مطالعه اثر کوآنزیم کیوتن در پیشگیری از آسیب‌های بافتی بیضه در موش‌های صحرائی دیابتی شده توسط آلوکسان

سید سجاد حجازی[۱]*، رامین جهانگیرفرد[۲]

۱- استادیار گروه علوم پایه، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۲-دستیار گروه علوم تشریحی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: sajjad.hejazi@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۴/۴/۳۰ پذیرش نهایی: ۹۴/۷/۲۷)

Archive of SID

چکیده

کوآنزیم کیوتن یک ویتامین و یا ماده شبه‌ویتامینی محسوب شده و مانند سایر ویتامین‌ها به‌طور طبیعی در منابع غذایی یافت می‌شود. در سال‌های اخیر داروهای مختلفی جهت درمان دیابت مفید شناخته شده‌اند، اما اثر درمانی یا محافظتی تعداد کمی از آنها از لحاظ ریزبینی مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه حاضر، اثر مکمل کوآنزیم کیوتن بر تغییرات ساختار بافت بیضه در موش-های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ٤٠ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ٤ گروه ۱۰تایی تقسیم شدند. گروه اول به‌عنوان شاهد، گروه دوم به‌عنوان کنترل کیوتن (۷۵ mg/kg به مدت یک ماه به‌طور خوراکی)، گروه سوم به‌عنوان دیابتی شده با آلوکسان (۱۲۰ mg/kg تک دوز به‌طور داخل صفاقی) و گروه چهارم به‌عنوان دیابتی تیمار با کیوتن در نظر گرفته شد. وزن بیضه، طول بیضه، ضخامت کپسول بیضه و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز و همچنین میزان تستسترون خون در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری شد. تحلیل آماری داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون‌های تعقیبی مقایسه‌ای چندگانه دانکن انجام پذیرفت. مکمل کیوتن اثر تعدیل‌کننده‌ای بر آسیب بیضه ناشی از دیابت از خود نشان داد به‌طوری‌که، در این گروه ساختار بافتی بیضه نسبتاً طبیعی بود و چروکیدگی لوله‌های منی‌ساز و تخریب سلول‌های رده جنسی در مقایسه با گروه دیابتی بسیار اندک به‌نظر می‌رسید. همچنین، کیوتن توانست از گسترش عروق در فضای زیرکپسول و داخل کپسول بیضه که در گروه‌های دیابتی چشمگیر بود، جلوگیری کند. نتایج نشان داد که استفاده از کوانزیم کیوتن به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، بافت بیضه و سلول-های اسپرماتوژنیک آن را در موش‌های صحرایی از آسیب ناشی از دیابت محافظت می‌کند.

کلید واژه‌ها: آلوکسان، بیضه، کیوتن، موش صحرائی.

www.SID.ir

مقدمه

دیابت نوعی اختلال مزمن در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین است که مشخصه آن افزایش قند خون در بیماران می‌باشد. این بیماری به دلیل عدم جذب سلولی قند خون ناشی از کاهش ترشح انسولین و یا مقاومت سلول های بدن در برابر انسولین ایجاد می‌شود (Defronzo, 1997; Hughs *et al.*, 1984).

