

## Testicular stereological and histological changes in an experimental murine model of visceral leishmaniasis

Yarahmadi E<sup>1</sup>, Shalizar- Jalali A<sup>2</sup>, Jalallou N<sup>3</sup>, Shaddel M<sup>4</sup>

1. Doctor of Veterinary Medicine (DVM), Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Aja University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0001-7861-8458

2. Associate Professor of Histology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University. Urmia, Iran.

3. Assistant Professor of Parasitology, Department of Medical Laboratory Science, Faculty of Paramedicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4. Associate Professor of Parasitology, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Aja University of Medical Sciences, Tehran, Iran (Corresponding author), Tel: +982143822906, Email: min\_shad@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0002 7820-3866

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Visceral leishmaniasis, a native disease in developing countries, can cause functional impairment in various organs, including the reproductive system, which can lead to infertility. The aim of this study was to evaluate the stereological, morphometric and morphological changes of testicular histoarchitecture in an experimental murine model of visceral leishmaniasis in BALB/c mice.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 20 adult male BALB/c mice were randomly divided into two equal groups including control and experimental (infected with visceral leishmaniasis) groups. In the experimental group, infection was induced by intraperitoneal injection of 0.2 ml of a solution containing  $12 \times 10^6$  promastigotes of *Leishmania infantum* in the stationary phase. 6 weeks after the start of the study, all the mice were euthanized after induction of anesthesia, then the spleens and testicles of the animals were removed immediately under sterile condition and examined for signs of infection and histological changes.

**Results:** The experimental group showed significant reductions in the diameter, germinal epithelium height, cross-sectional area, quality, maturation and number of seminiferous tubules as well as obvious testicular morphological changes including severe hypocellularity and spermatogenic cell maturation arrest in comparison to the control group.

**Conclusion:** The results indicated that visceral leishmaniasis in BALB/c mice may lead to testicular histological injuries because of incitement of inflammatory reactions, microcirculatory disruption, and involvement of the hematopoietic system.

**Keywords:** Histology, Mouse, Testis, Visceral leishmaniasis

Received: May 11, 2019

Accepted: August 17, 2019

**How to cite the article:** Yarahmadi E, Shalizar- Jalali A, Jalallou N, Shaddel M. Testicular stereological and histological changes in an experimental murine model of visceral leishmaniasis. SJKU 2019;24(4):86-94.

## ارزیابی تغییرات استریولوژیک و بافت‌شناسی بیضه در مدل تجربی لیشمانیازیس احشایی در موش‌های BALB/c

عرفان یاراحمدی<sup>۱</sup>، علی شالیزار جلالی<sup>۲</sup>، ناهید جلال لو<sup>۳</sup>، مینو شاددل<sup>۴</sup>

