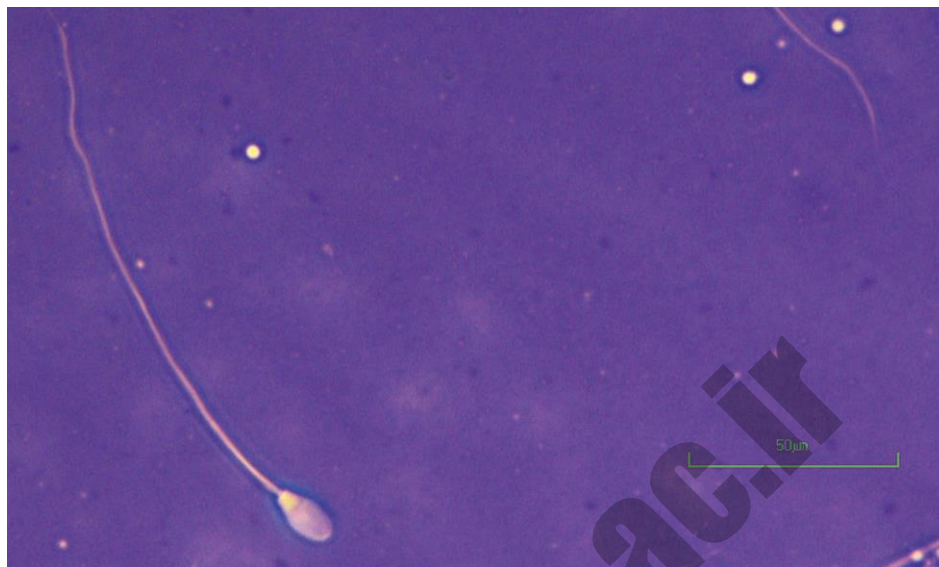
شکل م-۱ مورفولوژی اسپرم طبیعی از یک رأس گاو نر (رنگ‌آمیزی اتوزین-نیگروزین، $\times 1000$)



شکل م-۲ مورفولوژی اسپرم طبیعی از یک رأس گاو نر (فاز کنتراست، لام مرطوب، $\times 1000$)



شکل م-۳ مورفولوژی اسپرم طبیعی از یک رأس گوزن نر (رنگ آمیزی اتوزین-نیگروزین، $\times 1000$)



شکل م-۴ مورفولوژی اسپرم طبیعی از یک رأس نریان (رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین، $\times 1000$)

مجارى اسپرم بر از طناب‌هاى جنسى اوليه نشئت گرفته و حاوى سلول‌هاى زاياء و همچنين سلول‌هاى سرتولى هستند كه از توليد اسپرم پشتيبانى مى‌كنند. سلول‌هاى سرتولى اتصالات محكمى را تشكيل مى‌دهند كه مهم‌ترين بخش سد خونى-بيضه‌اى را ايجاد مى‌كنند (۴). توليد اسپرم عمدتاً در بخش پيچ‌خورده مجارى اسپرم بر رخ مى‌دهد. اين مجارى توسط سلول‌هاى انقباضى اطراف مجارى احاطه شده‌اند كه جريان خروجى از مجارى پيچ‌خورده را به سمت مجراى مستقيم (قسمت مستقيم) لوله اسپرم بر هدايت مى‌كنند. انتهاى هر دو مجرا به شبكه بيضه متصل است.

