بررسی گلیکوکانجوگیت‌های اپی‌تلیوم مجاری آوران موش با استفاده از روش لکتین هیستوشیمی

دکتر فرزانه زمان سلطانی[1]*، دکتر علیرضا محمودیان[2]، دکتر محمد آهی[3]

۱- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
۲- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۳- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت۸۴/۱۲/۹، تاریخ پذیرش۸۵/۴/۲۱

چکیده

مقدمه: در مورد ماهیت و ترکیب ترشحات مجاری آوران اطلاعات کمی در دست است. از آنجائی که اهمیت گلیکوکانجوگیت‌ها در تولید و تکامل اسپرم‌ها در مطالعات فراوانی مورد تأیید قرار گرفته است، این بررسی با هدف شناسائی گلیکوکانجوگیت‌های موجود در اپی‌تلیوم مجاری آوران و تعیین الگوی توزیع آنها با روش لکتین هیستوشیمی انجام شد.

روش کار: در این مطلعه توصیفی، نمونه بافت از ۳۰ موش نر بالغ BALB /c تهیه و پس از فیکساسیون و طی مراحل معمول آزمایشگاهی، از بلوک‌های پارافینی به دست آمده مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر آماده شد. لام‌ها با روش لکتین هیستوشیمی تحت تأثیر لکتین‌های مختلف قرار گرفتند. با استفاده از میکروسکپ نوری، شدت واکنش‌ها در سلول‌های مختلف و براساس مطالعات قبلی ارزیابی و رتبه‌بندی شد. یافته‌ها توسط آزمون آماری کراسکال- والیس و دان با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج: میانگین شدت واکنش به لکتین‌های مختلف در اپی‌تلیوم مجاری آوران با یکدیگر تفاوت معنی‌دار آماری(۰/۰۵ >p) نشان داد. شدیدترین واکنش‌ها به لکتین WGA مشاهده شد و پس از آن به ترتیب در لکتین‌های SBA ، VVAو PNA مشاهده گردید. در مورد لکتین GSA-I واکنشی مشاهده نشد.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که سلول‌های اپی‌تلیوم مجرای آوران موش در ساخت و ترشح گلیکوکانجوگیت‌های مرتبط با بلوغ و تکامل اسپرمی دخالت داشته و انواع مختلفی از این ترکیبات را در مقادیر متفاوتی می‌سازند. قندهای اسید سیالیک، دی ساکارید گالاکتوز- ان استیل گالاکتوز آمین و منوساکارید ان استیل گالاکتوز آمین به ترتیب فراوان‌ترین این ترکیبات بودند. عدم ردیابی گالاکتوز می‌تواند نشان دهنده عدم نقش آن در فرآیند بلوغ اسپرمی باشد.

واژگان کلیدی: مجاری آوران، لکتین هیستوشیمی، گلیکوگانجوگیت‌ها، موش

***نویسنده مسئول:** قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی کد پستی۵۹۸۱۱-۳٤۱۹۷ نمابر ۰۲۸۱-۳۳۲٤۹۷۰

E-mail: zamansoltani@gmail.com

مقدمه

مجاری آوران مجموعه‌ای از لوله‌های کوچک هستند که بیضه و اپیدیدیم را به هم مرتبط می‌سازند. اپی‌تلیوم پوشاننده این مجاری استوانه‌ای ساده است و عمدتاً از دو نوع سلول مژه دار و بدون مژه تشکیل شده است(۱).

اعمال متعددی به این اپی‌تلیوم نسبت داده شده است از جمله حرکت و انتقال اسپرم و مایعات از بیضه به سمت اپیدیدیم و جذب مایع تولید شده در بیضه(۱). در ارتباط با این عمل مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که ۹۴ درصد از IgG و ۹۶ درصد از مایعی که شبکه بیضه‌ای را ترک می‌کند در این مجاری باز جذب می شوند(۲). بی‌کربنات نیز تا حدود ۹۶درصد در این مجاری بازجذب می‌شود و در نتیجه باعث کاهش pH و بی کربنات در اپیدیدیم می‌شود که در زمان ذخیره شدن اسپرم‌ها در اپیدیدیم مورد نیاز است(۳). ساخت و متابولیسم استروئیدها نیز به این اپی‌تلیوم نسبت داده شده است(۱). در انسان، سلول‌های اپی‌تلیوم این مجاری آروماتاز تولید می‌کنند که خود پیشنهاد کننده تولید موضعی استروژن توسط این سلول‌ها است. این عمل از طریق تبدیل آندروژن به استروژن رخ می‌دهد(۴). ترشح مواد، عمل دیگر پیشنهاد شده برای این اپی‌تلیوم است. وجود مواد PAS [1] مثبت در نواحی رأسی سلول‌ها، می‌تواند دلیلی بر ترشح گلیکوکانجوگیت‌ها توسط این سلول‌ها باشد. نقش گلیکوکانجوگیت‌ها، آمینواسیدها و آنزیم‌های ترشح شده؛ پوشش اسپرم، جذب یون‌ها و تعادل اسید- باز عنوان شده است(۱).

