مقاله تحقیقی

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۳، دوره ۶۹، شماره ۳، ۲۴۴- ۲۳۷

Original Article

Journal of Veterinary Research. 69,3:237-244, 2014

تأثیر کم‌کاری تیروئید بر روند تکثیر سلول‌های سوماتیک وجنسی بیضه گوسفند لری

مسعود ادیب مرادی[1*] یوسف باغچقی[2] علیرضا یوسفی[2] لیلا عینی[1] احمد زارع شحنه[2]

۱) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران- ایران

۲) گروه دامی، پردیس کشاورزی ومنابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج- ایران

(دریافت مقاله: ۲۶ فروردین ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱۰ تیر ماه ۱۳۹۳)

چکیده

زمینه مطالعه: نقش هورمون‌های تیروئیدی در رشد و تکامل طبیعی جنین از سال‌ها قبل شناخته‌شده است، این هورمون‌ها همچنین در تکامل اندام‌های تناسلی و فعالیت آنها موثرند. **هدف:** هدف از این تحقیق مطالعه اثر کم‌کاری تیروئید بر روی تکثیر سلول‌های بیضه گوسفندان لری-بختیاری بود. **روش کار:** تعداد ۱۸ راس بره لری بختیاری با میانگین سنی (۱±۵ ماه) طی دو ماه دوره آزمایش در قفس‌های انفرادی پروار بندی شدند. دام‌ها بطور تصادفی به ۳ گروه (n=۶) تقسیم شدند و به ترتیب، به گروه کنترل بدون تزریق و گروه‌های تیمار ۱ و ۲ به ترتیب با ۱۰mg و ۲۰ از ماده گوا ترزای پروپیل تیواوراسیل (PTU) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، علاوه بر جیره پایه بصورت روزانه تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش، بره‌ها کشتار شده، سپس وزن بیضه‌ها ثبت شد و نمونه‌های بیضه برای آنالیز بافت‌شناسی در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. جهت تعیین روند هورمون‌های تیروئیدی به صورت هفته‌ای خونگیری انجام شد. **نتایج:** طبق نتایج بدست آمده تعداد سلول‌های سوماتیک و جنسی در تیمار ۱۰ mg و ۲۰ mg نسبت به کنترل افزایش یافته بود ($p<۰/۰۵$). همچنین تفاوت وزن بیضه بین تیمار ۲۰mg و کنترل معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). اما بین تیمار ۱۰mg و دو تیمار دیگر تفاوت معنی دار نبود ($p>۰/۰۵$). **نتیجه‌گیری نهایی:** در کل نتایج نشان داد که کم‌کاری تیروئید در بره‌های نر لری-بختیاری احتمالاً باعث به تأخیر انداختن بلوغ، افزایش دوره تکثیر سلول‌های بیضه و وزن بیضه می‌شود هر چند که تحقیقات بیشتری مورد نیاز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کم‌کاری تیروئید، بره‌های لری-بختیاری، سلول لیدیگ، سلول سرتولی، بافت‌شناسی بیضه

مقدمه

نقش هورمون‌های تیروئیدی در رشد و تکامل طبیعی جنین از سال‌ها قبل شناخته شده است، این هورمون‌ها همچنین در تکامل اندام‌های تناسلی و فعالیت آنها موثرند(۱۹). هورمون‌های تیروئیدی میزان ترشح اکثر غدد درون ریز و همچنین میزان فعالیت متابولیکی بسیاری از بافت‌های بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد و به‌طور کلی مسئول رشد، تکامل، عمل و حفظ نسوج بدن می‌باشد (۲۱).

وجود علائم و عوارض ناشی از کمبود این هورمون‌ها بر ساختمان و عملکرد اندام‌های تناسلی در طی مراحل مختلف از جمله اختلال در پیدایش بلوغ در هر دو جنس، تأخیر در بلوغ طبیعی جنسی، هیپوگنادیسم، اختلالات باروری، سقط‌های جنینی، نقص در تمایلات جنسی و تأثیر بر ساختار بافتی لوله‌های منی ساز، محققین را بر آن داشته تا در جستجوی مشخص کردن اثرات اختصاصی این هورمون‌ها در این روند باشند، در دو دهه گذشته چندین مطالعه نشان داده است که هورمون‌های تیروئیدی نقش مهمی در تکامل بیضه دارند(۱،۲،۳۸،۳۹) همچنین نتایج برخی تحقیقات اولیه نشان داده که درهنگام بلوغ هورمون‌های تیروئیدی بر عملکرد بیضه‌ها در جنس نر تأثیری ندارد(۴)، وتعداد گیرنده‌های هورمون‌های تیروئیدی در ارگان‌های بالغ بسیار کم است(۴۰). گزارش‌های اولیه این ایده را، که بیضه‌ها تحت تأثیر هورمون‌های تیروئیدی قرار نمی‌گیرد گسترش داد. اما امروزه ثابت شده است که در رت و دیگر گونه‌های پستاندارن هورمون‌های تیروئیدی بلوغ ورشد بیضه‌ها را تنظیم می‌کنند، همچنین مشخص شده هورمون‌های تیروئیدی در هنگام تکامل بیضه، تمایز و تکامل بیضه را کنترل می‌کنند(۲۶،۳۷). به‌علاوه مطالعات تغییر سطوح هورمون‌های تیروئیدی پیش از بلوغ نشان داده است که سطح این هورمون‌ها، بلوغ بیضه و تولید مثل را تحت تأثیر قرار می‌دهد(۲۹). نتایج تحقیقات زیادی نشان می‌دهد که هورمون‌های تیروئیدی باعث مهار تکثیر سلول‌های سرتولی و افزایش تمایز و بلوغ زود رس سلول‌های سرتولی می‌شوند (۱۶،۱۷،۳۱،۴۷) از سوی دیگر راندمان اسپرماتوژنسیس در هنگام بلوغ که در تولید روزانه اسپرم بازتاب دارد، همبستگی مثبت با تعداد سلول‌های سرتولی پیش از بلوغ نشان می‌دهد(۴۱). نتایج این تحقیقات، با سایر یافته‌ها که نشان می‌دهند گیرنده‌های هورمون‌های تیروئیدی از بدو تولد تا بلوغ در بیضه وجود دارد هم‌خوانی دارد(۸،۲۸). همچنین نتایج مطالعات دیگری در زمینه تأثیر گذاری هورمون‌های تیروئیدی بر سلول‌های بینابینی نشان داده است که تغییر سطوح هورمون‌های تیروئیدی بر تمایز و بلوغ سلول‌های لایدیگ اثر می‌گذارد(۳۳،۳۵). در مطالعاتی که توسط برخی محققین صورت گرفته نشان داده شده است که کم‌کاری تیروئید پیش از بلوغ در رت باعث افزایش تعداد سلول‌های لایدگ در دوران بلوغ می‌شود(۲۳،۳۵) همچنین در مطالعات بعدی نشان داده شدکه کاهش هورمون‌های تیروئیدی باعث به تأخیر افتادن تمایز و بلوغ سلول‌های سرتولی و افزایش تکثیر سلول‌های مزانشیم پیش از بلوغ