توليد اسپرم را مى‌توان به سه مرحله تقسيم كرد: مرحله اول، تكثير و شامل شش تقسيم ميتوزى اسپرماتوگوني است كه تعداد اسپرماتوگوني‌هاى نوع A و سپس اسپرماتوگوني نوع B را افزايش مى‌دهد. بخش مهمى از اين مرحله، تجديد سلول‌هاى پايه است. از دست دادن پل‌هاى بين سلولى به برخى از اسپرماتوگوني‌ها اجازه مى‌دهد تا به سلول‌هاى پايه باز گردند. اسپرماتوگوني نوع B سپس تحت چندين مرتبه تقسيم ميتوزى قرار مى‌گيرد كه آخرين تقسيم به تشكيل اسپرماتوسيت‌هاى اوليه منجر مى‌شود. مرحله ميوز با اسپرماتوسيت‌هاى اوليه ديپلوئيد شروع مى‌شود. در طول مرحله اول ميوز، تنوع ژنتيكى با تكثير و تلاقى DNA در طى توليد اسپرماتوسيت‌هاى ثانويه ايجاد مى‌شود و درنتيجه از منظر ژنتيكى، هيچ دو اسپرمى يكسان نيستند. آخرين مرحله كه به‌عنوان مرحله تمايز يا اسپرميوژنز شناخته مى‌شود، تمايز يك اسپرماتيد كروى تمايز نيافته به يك اسپرم كاملاً تمايز يافته حاوى سر، يك تاژك (به همراه قسمت ميانى) و قطعه اصلى است، تبديل مى‌شود. مدت زمان اسپرميوژنز بين گونه‌ها

متفاوت است. به عنوان مثال، مرحله اسپرمیوژنز در گاو نر ۱۸ روز زمان می برد تا کامل شود. تفسیر بالینی صحیح ارزیابی ها مستلزم درک زمان بندی خاص اسپرم سازی در گونه های مورد ارزیابی است. درک چرخه اپیتلیوم مجرای اسپرم بر به این امر کمک می کند. چرخه اپیتلیوم مجرای اسپرم بر، پیشرفت در یک سری کامل از مراحل تکوین در یک مکان در امتداد مجرای اسپرم ساز است. در ارزیابی مقطعی از مجرای اسپرم بر، چهار الی پنج لایه متحدالمرکز از سلول های زایا وجود دارند که هر لایه نشان دهنده یک نسل است. هر مقطع در طول مجرای اسپرم بر ظاهری متمایز خواهد داشت. هر مقطع حاوی چهار الی پنج نسل از سلول های زایاست که نشان دهنده مرحله ای از چرخه اپیتلیوم مجرای اسپرم بر است. برای مثال، یک مقطع در مرحله ۱ دارای یک لایه پایه از اسپرماتوگونی نوع A و سپس اسپرماتوسیت های اولیه و لایه دیگری از اسپرماتوسیت های اولیه و به دنبال آن لایه ای از اسپرماتیدهای نابالغ خواهد بود. مرحله ۸ مقطع با لایه ای از اسپرماتوگونی A آغاز می شود و سپس با اسپرماتوگونی B، اسپرماتوسیت های اولیه، اسپرماتیدهای نابالغ و اسپرماتیدهای بالغ که آماده رها شدن در مجرا هستند، دنبال می گردد. در طول هر مجرای اسپرم بر، مناطق یا مقاطع عرضی زیادی در مراحل مختلف وجود دارند که تنها چند ناحیه در یک مرحله مناسب وجود دارد تا اسپرماتید بالغ را در مجرای اسپرم بر آزاد کند که سپس از طریق رته تستیس عبور می کند و به قسمت سر مجرای اپیدیدیم منتقل می شود. این مناطق مختلف امکان ایجاد یک موج اسپرم زایی یا آزادسازی ثابت اسپرم در طول هر مجرا را فراهم می کنند. با مناطق چند مرحله ای در طول مجرا، جریان ثابتی از اسپرم وجود دارد که امکان جریان ثابت اسپرم به اپیدیدیم را فراهم می کند.

عملکرد طبیعی بیضه به کنترل مناسب اندوکرین، اتوکرین و پاراکرین بستگی دارد. در جنس نر، هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH)^۱ به صورت ضربانی از هیپوتالاموس ترشح می شود و در نتیجه آن، امواج هورمون لوتهینه کننده (LH)^۲ و هورمون محرک فولیکولی (FSH)^۳ آزاد می شوند. LH بر روی سلول های لیدیگ در بیضه ها اثر می گذارد که مسئول سنتز پروژسترون هستند و اکثریت آن به تستوسترون تبدیل می شود. این ماهیت ضربانی LH برای عملکرد طبیعی بیضه ضروری است؛ زیرا LH پایدار می تواند به ایجاد مقاومت سلول های لیدیگ منجر شود که به شکل ثانویه به کاهش تعداد گیرنده ها منجر می شود. این امر به کاهش ترشح تستوسترون از سلول های لیدیگ منجر می گردد. غلظت بالای تستوسترون باید حفظ شود تا تولید اسپرم طبیعی انجام گیرد. آزادسازی ضربانی LH و در نتیجه تستوسترون از مهار منفی FSH که برای حفظ سلول های سرتولی لازم است، جلوگیری می کند. سلول های سرتولی تستوسترون را به دی هیدروتستوسترون و استرادیول تبدیل و همچنین پروتئین اتصال دهنده آندروژن (ABP)^۴ را نیز تولید می کنند.

