Original Paper

Effect of red and infrared spectrum low level of laser rays on Rat Seminiferous tubules

Hasanzadeh Gh (PhD)[1], Deihimi M (MSc)[2], Azornia M (PhD)[3]
Rajabi M (MD)[4], Takzare N (MSc)*[5]

[1]*Associate Professor, Department of Anatomy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*
[2]*MSc in Anatomy.* [3]*Associate Professor, Department of Biology,Tehran teacher training University, Tehran, Iran.* [4]*General Physician.* [5]*Academic Instractor, Department of Anatomy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*

Abstract

Background and Objective: Laser is a source of electromagnetic radiation. Laser therapy has a kind of natural and biological effect on tissue which acts via energy and light power. Todays the use of infrared and red rays from low-power lasers have been established as a routine way for the treatment of diseases. Considering the important role of laser in biological sciences this study was done to compare the effect of red and infrared spectrum low level of laser rays on Rat Seminiferous tubules.

Materials and Methods: This experimental study was done on 40 male Rat which divided in four groups including one control and three experimental. In the first experimental group, the right testis of the rats was exposed to a mixture of 300 Hz infra-red ray for 7 minutes and 300 Hz red spectrum for 1 minute daily. In the second experimental group, the right testes were exposed to the 300 Hz infra-red ray for 8 minutes for 40 seconds daily. In the third experimental group, the right testes were exposed to 80 Hz infra-red for 5 minutes and 80 Hz red ray for one minute daily. The controls did not receive any rays. After 15 days, testes were dissected, fixed and stained for histological processing. Thickness of seminiferous tubules and lumen as well as the thickness and area of seminiferous epithelium were measured. The concentration of testosterone was determined with radioimmunoassay. Data was analyzed with SPSS-13 software and ANOVA test.

Results: There was a significant difference in the thickness of seminiferous tubules, thickness of lumen space and thickness of epithelium between first (i.e., the mixture of 300 Hz red and infra-red lasers), second (300 Hz infra-red laser) and the third experimental groups (80 Hz red and infra-red lasers) ($P<0.05$). But no difference was found between the first group and control. The serum testosterone concentration did not show any differences between experimental and control.

Conclusion: This study showed that morphologic and morphometric alterations have direct relation with laser energy density.

Keywords: Testis, Seminiferous tubules, Infrared spectrum, Low level laser

*** Corresponding Author:** *Takzaree N (MSc), E-mail: takzaree@yahoo.com*

Received 7 Mar 2010 **Revised** 19 May 2010 **Accepted** 1 Aug 2010

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / پاییز ۱۳۸۹ / دوره ۱۲ / شماره ۳ (پی در پی ۳۵) / صفحات ۱۰ تا ۱۷

تحقیقی

اثر پرتو لیزر کم‌توان با طیف قرمز و مادون قرمز روی لوله‌های اسپرم‌ساز موش آزمایشگاهی

دکتر غلامرضا حسن زاده[1]، محمد دیهیمی[2]، دکتر مهناز آذرنیا[3]، دکتر مجید رجبی[4]، نسرین تک زارع*[5]

۱- دانشیار گروه علوم تشریح ، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۲- کارشناس ارشد بیولوژی. ۳- دانشیار گروه بیولوژی ، دانشگاه تربیت معلم تهران.
۴- پزشک عمومی. ۵- مربی و عضو هیأت علمی گروه علوم تشریح ، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران.

چکیده

زمینه و هدف : *لیزر نوعی منبع تابش امواج الکترومغناطیسی است. لیزرتراپی نوعی تأثیر بافتی به صورت طبیعی و تحریک بیولوژیک با کمک انرژی و توان نور محسوب می‌شود. امروزه بیشترین و پرکاربردترین لیزرهای کم‌توان در درمان بیماری‌ها، لیزرهای با پرتوهای مادون قرمز (infrared) و قرمز (red) می‌باشند. این مطالعه به منظور تعیین اثر پرتو لیزر کم‌توان با طیف قرمز و مادون قرمز روی لوله‌های اسپرم‌ساز موش آزمایشگاهی انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه تجربی روی ٤٠ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن متوسط ۸هفته انجام شد. موش‌ها به ٤ گروه ده تایی تقسیم شدند که شامل یک گروه شاهد و سه گروه تجربی (مورد) بود. گروه شاهد فقط تحت بیهوشی روزانه قرار گرفت. در گروه تجربی ۱، بیضه راست موش‌ها در معرض تابش مخلوطی از طیف مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰هرتز (۷دقیقه) و طیف قرمز (۱ دقیقه) قرار گرفت. در گروه تجربی ۲، بیضه راست موش‌ها در معرض تابش پرتو مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰هرتز (۸ دقیقه و ٤٠ثانیه) واقع شد. در گروه تجربی۳، بیضه راست موش‌ها در معرض تابش پرتو مادون قرمز با فرکانس ۸۰هرتز (۵دقیقه) و طیف قرمز (۱دقیقه) به طور روزانه قرار گرفت. پس از ۱۵ روز، بیضه‌ها از بدن موش‌ها خارج گردید و پس از مراحل فیکساسیون و رنگ‌آمیزی نمونه‌ها مورد بررسی و مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند. قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و قطر لومن و همچنین قطر و مساحت بخش سلولی اپی‌تلیوم اسپرم‌ساز در موش‌ها تعیین شد. میزان تستوسترون با روش رادیوایمنواسی مورد سنجش قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با کمک نرم‌افزار SPSS-13 و آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام گردید.*