مشخصه عمومی دیابت به‌عنوان یک اختلال در سوخت و ساز، بالا بودن قند خون یا هیپرگلیسمی است (Noor *et al.*, 2008). بالا بودن طولانی مدت قند خون با افزایش خطر بیماری‌هایی مانند نوروپاتی و بروز آسیب‌هایی در سیستم قلب و عروق، کلیه ها و چشم همراه است. یکی دیگر از مهم‌ترین مشکلات ناشی از دیابت، بروز اختلال در دستگاه تناسلی می‌باشد (Cunighum, 2002). دیابت می‌تواند با القاء تغییراتی در ساختار لوله‌های اسپرم‌ساز موجب اختلال در روند اسپرماتوژنز شود (Swanson *et al.*,1999). در مطالعات بیان شده است که فقدان فعالیت انسولین در بیماری دیابت اثر مستقیم بر سلول‌های لایدیگ و سرتولی داشته و باعث اختلال در کارکرد بیضه می‌شود (Ricci *et al.*, 2009). با وجود اینکه انسولین و داروهای خوراکی صناعی پایین‌آورنده قند خون مانند بی‌گوانیدها، سولفونیل اوره‌ها، تیازولیدین دیون‌ها و مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز اساس درمان دیابت را تشکیل می‌دهند، لیکن اثرات جانبی مهمی دارند و نمی‌توانند مسیر عوارض دیابت را به‌طور قابل توجهی تغییر دهند (Dey *et al.*, 2002). اوبی‌کینیون یا کوآنزیم کیوتن (Co Q10) در سال ۱۹۵۷ توسط فردکرین کشف شد. کوآنزیم Q10 یک ویتامین و یا ماده شبه‌ویتامین محسوب شده و مانند سایر ویتامین‌ها به‌طور طبیعی در منابع غذایی یافت می‌شود ولی مقدار آن در این منابع غذایی بسیار کمتر است. مطالعات نشان داده است که مقادیر کوآنزیم Q10 با گذشت سن و در بیماران قلبی، دیس‌تروفی‌های عضلانی، بیماری پارکینسون، سرطان، دیابت و نیز ایدز کاهش می‌یابد (Dhanasekaran and Ren, 2005). همچنین نشان داده شده است که کوآنزیم Q10 در شکل احیا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در میتوکندری و غشاهای لیپیدی عمل می‌کند و بدین ترتیب در پاکسازی رادیکال‌های آزاد، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید در غشاهای زیستی و نیز در لیپوپروتئین‌ها با چگالی کم (LDL) نقش دارد. بر همین اساس مکمل کوآنزیم کیوتن می‌تواند در بیماران مبتلا به بیماری قلبی عروقی و دیابتی، استرس اکسیداتیو را کاهش و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش دهد (Dhanasekaran and Ren, 2005). در سال‌های اخیر، داروهای مختلفی جهت درمان دیابت مفید شناخته شده‌اند، اما اثر درمانی یا محافظتی تعداد کمی از آنها مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفته است. در مطالعه حاضر، باتوجه به این‌که تغییرات مورفومتری بیضه در بیماران دیابتی می‌تواند ناشی از افزایش آسیب‌های اکسیداتیو باشد، بنابراین مکمل کوآنزیم کیوتن به‌دلیل ویژگی‌های آنتی اکسیدانی آن انتخاب گردید. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات محافظتی کیوتن بر تغییرات ساختار بافت بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان می باشد.

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و در سال ۱۳۹۳ در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز انجام شد. تعداد ٤٠ سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم از بخش تکثیر و نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور خریداری شد. پس از انتقال موش‌ها به محل نگه‌داری حیوانات در مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، به منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن حیوانات با محیط جدید، هیچ-گونه آزمایشی به مدت یک هفته روی موش‌ها انجام نشد. حیوانات در محیطی با دمای ۲±۲۲ درجه سلسیوس، رطوبت ۳۸ درصد، شدت نور ۳۰۰ لوکس در مرکز اتاق و دوره‌های متوالی ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی نگه‌داری شدند. آب و غذای مناسب (کنسانتره) به اندازه کافی در دسترس حیوانات قرار گرفت. در این مطالعه کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی، مورد تایید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بود. موش‌ها به-طور تصادفی به چهار گروه مساوی شامل: گروه اول به-عنوان شاهد، گروه دوم به‌عنوان گروه کنترل کیوتن، گروه سوم به‌عنوان گروه دیابتی شده با آلوکسان و گروه چهارم به‌عنوان گروه دیابتی‌شده با آلوکسان و تیمار با کیوتن تقسیم شدند.

مدل تجربی القاء دیابت قندی نوع یک دیابت وابسته به انسولین در موش‌های صحرایی با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات (ساخت شرکت سیگما) به‌میزان ۱۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن ایجاد گردید و از سرم فیزیولوژی به عنوان حلال آلوکسان، استفاده شد (Asgary *et al.*, 2008; Ugbenyen and Odetola, 2009). ۷۲ ساعت بعد از تزریق آلوکسان با اندازه‌گیری قند خون ناشتای حیوان با استفاده از دستگاه گلوکومتر بایونیم مدل GM110 (ساخت کشور آلمان) دیابتی بودن موش‌ها مشخص شد (Lazos, 1986). ملاک دیابتی شدن، افزایش میزان گلوکز خون به بالاتر از ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر مد نظر قرار گرفت (Quanhong *et al.*, 2005). موش‌های گروه شاهد، توسط سیترات بافر با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور داخل صفاقی تحت تزریق قرار گرفتند. موش‌های گروه کنترل کیوتن، کوآنزیم کیوتن (شرکت هلس براست، ساخت کشور آمریکا) را با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت یک ماه به‌طور خوراکی از طریق گاواژ دریافت کردند (Nishimura *et al.*, 2010). موش‌های گروه دیابتی نیز تک دوز داروی آلوکسان مونوهیدرات را به‌میزان ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور تزریق داخل صفاقی دریافت نمودند. در گروه دیابتی تیمار با کیوتن، ابتدا موش‌ها توسط آلوکسان مونوهیدرات با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیابتی شدند، سپس کوآنزیم کیوتن را با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت یک ماه به طور خوراکی از طریق گاواژ دریافت کردند.