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۱۱۱۷۱۱۲-۰۲۱، نمابر: ۶۶۹۱۳۱۰۴-۰۲۱ Email: adibmoradi@ut.ac.ir

می‌شود (۲۴،۳۵،۴۳) تاکنون اطلاعات محدودی در زمینه تأثیر هورمون‌های تیروئیدی بر بلوغ جنسی گوسفند در دسترس می‌باشد. بنابراین تحقیق در زمینه اثر سطوح مختلف این هورمون‌ها می‌تواند به مشخص شدن نقش این هورمون‌ها بر بلوغ و تکثیر سلول‌های و بیضه این دام‌ها کمک کند. با توجه به مطالب مذکور بر آن شدیم تا با ایجاد هیپوتیروئیدی در بره‌های نر لری‌بختیاری به بررسی تغییرات ساختاری و هورمونی ارگان‌های تناسلی (بیضه‌ها) پرداخته و تا حدی نقش اختصاصی هورمون‌های تیروئیدی را بر فعالیت‌های تناسلی بررسی نمائیم.

مواد و روش‌کار

داروی مورد استفاده: از داروی پروپیل تیویوراسیل (PTU) برای ایجاد هیپوتیروئیدی در بره‌های نر استفاده گردید.

حیوانات مورد آزمایش: در این آزمایش تعداد ۱۸ رأس بره نر لری‌بختیاری مورد استفاده قرار گرفت. پس از انجام معاینات دقیق اولیه و حصول اطمینان از سلامت عمومی بره‌های ۵ ماهه میانگین وزنی ۲/۵kg±۳۳ درمهر ماه ۱۳۸۹ مورد انتخاب شدند. واکسن آنتروتوکسمی و همچنین ویتامین گروه B (۲mL)، کمپلکس ویتامینی (AD3E ۳mL) تزریق شد، و شربت آلبندازول جهت جلوگیری از بروز عفونت انگلی به این بره‌ها خورانده شد. بره‌ها در سه گروه ۶ رأسی به طور تصادفی تقسیم شدند. دام‌ها در کل دوره آزمایش در قفس‌های انفرادی به مدت ۶۰ روز تحت شرایط آزمایش بودند، در طول دوره آزمایش بصورت روزانه ،گروه اول (گروه کنترل) با مقدار صفر و گروه‌های دوم و سوم با مقادیر ۱۰mg و ۲۰mg به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن از ماده گواترزای پروپیل تیویوراسیل تغذیه شدند. تغذیه پروپیل تیویوراسیل به صورت خوراکی (تغذیه اجباری) انجام شد. لازم به ذکر است جهت افزایش دقت آزمایش، تغذیه روزانه پروپیل تیویوراسل هر دو هفته یک بار بر حسب وزن بدن بره‌ها تصحیح شد.

خونگیری: به منظور اندازه گیری هورمون‌های T3 و T4 از ورید وداج گوسفندان در گروه‌ها به وسیله سرنگ استریل خونگیری به‌عمل آمد. خونگیری در این مطالعه به منظور تعیین تأثیر پروپیل تیویوراسیل بر روی سطح هورمون‌های تیروئیدی جهت تائید ایجاد هیپوتیروئیدی هر هفته یک‌بارصورت گرفت. خونگیری با استفاده از لوله‌های ۵mL تحت خلأ همراه با ماده ضدانعقاد هپارین انجام شد. نمونه‌گیری در ابتدای صبح در ساعت ۷/۱۵ که قبل مصرف خوراک از محل سیاهرگ گردن صورت گرفت. لوله‌های حاوی خون پس از خونگیری به سرعت به فلاسک سیار حاوی کیسه‌های یخ منتقل شد و به سرعت به آزمایشگاه مرکزی علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران ارسال شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰g با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار سانتریفیوژ گردید. سپس پلاسمای جداشده درون میکروتیوپ‌های ۱/۵mL را گرفت و تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی اشاره شده در دمای $20^{o}C$- نگهداری شد.

اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی و تستوسترون: اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی با استفاده از روش رادیوایمنواسی (RIA) با دستگاه گاماکانتر (Coat-A-Countwsolidphase125I radioimmunoassay) گروه علوم‌دامی دانشگاه تهران انجام شد. کیت‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی از نوع گاما با شماره کاتالوگ 6CT1-RK ساخت کشور مجارستان بودند. هورمون تستوسترون با استفاده از کیت الایزا (ساخت کشور آلمان با شماره کاتالوگ RE52151) و دستگاه الایزا پلیت ریدر (مدل Biotek ELX808، ساخت کشور آمریکا) اندازه‌گیری شد.