۱. دکترای عمومی دامپزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران. شناسه ارکید: ۸۴۵۸-۷۸۶۱-۰۰۰۱-۰۰۰۰-۰۰۰۰
۲. دانشیار بافت شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۳. استادیار انگل شناسی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران.
۴. دانشیار انگل شناسی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران (مؤلف مسئول)، تلفن ثابت: ۰۲۱۴۳۸۲۲۹۰۶، پست الکترونیک: min\_shad@yahoo.com، شناسه ارکید: ۳۸۶۶-۷۸۲۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰-۰۰۰۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** بیماری لیشمانیوز احشایی به عنوان بیماری بومی کشورهای در حال توسعه، به واسطه ایجاد اختلال عملکردی در ارگان‌های مختلف، از جمله دستگاه تولیدمثلی می‌تواند موجبات ناباروری را فراهم آورد. اهداف مطالعه حاضر ارزیابی تغییرات استریولوژیک، مورفومتریک و مورفولوژیک ساختار بافتی بیضه در مدل تجربی لیشمانیاز احشایی در موش‌های BALB/c بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۲۰ موش نر بالغ BALB/c به صورت تصادفی به دو گروه مساوی شامل شاهد (فاقد تیمار) و تجربی (آلوده به لیشمانیاز احشایی) تقسیم شدند. در گروه تجربی به واسطه تزریق داخل صفاقی ۰/۲ میلی لیتر محلول حاوی ۱۰<sup>۶</sup> × ۱۲ پروماستیگوت لیشمانیا /ینفانتوم در مرحله ایستایی، القاء آلودگی صورت گرفت. کلیه موش‌ها پس از گذشت ۶ هفته از شروع مطالعه متعاقب بیهوشی، آسان کشی و پس از کالبدگشایی، طحال و بیضه‌ها با رعایت اصول استریل به سرعت برداشته شدند و به ترتیب جهت تایید آلودگی انگلی و مطالعات بافت‌شناسی مورد استفاده قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** گروه تجربی کاهش معنی داری در قطر، ارتفاع اپی تلیوم زایا، سطح مقطع عرضی، کیفیت، بلوغ و تعداد مقاطع لوله‌های اسپرم‌ساز به همراه تغییرات ریخت‌شناسی بارز در بافت بیضه مانند کاهش مشهود جمعیت و توقف بلوغ سلول‌های اسپرماتوژنیک در مقایسه با گروه شاهد نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که لیشمانیاز احشایی در موش‌های BALB/c ممکن است به واسطه برانگیختن واکنش‌های آماسی، اختلال در روند خون‌رسانی عروق خونی کوچک و درگیری بخش‌های خون‌ساز بدن، سبب جراحات بافتی بیضه گردد.

**کلیدواژه‌ها:** بافت‌شناسی، موش، بیضه، لیشمانیازیس احشایی

وصول مقاله: ۹۸/۲/۲۱ اصلاحیه نهایی: ۹۸/۵/۱۶ پذیرش: ۹۸/۵/۲۶

## مقدمه

لیشمانیاز احشایی به عنوان یکی از مهمترین بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان حدوداً در ۶۶ کشور جهان شیوع دارد و میزان بروز سالیانه آن در جهان ۵۰۰۰۰ نفر تخمین زده شده است (۳-۱). بررسی‌های اخیر نیز آشکار ساخته است که به دلیل تغییرات اکولوژیک و توسعه شهری موارد بروز بیماری روندی افزایشی را در پیش گرفته است (۴). عامل اصلی بیماری در حوزه وسیع مدیترانه از جمله ایران لیشمانیا / *ینفانتوم* می‌باشد و عدم درمان در انسان و سگ که مهمترین مخزن بیماری محسوب می‌شود با مرگ همراه است (۵). در ایران لیشمانیاز احشایی انسانی به صورت انفرادی در تمام نقاط کشور دیده می‌شود اما مناطق شمال غرب (استان‌های اردبیل و آذربایجان شرقی) و جنوب کشور (استان‌های فارس و بوشهر) کانون‌های بیماری محسوب می‌گردند (۶). از سوی دیگر، با توجه به گزارشات اخیر مبنی بر افزایش بروز بیماری در مناطق غیربومی در نتیجه تغییرات محیطی ناشی از شرایط جنگی (۷)، اهمیت بیماری در یگان‌های نظامی و ضرورت پیشگیری از آن بیش از پیش مدنظر قرار گرفته است (۸).

در همین راستا، مطالعات پیشین نشان داده است که لیشمانیاز تجربی در هامستر با آروسپرمی شدید (۹) و در موش با اختلالات اسپرماتوزئیک همراه است (۱۰). همچنین، گزارش شده است که آلودگی طبیعی در سگ می‌تواند آسیب بافت بیضه را در پی داشته باشد (۱۱).

بر این اساس، این مطالعه جهت ارزیابی تغییرات استریولوژیک، مورفومتریک و مورفولوژیک ساختار بافتی بیضه در مدل تجربی لیشمانیاز احشایی در موش طرح‌ریزی گردید.