در پایان دوره تیمار برای اندازه‌گیری هورمون تستسترون، پس از بیهوشی با اتر از هر موش حدود ۳ تا ٤ میلی‌لیتر خون از سینوس پشت کره چشم در لوله‌های آزمایش حاوی فاکتور ضد انعقاد جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع آوری شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس با

Archive of SID
www.SID.ir

استفاده از سمپلر، سرم نمونه‌ها جداسازی شد و تا سنجش هورمونی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد (حاتمی و استخر، ۱۳۹۲) اندازه‌گیری هورمونی بر اساس روش معمول رادیوایمنواسی با استفاده از کیت‌های شرکت کاوشگر انجام شد. در پایان ۳۰ روز موش‌ها به‌روش قطع نخایی گردن (Cervical Dislocation) کشته شدند. بیضه‌ها جداسازی شد و توسط ترازوی دیجیتال مدل wtb ساخت شرکت radwag لهستان، با دقت ۰/۰۱ گرم وزن آنها محاسبه شد. برای اندازه‌گیری طول بیضه از کولیس با دقت ۰/۱ میلی‌متر استفاده شد. نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد بافر قرار گرفتند و بعد از طی مراحل معمول تهیه مقاطع بافتی، با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ-آمیزی شده و زیر میکروسکپ نوری مدل نیکون (Eclipse E200، ساخت کشور ژاپن) مورد بررسی قرار گرفت. پارامترهای کمی نظیر ضخامت کپسول بیضه و ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز توسط عدسی مدرج خطی (با بزرگنمایی ×۴۰) مورد ارزیابی قرار گرفتند (محمدی می‌آبادی و همکاران، ۱۳۹۳).

تحلیل آماری داده‌ها

تمامی پارامترهای کمی در گروه‌های مختلف به صورت میانگین±خطای استاندارد (mean±SEM) ارائه شد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون‌های تعقیبی مقایسه‌ای چندگانه دانکن برای بررسی وجود اختلاف بین گروه‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS-10 صورت گرفت. مقادیر $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مورفومتری

اثر بر وزن بیضه: در موش‌های صحرائی گروه شاهد میانگین وزن بیضه‌ها ۱/۵۳±۰/۰۳۵، در گروه کنترل کیوتن ۱/۵۵±۰/۰۳ گرم، در گروه دیابتی ۱/۱±۰/۰۳۷ گرم و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن ۱/۵۳±۰/۰۸۹ گرم بود. در گروه موش‌های صحرایی دیابتی کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در میانگین وزن بیضه‌ها نسبت به دو گروه کنترل و شاهد وجود داشت. در گروه تیمار ترکیبی داروی کیوتن افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در میانگین وزن بیضه‌ها نسبت به گروه تیمار دیابتی وجود داشت. بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد اختلاف معنی‌داری برآورد نگردید. (جدول ۱)

اثر بر طول بیضه: در موش‌های صحرائی گروه شاهد میانگین طول بیضه ۲۰/٦٦±۰/۳۳ میلی‌متر، در گروه کنترل کیوتن ۲۱/۸±۰/۳۱ میلی‌متر، در گروه دیابتی ۰/۰۸٤ ±۱۷ میلی‌متر و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن ۲۰/۳±۰/٤۷ میلی‌متر بود. در گروه موش‌های صحرایی دیابتی کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در میانگین طول بیضه‌ها نسبت به دوگروه کنترل و شاهد وجود داشت. داروی کیوتن افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در میانگین طول بیضه‌ها نسبت به گروه تیمار وجود داشت. بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

www.SID.ir

جدول ۱- مقایسه مقادیر میانگین± خطای استاندارد پارامترهای کمی وزن و طول بیضه بین گروه‌های مورد مطالعه