یافته‌ها : *قطر لوله اسپرم‌ساز ، فضای لومن و ضخامت اپی‌تلیال بین گروه‌های آزمایشی ۱ ، ۲ و ۳ تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($P<0/05$). این شاخص‌ها بین گروه‌های تجربی و شاهد تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. همچنین تفاوت آماری معنی‌داری در تستوسترون اندازه‌گیری شده بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد.*

نتیجه‌گیری : *این مطالعه نشان داد که تغییرات مورفولوژیک و مورفومتریک لوله‌های اسپرم‌ساز ارتباط مستقیم بادانسیته انرژی لیزر دارد و استفاده از لیزر کم‌توان طیف مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰ هرتز و یا به حالت ترکیبی طیف مادون قرمز با فرکانس ۸۰ هرتز همراه با طیف قرمز در افزایش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و افزایش سلول‌های ژرمینال و اسپرم‌ها موثر می‌باشد.*

کلید واژه‌ها : *لوله‌های اسپرم‌ساز ، طیف مادون قرمز ، لیزر کم‌توان ، اسپرماتوژنز*

---

* نویسنده مسؤول : نسرین تک زارع ، پست الکترونیکی : takzaree@yahoo.com
نشانی : تهران ، دانشگاه علوم پزشکی تهران ، دانشکده پزشکی ، گروه علوم تشریح ، تلفن : ۸۸۹۵۳۰۰۸ (۰۲۱) ، نمابر : ۸۸۹۵۳۰۰۷
وصول مقاله : ۸۸/۱۲/۱۶، **اصلاح نهایی :** ۸۹/۲/۲۹، **پذیرش مقاله :** ۸۹/۵/۱۰

مقدمه

لیزرتراپی یا به‌کارگیری لیزرهای کم‌توان در درمان بیماری‌ها براساس شناخت امواج نورانی و تأثیر آن بر مولکول‌ها، سلول‌ها و بافت‌های زنده سالم و بیمار، بنا نهاده شده است و به عنوان شاخه‌ای نوین در پزشکی امروز مطرح می‌باشد. به عبارت دیگر، لیزرتراپی نوعی تأثیر بافتی به صورت طبیعی و بیولوژیک با کمک انرژی و توان نور محسوب می‌شود. لیزر باعث ایجاد ساختارها و واکنش‌های جدید در بافت‌های زنده می‌گردد. تاکنون لیزرهای متعددی ساخته شده‌اند که براساس عوامل مختلفی چون ماده فعال، منبع تحریک، توان خروجی و محدوده طیف گروه‌بندی می‌شوند. یکی از جدیدترین کاربردهای لیزر در پزشکی، امکان تسکین درد ودرمان بیماری با استفاده از لیزرهای کم‌توان است (۱).

در مطالعه‌ای که توسط Taha (۲) با استفاده از لیزر مادون‌قرمز انجام شد؛ مشخص گردید که لیزر با دوز پایین ۲۸/۰۵ j/cm دارای اثرات تحریکی بر روی اسپرماتوژنز در موش‌ها می‌باشد (۲). مطالعات نشان داده است که هرگونه تغییر مورفولوژیکی و یا بیوشیمیایی در سلول‌های اپی‌تلیوم بیضه موجب تغییر در روند اسپرماتوژنز و تغییر در میزان باروری موش‌ها می‌شود (۳و۴). تابش نور با برخی طول موج‌های خاص (ماده جاذب نور حساس به طول موج) در سلول قادر است؛ بعضی از اجزاء سلولی مانند فیبروبلاست‌ها را فعال کرده و به این ترتیب واکنش‌های شیمیایی و متابولیسم سلولی را تغییر دهد. به نظر می‌رسد این دسته واکنش‌ها اساس تأثیرات لیزر کم توان را تشکیل می‌دهند. به طور مسلم هرگونه تغییر مورفولوژیکی و یا بیوشیمیایی در سلول‌های اپی‌تلیوم بیضه موجب تغییر در روند اسپرماتوژنز و تغییر در میزان باروری موش‌ها می‌شود (۲). در مطالعه‌ای دیگر مشخص گردید که تولید تستوسترون در پاسخ به افزایش LH توسط سلول‌های لایدیگ موش تحت اثر لیزر هلیوم - نئون با دوز ۴/۲ j/cm2 بسیار بالاتر از گروه شاهد بوده است (۵). علاوه بر این لیزر موجب بروز گرما در بافت‌ها و افزایش آپوپتوزیس در سلول‌ها شده است (۶). امروزه این باور وجود دارد که تحریکات خارج سلولی، پاسخ‌هایی از جمله تکثیر، تمایز و حتی آپوپتوز را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۷و۸).

در مطالعاتی اثرات لیزر بر تخمدان‌های موش مورد بررسی قرار گرفت که نتیجهٔ آن افزایش استروئید دهیدروژناز و به دنبال آن افزایش استروژن و پروژسترون بود. همچنین افزایش تشکیل مجدد بستر رگی بین تخمدانی و تشکیل عروق کوچک و افزایش قطر مویرگی مشاهده گردید (۹و۱۰). همچنین لیزر کم توان حتی در دوزهای بسیار پائین سبب افزایش سنتز DNA و افزایش درصد تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت‌های اولیه می‌شود؛ ولی تأثیری بر درصد DNA اسپرماتیدها ندارد (۱۱و۱۲).