گلیکوکانجوگیت‌ها در تمایز سلولی بسیاری از سیستم‌های بیولوژیک دخالت دارند و در سایر اعمال نظیر پینوسیتوز و تکثیر نیز احتمالاً نقش دارند(۵). گلیکوکانجوگیت‌های سطح سلول عوامل تعدیل کننده‌ای هستندکه از دسترسی لیگاندها به گیرنده‌های غشاء جلوگیری می‌کنند و خود نیز می‌توانند به عنوان گیرنده های ویژه عمل کنند(۶). نقش حیاتی این ترکیبات در فرآیند اسپرماتوژنز، بلوغ اسپرم‌ها در اپیدیدیم، محافظت اسپرم‌ها و لقاح، در مطالعات فراوانی مورد تایید قرار گرفته است.

یکی از روش‌های بسیار سودمند که برای ارزیابی و ردیابی گلیکوکانجوگیت‌ها با قندهای انتهای خاص، مورد استفاده قرار می‌گیرد، لکتین هیستوشیمی است. لکتین‌ها آنزیم یا آنتی بادی نیستند، سلول‌ها را آگلوتینه می‌کنند و باعث ته نشین شدن پلی‌ساکاریدها یا گلیکوکانجوگیت‌ها می‌شوند(۷). لکتین‌ها تمایلات متفاوتی برای اتصال به کربوهیدرات‌های ویژه و اختصاصی داشته و ابزاری سودمند برای بررسی سطح سلول، پی‌گیری تمایز و تغییر شکل سلولی می‌باشند(۸).

درخصوص گلیکوکانجوگیت‌های مجاری آوران موش به جز مطالعه بارکت و همکاران بررسی دیگری صورت نگرفته است. بخش اعظم این مطالعه نیز به بافت اپیدیدیم اختصاص دارد و فقط در مورد سلول‌های مژه دار این مجاری به اختصار مطالبی ذکر شده است. در این بررسی که با استفاده از لکتین‌های DBA,OFA,UEA,LTA,ConA, PSA انجام شده است، مژه‌ها و سطح رأسی سلول‌های مژه‌دار به لکتین‌های اختصاصی برای اسید سیالیک و ان استیل گالاکتوز آمین واکنش نشان داده‌اند(۹).

با توجه به مطالب بیان شده این بررسی با هدف شناسائی گلیکوکانجوگیت‌ها و تعیین الگوی توزیع آنها در اپی‌تلیوم مجاری آوران با استفاده از روش لکتین هیستوشیمی انجام شد.

1- Periodic Acid Schiff.

روش کار

این مطالعه یک بررسی توصیفی است که بر روی ۳۰ سر موش مذکر بالغ از نژاد BALB/c تهیه شده از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی مشهد، در سن ۲ تا ۴ ماهگی و با وزن بین ۲۵ تا ۳۰ گرم انجام شد. تمامی حیوانات در شرایط استاندارد از نظر درجه حرارت (۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد)، رطوبت (۵±۵۰ درصد)، ۱۲ ساعت روشنائی و تاریکی متناوب و دسترسی آزاد به آب و غذا نگه داری شدند. تحت شرایط بیهوشی، مجوعه بیضه‌ها، مجاری آوران و اپیدیدیم خارج و به مدت ۴۸ ساعت در فیکساتیوB4G قرار گرفتند. B4G شامل شش در صد کلرید مرکوریک، یک درصد گلوتارالدئید و یک درصد استات سدیم می‌باشد(۱۰، ۱۱). سپس مراحل آماده سازی معمولی یعنی آب گیری در الکل‌های صعودی، شفاف سازی در گزیلل، آغشته سازی و قالب‌گیری با پارافین را طی کرده و از بلوک‌های پارافینی به دست آمده با روش سریال سکشن برش‌های ۵ میکرونی تهیه شد(۱۲). با استفاده از میکروسکپ نوری و یک رنگ آمیزی معمولی هماتوکسیلین و ائوزین، لام‌های حاوی مقاطع مجاری آوران شناسائی شدند و ۷-۶ لام حاوی این مقاطع جهت انجام لکتین هیستوشیمی انتخاب شدند.