## روش بررسی

## آماده سازی حیوان

برای انجام این مطالعه تجربی (موردی-شاهدی)، ۲۰ موش نر بالغ BALB/c، ۳ تا ۴ هفته و با وزن متوسط ۲۰ گرم، از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه

تحقیقات انستیتو رازی کرج خریداری تهیه گردید. حیوانات تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $50 \pm 10$ ٪ نگهداری شدند. تمام حیوانات در شرایط تغذیه ای یکسان با ذرت، گندم، جو و پلت به نسبت‌های برابر تغذیه شدند و امکان دسترسی آزاد به آب نیز برای تمامی آن‌ها وجود داشت. تمامی موارد اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی در جریان انجام این مطالعه نیز بر اساس دستورالعمل‌های مصوب کمیته اخلاق (۹۹۷۹۰۲) دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران صورت پذیرفت.

## کشت انگل

سویه استاندارد لیشمانیا / *ینفانتوم* از انستیتو پاستور تهران تهیه و پس از کشت و پاساژهای متوالی آماده تزریق به موش‌ها شد. به منظور کشت انگل، محیط RPMI 1640 به صورت آماده خریداری گردید و جهت جلوگیری از رشد باکتری-ها،  $100 \text{ Unit/mL}$  پنی‌سیلین و  $100 \mu\text{g/mL}$  استرپتومایسین و به عنوان ماده مکمل سرم جنین گوساله  $10$ ٪ به محیط اضافه شد. سپس فلاسک‌ها به انکوباتور  $24$  درجه سانتیگراد منتقل و هر روز با میکروسکوپ معکوس بررسی شدند. در صورت زرد شدن رنگ محیط و ورود پروماستیگوت‌ها به مرحله ایستا، محیط کشت جدید اضافه می‌گردید. این کار تا زمانی ادامه می‌یافت که تعداد انگل-ها به میزان مورد نیاز برسد. برای شمارش تعداد انگل‌ها نیز از لام نئوبار استفاده شد و تعداد انگل‌ها به شیوه زیر محاسبه گردید. میانگین تعداد انگل در ۴ خانه شمارش گلبول‌های سفید لام نئوبار  $10^4 \times$  فاکتور رقت = تعداد انگل در هر میلی‌لیتر

## گروه‌بندی حیوانات

متعاقب یک هفته سازگاری با شرایط محیط، حیوانات به صورت تصادفی به دو گروه مساوی ۱۰ تایی تقسیم شدند: گروه اول (تجربی)، جهت القاء لیشمانیاز احشایی در گروه لیشمانیاز احشایی تجربی،  $0.2$  میلی‌لیتر محلول حاوی  $10^6 \times$

واحد سطح بیضه،  $D$ ، میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و  $T$ ، ضخامت برش می‌باشد (۱۲). به منظور مطالعه اسپرماتوژنز از روش جانسن استفاده شد (۱۳). برای این منظور از مقطع عرضی ۱۰۰ لوله اسپرم‌ساز در هر حیوان استفاده شد و به هر لوله نمرات یک تا ۱۰ تعلق گرفت. همچنین، درصد لوله‌های اسپرم-ساز با بلوغ بالا (نمرات ۹ و ۱۰) نیز مورد محاسبه قرار گرفت (۱۴).

### روش آماری

نتایج بر اساس میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شدند و با توجه به کمی و پیوسته بودن داده‌ها، تعداد گروه‌های مستقل مورد ارزیابی و نیز متعاقب اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها، نتایج این مطالعه با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۸ مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند. جهت مقایسه بین گروه‌ها آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست‌های مقایسه‌ای چندگانه توکی مورد استفاده قرار گرفت. مقدار  $p < 0.05$  برای تعیین سطح معنی‌داری بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

طبق بررسی آماری نتایج ارزیابی‌های هیستومورفومتریک بیضه، میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و ارتفاع اپی‌تلیوم زایای این لوله‌ها، کاهش معنی‌داری را در گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد نشان داد (جدول ۱). همچنین، گروه تجربی کاهش معنی‌داری را در کیفیت و بلوغ لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه در مقایسه با گروه شاهد نشان داد (جدول ۱).