امروزه در پزشکی استفاده از پرتو لیزر کم‌توان با طیف قرمز و مادون قرمز متداول و رایج است و در عین حال اختلاف نظرهایی بین متخصصین در ارتباط با میزان مؤثر بودن هر یک از آنها یا ترکیبی از هر دو وجود دارد. با توجه به اهمیت باروری در مردان و مشکلات ناشی از اولیگواسپرمی یا آزواسپرمی که موجب ناباروری می‌شود؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر پرتو لیزر کم‌توان با طیف قرمز و مادون قرمز روی لوله‌های اسپرم‌ساز موش آزمایشگاهی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۴۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن متوسط ۸هفته (دوماه) انجام شد. موش‌ها در حیوان‌خانه نگهداری شدند. در هر قفس ۱۰موش نر قرار گرفت. موش‌ها از نظر نور، دما، تغذیه، رطوبت و سایر عوامل زیستی تحت کنترل بودند. روشنایی محیط به صورت ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی بود. غذای مورد نیاز موش‌ها به ازاء هر۱۰۰گرم وزن بدن ۶-۵گرم در روز محاسبه شد و در اختیار موش‌ها قرار گرفت.

در این مطالعه حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه (یک گروه شاهد وسه گروه تجربی) تقسیم شدند. در هر گروه ۱۰ سر موش قرار داده شد. گروه شاهد فقط تحت بیهوشی روزانه قرار گرفت؛ ولی سه گروه تجربی پس از بیهوشی تحت اثر پرتوهای لیزر قرارگرفتند. در این مطالعه دوز لیزر مورد استفاده به میزان ۲ ژول بر سانتی‌مترمربع (مؤثرترین دوز) انتخاب شد. پرتوهای قرمز که از نوع پیوسته (Continuse) بودند؛ با توان ماکزیمم ۸ میلی‌وات انتخاب شد

و پرتوهای مادون قرمز از نوع پالسی با توان ماکزیمم ۸۷ وات انتخاب گردید.

دستگاه مورد استفاده Mustang 2000 با لیزر از نوع Ga.Al.As (گالیم – آلومینیوم – آرسنایید) با طول موج حداکثر ۸۳۰nm بود. موش‌ها هر روز پس از انجام پرتوتابی به محل نگهداری برگردانده شدند و در شرایط عادی قرار گرفتند.

در ابتدای آزمایش موش‌های گروه شاهد و سه گروه تجربی به وسیله ترازوی دیجیتالی آزمایشگاهی توزین شدند. همین‌طور مشخصات مورفولوژیکی موش‌ها نیز کنترل گردید. در هر روز ابتدا موش‌های شاهد و تجربی توسط داروی کتامین (۴۰ mg/kg) و داروی زایلازین (۵ mg/kg) که به صورت IP به حیوان تزریق گردید؛ بیهوش شدند. موهای بیضه موش‌ها تراشیده و شستشو گردید. سپس نقطه‌ای در وسط بیضه راست علامت‌گذاری و موش‌ها روی یک سطح صاف خوابانده شدند و پرتو لیزر (Beam) روی بیضه راست و درست روی همان نقطه علامت‌گذاری شده تابانده شد.

در گروه تجربی ۱ بیضه راست موش‌ها به مدت ۷ دقیقه پرتو مادون قرمز بافرکانس ۳۰۰هرتز دریافت کرد و سپس بلافاصله به مدت ۱ دقیقه پرتو لیزر قرمز به آنها تابانده شد. در گروه تجربی ۲ به مدت ۸ دقیقه و ۴۰ ثانیه بیضه راست آنها تحت تابش پرتوهای مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰هرتز قرار گرفت. در گروه تجربی ۳ بیضه راست موش‌ها به مدت ۵دقیقه تحت تأثیر پرتو مادون قرمز با فرکانس ۸۰ هرتز و سپس بلافاصله ۱ دقیقه تحت پرتو لیزر قرمز قرار گرفت. موش‌ها به مدت ۱۵ روز تحت اثر پرتو لیزر بودند؛ به صورتی که در گروه تجربی۱ در مجموع ۱۰۵دقیقه لیزر مادون قرمز (IR) با فرکانس ۳۰۰هرتز و ۱۵ دقیقه لیزر قرمز (R) و در گروه تجربی ۲ درکل ۱۳۰ دقیقه لیزر مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰ هرتز و در گروه تجربی۳ در مجموع ۷۵ دقیقه لیزر مادون قرمز با فرکانس ۸۰هرتز و ۱۵ دقیقه لیزر قرمز به بیضه راست موش‌ها تابانده شد. موش‌های گروه شاهد هیچ‌گونه اشعه‌ای دریافت نکردند.

هر بار قبل از پرتوتابی دستگاه کالیبره شده و میزان توان (Power) برای پرتو قرمز ۸ میلی‌وات و برای مادون قرمز ۸۷وات و میزان فرکانس برای مادون قرمز ۳۰۰هرتز و ۸۰هرتز تنظیم شد. در ابتدا و انتهای پرتوتابی، آینه خروجی Beam لیزر توسط پنبه و الکل با دقت تمیز شد.