مقاطع به منظور برداشتن کامل املاح مرکوریک موجود در فیکساتیوB4G به مدت ده دقیقه در محلول الکل و ید (نیم درصد ید در الکل ۷۰ درجه) قرارگرفتند. سپس به منظور خنثی کردن پراکسیدازهای با منشاء داخلی، به مدت ۴۵ دقیقه در محلول یک درصد آب اکسیژنه در اتانول ۷۰ درجه و در شرایط تاریکی قرار داده شدند(۱۳). پس از شستشو به مدت نیم ساعت در محلول بافر فسفات سالین قرار گرفتند. بر روی هر لام ۳ قطره از لکتین‌های ذکر شده در جدول ۱ ریخته شد، به نحوی که کلیه قسمت‌های بافت به طور کامل توسط محلول لکتین در بر گرفته شود. کلیه لکتین‌ها به صورت رقیق شده و به نسبت ۱۰ میکروگرم در یک میلی لیتر بافر فسفات استفاده شدند(۱۰ ،۱۱). لکتین‌ها به صورت کونژوگه با HRP [1] و از شرکت Sigma Aldrich خریداری شده بودند. پس از گذشت ۲ ساعت، کلیه لام‌ها با بافر فسفات سالین شسته و به مدت ده دقیقه در مجاورتDAB [2] با غلظت سه صدم گرم درصد سی سی بافر فسفات که به آن ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه افزوده شده، قرار گرفتند. از آنجائی که اتصال لکیتن به قند انتهائی قابل مشاهده نیست، ازDAB استفاده می‌شود. اتصال این ترکیب با HRP در مجاورتH_2O_2 به صورت رنگ قهوه‌ای ظاهر می‌شود. از آنجائی که HRP نیز به لکتین متصل است، به طور غیر مستقیم محل قندها مشخص می‌گردد. سپس کلیه لام‌ها به مدت پنج دقیقه در محلول آلسین بلو با pH ۲/۵ (یک گرم آلسین بلو در ۹۷ سی سی آب مقطر و ۳ سی سی اسید استیک گلاسیال) به منظور ایجاد رنگ زمینه قرار گرفتند(۱۱،۱۰).

لام‌های تهیه شده با استفاده از میکروسکپ نوری چند نفره و حداقل توسط دو نفر از همکاران به طور هم زمان بررسی شدند. واکنش به لکتین‌ها به صورت رنگ قهوه‌ای با شدت و ضعف‌های مختلف ظاهر می‌شود. رتبه‌بندی شدت واکنش یا همان شدت رنگ بر اساس مطالعات آریا (۱۶،۱۵) انجام شد. در این مطالعات که بر روی بافت‌های بیضه و اپیدیدیم صورت گرفته است، کلیه واکنش‌ها بر اساس مشاهده و نظر محقق رتبه بندی می‌شد، به این ترتیب که در صورت عدم مشاهده رنگ قهوه‌ای در یک ساختمان یا سلول

1- Horse radish peroxidase.
2- Diaminobenzidine.

برای آن رتبه صفر در نظر گرفته می‌شد. رتبه ۱ برای رنگ قهوه‌ای کم رنگ یا واکنش ضعیف، رتبه ۲ برای رنگ قهوه‌ای متوسط یا واکنش متوسط و رتبه ۳ برای رنگ قهوه‌ای پررنگ یا واکنش شدید در نظر گرفته شد. میانگین واکنش سلول‌های مختلف به هر لکتین محاسبه گردید. سپس میانگین‌های به دست آمده با استفاده از آزمون آماری کراسکال – والیس مورد مقایسه قرار گرفتند. هم‌چنین برای مشخص کردن این که تفاوت بین کدام‌یک از دو گروه وجود دارد، آزمون دان انجام شد. کلیه نکات اخلاقی مربوط به کار با حیوانات، مصوب دانشگاه علوم پزشکی مشهد در این پژوهش رعایت گردید.