تقریباً ۸۰٪ از ABP ترشح شده به مجاری اسپرم بر می رود و به اپیدیدیم منتقل می شود، در حالی که باقی مانده

1. Gonadotropin Releasing Hormone
2. Luteinizing Hormone
3. Follicle Stimulating Hormone
4. Androgen Binding Protein

به محفظه بینابینی، ترشح و به گردش خون سیستمیک جذب می‌شود. ABP به تستوسترون متصل می‌شود و نه تنها مسئول حفظ غلظت بالای تستوسترون در بیضه‌هاست، بلکه باعث انتقال تستوسترون به اپیدیدیم نیز می‌شود.

شایع‌ترین علل اسپرم‌سازی غیرطبیعی در جنس نر شامل تنظیم حرارت غیرطبیعی بیضه، عدم تعادل هورمونی، به‌ویژه آن‌هایی که با استرس مرتبط هستند و اثر (های) سموم یا بیان ژن‌های مضر هستند (۵). استرس معمولاً غلظت کورتیزول سیستمیک را افزایش و به‌شدت آزادسازی LH و تستوسترون را کاهش می‌دهد (۸-۶). استرس منشأ زیادی دارد، از جمله محیط، بیماری یا آسیب که باعث ایجاد تغییراتی در اسپرمیوگرام مشابه با تغییرات ناشی از اختلال در تنظیم حرارت می‌شوند. اسپرماتوسیت اولیه به تغییرات محیط هورمونی ثانویه ناشی از استرس یا بیماری بسیار حساس است. به‌عنوان مثال، در موارد دژنره شدن^۱ بیضه، تغییرات ابتدا در سیتوپلاسم، سانتروم و دوک‌ها در سطح اسپرماتوسیت اولیه ظاهر می‌شود که مستعد اختلال در اسپرماتید در حال رشد است (۳، ۹).

جدول م-۱ میانگین زمان عبور اسپرم از اپیدیدیم در حیوانات اهلی

گونه	میانگین (زمان)	منابع
سگ	۱۵	Linde-Forsberg (۱۶)
خوک	۹-۱۴	Franca and Cardoso (۱۷)
گاو نر	۸-۱۱	Barth and Oko (۳)
نریان	۸-۱۱	Swierstra (۱۸)
قوچ	۱۶/۴	Amann (۱۹)

جدول م-۲ مدت زمان تولید اسپرم در گونه‌های اهلی

مرحله	گاو نر (۱۰)	قوچ (۱۰)	خوک (۱۰)	نریان (۱۰)	سگ (۱۱)
۱	۴/۲	۲/۲	۱/۱	۲/۰	۳/۰
۲	۱/۲	۱/۱	۱/۴	۱/۸	۱/۷
۳	۲/۷	۱/۹	۰/۴	۰/۴	۰/۴
۴	۱/۷	۱/۱	۱/۲	۱/۹	۱/۶
۵	۰/۲	۰/۴	۰/۸	۰/۹	۱/۱
۶	۰/۸	۱/۳	۱/۶	۱/۷	۲/۱
۷	۱/۱	۱/۱	۱/۰	۱/۶	۱/۸
۸	۱/۶	۱/۰	۰/۸	۱/۹	۱/۹
طول یک چرخه	۱۳/۵	۱۰/۴	۸/۳	۱۲/۲	۱۳/۶
کل زمان لازم برای تولید اسپرم	۶۱	۴۷	۳۹	۵۷	۶۱