۲۴ساعت پس از آخرین پرتوتابی حیوانات بیهوش شدند و ۲سی‌سی نمونه خون از قلب هر یک از موش‌ها گرفته شد. نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰pm سانتریفوژ شدند. سرم توسط Sampler جداسازی شد و آزمایش رادیوایمنواسی برای اندازه‌گیری تستوسترون انجام گردید. همچنین پس از خونگیری بیضه راست موش‌ها خارج گردید و به‌وسیله محلول بوئن فیکس و نمونه‌های بافتی به ضخامت ۵میکرومتر تهیه شد. پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلن- ائوزین و تولوئیدن بلو مطالعه میکروسکوپی صورت گرفت و تصاویری که توسط دوربین (Canon Power Shut S50) تهیه گردید؛ با استفاده از نرم افزار Image tools 2 مورد ارزیابی قرار گرفتند. در هر یک از گروه‌ها قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، قطر اپی‌تلیوم و مساحت بخش سلولی اپی‌تلیوم در لوله‌های اسپرم‌ساز و قطر مجرای اسپرم‌ساز اندازه‌گیری شد. از هر گروه ۴۰ لوله اسپرم‌ساز تقریباً مدور با بزرگ‌نمایی‌های ۱۰۰ برابر و ۴۰۰ برابر مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. این مقایسه بین هر یک از گروه‌های تجربی با گروه شاهد و نیز بین خود گروه‌های تجربی با یکدیگر از نظر اندازهٔ قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (Tubules) ، قطر مجرا (Lumen) و ضخامت بخش سلولی انجام گرفت. برای همه گروه‌ها، میانگین و انحراف معیار و خطای استاندارد محاسبه گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و نرم‌افزار آماری SPSS-13 تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ درنظرگرفته شد.

یافته‌ها

یافته‌های مورفومتریک

قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های تجربی ۲ و۳ هر کدام در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($P<0/05$)؛ ولی بین اندازه قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های شاهد و تجربی ۱ اختلاف آماری معنی‌داری دیده نشد. همچنین مقایسه این شاخص در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ نسبت به هم اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$).

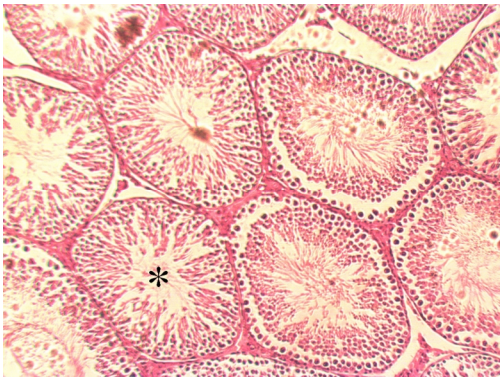
همچنین براساس یافته‌های این مطالعه، اختلاف معنی‌داری در اندازه فضای داخلی لوله‌های اسپرم‌ساز گروه تجربی ۱ با گروه شاهد یافت نشد؛ ولی بین هر یک از گروه‌های تجربی ۲ و ۳ با گروه شاهد و نیز در مقایسه با گروه‌های تجربی ۲ و ۳ با یکدیگر به وسیله آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده گردید (P<۰/۰۵).

ضخامت اپی‌تلیوم لوله اسپرم‌ساز در گروه تجربی ۱ در مقایسه با گروه شاهد از لحاظ عددی کاهش اندکی را نشان داد و آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه اختلاف آماری معنی‌داری بین این دو گروه را نشان نداد. در مقایسه بین گروه‌های تجربی ۲ و ۳ اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده گردید (P<۰/۰۵).

بین گروه‌های تجربی ۲و۳ با گروه تجربی ۱ اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید. بدین معنی که لیزر مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰هرتز به تنهایی و لیزر ترکیبی قرمز و مادون قرمز با فرکانس ۸۰ هرتز سبب تحریک اسپرماتوژنز و افزایش سلول‌های ژرمینال شده؛ ولی ترکیب لیزر قرمز با مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰ هرتز دارای اثرات بازدارنده در تحریکات بیولوژیک داشت (P<۰/۰۵).

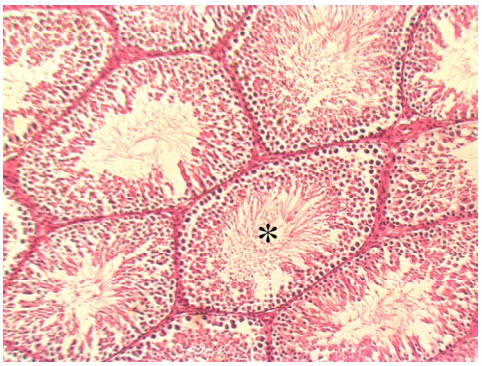
یافته‌های هیستوپاتولوژیک

در بررسی اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه شاهد تعداد سلول‌های لایدیگ طبیعی است و اسپرماتوگونیA و اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید فراوان مشاهده شد و در برخی توبول‌ها احتمالاً به علت به‌سر بردن در فاز استراحت اسپرماتوزوآی کمتری دیده شد و هسته سلول‌های سرتولی نیز قابل تشخیص بود.