جدول ۱. لکتین های مختلف بکار برده شده در مطالعه (۱۴)

کربوهیدارت اختصاصی	مخفف	لکتین
α-D-Gal	GSA-I	Griffonia Simplicifolia Agglutinin -I
D-Gal- (β1-3)-D-GalNAc	PNA	Arachis Hypogaea (Peanut) Agglutinin
GalNAc	VVA	Vicia Villosa Agglutinin
α ,β-D-GalNAc	SBA	Glycin Max (Soybean) Agglutinin
Sialic Acid	WGA	Wheat Germ Agglutinin

GalNAc=N-Acetylgalactosamine Gal= Galactose

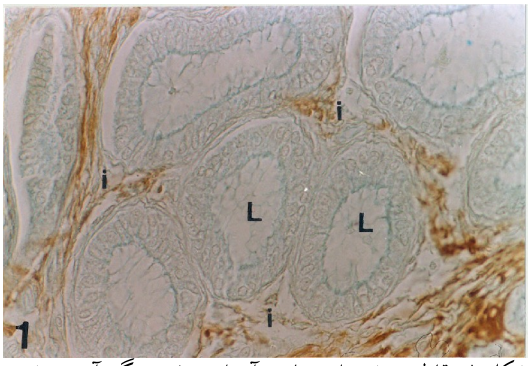
نتایج

نتایج بررسی نشان داد که هر لکتین به نحوی متفاوت در اپی‌تلیوم واکنش ایجاد می‌کند. در بررسی لام‌ها نسبت به لکتین GSA-I واکنشی مشاهده نشد درحالی که همین لکتین در بافت بینابینی واکنش قابل ملاحظه‌ای ایجاد کرده بود (شکل ۱). بیشترین واکنش‌ها نسبت به لکتین WGA (شکل ۵) و پس از آن به ترتیب به لکتین‌های VVA ، SBA و PNA ایجاد شده بود (شکل‌های ۲ تا ۴).

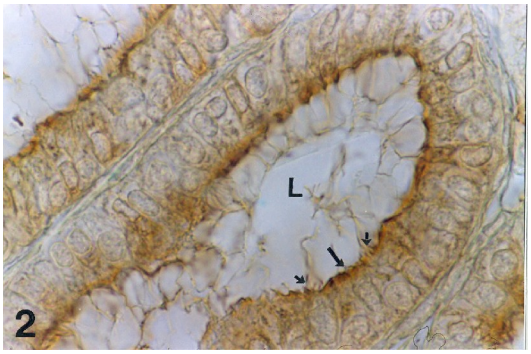
لکتین‌های مختلف، واکنش‌هایی با شدت و ضعف متفاوت در اپی‌تلیوم ایجاد کرده بودند که مقایسه میانگین شدت واکنش‌ها به لکتین‌های مختلف این تفاوت معنی‌دار آماری را نشان داد($p<۰/۰۰۰۱$) (جدول ۲). هم‌چنین مشخص شد که به جز در مورد واکنش به لکتین‌های VVA و SBA که با یکدیگر تفاوتی نداشتند، لکتین‌های دیگر هر کدام به نحو متفاوتی در اپی‌تلیوم واکنش ایجاد کرده بودند ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲. مقایسه میانگین شدت واکنش سلول‌ها و سطح لومینال اپی‌تلیوم به لکتین‌های مختلف

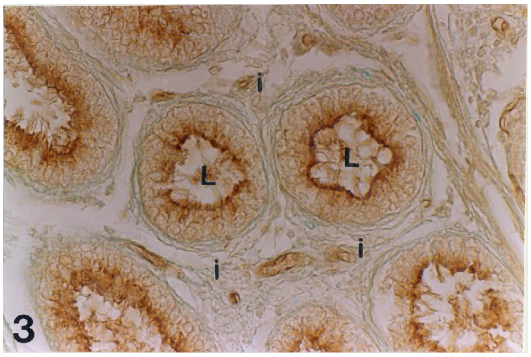
لکتین‌ها	اپی‌تلیوم مجرای آوران		
	سلول مژه‌دار	سلول بدون مژه	سطح لومینال
GSA-I	۰/۲۶±۰/۰۸	۰/۲۳±۰/۰۷	۰/۳±۰/۰۸
PNA	۱/۳۳±۰/۰۷	۱/۲±۰/۰۷	۲/۱۳±۰/۰۶
VVA	۲/۱۳±۰/۰۶	۲/۲±۰/۰۷	۲/۹۳±۰/۰۴
SBA	۲/۰۶±۰/۰۴	۲/۱±۰/۰۵	۲/۹۳±۰/۰۴
WGA	۲/۹۳±۰/۰۴	۲/۹±۰/۰۵	۳/۰۰±۰/۰۰