طبق بررسی‌های استریولوژیک نیز، گروه تجربی کاهش معنی‌داری را در سطح مقطع عرضی لوله‌های اسپرم‌ساز و تعداد مقاطع لوله‌های اسپرم‌ساز در واحد سطح بیضه در مقایسه با گروه شاهد نشان داد، ولی تراکم عددی لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه در بین دو گروه، تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۱).

۱۲ پروماستیگوت لیشمانیا / اینفانتوم در مرحله ایستایی به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. گروه دوم (شاهد)، گروه شاهد بدون تیمار نیز در نظر گرفته شد. شش هفته پس از شروع مطالعه، موش‌ها متعاقب آسان‌کشی به واسطه تجویز دوز کشنده داروی بیهوشی (کتامین - زایلازین) کالبدگشایی شدند و بیضه‌ها و طحال حیوانات، با رعایت اصول استریل به ترتیب جهت مطالعات بافت‌شناسی و تایید آلودگی انگلی برداشته شدند.

### تایید آلودگی انگلی

در پایان دوره مطالعه، جهت اطمینان حاصل کردن از القای آلودگی، طحال موش‌ها با رعایت اصول استریل به سرعت برداشته شد، مایع داخل طحال به محیط 3N منتقل شد، رشد انگل در محیط مذکور، تاییدی بر آلوده بودن نمونه طحال و موفقیت در القای آلودگی در موش‌های گروه تجربی بود. ارزیابی‌های بافت‌شناختی

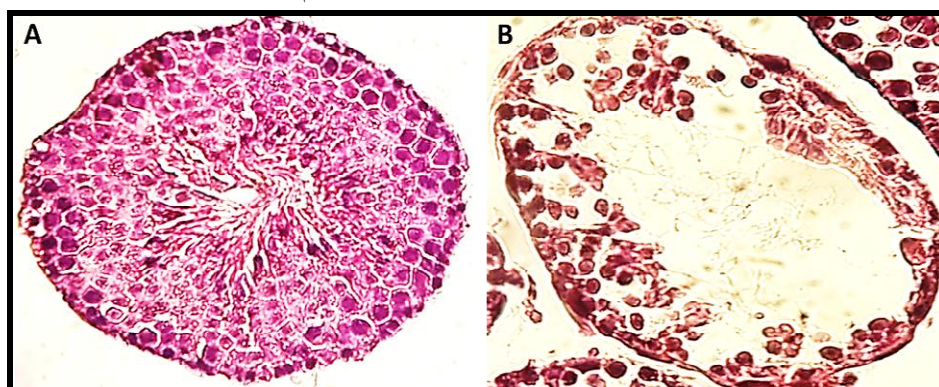
نمونه‌های بافتی بیضه پس از ثبوت در فرمالین بافر خنثی ۱۰٪، به همراه مشخصات درون ظروف مخصوص قرار گرفتند و بعد از طی مراحل پاساژ بافتی با استفاده از پارافین مذاب قالب‌گیری شدند. سپس، با استفاده از دستگاه میکروتوم، برش‌هایی به ضخامت ۶ میکرومتر (۱۲) از قالب-های پارافینی تهیه گردید و در نهایت، روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین جهت رنگ‌آمیزی نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. ارزیابی قطر و ارتفاع اپی‌تلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه در گروه‌های آزمایشی با استفاده از عدسی چشمی مدرج صورت پذیرفت. شمارش تعداد مقاطع لوله‌های اسپرم‌ساز در واحد سطح بیضه نیز با استفاده از عدسی چشمی مشبک انجام گرفت. سطح مقطع عرضی لوله‌های اسپرم‌ساز ( $A_C$ ) با استفاده از فرمول  $A_C = \pi D^2 / 4$  که  $\pi$ ، برابر با ۳/۱۴۲ و  $D$ ، میانگین قطر لوله‌های اسپرم‌ساز می‌باشد، محاسبه گردید و تراکم عددی لوله‌های اسپرم‌ساز ( $N_V$ ) بر اساس معادله  $N_V = N_A / (D + T)$  مشخص گردید که  $N_A$ ، تعداد مقاطع لوله‌های اسپرم‌ساز در