تصویر ۱ : نمای فتومیکروسکوپی لوله‌های اسپرم‌ساز گروه تجربی اول ، رنگ‌آمیزی H&E ، بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر

در گروه تجربی ۱ فضاهای بینابینی کم تراکم بوده و سلول‌های لایدیگ کمتری مشاهده شد. هسته‌های مثلثی شکل سرتولی نزدیک به غشاء پایه مشاهده شد و برخی توبول‌ها اسپرماتوزوئید کمتری (کمتر از حد معمول) داشتند (تصویر یک).



تصویر ۲ : نمای فتومیکروسکوپی لوله‌های منی ساز گروه تجربی دوم ، رنگ‌آمیزی H&E ، بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر

افزایش قطر مجرای لوله‌های اسپرم‌ساز نسبت به گروه شاهد چندان محسوس نبود و حتی در مواردی کمتر نیز شده بود. اسپرماتوگونی‌ها و اسپرماتوسیت‌های اولیه و اسپرماتیدها نیز تفاوت چندانی با گروه شاهد نشان ندادند.

در گروه تجربی ۲ در اکثر فضاهای بینابینی سلول‌های لایدیگ قابل مشاهده بود. در داخل برخی توبول‌ها اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید به تعداد فراوان‌تر از گروه شاهد و با تراکم بیشتر قابل مشاهده بود (تصویر ۲).

در گروه تجربی ۳ تعداد سلول‌های لایدیگ در فضای بینابینی کمتر بود. قطر بخش سلولی و تراکم سلول‌های ژرمینال نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر بود.

از نظر میزان هورمون تستوسترون موش‌ها بین گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد.

بحث

این مطالعه نشان داد که استفاده از لیزر کم‌توان طیف مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰هرتز و یا به حالت ترکیبی طیف مادون قرمز با فرکانس ۸۰ هرتز همراه با طیف قرمز در افزایش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و افزایش سلول‌های ژرمینال و اسپرم‌ها مؤثر می‌باشد؛ ولی پس از استفاده از طیف مادون قرمز

۳۰۰هرتز همراه با طیف قرمز اثرات چندان مطلوبی در وضعیت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز مشاهده نشد. بنابراین از دو گروه تجربی فرکانس ۳۰۰ هرتز و فرکانس ۸۰هرتز همراه با طیف قرمز در درمان الیگواسپرمی‌ها می‌توان استفاده مؤثرتری نمود. به دلیل پرتوتابی فقط به یک بیضهٔ موش تفاوت معنی‌داری در میزان تستوسترون خون موش در گروه تجربی مشاهده نگردید. به علت تأثیرات نامشخص اشعه لیزر روی بیضه‌ها، در مورد استفاده از لیزرتراپی در اورلوژی اختلاف نظر وجود دارد. گرچه گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد؛ اشعه لیزر به دلیل اثرات تحریک کیفیت، تحرک اسپرم‌ها را تقویت می‌کند (۱۳).

در مطالعات انجام شده در ارتباط با اثر لیزر هلیوم – نئون با طول موج ۶۳۰نانومتر روی اسپرم‌های موش، مشاهده گردید که افزایش تحرک قابل توجهی در اسپرم‌ها پدید آمده است. مطالعه‌ای نشان داد که پرتو لیزر سبب افزایش سطح کلسیم بین‌سلولی می‌شود و نتیجه آن افزایش پتانسیل لقاح در این سلول‌ها می‌باشد. لیزر احتمالاً بر مکانیسم‌های Ca^{2+} ترانسپورت میتوکندری اثر می‌گذارد (۱۴). همچنین لیزر کم‌توان روی سنتز اسیدنوکلئیک و تمایز سلولی تاثیرگذار می‌باشد (۱۵).

هنگام استفاده از لیزر کم‌توان از نوع پرتو مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰هرتز که یکی از فرکانس‌های متداول درمانی است؛ تغییرات شیمیایی در مولکول گیرنده‌های نوری و اجزاء زنجیره تنفسی مثل سیتوکروم اکسیداز C و NADH دهیدروژناز رخ می‌دهد. به علت تغییر در فعالیت بیوشیمیایی کروموفورها، آزادشدن NO از وضعیت مهاری در مرکز سیتوکروم اکسیداز C، اتواکسیداسیون یک الکترون و تولید O^{2-} ، H^2O^2 و O^2 رخ می‌دهد. آزاد شدن این عوامل پیامدهایی از جمله افزایش غلظت داخل سلولی کلسیم، افزایش PH (قلیایی شدن)، آزاد شدن آراشیدونات و فعال شدن آنتی به‌دنبال دارد‌پورتهای Na^+/H^+ و Ca^{2+}-ATPase به‌دنبال دارد. تحقیقات نشان می‌دهند که میتوکندری‌ها با مکانیسمی که در آن قدرت بازجذب O^{2-} را داشته باشند؛ منبعی برای فسفوریلاسیون اکسیداتیو ADP در شرایط فیزیولوژیک محسوب می‌شوند (۱۳). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که بسیاری از مسیرهای سلولی از طریق وضعیت Redox سلول تنظیم می‌شود. تحریکات خارج سلولی پاسخ‌هایی از جمله تکثیر، تمایز و حتی آپوپتوز را تحت تأثیر قرار می‌دهند. تعدیل وضعیت Redox سلولی از طریق عامل نسخه‌برداری NF-KB و فسفولیپاز A2 سنتز DNA را افزایش می‌دهند. بنابراین لیزر کم‌توان ریتم تقسیمات میتوزی و میوزی را در اسپرماتوژنز سرعت می‌بخشد و در تعداد سلول‌های ژرمینال به‌خصوص اسپرماتوسیت‌های اولیه، افزایش ایجاد می‌نماید (۱۴).