بافت‌شناسی: بلافاصله بعد از کشتار نمونه‌های بیضه در ظروف پلاستیکی حاوی فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد، و به ازمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انتقال داده شدند نمونه‌ها با ضخانت ۵mic برش داده شدند و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین -ائوزین رنگ شدند و سپس با میکروسکوپ نوری برای تعیین خصوصیات بافشناسی بررسی شدند.

تحلیل آماری: جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ بهره گرفته شد. قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار مینی تب نسخه ۱۴ به جهت نرمال سازی داده‌ها استفاده شد.

هریک از فراسنجه‌های مورد مطالعه بسته به نوع محاسبه و فراسنجه از رویه‌های مختلفی در نرم‌افزار SAS بهره گرفته شد. به طوری که هورمون‌های تیروئیدی و تستوسترون با استفاده از رویه میکس، و سایر فراسنجه‌های تکراری توسط رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده‌هایی که یک بار اندازه‌گیری شده بود با رویه GLM تجزیه آماری شدند.

نتایج

تغییرات هورمون‌های تیروئیدی: غلظت پلاسمایی هورمون‌های تیروئیدی (T3 و T4) در جدول۱ و ۲ نشان داده شده است. استفاده از پروپیل تیواوراسیل بطور موثری باعث کاهش سطح T3و T4 شد بطوری که هورمون‌های تیروئیدی با شروع اعمال تیمار کاهش یافت و از هفته اول به بعد تفاوت بین تیمار کنترل و دو تیمار ۱۰mg و ۲۰ mg معنی‌دار بود ($p<0/05$).

بافت‌شناسی بیضه ووزن بیضه: بین تیمارهای کنترل، ۱۰mg و ۲۰mg در تعداد قطر لوله‌های سمنیفروس، تعداد سلول‌های لایدیگ، تعداد سلول‌های سرتولی، تعداد کل اسپرماتوگونیا، تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه، تعداد کل اسپرماتیدها تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$). تفاوت قطر لومن لوله‌های سمنیفروس بین تیمار ۲۰mg نسبت به تیمار کنترل و ۱۰mg معنی‌دار بود، اما بین تیمار ۱۰mg و کنترل تفاوت معنی‌داری

جدول ۱. اثر سطوح مختلف پروپیل‌تیواوراسیل بر غلظت پلاسمایی هورمون (T3ng/mg) درهفته‌های مختلف. (***) حروف a و b نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح (p<۰/۰۵) می‌باشد.

هفته	تیمارها			سطح معنی‌داری
	کنترل	۱۰mg	۲۰mg	
۱	۱/۳۹±۰/۰۸	۱/۳۵±۰/۰۸	۱/۳۸±۰/۰۸	***
۲	۱/۷۶±۰/۱۱^{a}	۱/۰۹±/۱۱^{b}	۰/۹۳±۰/۱۱^{b}	***
۳	۱/۹۸ ±۰/۰۷^{a}	۰/۹۸±۰/۰۷^{b}	۰/۷۴±۰/۰۷^{b}	***
۴	۲/۳۱ ±۰/۱۳^{a}	۰/۹۰±۰/۱۳^{b}	۰/۶۶±۰/۱۳^{b}	***
۵	۲/۵۵ ±۰/۱۱^{a}	۰/۱۰±۰/۷۹^{b}	۰/۶۱±۰/۱۰^{b}	***
۶	۲/۶۲ ±۰/۱۰^{a}	۰/۷۷±۰/۱۰^{b}	۰/۵۵±۰/۱۰^{b}	***
۷	۲/۶۵ ±۰/۰۸^{a}	۰/۷۴±۰/۰۸^{b}	۰/۵۴±۰/۰۸^{b}	***
۸	۲/۶۲ ±۰/۱۲^{a}	۰/۷۰±۰/۱۱^{b}	۰/۵۴±۰/۱۱^{b}	***
۹	۲/۵۷ ±۰/۰۷^{a}	۰/۷۳±۰/۰۶^{b}	۰/۵۳±۰/۰۶^{c}	***
کل	۲/۲۷ ±۰/۰۶^{a}	۰/۹۰±۰/۰۶^{b}	۰/۷۲±۰/۰۶^{c}	***

جدول ۳. اثر سطوح مختلف پروپیل‌تیواوراسیل (PTU) بر بافت‌شناسی بیضه. (***) حروف a و b نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح (p<۰/۰۵) می‌باشد.

هفته	تیمارها			سطح معنی‌داری
	کنترل	۱۰ mg	۲۰mg	
قطر لوله‌های سمنی‌فر (mm)	۰/۰۰۳±۰/۱۱^{c}	۰/۰۰۳±۰/۱۸^{b}	۰/۰۰۳±۰/۲۷^{a*}	***
قطر لومن لوله‌های سمنی‌فر (mm)	۰/۰۰۲±۰/۰۸^{b}	۰/۰۰۲±۰/۰۹^{b}	۰/۰۰۲±۰/۱۷^{a}	***
تعداد سلول‌های لایدیگ (mm^{-2})	۲۰±۸۴۶^{c}	۲۰±۱۳۴۹^{b}	۲۰±۱۶۷۱^{a}	***
تعداد سلول‌های سرتولی (mm^{-2})	۳۰±۶۷۲^{c}	۳۰±۱۱۸۳^{b}	۳۰±۱۳۳۰^{a}	***
تعداد کل اسپرماتوگونیا (mm^{-2})	۳۰±۹۰۷^{c}	۳۰±۱۲۴۸^{b}	۳۰±۱۶۱۴^{a}	***
تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه (mm^{-2})	۲۳±۹۶۰^{c}	۲۳±۱۳۳۵^{b}	۲۳±۱۶۴۲^{a}	***
تعداد کل اسپرماتیدها (mm^{-2})	۲۱±۹۳۶^{c}	۲۱±۱۰۲۲^{b}	۲۱±۱۶۸۰^{a}	***

جدول ۴. اثر سطوح مختلف پروپیل‌تیواوراسیل (PTU) بر غلظت پلاسمایی هورمون‌تستوسترون (ng/mg) درهفته‌های مختلف. ns: نشان دهنده تفاوت غیر معنی‌داری در سطح (p<۰/۰۵) می‌باشد.