جدول ۱: مقایسه میانگین یافته‌های بافت‌شناسی در گروه‌های آزمایشی

	گروه شاهد	لیشمانیاز احشایی تجربی	P value
STsD ( $\mu\text{m}$ )	$1/29 \pm 157/42$	$0/74 \pm 93/76$	$0/00$
GEH ( $\mu\text{m}$ )	$1/48 \pm 66/24$	$1/49 \pm 32/68$	$0/00$
JS	$0/12 \pm 8/80$	$0/19 \pm 5/22$	$0/00$
MSTs	$1/03 \pm 72/62$	$2/91 \pm 25/58$	$0/00$
N <sub>A</sub>	$0/77 \pm 27/10$	$0/76 \pm 16/88$	$0/00$
N <sub>V</sub>	$0/32 \pm 17/39$	$0/51 \pm 16/82$	$0/18$
A <sub>C</sub>	$0/37 \pm 19/99$	$0/10 \pm 6/89$	$0/00$

هیپوسولولاریته، از هم گسیختگی اپی تلیوم زایا و توقف بلوغ همراه با تجمع سلول‌های اسپرماتوژنیک در حفره میانی لوله-های اسپرم‌ساز در گروه تجربی نشان داد (شکل B-۱). در گروه شاهد، لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه اسپرماتوژنز فعالی را نشان داد که این امر با آرایش سازمان یافته سلول‌های اسپرماتوژنیک در مراحل مختلف بلوغ در اپی تلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه همراه بود (شکل A-۱).

STsD: قطر لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه؛ GEH: ارتفاع اپی تلیوم زایای لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه؛ JS: شاخص جانسن؛ MSTs: لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه بالغ؛ N<sub>A</sub>: تعداد مقاطع لوله‌های اسپرم‌ساز در واحد سطح بیضه؛ N<sub>V</sub>: تراکم عددی لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه؛ A<sub>C</sub>: سطح مقطع عرضی لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه ارزیابی‌های ریخت‌شناسی بافت بیضه، تغییرات دژنراتیو چشمگیری را در بافت بیضه موش نظیر



شکل ۱: برش عرضی از لوله اسپرم‌ساز بیضه: در گروه شاهد (A)، لوله اسپرم‌ساز بیضه موش واجد نمای بافت‌شناختی طبیعی می‌باشد و اسپرماتوژنز فعالی را نشان می‌دهد. القاء لیشمانیاز احشایی تجربی (B)، توقف بلوغ و ریزش سلول‌های اسپرماتوژنیک به داخل حفره میانی لوله‌های اسپرم‌ساز و از هم گسیختگی اپی تلیوم زایا را در پی داشت. رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (درشت نمایی ۱۰۰۰ برابر)

## بحث

لیشمانیازیس با اهمیت بهداشتی جهانی، یکی از بیماریهای مشترک بین انسان و حیوان می باشد که به سه شکل جلدی (سالک)، احشایی (کالازار) و جلدی مخاطی بروز می کند. عامل لیشمانیازیس احشایی تک یاخته ای از گروه تاژکداران، خانواده تریپانوزماتیده و جنس لیشمانیا (گونه اینفانتوم در ایران) است که به وسیله گزش پشه ناقل از خانواده پسیکودیده، زیرخانواده فلبوتومینه از مخازن حیوانی (سگ) به فرد سالم منتقل می شود و دستگاه رتیکولواندوتلیال در گیر می شود (۱۶، ۱۵)، به گونه ای که به تدریج با انتشار آن در بدن، احشاء و اندام های مختلف را می تواند تحت تاثیر قرار دهد و بسته به محل درگیری علائم آن متفاوت است. از جمله اندام های در گیر می توان به دستگاه تولیدمثلی اشاره داشت و به واسطه اختلال عملکرد دستگاه تولیدمثلی می تواند موجبات ناباروری را فراهم آورد (۱۷). در این راستا، گزارشات پیشین نشان داده است که لیشمانیاز احشایی نیز قادر به ایجاد عوارض نامطلوب تولیدمثلی در انسان و حیوانات می باشد (۲۰-۱۸).