یکی دیگر از انواع لیزرهای کم‌توان مورد استفاده در پزشکی طیف مادون قرمز با فرکانس ۸۰هرتز است که البته اغلب توسط پزشکان به صورت ترکیبی با طیف قرمز استفاده می‌شود (۱۶). از طیف قرمز بیشتر برای درمان در موارد سطحی‌تر استفاده می‌شود؛ در حالی که برای موارد عمقی‌تر از طیف مادون قرمز استفاده می‌گردد (۱۱). هنگامی که این دوطیف به صورت ترکیبی البته با فرکانس پائین مادون قرمز (۸۰ هرتز) استفاده می‌شود؛ اثرات تحریکی بیشتر و مؤثرتری را نشان می‌دهد. دلیل این وضعیت می‌تواند آن باشد که هر کدام از این طیف‌ها اثرات بیولوژیک خاصی را کنترل می‌نمایند. بنابراین استفاده ترکیبی از هر دو نوع طیف اثرات بیولوژیک وسیع‌تری را ایجاد می‌نماید. به‌عنوان مثال پرتوهای لیزر کم‌توان علاوه بر تأثیر بر فسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری‌ها و افزایش تولید ATP میکروسیرکولاسیون (گردش خون میکروسکوپی) را افزایش می‌دهند.

لیزر با آزادسازی مواد شیمیایی مانند هیستامین سبب انبساط عروقی می‌شود که همراه با افزایش فسفوریلاسیون اکسیداتیو سلول‌ها سبب افزایش متابولیسم سلولی می‌گردد (۱). افزایش میکروسیرکولاسیون در بیضه وضعیت متابولیسمی را بهبود می‌بخشد که پس تابش لیزر اثر تحریکی بیولوژیک مهم در اسپرماتوژنز را توجیه می‌کند (۱۷).

تحت تأثیر پرتوهای لیزر کم‌توان تغییراتی در مرحله پاکی تن اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتیدها در درجات مختلف ایجاد می‌شود و در نتیجه طول فاز سیکل سلولی در انواع سلول‌های ژرمینال تغییر می‌نماید (۱۵).

از طرف دیگر پرتو لیزر کم‌توان به‌ویژه با طیف مادون قرمز

(IR) سبب افزایش تولید تستوسترون با اثر روی سلول‌های لایدیگ می‌شود (۴). تستوسترون و FSH برای اتصال اسپرماتید و اجزاء سلولی سرتولی ضروری است. اسپرماتوزوئیدهای در حال نمو توسط پل‌های سیتوپلاسمیک بهم متصل هستند. این شبکه سلولی، به‌طور فیزیکی توسط انشعابات سیتوپلاسمی وسیع سلول‌های سرتولی پشتیبانی می‌گردد. به علت این که اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها از خون توسط سدخونی - بیضه‌ای جدا گشته‌اند؛ این سلول‌های اسپرماتوژنیک برای تبادل مواد غذایی و متابولیت‌ها، به سلول‌های سرتولی وابسته هستند. سدسلول‌های سرتولی، اسپرم‌های در حین رشد را از حمله ایمونولوژیک نیز محافظت می‌نماید و هنگام اسپرمیوژنز سیتوپلاسم اضافی اسپرماتید از آن جدا می‌شود و این قطعات سیتوپلاسمی توسط لیزوزوم‌های سلول‌های سرتولی فاگوسیته و منهدم می‌شوند (۷و۱۸). بنابراین واکنش بین سلول‌های سرتولی و سلول‌های ژرمینال به عوامل پاراکرین، عوامل سیتولوژیک، چرخه وقایع لوله‌های اسپرم‌ساز و طبیعت سدخونی-بیضه‌ای بستگی دارد. هنگام اسپرمیوژنز اتصال اسکلت سلولی سلول‌های سرتولی به اسپرماتیدها ضروری است. هر سرتولی به ۸ اسپرماتید می‌چسبد و ترشح تستوسترون برای این عملکرد ضروری است (۱۹). در صورت استفاده از طیف مادون قرمز لیزر با فرکانس ۸۰ هرتز به صورت ترکیبی با طیف قرمز با توان ۸۰ میلی وات، مجموعه‌ای از اثرات بیولوژیک روی اپی‌تلیوم اسپرم‌ساز پدید می‌آید که آن را از گروه شاهد و گروه تجربی که طیف مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰ هرتز به تنهایی به کار رفته بود؛ متمایز می‌سازد و این تفاوت در تعداد و تراکم اسپرماتوسیت‌ها و اسپرماتوزوئیدها، قطر بخش سلولی اپی‌تلیوم و قطر لوله اسپرم‌ساز مشهود می‌باشد.