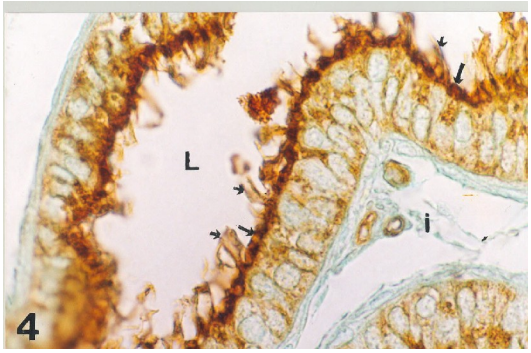
شکل ۱. مقاطع عرضی از مجاری آوران موش، رنگ آمیزی شده با آلسین بلو و GSA-I، ۴۰۰×. واکنشی در اپی‌تلیوم این مجاری مشاهده نمی‌شود درحالی که بافت بینابینی واکنش‌های قابل ملاحظه‌ای به این لکتین ایجاد کرده است. L: لومن مجرای آوران، I: بافت بینابینی.



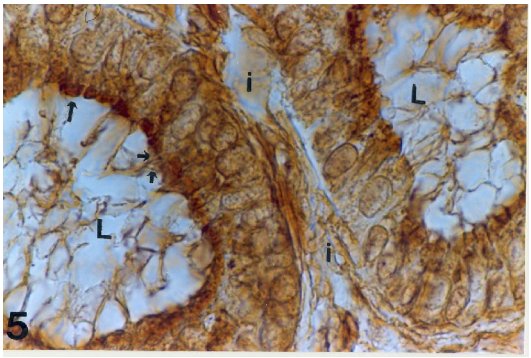
شکل ۲. مقطع مجرای آوران موش، رنگ آمیزی شده با آلسین بلو و PNA، ۱۰۰۰× . واکنش های خفیفی در هر دو نوع سلول اپی‌تلیوم و واکنش قوی تری در سطح لومینال مشاهده می‌شود. فلش بلند: سلول بدون مژه، فلش کوتاه: سلول مژه دار، L: لومن مجرای آوران.



شکل ۳. مقاطع عرضی از مجاری آوران موش، رنگ آمیزی شده با آلسین بلو و VVA ، ۴۰۰× . واکنش‌های خیلی قوی در سطوح لومینال و واکنش‌های متوسطی نیز در سلول‌ها مشاهده می‌شود. L: لومن مجرای آوران، I: بافت بینابینی.



شکل ۴. مقطع مجرای آوران موش، رنگ آمیزی شده با آلسین بلو و SBA، ۱۰۰۰× . الگویی مشابه با VVA در واکنش به این لکتین مشاهده می‌شود. فلش بلند: سلول بدون مژه، فلش کوتاه: سلول مژه دار، L: لومن مجرای آوران، I: بافت بینابینی.



شکل ۵. مقطع مجرای آوران موش، رنگ آمیزی شده با آلسین بلو و WGA، ۱۰۰۰× . واکنش‌ها در مقایسه با سایر لکتین‌ها به طور کلی شدید تر است، به ویژه در نواحی رأسی و سطح لومینال سلول‌ها. فلش بلند: سلول بدون مژه، فلش کوتاه: سلول مژه دار، L: لومن مجرای آوران، I: بافت بینابینی.

بحث

عدم واکنش سلول‌های مجرای آوران به لکتین GSA-I که به طور اختصاصی به قند گالاکتوز متصل می‌شود، نشان دهنده عدم وجود این قند انتهائی در این اپی‌تلیوم می‌باشد(شکل ۱) که می‌تواند بیان‌گر عدم شرکت این سلول‌ها در تولید و ترشح گلیکوکانجوگیت‌های دارای این قند انتهائی باشد.

واکنش‌های ضعیف سلول‌ها به PNA که برای دی ساکارید گالاکتوز- ان استیل گالاتوزآمین اختصاصی است نیز نشان دهنده وجود مقادیر بسیار اندکی از این دی ساکارید انتهائی در این سلول‌ها است. در حالی که در سطح لومینال و مژه‌ها، واکنش‌های قوی به این لکتین مشاهده می‌شود(شکل ۲). از آنجائی که یکی‌ازنقش‌های مطرح شده برای گلیکوکانجوگیت‌های دخالت در کنش‌های سلولی است(۶)، می‌توان این دیدگاه را مطرح ساخت که این واکنش قوی در مژه‌ها و سطح لومینال می‌تواند بیان‌گر نقش این دی ساکارید در کنش‌های سلولی به ویژه میان اسپرم‌ها و سلول‌های اپی‌تلیوم باشد. واکنش خفیف سلولی نیز می‌تواند نشان

دهنده این مطلب باشد که این سلول‌ها در فرآیند ساخت فعال و ترشح ترکیبات حاوی این دی ساکارید انتهائی نقشی ندارند و مقدار اندکی نیز که ساخته می‌شود احتمالاً به مصرف خود سلول می‌رسد.