۳- بلوغ اسپرم در اپیدیدیم

اسپرم از رته تستیس به مجرای وایرین وارد و سپس وارد سر اپیدیدیم می‌شود. به‌طور کلی، اپیدیدیم را می‌توان به سه بخش تقسیم کرد: سر، بدنه و دم. اپیدیدیم مسئول انتقال، تغلیظ، ذخیره‌سازی و بلوغ اسپرم است. در طول انتقال اپیدیدی، بلوغ اسپرم با بسیاری از تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژی ادامه می‌یابد. تمام اسپرم‌هایی که وارد سر اپیدیدیم می‌شوند، با یک قطره سیتوپلاسمی قدیمی مشخص می‌گردند. همان‌طور که آن‌ها از طریق اپیدیدیم حرکت می‌کنند، قطره سیتوپلاسمی به‌طور معمول به سمت پایین حرکت می‌کند و زمانی که اسپرم به دم اپیدیدیم می‌رسد، در انتهای قسمت میانی وجود دارد. در طول کل اپیدیدیم، مجرا با اپیتلیومی که پروتئین‌ها را تحت تحریک آندروژن ستر و ترشح می‌کند، مرزبندی شده است (۱۲). مایعات آزادشده به داخل مجرای اپیدیدیم، کلید بلوغ اسپرم هستند (۱۳). هنگامی که سلول اسپرم در امتداد مجرا حرکت می‌کند، بسیاری از تغییرات بیوشیمیایی رخ می‌دهد. این فرایندها شامل متراکم شدن کروماتین هسته، تغییرات در ترکیب غشای پلاسمایی و جابه‌جایی آنتی‌ژن‌های سطحی و توانایی پاسخ به استرس هیپواسموتیک است (۱۴). آندروژن‌های در گردش و داخل مجرا برای بیان و ترشح ژن اپیدیدیم حیاتی هستند. آندروژن‌ها در اپیدیدیم با کاهش آنزیمی تستوسترون بیضه ستر می‌شوند. استروژن تولیدشده توسط سلول‌های لیدینگ بیضه در اپیدیدیم، به‌ویژه در کاهش آب در نواحی قدیمی اپیدیدیم، نقش دارد (۱۴). در طول انزال، قطرات خلفی باید پس از مخلوط شدن با منی حذف شوند. زمان انتقال اپیدیدی به گونه حیوان بستگی دارد (جدول ۱). دم اپیدیدیم و مجرای دفران به‌عنوان ذخیره کوتاه‌مدت اسپرم عمل می‌کنند. باین‌حال، در غیاب انزال، اسپرم‌های پیر باید به‌طور مداوم به داخل دستگاه ادراری دفع شوند تا اطمینان حاصل شود که اسپرم‌های زنده حتی پس از دوره‌های طولانی استراحت جنسی، همیشه در دسترس هستند (۱۵).

۴- تکنیک‌های رنگ‌آمیزی و ارزیابی مورفولوژی

ارزیابی میکروسکوپی مورفولوژی اسپرم، تکیه‌گاهی برای ارزیابی موفقیت آمیز اسپرم و سلامت اصلاح نژاد هر گونه است. سه نوع اصلی میکروسکوپ نوری عبارت‌اند از زمینه روشن^۱، فاز کنتراست^۲ و کنتراست تفریق سطوح (DIC)^۳. اکثر میکروسکوپ‌های معمولی عملکرد دارای زمینه روشن هستند و بسیاری از آن‌ها قابلیت فاز کنتراست را نیز دارند. باین‌حال، DIC گران‌قیمت است و به‌طور کلی استفاده از آن در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی یا آندروولوژی محدود می‌شود.

میکروسکوپ زمینه روشن برای بررسی مورفولوژی با استفاده از گسترش (اسمیر) منی رنگ‌آمیزی شده مناسب است. ارزیابی‌های مورفولوژی باید همیشه با استفاده از عدسی شیئی غوطه‌ور در روغن ($\times 100$) با چشمی‌های ۱۰-۱۲،۵ $\times$ ، بزرگ‌نمایی کل ۱۰۰۰-۱۲۵۰ $\times$ انجام شوند (از این پس $\times 1000$ نامیده می‌شود).