در گروه تجربی ۱ که ترکیب طیف قرمز و مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰ هرتز به کار برده شد؛ افزایش قطر لوله و قطر لومن نسبت به گروه شاهد دیده می‌شود؛ ولی قطر بخش سلولی نسبت به قطر بخش سلولی گروه شاهد اندکی کاهش یافت که البته این تفاوت‌ها معنی‌دار نبود. همچنین تعدادی سلول آپوپتوز شده در اپی‌تلیوم این گروه تجربی به چشم می‌خورد. علت این تغییرات را می‌توان این‌گونه تفسیر نمود که طیف مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰ هرتز هنگامی که به صورت ترکیبی با طیف قرمز مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ میزان بالاتری از انرژی را به اپی‌تلیوم وارد می‌نماید که از جنبه‌های زیر می‌تواند بررسی شود:

انرژی ایجاد شده به مقدار زیاد بر اتصال سلول‌های لایدیگ و سلول‌های ژرمینال تأثیر داشته و سبب چرخش و لرزش مولکول‌های غشایی سلول‌ها و در نتیجه موجب تخریب سلول‌ها می‌شود. همچنین انرژی زیاد تولید شده اثرات منفی روی سلول‌های لایدیگ و ترشح تستوسترون گذاشته و این تغییرات بر اتصال بین سلول‌های سرتولی و سلول‌های ژرمینال در اسپرماتوژنز تأثیرات منفی گذاشته و از حداکثر چسبندگی بین اسپرماتیدها و اجزاء سلولی سرتولی جلوگیری می‌نماید (۱۶). علاوه بر این مشخص شده است که افزایش دمای بیضه‌ها سبب آشفتگی در اسپرماتوژنز می‌شود (۶).

البته در این تحقیق دمای بیضه ثبت نشده بود؛ ولی محققین اشاره کرده‌اند که پرتو لیزر مادون قرمز توسط مایع بیضه‌ای (Testicular Water) جذب شده و حرارت موضعی تولید نمی‌شود (۱۴).

در گروه تجربی ۱ که فرکانس ۳۰۰ هرتز مادون قرمز همراه پرتو قرمز استفاده گردید؛ احتمالاً متابولیسم سلولی به مقدار زیادی افزایش یافته و حرارت حاصل از افزایش بیش از حد متابولیسم مکانیسم آپوپتوزیس را در برخی سلول‌ها فعال کرده است.

مسیر آپوپتوزیس شامل آزاد شدن سیتوکروم C به داخل سیتوزول است که در آنجا به پروتئاز آپوپتیک عامل فعال شونده ۱ (Apaf-1) متصل می‌شود و به دنبال آن پروتئین‌های Caspase شماره‌های ۹ و۳ و۶ و۷ به ترتیب (به صورت واکنش‌های آبشاری) فعال می‌شوند که سه پروتئین آخر (Caspase 3,6,7) آنزیم‌های پروتئولیتیک هستند. همچنین پروتئین Bcl-2 نقش مهمی در مسیر آپوپتوتیک وابسته به میتوکندری دارد (۷).

برای آپوپتوزیس وابسته به میتوکندری ترانسلوکاسیون سیتوزولی سیتوکروم C ضروری است و ضمن این آزادسازی مرگ برنامه‌ریزی سلول‌های ژرمینال انجام می‌شود. چون

پروتئین‌های Caspase را فعال می‌کند (۲۰).

پروتئین‌های خانوادهٔ Bcl-2 اعضایی دارند که یکی از آنها در ارتباط با آپوپتوزیس، پروتئین Bax می‌باشد و از سیتوزول به میتوکندری در ابتدای مراحل آپوپتوزیس انتقال می‌یابد. الحاق Bax به غشاء میتوکندری نقش مهمی در آزادسازی سیتوکروم C از فضای بین غشایی میتوکندری به سیتوزول را دارد که به دنبال آن پروتئین‌های Caspase فعال می‌شوند (۱۳).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که استفاده از لیزر کم‌توان طیف مادون قرمز با فرکانس ۳۰۰هرتز و یا به حالت ترکیبی طیف مادون قرمز با فرکانس ۸۰ هرتز همراه با طیف قرمز در افزایش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و افزایش سلول‌های ژرمینال و اسپرم‌ها مؤثر می‌باشد؛ ولی پس از استفاده از طیف مادون قرمز ۳۰۰هرتز همراه با طیف قرمز اثرات چندان مطلوبی در وضعیت اپی‌تلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز مشاهده نشد. بنابراین از دو گروه تجربی فرکانس ۳۰۰ هرتز و فرکانس ۸۰ هرتز همراه با طیف قرمز در درمان الیگواسپرمی‌ها استفاده مؤثرتری می‌توان نمود.

همچنین تغییرات مورفولوژیک لوله‌های اسپرم‌ساز ارتباط مستقیم با دانسیته انرژی لیزر داشته و تابش لیزر با دوز مناسب باعث القای اثر تحریکی بر روند اسپرماتوژنز می‌گردد. لازم به ذکر است که در این تحقیق میزان توان و دوز پرتو لیزر ثابت در نظر گرفته شد و فقط اثر تغییر فرکانس بررسی گردید.

با توجه به کاربرد لیزرهای کم‌توان در درمان بسیاری از اختلالات و بیماری‌ها به خصوص در درمان الیگواسپرمی و آزواسپرمی، بهتر است که فرکانس‌ها و دوزهای دیگر پرتوهای لیزر نیز بررسی شوند تا بهترین حالت انتخاب گردد. زیرا تغییرات مورفولوژیک ومورفومتریک لوله‌های اسپرم‌ساز ارتباط مستقیمی با دانسیته انرژی لیزر دارد. این نتایج می‌تواند زمینه بررسی‌ها و مطالعات جامع‌تر و آزمایش روی انسان برای حل مشکل ناباروری در مردان گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه آقای محمد دیهیمی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد بیولوژی بود. بدین‌وسیله از همه همکاران و اساتید بزرگوار که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند؛کمال سپاس را داریم.