در مورد لکتین‌هایVVAو SBA واکنش‌های متوسط مشاهده شده در سلول‌ها و واکنش‌های شدید سطح لومینال و مژه‌ها(شکل‌های ۳ و ۴) به ترتیب می‌تواند امکان دخالت این سلول‌ها در ساخت و ترشح گلیکوکانجوگیت‌های حاوی قند انتهایی ان استیل گالاکتوزآمین و هم‌چنین نقش این قند در کنش های سلولی را مطرح سازد.

موارد ذکر شده فوق، در ارتباط با لکتین WGA که به طور اختصاصی به قند انتهایی اسید سیالیک متصل می‌شود، با توجه به واکنش‌های شدیدتری که ایجاد نموده است، با احتمال قوی‌تری می‌تواند عنوان شود (شکل ۵).

در کلیه موارد، پاسخ به یک لکتین خاص در دو نوع مختلف سلول‌های اپی‌تلیوم، یعنی سلول‌های بدون مژه و مژه‌دار به نحو یکسانی مشاهد شد (شکل‌های ۱ تا ۵) و تفاوتی میان این دو نوع سلول در الگو و یا شدت واکنش به یک لکتین خاص دیده نشد. از این مشاهدات می‌تواند چنین استنباط کرد که احتمالاً در ارتباط با ساخت و ترشح گلیکوکانجوگیت‌ها بین این دو نوع سلول تفاوتی وجود ندارد.

با توجه به تفاوت‌های معنی‌دار آماری در شدت و ضعف میانگین‌های واکنش‌ها، می‌توان چنین نتیجه گرفت که قند اسید سیالیک به میزان فراوانی در این اپی‌تلیوم وجود دارد و پس از آن قند ان استیل گالاکتوزآمین و بالاخره دی ساکارید گالاکتوز- ان استیل گالاکتوزآمین در رتبه آخر قرار می‌گیرد.

در ارتباط با نقش اسید سیالیک دو مورد می‌تواند مطرح شود: نخست، این که اسید سیالیک در ترکیب گلیکوکانجوگیت‌ها به عنوان یک گیرنده برای لیگاندهائی که در پدیده تمایز و تقسیم سلولی مورد نیاز هستند، نقش دارد و از طرفی اسید سیالیک به علت داشتن بار الکتریکی منفی منجر به ایجاد شارژ منفی در سطح سلول می‌گردد(۷) که این شارژ منفی نیز ممکن است در نحوه فعالیت فیزیولوژیک غشاء تأثیر گذار باشد. دومین نقش احتمالی اسیدسیالیک نقش پوشانندگی آن است. اتصال اسید سیالیک باعث پنهان شدن قندهای انتهائی می‌شود که در زمان خاصی از تکامل به فعالیت آنها نیازی نیست و یا فعالیت آنها به عنوان یک گیرنده باید مهار شود(۷). با توجه به این مطلب مقدار فراوان اسید سیالیک در مجاری آوران می‌تواند در ارتباط با جلوگیری از رسیدن لیگاندهایی باشد که در صورت اتصال به گیرنده‌های غشاء اسپرم، می‌توانند منجر به اختلال در فرآیند تکامل و بلوغ اسپرمی شوند. مطالعات صورت گرفته بر روی اسپرم‌هائی که تحت تأثیر سیالیداز قرار گرفته‌اند، نشان داده است که از میزان لقاح توسط این سلول‌ها در مقایسه با انواع طبیعی به میزان چشم‌گیری کاسته می‌شود. علت این کاهش را ظاهر شدن گیرنده‌های سطحی غشاء اسپرم دانسته‌اند که به صورت آنتی ژنیک عمل کرده و با عث می‌شود تا تعداد زیادی از اسپرم‌ها در حین عبور از دستگاه تناسلی مؤنث توقیف شده، از بین بروند و در نتیجه با کاهش میزان اسپرم‌ها از میزان لقاح نیز کاسته می‌شود(۱۷). با توجه به این مطالب می‌توان چنین نتیجه گرفت که فرآیند تکامل و بلوغ اسپرمی قبل از ورود اسپرم‌ها به اپیدیدیم آغاز شده و محدود به اپیدیدیم نمی‌باشد و سلول‌های اپی‌تلیوم

مجاری آوران نیز در ساخت و ترشح ترکیبات مرتبط با بلوغ اسپرمی همانند سلول‌های اپیدیدیم دخالت دارند.