یافته های مطالعه حاضر که در راستای ارزیابی تغییرات استریولوژیک، مورفومتریک و ریخت شناسی ساختار بافتی بیضه در لیشمانیاز احشایی تجربی ناشی از لیشمانیا / اینفانتوم در موش های BALB/c طرح ریزی گردیده بود نشان داد که لیشمانیاز احشایی تجربی تغییرات دژنراتیو قابل ملاحظه ای را در بافت بیضه موش های BALB/c موجب می گردد که این امر به صورت کاهش قابل توجه فراسنجه های استریولوژیک و مورفومتریک به عنوان شاخص های ارزیابی میزان آسیب بافتی نمود پیدا می کند (۲۱). مطالعات صورت گرفته نشان داده است که آلودگی تجربی بالیشمانیا دونووانی در هامستر با آتروفی پیشرفته بافت بیضه و نیز آروسپرمی شدید همراه است (۹) که این گزارش با نتایج حاصل از ارزیابی های بافت شناختی مطالعه حاضر مبنی بر نقش لیشمانیاز احشایی تجربی در بروز اختلالات اسپرماتوژنیک

در موش همخوانی دارد. همچنین، در تایید یافته های مطالعه حاضر، تحقیقات متعدد صورت گرفته نشان داده است که لیشمانیاز ناشی از لیشمانیا / اینفانتوم در سگ با تورم و آسیب بیضه و اپیدیدیم (۱۱) و اختلالات اسپرمی نظیر کاهش میزان تحرک و افزایش نقائص مورفولوژیک (۲۲) همراه است و لیشمانیاز تحت بالینی در سگ، ناباروری و تورم پروستات مزمن را در پی خواهد داشت (۲۳).

مکانیسم دقیق ناباروری و اختلالات تولیدمثلی ناشی از این آلودگی های به روشنی معلوم نیست و نیاز به مطالعه بیشتر دارد. با این وجود، مطالعات پیشین بر نقش ارتشاح سلول های آماسی و افزایش تولید سیتوکین های پیش التهابی نظیر اینترفرون گاما و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا در بروز اختلالات تولیدمثلی متعاقب آلودگی با لیشمانیا تاکید دارند (۲۴، ۲۵). از سوی دیگر، به خوبی مشخص شده است که شکل گیری پاسخ های ایمنی و نفوذ سلول های ایمنی در بافت بیضه، زمینه تغییر نفوذپذیری سد خونی-بیضه ای، تولید آنتی بادی های ضد اسپرم، تغییرات عروقی، افزایش وقوع آپوپتوز در سلول های زایا و بروز تنش اکسیداتیو را فراهم می آورد که با تغییرات مشهود ساختار بافتی بیضه همراه خواهد بود (۲۸-۲۶).

به علاوه، پارازیتی انگل نیز ممکن است به واسطه انسداد عروق خونی پیش و پس مویرگی بافت بیضه، اختلال در خون رسانی و هیپوکسی بافتی را موجب گردد و زمینه ساز آتروفی، تغییرات دژنراتیو و مرگ سلول های زایای بافت بیضه گردد (۲۹) و از طرفی، با توجه به این که در آلودگی به لیشمانیا احشایی، درگیری دستگاه رتیکولواندوتلیال و تخریب سلول های ماکروفاژ اتفاق می افتد، به تدریج طحال و بافت مغز استخوان بیشترین بافت تحت تاثیر می باشند که بخش خونساز بدن را نیز به عهده دارند و تراکم شدید انگل در این بافت ها رخ می دهد که تخریب بافتی و عوارض مختلف را همراه دارد و اختلالات ناشی از آن، خود به خود سایر اندام ها را نیز متاثر می سازد (۳۰). همچنان که