متغیرها	گروه شاهد	گروه کنترل کیوتن ۷۵mg/kg	گروه دیابتی با آلوکسان ۱۲۰mg/kg	گروه دیابتی تیمار با کیوتن
وزن بیضه (gr)	۱/۵۳±۰/۰۳۵[a]	۱/۵۵±۰/۰۳[a]	۱/۱±۰/۰۳۷[b]	۱/۵۳±۰/۰۸۹[a]
طول بیضه (mm)	۲۰/۶۶±۰/۳۳[a]	۲۱/۸±۰/۳۱[a]	۱۷±۰/۰۸٤[b]	۲۰/۳±۰/٤۷[a]

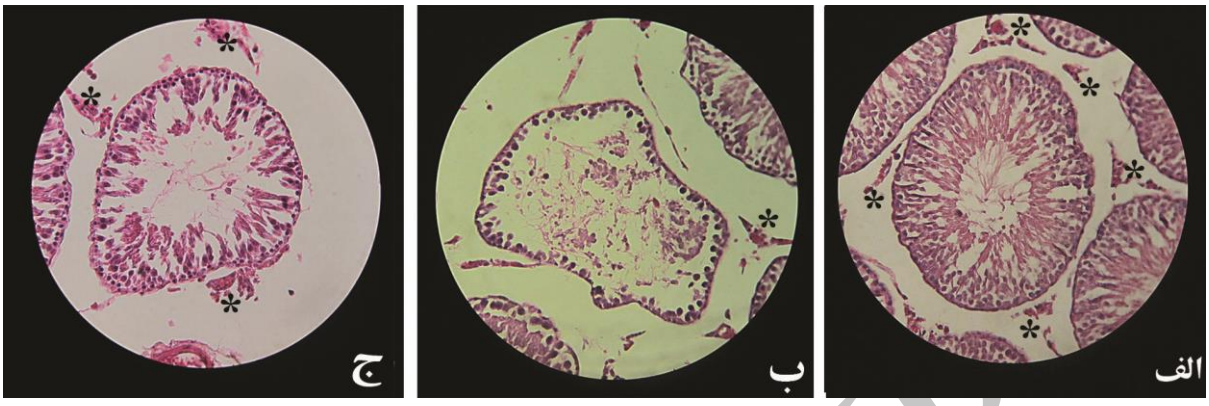
ab: حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ($p<0/05$).

یافته‌های ریزبینی

در گروه‌های شاهد و کنترل کیوتن، ساختار بافتی بیضه، مجاری منی‌ساز و اپی‌تلیوم زایای آن کاملاً منظم و طبیعی دیده شد. در گروه دیابتی ساختار بافتی و سلولی بیضه دچار بی‌نظمی و تغییرات دژنراتیو گسترده شده بود. تغییرات شامل: آتروفی و بی‌نظمی در مجاری منی‌ساز، بی‌نظمی در غشاء پایه مجاری همراه با جداشدگی سلول‌های اسپرماتوگونی بود. ادم در فضای بینابینی بیضه کاملاً مشهود بود. کپسول بیضه (تونیکا آلبوژینا) ظاهری مغایر با گروه‌های شاهد و کنترل کیوتن داشت. کپسول بیضه با افزایشی در تراکم رشته‌های کلاژن و گسترش عروق زیرکپسولی همراه بود. در گروه دیابتی تیمار با کیوتن از میزان گسترش عروق در فضای زیرکپسول بیضه و همچنین از آتروفی و بی‌نظمی مجاری منی‌ساز کاسته شده بود. بطوریکه مجاری منی-ساز ساختاری نسبتاً طبیعی داشته و اپی‌تلیوم زایا نیز تا حدود زیادی سازمان یافتگی و حالت مطبق خود را بازیافته بود. غشاء پایه نیز تقریباً به وضعیت طبیعی خود نزدیک شده بود (شکل‌های ۱ و ۲).

شکل ۱- نمای ریزبینی از مقطع بافت بیضه موش صحرائی. الف) گروه کنترل کیوتن: یکدست بودن ساختار لوله‌های منی‌ساز و وضعیت طبیعی تراکم آنها، ب) گروه دیابتی: بی‌نظمی در قطر و شکل لوله‌های منی ساز، افزایش فضاهای بینابینی(ستاره‌ها) و گسترش عروق در فضای زیر کپسول (پیکان‌ها)، ج) گروه دیابتی تیمار با کیوتن: کاهش در بی‌نظمی قطر و شکل لوله‌های منی ساز، کاهش فضاهای بینابینی و کاهش گسترش عروق در فضای زیر کپسولی در مقایسه با گروه دیابتی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمائی ×۱۰۰).