در بررسی انجام شده توسط پاریلو و همکارانش که با استفاده از لکتین‌ها بر روی اپی‌تلیوم مجاری آوران اسب‌های بالغ و نابالغ صورت گرفته است، حضور قندهای انتهایی اسید سیالیک، ان استیل گالاکتوز آمین و گالاکتوز در سیتوپلاسم و سطوح راسی سلول‌ها در حیوانات بالغ مشاهده شده است در حالی که در حیوانات نابالغ واکنش‌ها محدود به سطوح راسی سلول‌ها بوده‌اند(۱۸). این تفاوت‌ها نشان می‌دهند که ظهور این قندها تحت کنترل هورمونی است. این ساخت تنظیم شده و تحت کنترل هورمونی نیز خود دلیلی بر نقش قندها در فرآیند بلوغ و تکامل اسپرمی است.

چنانچه ملاحظه می‌شود نتایج بررسی ما در مورد عدم وجود قند گالاکتوز در این اپی‌تلیوم با بررسی فوق الذکر که وجود آن را نشان می‌دهد، متفاوت است. در ارتباط با گلیکوکانجوگیت‌ها و لکتین هیستوشیمی بافت‌های بیضه و اپیدیدیم مطالعات زیادی در حیوانات مختلف انجام شده است. به ویژه در بررسی بالست و همکارانش انواع مختلف حیوانات با یکدیگر مقایسه شده‌اند و پاسخ‌ها و نتایج متفاوتی به دست آمده‌اند. آنها در پایان نتیجه گرفته‌اند که نوع و میزان گلیکوکانجوگیت‌های مختلف در حیوانات مختلف، متفاوت بوده و وابسته به نوع حیوان و به طور اختصاصی است(۱۹). لذا اختلاف مشاهده شده در بررسی ما و پاریلو می‌تواند در نتیجه اختلاف نوع حیوان مورد بررسی باشد.

با توجه به مطالب ذکر شده، به منظور بررسی اثر تغییرات سنی بر روی این گلیکوکانجوکیت‌ها، پیشنهاد می‌شود، این مطالعه بر روی حیواناتی در سنین مختلف تکرار شود. هم‌چنین می‌توان با انجام این مطالعه در حیوانات مختلف، تفاوت‌ها و یا تشابهات مرتبط با نوع حیوان را مشخص نمود.

نتیجه گیری

در انتها با توجه به مطالب فوق می‌توان نتیجه گرفت که سلول‌های اپی‌تلیوم مجرای آوران موش در ساخت و ترشح گلیکوکانجوگیت‌های مرتبط با بلوغ و تکامل اسپرمی دخالت داشته و انواع مختلفی از این ترکیبات را در مقادیر متفاوتی می‌سازد.

منابع

1. Ilio KY, Hess RA. Structure and function of the ductuli efferentes: A review. Microsc Res Tech 1994; 29(6): 432-67.
2. Knee RA, Hickey DK, Beagley KW, Jones RC. Transport of IgG across the blood-luminal barrier of the male reproductive tract of the rat and the effect of estradiol administration on reabsorbtion og fluid and IgG by the epididymal ducts. Biol Reprod 2005; 73(4): 688-94.
3. Newcomb N, Clulow J, Man SY, Jones RC. PH and bicarbonate in the ductuli efferentes testis of the rat. Int J Androl 2000; 23(1): 46-50.
4. Carpino A, Romeo F, Rago V. Aromatase immunolocalization in human ductuli efferentes and proximal ductus epididymis. J Anat 2004; 204(3): 217-20.
5.Clarke FM, Keyes BS. Identification of spermatogenic cell plasma membrane glycoproteins by two dimensional electrophoresis and lectin blotting. J Cell Sci 1984; 65:233 -48.
6. Akama TO, Nakagawa H, Sugihara K, Narisawa S, Ohyama C, Nishimura SI, Obrien, et al. Germ cell survival through carbohydrate mediated with sertoli. Science 2002; 295(5552): 124-7.
7. Montreuil J, Vliegenthart JFG, Schachter H. Glycoproteins II. 1st ed. Amsterdam: Elsevier Science; 1997.p.357-403.