گزارشات اخیر به نقش آسیب‌های عروقی، اختلال نفوذپذیری عروقی و نقص خون‌رسانی بافتی در پیدایش آسیب‌های بافتی کلیه و کبد در موش‌های صحرایی آلوده شده با *بابریا بایژمینا* (۳۱) و اختلالات ساختاری گلبول‌های قرمز متعاقب آلودگی تجربی با انگل‌های خونی در ایجاد تغییرات ساختاری و عملکردی بافت بیضه اشاره دارد (۳۲).

### نتیجه‌گیری

در این مطالعه، لیشمانیاز احشایی تجربی تخریب‌های مشخص بافتی در موش‌های BALB/c مورد آزمایش را سبب شد که ممکن است، برانگیختن واکنش‌های آماسی و زمینه‌سازی نفوذ سلول‌های ایمنی، تغییرات عروقی، تخریب بافت مغز استخوان و طحال منجر به جراحات بافتی بیضه شده

باشد. با این وجود، ارزیابی تغییرات آپوپتوزی در سلول‌های زایای بیضه و نیز خصوصیات و قابلیت باروری سلول‌های اسپرم در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی متعاقب القاء لیشمانیاز احشایی تجربی در حیوانات آزمایشگاهی می‌تواند به آشکارسازی دقیق مکانیسم اختلالات تولید مثلی ناشی از لیشمانیا احشایی گردد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر خود را از دانشگاه علوم پزشکی آجا (کد: ۹۹۵۷۱۰) و دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه ابراز می‌دارند.

### References

1. Desjeux P. Worldwide increasing risk factors for leishmaniasis. *Med Microbiol Immunol* 2001;190:77-9.
2. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004;27:305-18.
3. Palatnik-de-Sousa CB, Day MJ. One health: the global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. *Parasit Vectors* 2011;4:197.
4. Ashford RW. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J Parasitol* 2000;30:1269-81.
5. Mohebbi M, Hajjarian H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi S, Zarei Z, et al. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. *Vet Parasitol* 2005;129:243-51.
6. Fakhar M, Rahmati B, Gohardehi S, Mohebbi M, Akhoundi B, Sharif M, et al. Molecular and seroepidemiological survey of visceral leishmaniasis among humans and domestic dogs in Mazandaran Province, North of Iran. *Iran J Parasitol* 2011;6:51-9.
7. Weina PJ, Neafie RC, Wortmann G, Polnemus M, Aronson NE. Old world leishmaniasis: an emerging infection among deployed US military and civilian workers. *Clin Infect Dis* 2004;39:1674-80.
8. Claborn D, Masaouka P, Morrow M, Kee PL. Habitat analysis of North American sand flies near veterans returning from leishmania-endemic war zones. *Int J Health Geogr* 2008;7:65.
9. Gonzalez JL, Gallego E, Castaño M, Rueda A. Testicular amyloidosis in hamsters experimentally infected with *Leishmania donovani*. *Br J Exp Pathol* 1983;64:518-23.
10. Sharma M, Kaur S. Histological evaluation of cisplatin-induced gonadotoxicity against murine visceral leishmaniasis. *Glob J Curr Res* 2013;1:27-30.