1. Bright-Field
2. Phase Contrast
3. Differential Interface Contrast

ارزیابی مورفولوژی در بزرگ‌نمایی کمتر توصیه نمی‌شود؛ زیرا به عدم تشخیص بسیاری از ناهنجاری‌های اسپرم منجر می‌شود. استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست، امکان بررسی نمونه اسپرم‌های زیر لامل رنگ نشده (تهیه شده با مخلوط نمودن منی روی لام میکروسکوپ با فرمالین گرم بافر شده خنثی ۱۰٪) و نیز لام‌های رنگ آمیزی شده با رنگ فلوژن را فراهم می‌کند (۲۰). ارزیابی مورفولوژی اسپرم با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست در بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ نسبت به استفاده از موارد رنگ آمیزی شده توسط برخی از دام‌پزشکان ترجیح داده می‌شود؛ زیرا نواقصی مانند واکوئل‌های هسته‌ای، نقص‌های آکروزومی (۲۱) و DNA غیرطبیعی در مورد لام‌های رنگ آمیزی شده با فلوژن راحت‌تر شناسایی می‌شوند. باین‌حال، این نواقص را می‌توان به راحتی با میکروسکوپ‌های با کیفیت بالای زمینه روشن شناسایی کرد.

اسپرم‌های غیرطبیعی از نظر مورفولوژی مدت‌هاست با ناباروری جنس نر مرتبط بوده‌اند و ارزیابی این ناهنجاری‌ها جزء اساسی تجزیه و تحلیل کیفیت منی است (۳، ۲۲، ۲۴). مورفولوژی اسپرم یک پیش‌بینی کننده عالی برای نتیجه جفت‌گیری طبیعی، لقاح مصنوعی و لقاح آزمایشگاهی است (۳، ۲۵، ۲۶) و رابطه‌ای بین مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم‌ها و کیفیت پایین DNA وجود دارد (۲۴).

۵- رنگ آمیزی حیاتی

رنگ‌های زنده/مُرده که به عنوان رنگ‌های فوق‌حیاتی^۱ نیز شناخته می‌شوند، مانند رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین و ائوزین-آنیلین آبی معمولاً برای بررسی مورفولوژی اسپرم استفاده می‌شوند (۲۷). در مطالعه تانگه^۲ و همکاران، رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین اسپرم به عنوان تنها پارامتر کیفیت اسپرم گاو نر ارزیابی شده بود که ارتباط قابل توجهی با تشکیل پرونوکلئوس در لقاح آزمایشگاهی نشان داد (۲۸). هنگام استفاده از رنگ‌های زنده/مُرده، نیگروزین یا آنیلین آبی پس‌زمینه‌ای را ایجاد می‌کنند، ولی ائوزین به عنوان یک رنگ حیاتی عمل می‌کند. غشاهای پلاسمایی عملکردی اسپرم زنده از نفوذ ائوزین به داخل سلول ممانعت می‌کنند. بنابراین، اسپرم زنده سفید به نظر می‌رسد. در مقابل، ائوزین به غشای سلولی آسیب دیده نفوذ می‌کند و اسپرم آسیب دیده یا غیرزنده به رنگ صورتی دیده می‌شود.

اسپرم‌های نیمه‌رنگ شده با یک قسمت خلفی صورتی و یک قسمت قدامی سفید در سر اسپرم گاهی اوقات مشاهده می‌شوند. این اسپرم‌ها دچار آسیب غشایی شده‌اند، اما آکروزوم آن‌ها سالم باقی مانده است. این الگوی رنگ آمیزی به این دلیل اتفاق می‌افتد که غشای آکروزوم به طور محکم بر روی هسته در ناحیه استوایی^۳ قرار می‌گیرد و از نفوذ رنگ ائوزین به زیر آکروزوم در ناحیه استوایی ممانعت می‌کند (۲۹). زمانی که نمونه‌های منی تحت شرایط مناسب فراوری نشوند، اسپرم‌های نیمه‌رنگ شده رایج‌تر هستند که نشان می‌دهد آسیب غشای اسپرم یا مرگ سلولی به تازگی رخ داده است (شکل م-۵).