هفته	تیمارها			سطح معنی‌داری
	کنترل	۱۰ mg	۲۰mg	
۲	۰/۸۲±۲/۷۰	۰/۸۰±۳/۷۶	۰/۸۰±۲/۱۸	ns
۴	۱/۱۸±۳/۳۹	۰/۹۹±۴/۱۱	۰/۸۹±۲/۳۴	ns
۶	۰/۹۸±۳/۱۶	۰/۸۷±۳/۴۰	۰/۸۹±۴/۰۳	ns
۸	۱/۰۳±۲/۹۷	۰/۹۸±۲/۶۰	۰/۹۶±۲/۷۲	ns
کل	۰/۶۸±۳/۱۳	۰/۶۴±۲/۹۹	۰/۶۲±۲/۹۰	ns

مشاهده نشد (p<۰/۰۵). تفاوت وزن بیضه، بین تیمار ۲۰ mg وکنترل معنی‌دار بود (p<۰/۰۵) اما تفاوت ۱۰ mg نسبت به ۲۰mg وکنترل معنی‌دار نبود (جدول ۳) (p<۰/۰۵).

غلظت هورمون تستوسترون: اعمال کم‌کاری تیروئید تأثیر معنی‌داری بر غلظت تستوسترون پلاسما در تیمارهای آزمایشی نداشت (p>۰/۰۵؛

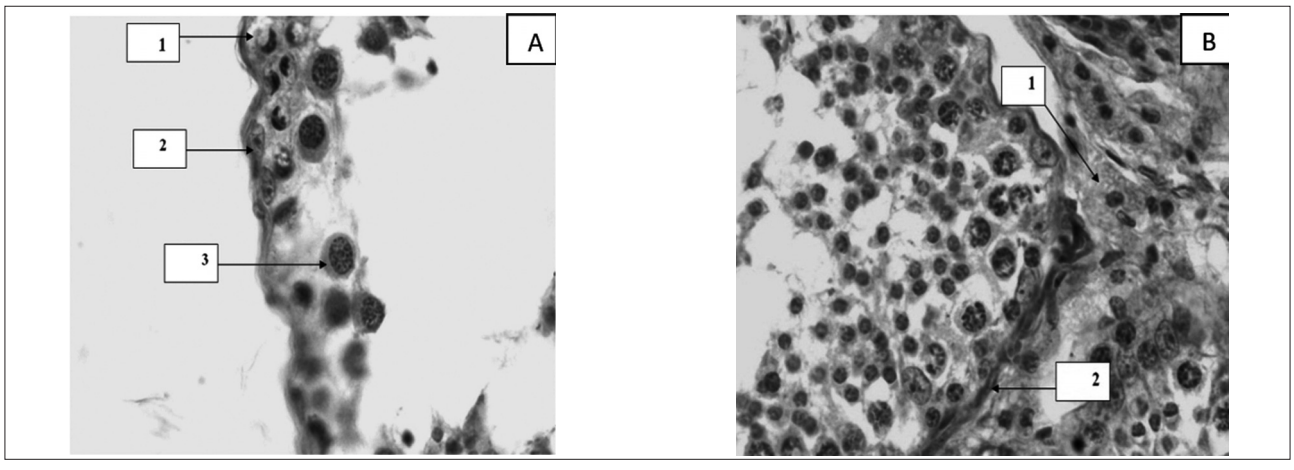
جدول۲. اثر سطوح مختلف پروپیل‌تیواوراسیل بر غلظت پلاسمایی هورمون (T4ng/mg) درهفته‌های مختلف. (***) حروف a و b نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح (p<۰/۰۵) می‌باشد.

هفته	تیمارها			سطح معنی‌داری
	کنترل	۱۰mg	۲۰mg	
۱	۶/۲۲±۵۹/۶	۶/۸۲±۶۰/۲۴	۶/۲۲±۶۰/۲۲	***
۲	۶/۸۲±۷۸/۲۲^{a*}	۶/۸۲±۶۰/۲۴^{ab}	۶/۸۲±۴۳/۲۴^{b}	***
۳	۵/۹۱±۸۹/۹^{a}	۵/۹۱±۴۹/۸۱^{b}	۵/۹۱±۳۷/۸۹^{b}	***
۴	۶/۲۰±۸۸/۸۵^{a}	۶/۲۰±۴۴/۸۵^{b}	۶/۲۰±۳۲/۴۲^{b}	***
۵	۵/۴۵±۸۹/۷۶^{a}	۵/۴۵±۴۱/۷۱^{b}	۵/۴۵±۲۹/۰۴^{b}	***
۶	۶/۷۴±۹۱/۰۱^{a}	۶/۷۴±۴۲/۱۶^{b}	۶/۷۴±۳۰/۱۶^{b}	***
۷	۵/۵۷±۸۸/۲۷^{a}	۵/۵۷±۳۷/۵۰^{b}	۵/۵۷±۲۸/۸۸^{b}	***
۸	۶/۱۲±۸۷/۵۲^{a}	۶/۱۲±۳۹/۶۰^{b}	۶/۱۲±۲۰/۶۷^{b}	***
۹	۵/۴۸±۸۶/۰۳^{a}	b۵/۴۸±۳۷/۷۷^{b}	b۵/۴۸±۲۰/۶۷^{b}	***
کل	۳/۸۹±۸۴/۳۵^{a}	b۳/۸۹±۴۶/۱۹^{b}	۳/۸۹±۳۳/۹۱^{c}	***