11. Manna L, Paciello O, Morte RD, Gravino AE. Detection of *Leishmania* parasites in the testis of a dog affected by orchitis: case report. *Parasit Vectors* 2012;5:216.
12. Jalali AS, Hasanzadeh S, Malekinejad H. *Achillea millefolium* inflorescence aqueous extract ameliorates cyclophosphamide-induced toxicity in rat testis: stereological evidences. *Chin J Nat Med* 2012;10: 247-54.
13. Johnsen SG. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970;1:2–25.
14. Ghasemi FM, Faghani M, Khajehjahromi S, Bahadori M, Nasiri E, Hemadi M. Effect of melatonin on proliferative activity and apoptosis in spermatogenic cells in mouse under chemotherapy. *J Reprod Contracept*. 2010;21:79-94.
15. Shaddel M, Sharifi I, Karvar M, Keyhani A, Baziar Z. Cryotherapy of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in BALB/c mice: A comparative experimental study. *J Vector Borne Dis* 2018;55:42–6.
16. Shaddel M, Oormazdi H, Akhlaghi L, Kazemi B, Bandehpour M, Cloning of *Leishmania major* p4 gene YAKHTEH. 2008;10:201-4.
17. Shiadeh MN, Niyayati M, Fallahi S, Rostami A. Human parasitic protozoan infection to infertility: a systematic review. *Parasitol Res* 2016;115:469-77.
18. Cabello I, Caraballo A, MillanY. Leishmaniasis in the genital area. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2002;44:105-7.
19. Blickstein I, Dgani R, Lifschitz-Mercer B. Cutaneous leishmaniasis of the vulva. *Int J Gynaecol Obstet* 1993;42:46-7.
20. Coto ACHH, Aguilar ES. Leishmaniasis in male genital organs. *Med Cut ILA* 1987;15: 145-50.
21. Yurtcu M, Abasiyanik A, Biçer S, Avunduk MC. Efficacy of antioxidant treatment in the prevention of testicular atrophy in experimental testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2009;44: 1754-8.
22. Assis VP, Ribeiro VM, Rachid MA, Castro AC, Valle GR. Dogs with *Leishmania chagasi* infection have semen abnormalities that partially revert during 150 days of allopurinol and amphotericin B therapy. *Anim Reprod Sci* 2010;117:183-6.
23. Mir F, Fontaine E, Reyes-Gomez E, Carlus M, Fontbonne A. Subclinical leishmaniasis associated with infertility and chronic prostatitis in a dog. *J Small Anim Pract* 2012;53:419-22.
24. Diniz SA, Melo MS, Borges AM, Bueno R, Reis BP, Tafuri WL, et al. Genital lesions associated with visceral leishmaniasis and shedding of *Leishmania* sp. in the semen of naturally infected dogs. *Vet Pathol* 2005; 42:650-8.
25. Krishnan L, Guilbert LJ, Wegmann TG, Belosevic M, Mosmann TR. T helper 1 response against *Leishmania major* in pregnant C57BL/6 mice increases implantation failure and fetal resorptions. Correlation with increased IFN-gamma and TNF and reduced IL-10 production by placental cells. *J Immunol* 1996;156:653-62.
26. Guazzone VA, Jacobo P, Theas MS, Lustig L. Cytokines and chemokines in testicular inflammation: a brief review. *Microsc Res Tech* 2009;72:620-8.
27. Lysiak JJ, Nguyen QA, Kirby JL, Turner TT. Ischemia-reperfusion of the murine testis stimulates the expression of proinflammatory cytokines and activation of c-jun N-terminal kinase in a pathway to E-selectin expression. *Biol Reprod* 2003;69:202-10.



28. Hedger MP, Meinhardt A. Cytokines and the immune-testicular axis. *J Reprod Immunol* 2003;58:1-26.
29. Paraguai de Souza E, Esteves Pereira AP, Machado FC, Melo MF, Souto-Padrón T, Palatnik M, et al. Occurrence of *Leishmania donovani* parasitemia in plasma of infected hamsters. *Acta Trop* 2001;80:69-75.
30. Noronha TR, Fock RA. Visceral leishmaniasis: amastigotes in the bone marrow. *Hematol Transfus Cell Ther* 2019;41:99-100.
31. Hamoda AF, Radwan M, Rashed R, Amin A. Toxic effect of babesiosis in cattle and chemotherapeutic treatment in Egypt. *Am J Infect Dis Microbiol* 2014;2:91-6.
32. Shamaei-Tousi A, Collin O, Bergh A, Bergström S. Testicular damage by microcirculatory disruption and colonization of an immune-privileged site during *Borrelia crocidurae* infection. *J Exp Med* 2001;193:995-1004.