www.SID.ir
Archive of SID



شکل ۲- نمای ریزبینی از بافت پوششی لوله‌های منی‌ساز بیضه موش صحرائی. الف) گروه کنترل کیوتن: تراکم سلول‌های جنسی در دیواره لوله‌های منی‌ساز با حضور تعداد زیادی سلول لایدیگ در فضای بینابینی(ستاره‌ها)، ب: گروه دیابتی: بی‌نظمی در شکل هندسی لوله منی‌ساز به‌همراه تخریب سلول‌های رده جنسی در دیواره آن و کاهش سلول‌های لایدیگ در فضای بینابینی(ستاره)، ج)گروه دیابتی تیمار با کیوتن: بهبود در ساختار لوله منی‌ساز به‌همراه ترمیم دیواره لوله منی‌ساز و افزایش سلول‌های لایدیگ (ستاره‌ها) در مقایسه با گروه تیمار دیابتی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمائی ×۴۰۰).

اثر بر ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز: در موش‌های صحرائی گروه شاهد میانگین ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز ۰/۹۷±۲۹/۷ میکرومتر، در گروه کنترل کیوتن ۰/۸±۳۱/۹ میکرومتر، در گروه دیابتی ۰/۷۳±۱۶/۵ میکرومتر و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن ۰/۹±۲۱ میکرومتر بود. در گروه موش‌های صحرایی دیابتی کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) در میانگین طول بیضه‌ها نسبت به دو گروه کنترل کیوتن و شاهد وجود داشت. در گروه دیابتی تیمار با کیوتن، کیوتن باعث افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در ضخامت اپیتلیوم لوله منی‌ساز نسبت به گروه دیابتی شد. بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد، اختلاف معنی‌داری برآورد نگردید (جدول ۲).

اثر بر ضخامت کپسول بیضه: در موش‌های صحرائی گروه شاهد میانگین ضخامت کپسول بیضه ۰/۳۶±۸/۴ میکرومتر، در گروه کنترل کیوتن ۰/۳۵±۸/۸ میکرومتر، در گروه دیابتی ۰/۸۱± ۱۶/۴ میکرومتر و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن ۰/۶۵±۱۴/۶ میکرومتر بود. در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) در ضخامت کپسول بیضه موش‌ها نسبت به دو گروه کنترل و شاهد وجود داشت. در گروه دیابتی تیمار با کیوتن، اختلاف معنی‌داری در ضخامت کپسول بیضه نسبت به گروه دیابتی وجود داشت ($p<۰/۰۵$). بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).

www.SID.ir
Archive of SID

جدول ۲- مقایسه مقادیر میانگین± خطای استاندارد پارامترهای کمی ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز و ضخامت کپسول بیضه بین گروه‌های مورد مطالعه

متغیرها	گروه شاهد	گروه کنترل کیوتن ۷۵ mg/kg	گروه دیابتی با آلوکسان ۱۲۰ mg/kg	گروه دیابتی تیمار با کیوتن
اپی‌تلیوم لوله منی ساز (µm)	۲۹/۷±۰/۷۷^{a}	۳۱/٦±۰/۸^{a}	۱٦/۵±۰/۷۳^{c}	۲۱±۰/۸^{b}
کپسول بیضه (µm)	۸/٤±۰/۳٦^{a}	۸/۸±۰/۳۵^{a}	۱٦/٤±۰/۸۱^{c}	۱٤/٦±۰/٦۵^{b}

abc: حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین بین گروه‌ها می‌باشد (p<۰/۰۵).

یافته‌های بیوشیمیایی

اثر بر گلوکز خون: در موش‌های صحرائی گروه شاهد، میانگین گلوکز خون ۹۸±۲/۲٤ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، در گروه کنترل کیوتن ۳/۲۵± ۱۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، در گروه دیابتی ۲۹۳±۵/۳٤ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن ۲۵۵±٤/٤۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. میانگین قند خون موش‌ها در گروه‌های دیابتی و دیابتی تیمار با کیوتن، نسبت به دو گروه شاهد و کنترل کیوتن افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). در گروه دیابتی تیمار با کیوتن، کاهش معنی‌داری در میزان قند خون نسبت به گروه دیابتی برآورد نگردید. بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد، اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۳).