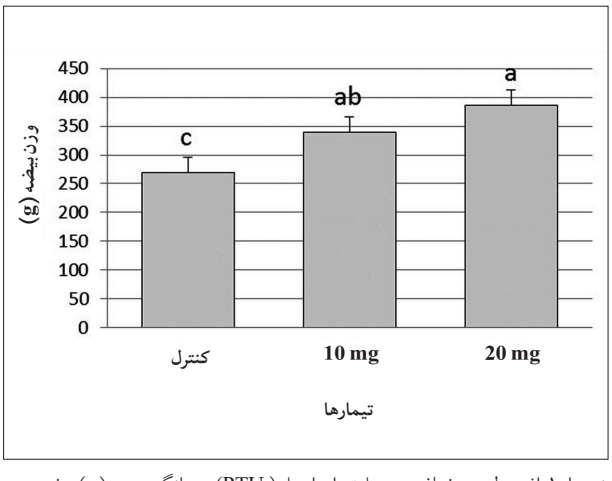
جدول ۴-۳)

بحث

وظیفه اصلی گنادها و هورمون‌های جنسی حفظ نسل و تولیدمثل است. در عین حال غده تیروئید و هورمون‌های T3 و T4 در عملکرد اندام‌های جنسی نقش تنظیم کننده دارند و فقدان غده تیروئید و یا کاهش هورمون‌های تیروئیدی می‌تواند در روند تکامل جنسی واعمال تولید مثلی اختلالاتی پدید آورد(۷). همچنین تأثیر این هورمون‌ها در تکامل اندام‌های تناسلی و فعالیت آنها مؤثرند(۱۹). از طرفی غده تیروئید با یک مکانیسم فیدبکی از طریق هیپوتالاموس و هیپوفیز قدامی برای کنترل میزان ترشح تیروئید به تناسب نیازهای متابولیک بدن عمل می‌کند. در مطالعه حاضر با استفاده از داروی گواتروزن پروپیل تیواوراسیل (PTU) بره‌های نر لری‌بختیاری از طریق تجویز خوراکی به هیپوتیروئیدی مبتلا شده و سپس تغییرات سرمی هورمون‌های تیروئیدی (T3 و T4)، غلظت هورمون تستوسترون، اثر کم‌کاری تیروئید بر روی بلوغ و تکثیر سلول‌های بیضه با سنجش پارامترهای قطر لوله‌های سمنی‌فر، قطر لومن لوله‌های سمنی‌فر، تعداد سلول‌های لایدیگ، تعداد سلول‌های سرتولی، تعداد کل اسپرماتوگونیا، تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و تعداد کل اسپرماتیدها موردبررسی قرار گرفت. نتایج مطالعات قبلی در ارتباط با اثر مهاری پروپیل تیواوراسیل (PTU) بر سطوح هورمون‌های تیروئیدی را تأیید می‌کند(۵،۴۴). طبق نتایج بدست آمده در اثر مصرف PTU توسط بره‌ها سطوح هورمون‌های T3 و T4 به‌طور مؤثری کاهش یافته به نحوی که هورمون‌های تیروئیدی با شروع اعمال تیمار کاهش یافت و از هفته اول به بعد تفاوت بین تیمار کنترل و دو تیمار ۱۰mg و ۲۰mg معنی‌دار بود (p<۰/۰۵) که این امر می تواند دلیلی بر ایجاد هیپوتیروئیدی در حیوانات مورد مطالعه باشد. کمبود هورمون‌های تیروئیدی موجب بروز اختلالات



تصویر۱. بافت‌شناسی سلول‌های بیضه بره‌های لری ـ بختیاری. شکل A :۱ـ اسپرماتوگونیوم۲ ـ سلول سرتولی ۳ ـ اسپرماتوسیست اولیه، شکل B :۱ـ سلول لایدیگ۲ ـ میوئید.



نمودار ۱. اثر سطوح مختلف پروپیل‌تیواوراسیل (PTU)بر میانگین وزن(g) بیضه پس ازکشتار بره‌های بره‌های لری ـ بختیاری.

شدیدی در اعمال فیزیولوژیکی بدن می‌گردد زیرا دارای اثرات متابولیک مانند تولید انرژی، تنظیم انتقال یون‌ها و آب از غشاء یاخته‌ها و تنظیم متابولیسم قندی مواد قندی، چربی‌ها و مواد پروتئینی است و بر فعالیت‌های رشد و نمو مانند تنظیم رشد بدن مؤثر است(۲۲). در این بررسی هیپوتیروئیدی ایجاد شده در بره‌های نر با تأثیر بر اعمال فیزیولوژکی فوق باعث کاهش وزن بیضه‌ها شده و کاهش معنی‌داری بین تیمار۲۰mg وکنترل داشته است، بدین ترتیب ملاحظه می‌شود که با کمبود هورمون‌های تیروئیدی رشد اندام اندوکرینی بیضه تحت تأثیر قرار گرفته و کاهش وزن نشان می‌دهد. به‌علاوه غلظت سرمی هورمون تستوسترون نیز مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق کم‌کاری تیروئید بر روی غلظت تستوسترون پلاسما تأثیر معنی‌داری نداشت. نتایج مطالعات قبلی، در ارتباط با تأثیر کم‌کاری تیروئید بر غلظت پلاسمایی تستوسترون متناقض است و بسته به سن، گونه و طول دوره کم‌کاری می تواند اثر افزایشی(۳۱)، کاهشی(۱۰) و بی تأثیر (۱۲،۱۳،۱۴) داشته باشد. نتایج این تحقیق در ارتباط با تأثیر کم‌کاری تیروئید بر روی بلوغ و تمایز سلول‌های سرتولی، لایدیگ و وزن بیضه با مطالعات قبلی هم‌خوانی دارد (۱۳،۱۴،۲۶،۳۱،۳۶،۴۱).