1. Supravital

2. Tanghe

3. Equatorial Region



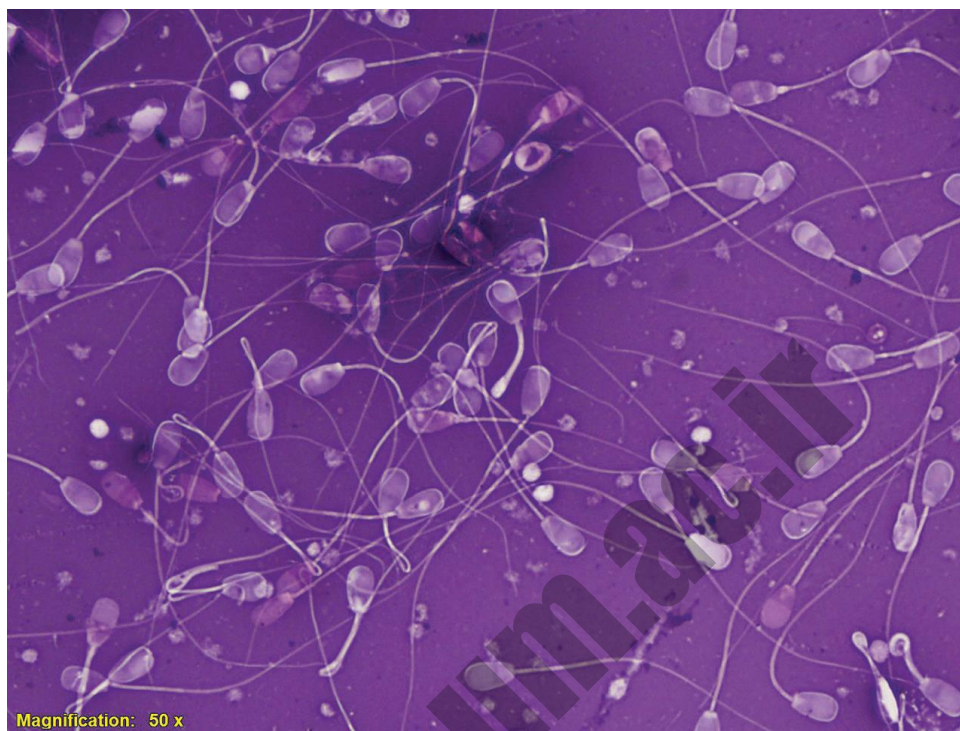
شکل م-۵ اسپرم نیمه‌رنگ‌شده با قسمت خلفی صورتی و قدامی سفید
(رنگ آمیزی اتوزین-نیگروزین، یک رأس گاونر، $\times 1000$)

در هنگام ارزیابی، ممکن است برای نسبت اسپرم زنده، فقط شمارش اسپرم‌های کاملاً سفید در نظر گرفته شود. هنگامی که منی به درستی مورد استفاده قرار گیرد و به‌طور صحیح رنگ آمیزی شود، نسبت بدون رنگ اتوزین «زنده» در نظر گرفته می‌شود که هم‌بستگی زیادی با تحرک پیش‌رونده دارد. این بدان معنا نیست که فقط سلول‌های «زنده» در طول ارزیابی یک اسلاید اسپرم شمارش شوند؛ ۱۰۰ سلول باید بدون توجه به وضعیت حیاتی شمارش شود تا نمایش دقیقی از وضعیت فعلی انزال ارائه شود. دقت ارزیابی گاوهای نر با باروری ضعیف را می‌توان با شمارش ۳۰۰ سلول بهبود بخشید.