اثر بر تستسترون خون: در موش‌های صحرائی گروه شاهد میانگین تستسترون خون ۰/۸۲±۰/۰۳ نانوگرم بر میلی‌گرم، در گروه کنترل کیوتن ۰/۸۳±۰/۰۵ نانوگرم بر میلی‌گرم، در گروه دیابتی ۰/۵۸±۰/۰٤ نانوگرم بر میلی-گرم و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن ۰/٦٤±۰/۰۵ نانوگرم بر میلی‌گرم بود. در میانگین سطح هورمون تستسترون خون موش‌های گروه دیابتی نسبت به دو گروه شاهد و کنترل کیوتن کاهشی معنی‌دار دیده شد (p<۰/۰۰۱). در گروه دیابتی تیمار با کیوتن، اختلاف معنی‌داری در سطح هورمون تستسترون بیضه نسبت به گروه دیابتی دیده شد (p<۰/۰۵). بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد، اختلاف معنی‌داری برآورد نگردید (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه مقادیر میانگین± خطای استاندارد پارامترهای کمی قند و تستسترون خون بین گروه‌های مورد مطالعه

متغیرها	گروه شاهد	گروه کنترل کیوتن ۷۵ mg/kg	گروه دیابتی با آلوکسان ۱۲۰mg/kg	گروه دیابتی تیمار با کیوتن
قند خون (mg/dl)	۹۸±۲/۲٤^{a}	۱۰۰±۳/۲۵^{a}	۲۹۳±۵/۳٤^{b}	۲۵۵±٤/٤۲^{b}
تستسترون (ng/mg)	۰/۸۲ ±۰/۰۳^{a}	۰/۸۳ ±۰/۰۵^{a}	۰/۵۸±۰/۰٤^{c}	۰/٦٤±۰/۰۵^{b}

abc: حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد (p<۰/۰۵)

Archive of SID
www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

در بررسی حاضر ایجاد دیابت تجربی توسط آلوکسان در موش‌های صحرایی باعث گردید ساختار سلولی و بافتی بیضه دچار بی‌نظمی و تغییرات دژنراتیو گسترده شود. تغییرات شامل آتروفی و بی‌نظمی در مجاری منی-ساز، بی‌نظمی در غشاء پایه مجاری همراه با جداشدگی سلول‌های اسپرماتوگونی بود. گاهی مجاری منی‌ساز فاقد مجرای مرکزی بودند که احتمالاً به دلیل غیرفعال شدن سلول‌های سرتولی بود. ادم در فضاهای بینابینی بیضه کاملاً مشهود بود. کپسول بیضه (تونیکا آلبوژینا) ظاهری مغایر با گروه‌های شاهد و کنترل کیوتن داشت. کپسول بیضه با افزایشی در تراکم رشته‌های کلاژن و گسترش عروق زیرکپسولی همراه بود. در گروه دیابتی تیمار با کیوتن از میزان گسترش عروق در فضای زیرکپسول بیضه و همچنین از شدت آتروفی و بی‌نظمی مجاری منی‌ساز کاسته شده بود به‌طوری‌که، مجاری منی‌ساز ساختاری نسبتاً طبیعی داشته و اپی‌تلیوم زایا نیز تا حدود زیادی سازمان یافتگی و حالت مطبق خود را بازیافته بود. غشاء پایه نیز تقریباً به وضعیت طبیعی خود نزدیک شده بود. ریکی و همکاران در سال ۲۰۰۹ نیز با بررسی تغییرات بافت بیضه و عملکرد آن در دیابت تجربی، مشاهده کردند که دیابت در مدت ۵۰ روز موجب تغییرات ساختاری و عملکردی قابل توجه‌ای در بافت بیضه موش صحرایی می‌شود (Ricci *et al.*, 2009). در مطالعه عرفانی و همکاران در سال ۱۳۹۲ نیز، تغییرات ساختاری بافت بیضه از جمله کاهش قطر لوله‌های اسپرم‌ساز همراه با تخریب سلولی اپی‌تلیوم در مراحل مختلف اسپرماتوژنز، تخریب و تغییر در پراکندگی و موقعیت سلول‌های سرتولی در موش‌های دیابتی گزارش شده است (عرفانی و همکاران، ۱۳۹۲). بورلند و همکاران در سال ۱۹۸٤ ، فوگلیا و همکاران در سال ۱۹٦۹ بیان داشته‌اند که فقدان فعالیت انسولین در بیماری دیابت اثر مستقیم بر سلول‌های لایدیگ و سرتولی داشته و باعث اختلال در کارکرد بیضه می‌شود (Borland and Mita, 1984; Foglia *et al.*, 1969). در مطالعه کامرون و همکاران در سال ۱۹۸۵ اشاره به تغییرات در روند اسپرماتوژنز موش‌های صحرائی دیابتی داشته‌اند (Cameron *et al.*, 1985). کوآنزیم کیوتن در گروه دیابتی تیمار با کیوتن توانست اثر تعدیل‌کننده‌ای بر آسیب بافت بیضه ناشی از دیابت نشان دهد، - به‌طوری‌که در این گروه شاهد بی‌نظمی در ساختار بافتی و چروکیدگی لوله‌های منی‌ساز و تخریب سلول‌های رده جنسی نبودیم. همچنین کیوتن توانست از گسترش عروق در فضای زیر کپسول و داخل کپسول بیضه بکاهد. به‌نظر می‌رسد که کیوتن توانسته است با خواص آنتی اکسیدانی خود از آسیب بافت بیضه ناشی از بیماری دیابت که توسط آلوکسان در این مطالعه ایجاد شده بود، جلوگیری کند. در گزارش داناسکاران و رن در سال ۲۰۰۵ اشاره به این شده است که کیوتن در شکل احیا شده به‌عنوان یک آنتی اکسیدان در میتوکندری و غشاهای لیپیدی عمل می‌کند و بدین ترتیب در پاکسازی رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی در غشاهای زیستی نقش دارد (Dhanasekaran and Ren, 2005).