کم‌کاری تیروئید موقت پیش از بلوغ، باعث افزایش طول دوره تکثیر و به تأخیر افتادن بلوغ سلول‌های سرتولی می‌شود. برعکس پرکاری تیروئید باعث کاهش اندازه بیضه، تعداد سلول‌های سرتولی و بلوغ زود رس می‌شود(۱۵،۱۸،۲۵،۳۰،۴۶). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که کم‌کاری تیروئید پیش از بلوغ باعث افزایش حجم بیضه و تکثیر سلول‌های سرتولی ولایدیگ می‌شود مکانیسم اینکه هورمون‌های تیروئیدی چگونه بلوغ و تمایز سلول‌های سرتولی را کنترل می‌کنند به طور کامل شناخته نشده است. اما مطالعات اخیر که در شرایط in vitro و in vivo انجام شده نشان می‌دهد که هورمون‌های تیروئیدی باعث افزایش بیان ژن‌های p27Kip1 و p21Cip1 در سلول‌های سرتولی نابالغ می‌شوند، و کم‌کاری تیروئید باعث کاهش این پروتئین‌ها در سلول‌های سرتولی می‌شود(۹،۲۷). در واقع پروتئین p27Kip1 یک تنظیم کننده حیاتی برای تکثیر و بلوغ بسیاری از سلول‌ها است (۱۱)، نشان داده شده که بین تکثیر سلول‌های سرتولی و مقدار p27Kip1 همبستگی منفی و جود دارد (۶). در سلول‌های بیضه پروتئین کانکسین ۴۳، نقش حیاتی در اتصالات شکاف‌دار بین سلولی دارد. هورمون T3 با افزایش تولید این پروتئین، مانع تکثیر سلول‌های سرتولی می‌شود(۲۰) همچنین هورمون FSH عامل مهمی در تکثیر سلول‌های سرتولی است (۳۲،۳۴). Holsberger و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند که احتمالاً هورمون‌های تیروئیدی باعث مهار اثر هورمون FSH بر تکثیر سلول‌های سرتولی شوند(۲۶) نتایج این تحقیق در ارتباط با افزایش اسپرماتوژنسیز ممکن است به علت افزایش گیرنده‌های هورمون FSH در سلول‌های سرتولی، و افزایش تولید پروتئین ABP در سلول‌های سرتولی شود که افزایش تولید این پروتئین، باعث حمل تستوسترون بیشتری برای اسپرماتوژنزیس شود.

چندین تحقیق در ارتباط با اینکه کم‌کاری تیروئید چگونه باعث افزایش تکثیر سلول‌های لایدیگ می‌شود، انجام شده است. نتایج این

تحقیقات نشان می‌دهد که کم‌کاری تیروئید با مهار تمایز سلول‌های مزانشیم به سلول‌های لایدیگ، باعث افزایش دوره تکثیر سلول‌های مزانشیم وتجمع آنها پیش از بلوغ می‌شود، که در نهایت باعث افزایش تعداد سلول‌های لایدیگ در هنگام بلوغ می‌شود (۲۴،۳۵،۴۳). احتمالاً مقدار تجمع سلول‌های مزانشیم و مهار تمایز آنها به سلول‌های لایدیگ پیش از بلوغ، بستگی به شدت کم‌کاری القاء شده وسطح هورمون‌های تیروئیدی در خون دارد.

به‌طور کلی می‌توان گفت هورمون‌های تیروئیدی برای بلوغ و تمایز جنسی ضروری بوده و دارای نقش تنظیم کننده در اعمال فیزیولوژیکی و هورمونی بیضه‌ها می‌باشد که در صورت عدم وجود آنها تغییراتی در ترشح گنادها، هیپوفیز و احتمالاً هیپوتالاموس به وجود می‌آید. در کل نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که کم‌کاری تیروئید در بره‌های نر لری-بختیاری باعث افزایش وزن بیضه و دوره تکثیر سلول‌های سرتولی، لایدیگ و اسپرماتوژنسیز در بیضه‌ها می‌شود. بدیهی است برای دستیابی به اطلاعات بیشتر در این زمینه پژوهش‌هایی در مورد عوامل پاراکرینی مؤثر در رشد بیضه‌ها شامل آنزیم‌های مترشحه که در روند فیزیولوژیکی غدد جنسی مؤثر هستند نیز می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر وقدردانی

با تشکر از همکاری آقای علی کلانتری، فردوس ابراهیم پور و تمام کسانی که در نگارش این مقاله با ما همکاری داشتند.