۶- تهیه اسلایدهای گسترش منی یا اسلایدهای لامل‌دار

تهیه اسلاید برای ارزیابی صحیح مورفولوژی اسپرم بسیار مهم است و به تمرین و توجه به جزئیات نیاز دارد. خطاهای رایج شامل تعداد زیاد اسپرم در هر اسلاید است (شکل م-۶). اسلایدهای خیلی تیره یا خیلی روشن و با فرایند خشک شدن آهسته به ترک و نقص در رنگ آمیزی^۱ منجر می‌شود. راه‌های مختلفی برای ایجاد اسلایدهای رنگی وجود دارد.

1. Artifacts



شکل م-۶ اسلاید نامناسب با تعداد زیاد اسپرم در هر میدان که توانایی ارزیابی را برای بررسی هر اسپرم مختل می‌کند (رنگ آمیزی اتوزین-نیگروزین، $\times 500$)

برخی ممکن است ترجیح دهند اسلایدها را با استفاده از یک لام شیشه‌ای دیگر به روشی شبیه به تولید گسترش خونی ایجاد کنند، درحالی که برخی دیگر ترجیح می‌دهند از یک اپلیکاتور چوبی برای ایجاد نمونه استفاده کنند (شکل‌های م-۷ و م-۹). برخی از دام‌پزشکان معتقدند که اپلیکاتور چوبی آسیب مکانیکی کمتری به اسپرم (سرهای جداشده، آکروزوم‌های آسیب‌دیده) وارد می‌کند. با این حال، هیچ مطالعه‌ای این موضوع را ثابت نکرده است. اسلایدها را می‌توان در هر جایی در طول اسلاید مشاهده کرد، اما معمولاً نیمه پایین اسلاید مکان خوبی برای شروع است؛ زیرا سلول‌ها معمولاً به‌طور مساوی با پس‌زمینه رنگی مناسب توزیع می‌شوند.

نمونه‌های مرطوب را می‌توان برای ارزیابی مورفولوژی اسپرم توسط میکروسکوپ فاز کنتراست یا DIC در بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ ایجاد کرد. منی تازه‌انزال‌شده باید رقیق شود و حرکت آن متوقف گردد تا ارزیابی دقیق انجام شود. این امر را می‌توان با افزودن ۰/۲٪ گلو تار آلدئید در سالیین بافر فسفات (PBS)، بافر فرمال سالیین یا بافر فرمالین خنثی انجام داد. برای تهیه یک لام مرطوب، یک قطره ۲ تا ۳ میلی‌متری از منی رقیق‌شده روی یک لام تمیز و گرم قرار داده می‌شود و یک لامل بر روی آن قرار می‌گیرد. قبل از قرار دادن یک قطره روغن بر روی لامل، برای بررسی در بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰، اجازه دهید قطره به‌طور یکنواخت در زیر لامل پخش شود.



شکل م-۷ یک خط کوچک از رنگ همراه با یک قطره کوچک منی که در امتداد لام قرار می‌گیرد.