در مطالعه حاضر، در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری در ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز ایجاد شد که این کاهش با مصرف کیوتن تعدیل شده و به حد طبیعی

Archive of SID

خـود رسـید. عرفـانی و همکـاران در سـال ۱۳۹۲ نیـز ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌سـاز بافـت بیضـه را در گروه دیابتی تیمار بـا آلوئـه‌ورا بیشـتر از گـروه دیـابتی گزارش کـرده‌انـد. ایشـان اثـرات مفیـد آلوئـه‌ورا را بـه خـواص آنتـی اکسـیدانی آن نسـبت دادنـد (عرفـانی و همکاران، ۱۳۹۲). در بررسی حاضـر ضـخامت کپسـول بیضه در گروه دیابتی افزایش معنـی‌داری داشـت کـه بـا تجویز کوآنزیم کیـوتن کـاهش قابـل ملاحظـه‌ای در آن ایجاد شد. عرفانی و همکاران در سـال ۱۳۹۲، افـزایش ضخامت کپسول بیضه را در گروه دیابتی گزارش کرده-اند که این یافته با نتایج بررسی حاضـر همخـوانی دارد. در مطالعه حاضر قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه دیـابتی کاهش معنـی‌داری داشـت هاسـن و همکـاران در سـال ۲۰۰۷ طی مطالعه‌ای اشـاره بـه کـاهش قطـر لولـه‌هـای منی‌ساز در موش‌های صحرائی دیابتی شده بـا آلوکسـان داشته‌اند که با نتایج مطالعه ما همخـوانی دارد (Hassen *et al.*, 2007). همچنین، کاهش چشـمگیری در قطـر و تعداد سلول‌های زاینده لوله‌هـای منـی‌سـاز مـوش‌هـای دیـابتی در مطالعـه ایـوبی و همکـاران در سـال ۱۳۹۱ گزارش شد (ایوبی و همکاران، ۱۳۹۱). در بررسی مـا ، کاهش معنی‌داری در وزن بیضـه مـوش‌هـای صـحرایی دیابتی مشـاهده شـد و از طرفـی کیـوتن توانسـت ایـن کاهش ایجاد شده در موش های دیابتی را جبـران کنـد. این بدین معنی است که کیوتن می‌تواند نقش مهمـی در بهبود وضعیت بافت بیضه موش‌های دیابتی داشته باشد. در مطالعه عرفانی و همکـاران در سـال ۱۳۹۲، گـزارش شده است که متعاقب دیابت، وزن بیضه در موش‌هـــای صـحرایی به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد (عرفـانی و همکـاران، ۱۳۹۲). در مطالعـه ایـوبی و همکـاران در سال۱۳۹۱، چنین بیان شده است که مـوش‌هـای دیـابتی کاهش وزن معنی‌داری در وزن بیضه‌ها داشت (ایـوبی و همکاران، ۱۳۹۱). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهـد کـه القـاء دیابـت نـوع یـک توسـط آلوکسـان، افـزایش معنی‌داری را در سطح قنـد خـون موجـب مـی‌گـردد و تجویز کیوتن در گروه دیابتی موجب کاهش قنـد خـون نمی‌گردد. در نتیجه مصـرف کیـوتن در بیمـاران دیـابتی نوع یک جهت کاهش قند خون بی‌اثر خواهد بود. نتیجه حاصل در این مطالعه بـا نتیجـه مطالعـه‌ای کـه در سـال ۱۳۹۰، با القاء دیابت توسط آلوکسان انجـام گرفتـه بـود همخوانی دارد (عمواوغلی تبریزی و مهـاجری، ۱۳۹۰). ایواساکی و همکـاران در سـال ۱۹۹۵، نشـان دادنـد کـه فرآینـد اسـپرماتوژنز و بلـوغ اسـپرم بـه غلظـت بـالای آندروژن داخل بیضه‌ای و گـردش خـون وابسـته اسـت بنابراین، کاهش در غلظت آندروژن‌ها به احتمال قوی به اسپرماتوژنز و بلوغ اسپرم صدمه مـی‌زنـد (Iwasaki *et al.*, 1995). دراین مطالعه استفاده از تـک دوز آلوکسـان باعث کاهش معنی‌داری در سـطح هورمـون تستسـترون خون در گروه دیابتی شـد کـه منجـر بـه کـاهش رونـد اسپرماتوژنز شد. در این راستا نشان داده شده اسـت کـه القاء دیابت نـوع یـک باعـث کـاهش تعـداد و آتروفـی سلول‌های لایدیگ می‌شود که به‌دنبال آن کـاهش سـطح هورمون تستسترون خون تظاهر پیدا می‌کند (Ricci *et al.*, 2009)، که با نتایج مطالعه حاضـر هـم‌خـوانی دارد. همچنین در این مطالعه سـطح هورمـون تستسـترون در گروه دیابتی تیمار با کیوتن افزایش معنی‌داری نسبت بـه گروه دیابتی داشت که این اتفاق می‌تواند به‌دنبـال تـاثیر آنتی‌اکسیدانی کیوتن در مقابل آسیب‌های اکسـیداتیو بـر سلول‌های لایدیگ باشـد (Littarru, 1994). بـر اسـاس