References

1. Tunér J, Hode L. Laser therapy, clinical practice and scientific background. Sweden: Prima Books. 2002; pp:1-110.

2. Taha MF, Valojerdi MR. Quantitative and qualitative changes of the seminiferous epithelium induced by Ga. Al. As. (830 nm) laser radiation. Lasers Surg Med. 2004;34(4):352-9.

3. Nel-Themaat L, Vadakkan TJ, Wang Y, Dickinson ME, Akiyama H, Behringer RR. Morphometric analysis of testis cord formation in Sox9-EGFP mice. Dev Dyn. 2009 May; 238(5):1100-10.

4. Singh SK, Chakravarty S. Antispermatogenic and antifertility effects of 20,25-diazacholesterol dihydrochloride in mice. Reprod Toxicol. 2003 Jan-Feb;17(1):37-44.

5. Tanaka N, Takeuchi T, Neri QV, Sills ES, Palermo GD. Laser-assisted blastocyst dissection and subsequent cultivation of embryonic stem cells in a serum/cell free culture system: applications and preliminary results in a murine model. J Transl Med. 2006 May 8;4:20.

6. Wang Y, Song W, Li S, Guan X, Miao S, Zong S, et al. GC-1 mRHBDD1 knockdown spermatogonia cells lose their spermatogenic capacity in mouse seminiferous tubules. BMC Cell Biol. 2009 Apr 10;10:25.

7. Hikim AP, Lue Y, Yamamoto CM, Vera Y, Rodriguez S, Yen PH, Soeng K, Wang C, Swerdloff RS. Key apoptotic pathways for heat-induced programmed germ cell death in the testis. Endocrinology. 2003 Jul;144(7):3167-75.

8. Sharma PK, Rehwani H, Rai AK, Gupta RS, Singh YP. Antispermatogenic activity of the benzothiazoline ligand and corresponding organoantimony(v) derivative in male albino rats. Bioinorg Chem Appl. 2006: 16895. doi: 10.1155/BCA/2006/16895.

9. Shinohara T, Orwig KE, Avarbock MR, Brinster RL. Spermatogonial stem cell enrichment by multiparameter selection of mouse testis cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2000 Jul 18; 97(15):8346-51.

10. Raji Y, Akinsomisoye OS, Salman TM. Antispermatogenic activity of Morinda lucida extract in male rats. Asian J Androl. 2005 Dec;7(4):405-10.

11. Matthäus C, Bird B, Miljković M, Chernenko T, Romeo M, Diem M. Chapter 10: Infrared and Raman microscopy in cell biology. Methods Cell Biol. 2008;89:275-308.

12. Keshri G, Bajpai M, Lakshmi V, Setty BS, Gupta G. Role of energy metabolism in the pregnancy interceptive action of Ferula assafoetida and Melia azedarach extracts in rat. Contraception. 2004 Nov;70(5):429-32.

13. Giuliani A, Lorenzini L, Gallamini M, Massella A, Giardino L, Calzà L. Low infra red laser light irradiation on cultured neural cells: effects on mitochondria and cell viability after oxidative stress. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2009;

9:8.doi: 10.1186/1472-6882-9-8.

14. Cohen N, Lubart R, Rubinstein S, Breitbart H. Light irradiation of mouse spermatozoa: stimulation of in vitro fertilization and calcium signals. Photochem Photobiol. 1998 Sep;68(3):407-13.

15. Jørgensen A, Nielsen JE, Morthorst JE, Bjerregaard P, Leffers H. Laser capture microdissection of gonads from juvenile zebrafish. Reprod Biol Endocrinol. 2009; 7: 97.

16. Terashima Y, Kitagawa M , Takeda O Sago H, Onda T, Nomuro K. Clinical application of LLLT in the field of obstetrics and gynecology. In :Oshiro T, Calderhead RG, editors. Progress in laser therapy. 2nd. New York: Chichester. 1991;pp:191-6.

17. Morimoto H, Kanatsu-Shinohara M, Takashima S, Chuma Sh, Nakatsuji N, Takehashi M, et al. Phenotypic Plasticity of Mouse Spermatogonial Stem Cells. PLoS One. 2009 Nov;4(11):e7909.

18. Johnson L, Neaves WB, Barnard JJ, Keillor GE, Brown SW, Yanagimachi R. A comparative morphological study of human germ cells in vitro or in situ within seminiferous tubules. Biology of reproduction. 1999; 61(4):927-34.

19. Muffly KE, Nazian SJ, Cameron DF. Junction-related Sertoli cell cytoskeleton in testosterone-treated hypophysectomized rats. Biology of Reproduction. 1993 Nov;49(5):1122-32.

20. Ocaña-Quero JM, Gomez-Villamandos R, Moreno-Millan M, Santisteban-Valenzuela JM. Biological effects of helium-neon (He-Ne) laser irradiation on acrosome reaction in bull sperm cells. J Photochem Photobiol B. 1997 Oct;40(3):294-8.