8. Soderstrom KO, Malmi R, Karjalainen K. Binding of fluorescein isothiocyanate conjugated lectins to rat spermatogenic cells in tissue sections. Histochemistry 1984; 80(6): 575-9.
9. Burkett BN, Schulte BA, Spicer SS. Histochemical evaluation of glycoconjugates in the male reproductive tract with lectin-horseradish peroxidase conjugates. Am J Anat 1987; 178(1): 11-22
10. Ganji FC, Fazel AR. Lectin-binding pattern in the microenvironment of the mouse developing T-cell. Ir Biomed J 2003; 7(1): 19-22.
11. Fazel AR, Thompson RP, Sumida H, Schulte BA. Histochmistry of the embryonic heart: Expression of terminal and penultimate galactose residues in developing rats and chicks. Am J Anat 1989; 184(1): 85-94.
12. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2002. p.86-8
13. Gotz W, Qondumatteo F. Glycoconjugate distribution in early human notochord and axial mesenchyme. Acta Histochem 2001;103(1): 21-35.
14. Saez FJ, Aparicio R, Alonzo E, Hernandez F. Glycan residues of N- and O-linked oligosaccarides in the premeiotic spermatogenic cells and of the urodele amphibian PleurodelesWaltl characterized by means of lectin histochemistry. Tissue Cell 2000; 32(4): 302-11.
15. Arya M, Vanha-Perttula T. Distribution of lectin binding in rat testis and epididymis. Andrologia 1984; 16(6): 495-508.
16. Arya M, Vanha- Perttula T. Lectin- binding pattern of bull testis and epididymis. J Androl 1985; 6(4): 230-42.
17. Lassalle B, Testart J. Human zona pellucida recognition associated with removal of sialic acid from human sperm surface. J Reprod Fertil 1994; 101(3): 703-11.
18. Parillo F, Stradaioli G, Supplizi AV, Monaci M. Lectin-staining pattern in extratesticular rete testis and ductuli efferentes of prepubertal and adult horses. Histol Histopathol 1998; 13(2): 307-14.
19. Ballesta J, Martinez-menarguez JA, Pastor LM, Avils M, Madrid JF, Castells MT. Lectin binding pattern in the testes of several tetrapode vertebrates. Eur Basic Appl Histochem 1991; 35(2): 107-17.

Assessment of mouse ductuli efferentes Glycoconjugates by means of Lectin histochemistry

Zaman Soltani F[4], Mahmoudian AR[5], Ahi M[6]

Abstract

Introduction: There is little information about essence and combination of ductuli efferentes secretions. Glycoconjugates importance in sperm production and maturation has been confirmed in previous studies; therefore this study is done in order to recognitize Glycoconjugates in ductuli efferentes epithelium and determination of their distribution pattern by means of lectin histochemistry.

Materials and Methods: In this descriptive study tissue species were obtained from 30 adult male BALB/c mice. After fixation and routine laboratory processes, 5 μm sections were prepared from paraffin blocks. These slides were exposed to different lectins by means of lectin histochemistry. Reaction intensity in different cells was investigated by light microscope and graded according to the previous related studies. Then results were compared with each other by Kruskal-Wallis and Dunn statistical tests.

***Results*:** The mean of reaction intensity in ductuli efferentes epithelium in reply to different lectins, showed significant statistical difference ($p<0.005$). The most intense reaction was seen in response to WGA (Wheat Germ Agglutinin) lectin and after that to SBA (Soybean Agglutinin), VVA (Vicia Villosa Agglutinin) and PNA (Peanut Agglutinin) respectively. But the staining was negative with GSA-I (Griffonia Simplicifolia Agglutinin-I) lectin.

Conclusion: Results indicate that the cells of ductuli efferentes epithelium in mouse are involved in synthesis and secretion of sperm maturation related glycoconjugates and produce a variety of these components in various amounts. There is a large amount of components, containing terminal sugars such as Sialic acid,Galactose-N-Acetylgalactosamine and N-Acetylgalactosamine in ductuli efferentes cells. The lack of Galactose in this epithelium shows that, it hasn't a role in sperm maturation.

Key words: Ductuli efferentes, Lectin histochemistry, Glycoconjugates, mouse.

4 - Assistant professor, Qazvin University of medical science.
5 - Assistant professor, Mashhad University of medical science.
6 - Assistant professor, Ilam University of medical science.