References

1. Ariyaratne, H.B., Chamindrani Mendis-Handagama, S. (2000) Changes in the testis interstitium of Sprague Dawley rats from birth to sexual maturity. Biol Reprod. 62: 680-690.
2. Ariyaratne, H.B.S., Mendis-Handagama, M. (2000) Effects of tri-iodothyronine on testicular interstitial cells and androgen secretory capacity of the pre-pubertal Rat. Biol Reprod. 63: 493-502.
3. Ariyaratne, H.B., Mills, N. (2000) Effects of thyroid hormone on Leydig cell regeneration in the adult rat following ethane dimethane sulphonate treatment. Biol Reprod. 63: 1115-1123.
4. Barker, S., Klitgaard, H. (1952) Metabolism of tissues excised from thyroxine-injected rats. Am J Physiol. 170: 81.
5. Bernal, A., DeMoraes, G.V. (1999) Effects of induced hypothyroidism on ovarian response to superovulation in Brahman (*Bos indicus*) cows. J Anim Sci. 77: 2749-2756.
6. Beumer, T.L., Kiyokawa, H. (1999) Regulatory role of p27kip1 in the mouse and human testis. Endocrinology. 140: 1834-1840.
7. Bruni, J.F., Marshall, S. (1975) Effects of hyper- and hypothyroidism on serum LH and FSH levels in intact and gonadectomized male and female rats. Endocrinology. 97: 558-563.
8. Buzzard, J., Morrison, J.R. (2000) Developmental expression of thyroid hormone receptors in the rat testis. Biol Reprod. 62: 664-669.
9. Buzzard, J.J.W.N.M.J. (2003) Thyroid hormone, retinoic acid, and testosterone suppress proliferation and induce markers of differentiation in cultured rat Sertoli cells. Endocrinology. 144: 3722-3731.
10. Chandrasekhar, Y., D'Occhio, M.J. (1986) Reproductive hormone secretion and spermatogenic function in thyroidectomized rams receiving graded doses of exogenous thyroxine. J Endocrinol. 111: 245-253.
11. Coats, S.W.M., Flanagan, W.M. (1996) Requirement of p27Kip1 for restriction point control of the fibroblast cell cycle. Science. 272: 877.
12. Cooke, P.S, Meisami, E. (1991) Early hypothyroidism in rats causes increased adult testis and reproductive organ size but does not change testosterone levels. Endocrinology. 129: 237-243.
13. Cooke, P.S., Meisami, E. (1991) Early hypothyroidism in rats causes increased adult testis and reproductive organ size but does not change testosterone levels. Endocrinology. 129: 237-243.
14. Cooke, P.S., Porcelli, J. (1992) Induction of increased testis growth and sperm production in adult rats by neonatal administration of the goitrogen propylthiouracil (PTU): the critical period. Biol Reprod. 146: 146-154.
15. Cooke, P.S., Zhao, Y.D. (1994) Triiodothyronine inhibits proliferation and stimulates differentiation of cultured neonatal Sertoli cells: possible mechanism for increased adult testis weight and sperm production induced by neonatal goitrogen treatment. Biol Reprod. 51: 1000.
16. De Franca, L.R., Hess, R.A. (1995) Neonatal

hypothyroidism causes delayed sertoli cell maturation in rats treated with propylthiouracil: evidence that the Sertoli cell controls testis growth. Anat Rec. 242: 57-69.

17. Dierich, A., Sairam, M.R. (1998)Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling in vivo: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance. Proc Natl Acad Sci. 95: 13612.
18. Francavilla, S., Cordeschi, G. (1991) Effect of thyroid hormone on the pre-and post-natal development of the rat testis. J Endocrinol. 129: 35-42.
19. Gennaro, A.R. (1995) The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins. (4th ed.). New York, USA.
20. Gilleron, J., Nebout, M. (2006). A potential novel mechanism involving connexin 43 gap junction for control of sertoli cell proliferation by thyroid hormones. J Cellular Physiol. 209: 153-161.
21. Greenspan, F.S., Dong, B.J. (1998) Histamine, thyroid and antithyroid drugs, in basic and clinical pharmacology. Endocrinology. 78: 57-65.
22. Guyton, A.C.H.J. (2001) Reproductive and hormonal functions of the male. In: Textbook of Medical Physiology. (3ed ed.) WB Saunders, Philadelphia, USA. p. 234-254.
23. Hardy, M.P., Kirby, J.D. (1993) Leydig cells increase their numbers but decline in steroidogenic function in the adult rat after neonatal hypothyroidism. Endocrinology. 132: 2417-2420.
24. Hardy, M.P., Sharma, R.S. (1996) Increased proliferation of Leydig cells induced by neonatal hypothyroidism in the rat. J Androl. 17: 231-238.
25. Hess, R.A., Cooke, P.S. (1993) Adult testicular enlargement induced by neonatal hypothyroidism is accompanied by increased Sertoli and germ cell numbers. Endocrinology. 132: 2607-2613.
26. Holsberger, D.R. Cooke, P.S. (2005) Understanding the role of thyroid hormone in sertoli cell development: a mechanistic hypothesis. Cell Tissue Res. 322: 133-140.
27. Holsberger, D.R., Jirawatnotai, S. (2003) Thyroid hormone regulates the cell cycle inhibitor p27Kip1 in postnatal murine sertoli cells. Endocrinology. 144: 3732-3738.
28. Jannini, E.A., Crescenzi, A. (2000) Ontogenetic pattern of thyroid hormone receptor expression in the human testis. J Clin Endocrinol Metab. 85: 3453-3457.
29. Jannini, E.A., Ulisse, S. (1995) Thyroid hormone and male gonadal function. Endocr Rev. 16: 443.
30. Joyce, K.L., Porcelli, J. (1993) Neonatal goitrogen treatment increases adult testis size and sperm production in the mouse. J Androl. 14: 448-455.
31. Kirby, J.D., Mankar, M.V. (1996) Effects of transient prepubertal 6-N-propyl-2-thiouracil treatment on testis development and function in the domestic fowl. Biol Reprod. 55: 910-916.
32. Kumar, T.R., Wang, Y. (1997) Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. Nat Genet. 15: 201-204.
33. Maran, R. (2003) Thyroid hormones: their role in testicular steroidogenesis. Syst Biol Reprod Med. 49: 375-388.
34. Meachem, S.J., McLachlan, Y. (1996) Neonatal exposure of rats to recombinant follicle stimulating hormone increases adult Sertoli and spermatogenic cell numbers. Biol Reprod. 54: 36.
35. Mendis-Handagama, S., Ariyaratne, H. (1998) Differentiation of adult Leydig cells in the neonatal rat testis is arrested by hypothyroidism. Biol Reprod. 59: 351-357.
36. Mendis-Handagama Sharma, S.O. (1994) Effects of neonatal administration of the reversible goitrogen propylthiouracil on the testis interstitium in adult rats. Reproduction. 100: 85.
37. Mendis-Handagama Siril, H.B. (2005) Leydig cells, thyroid hormones and steroidogenesis. Biol Reprod. 43: 939-962.
38. Mendis-Handagama, S.M., Ariyaratne, H.B. (1998) Differentiation of adult Leydig cells in the neonatal rat testis is arrested by hypothyroidism. Biol Reprod. 59: 351-357.
39. Mendis-Handagama, S.M. Sharma, O.P. (1994)