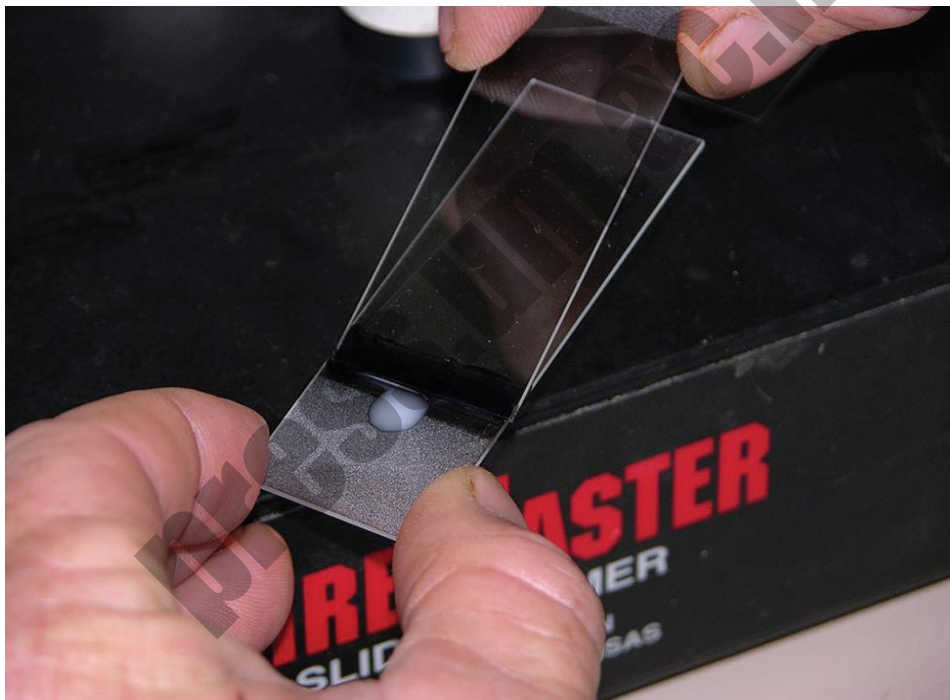
اسلاید آماده‌شده باید بسیار نازک باشد تا از قرار گرفتن اسپرم در لبه‌های آن‌ها به‌جای قسمت مرکزی جلوگیری شود. هنگام استفاده از گلو تار آلدئید یا بافر فرمالین خنثی، ممکن است تجمع سلول‌ها رخ دهد. اسلایدهای مرطوب را می‌توان در هر مکانی در امتداد لامل مشاهده کرد، به‌استثنای لبه‌های نزدیک؛ زیرا در این قسمت تعداد سلول‌های مرده بیشتری تجمع می‌کنند (۳).

۷- شمارش افتراقی مورفولوژی اسپرم

شمارش افتراقی مورفولوژی اسپرم باید با استفاده از بزرگ‌نمایی $\times 1000$ (غوطه‌وری در روغن) انجام شود؛ زیرا بزرگ‌نمایی کمتر به عدم شناسایی برخی نواقص منجر می‌شود. هدف از بررسی مورفولوژی اسپرم، تعیین درصد و انواع ناهنجاری‌های اسپرم موجود در نمونه و در نتیجه ساختن اسپرمیوگرام است. اسپرمیوگرافی ممکن است برای تفسیر باروری بالقوه منی در زمان نمونه برداری و همچنین تعیین علل بالقوه اسپرمیوگرافی غیرطبیعی استفاده شود. آگاهی از علت احتمالی ناهنجاری‌ها ممکن است به دام‌پزشک این امکان را بدهد که برای بهبودی، پیش‌آگهی ایجاد کند و به صاحب دام در تصمیم‌گیری آگاهانه در مورد جنس نر موردنظر کمک نماید (۲۹).

تعیین اسپرمیوگرام با استفاده از شمارنده سلولی افتراقی تسهیل می‌شود. شمارشگرهای سلولی مکانیکی اغلب به فرد اجازه می‌دهند تا دو یا چند کلید را به‌طور هم‌زمان فشار دهد تا بیش از یک نقص را در یک اسپرم ثبت کند، درحالی‌که اسپرم‌های دارای یک نقص را فقط یک‌بار می‌شمارند. با این سیستم ممکن است اسپرمیوگرافی دقیق‌تری ایجاد شود.

هنگامی‌که مورفولوژی اسپرم خوب است، شمارش افتراقی ۱۰۰ اسپرم برای تعیین اسپرمیوگرافی کافی است. با این حال، زمانی‌که درصد اسپرم‌های غیرطبیعی موجود زیاد باشد، شمارش حداقل ۳۰۰ اسپرم ممکن است برای ایجاد اسپرمیوگرافی دقیق ضروری باشد.



شکل م-۸ با استفاده از لام دوم می‌توان از قسمت پشتی رنگ شروع کرد تا یک خط کوچک از منی را برداشت و سپس به جلو ادامه داد. روش‌های بسیار متفاوتی وجود دارد که می‌توان از آنها برای خط‌کشی اسلایدها استفاده کرد.



شکل م-۹ اسلایدها نباید خیلی تیره یا خیلی روشن باشند و وقتی زیر میکروسکوپ مشاهده می‌شوند، سلول‌ها باید به گونه‌ای قرار بگیرند که بتوان هر کدام را جداگانه بررسی کرد.