Effects of neonatal administration of the reversible goitrogen propylthiouracil on the testis interstitium in adult rats. J Reprod Fertil. 100: 85-92.

40. Oppenheimer, J., Schwartz, H. (1974) Tissue differences in the concentration of triiodothyronine nuclear binding sites in the rat: liver, kidney, pituitary, heart, brain, spleen and testis. Endocrinology. 95: 897-903.
41. Orth, J.M., Gunsalus, G.L. (1988) Evidence from Sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. Endocrinology. 122: 787-794.
42. Palmero, S., De Marco, P. (1995) Thyroid hormone receptor {beta} mRNA expression in Sertoli cells isolated from prepubertal testis. J Mol Endocrinol. 14: 131.
43. Teerds, K.J., de Rooij, D.G. (1998) Development of the adult-type Leydig cell population in the rat is affected by neonatal thyroid hormone levels. Biol Reprod. 59: 344-350.
44. Thrift, T., Bernal, A. (1999) Effects of induced hypothyroidism on weight gains, lactation, and reproductive performance of primiparous Brahman cows. J Anim Sci. 77: 1844.
45. Thrift, T.A., Bernal, A. (1999) Effects of induced hypothyroidism or hyperthyroidism on growth and reproductive performance of Brahman heifers. J Anim Sci. 77: 1833-1843.
46. Van Haaster, L.H., De Jong, F.H. (1992) The effect of hypothyroidism on Sertoli cell proliferation and differentiation and hormone levels during testicular development in the rat. Endocrinology. 131: 1574-1576.
47. van Haaster, L.H., de Jong, F.H. (1993) High neonatal triiodothyronine levels reduce the period of Sertoli cell proliferation and accelerate tubular lumen formation in the rat testis, and increase serum inhibin levels. Endocrinology. 133: 755.

The effect of hypothyroidism on the proliferation of somatic and genital cells in Lori sheep

Adibmoradi, M.[1*], Baghchghi, Y.[2], Yusafi, A.[2], Eini, L.[1], Zare Shahne, A.[2]

[1]*Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran*

[2]*Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences and Engineering, University of Tehran, Karaj-Iran*

(Received 15 April 2014, Accepted 1 July 2014)

Abstract:

BACKGROUND: The role of thyroid hormones has been recognized in normal embryo development many years ago. These hormones also affected the development of reproductive organs and their activity. **OBJECTIVES:** This study was conducted to investigate the effect of inducing hypothyroidism by propyl-2-thiouracyl (PTU) on lambs testicular histomorphology and plasma testosterone concentration. **METHODS:** Eighteen Lori-Bakhtari male lambs were divided to 3 groups (n=6) and each received one of the treatments as Control (C: 0 mg PTU/kg BW), Low (L: 10 mg PTU/kg BW) and High (H: 20 mg PTU/kg BW) by gavages, during a 60d experimental period. At the end of the trial, lambs were slaughtered and testes were removed to evaluate their histomorphological characteristics. **RESULTS:** Mean concentration of T4 and T3 decreased significantly in L and H groups compared with C group ($p<0.05$). Hyphothyroidism increased testis weight, number of sertoli and lydig cells, diameter of Seminiferous tubules, diameter of seminiferous lumen, total spermatogonia, number of primary spermatocyte, and total spermatids ($p<0.05$). However, PTU had no significant effect on plasma concentration of testosterone ($p>0.05$). In the present study, PTU increased testicular weight and the number of cells involved in sperm and testosterone production. **CONCLUSIONS:** Sheep breeders may consider hypothyroidism as a potential approach to increase sperm production capacity in rams before puberty. However, further investigation should be carried out on the quality and quantity of rams' sperm.

Key words: hypothyroidism, Lori bakhtiari lambs, Leydig cell, sertoli cell, testis histology

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Effect of different level of Propylthiouracil on T3 plasma hormone levels in different weeks. (*)a and b Indicates a significant difference in $p<0.05$ level.

Table 2. Effect of different level of Propylthiouracil on T4 plasma hormone levels in different weeks. (*)a and b Indicates a significant difference in $p<0.05$ level.

Table 3. Effect of different level of Propylthiouracil on Testis histology. (*)a and b Indicates a significant difference in $p<0.05$ level.

Table 4. Effect of Propylthiouracil level on concentrations of Testosterone in different weeks.

Figure 1. Histology of testicular cells in Lori-Bakhtiari lamb. A: 1-spermatogonium 2-sertoli cell 3-spermatocyte type 1 B: 1-leidig cell 2-myoid cell.

Graph 1. Effect of different levels of Propylthiouracil ((PTU) on the testes average wight (g) after slaughtered in Lori-Bakhtiari lambs).

***Corresponding author's email: adibmoradi@ut.ac.ir, Tel: 021-61117112, Fax: 021-66913104**