Archive of SID

نتایج حاصله از این مطالعه، استفاده از کوآنزیم کیوتن به صورت یک آنتی اکسیدان، به طور مشخصی موجب محافظت سلول‌های اسپرماتوژنیک، کپسول بیضه، وزن بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی شود. بنابر این، مکمل کیوتن در کاهش آسیب ساختار بافت بیضه ناشی از دیابت موثر بوده، لذا می‌توان این مکمل را به عنوان داروی کمکی در درمان عوارض دیابت در نظر گرفت. هر چند، مطالعات بیوشیمیایی، سلولی-مولکولی و فارماکولوژیکی بیشتری را باید جهت استفاده از آن مد نظر قرار داد.

منابع

- ایوبی، ع.، ولی زاده، ر.، آرشامی، ج. و موسوی، ز. (۱۳۹۳). تأثیر عصاره آبی-الکلی صمغ آنغوزه بر وزن بدن و بیضه، هورمون تستسترون و اسپرماتوژنز در رت‌های بالغ ویستار. نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران، دوره ٦، شماره ۲، صفحات: ۱۸۰-۱۷۸.
- حاتمی، ل. و استخر، ج. (۱۳۹۲). تاثیر عصاره آبی الکلی گیاه بابونه آلمانی بر محور هورمونی هیپوفیز-گناد و
- تغییرات بافتی بیضه در موش صحرایی نر بالغ. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، دوره ۳، شماره ۱، صفحات: ٦۲-٥٦.
- عرفانی، ن.، بهرامی، م. و مروتی، ح. (۱۳۹۲). مطالعه اثر محافظتی آلوئه ورا بر تغییرات هیستولوژیک و هیستومتریک بیضه موش صحرائی دیابتی. مجله دامپزشکی ایران، دوره ۹، شماره ۳۹ ، صفحات: ۸۷-۷۸.
- عمواوغلی تبریزی، ب. و مهاجری، د. (۱۳۹۰). تاثیر عصاره الکلی ریشه شلغم بر نفروپاتی پیشرس دیابتی در موش‌های صحرایی. مجله تحقیقات علوم پزشکی زاهدان، دوره ۱۳، شماره ٦، صفحات: ۱۹-۱۳.
- محمدی می‌آبادی، ر.، حیدری نصرآبادی، م.، خدارحم، پ. و سیادت، ف. (۱۳۹۳). بررسی اثر عصاره هیدروالکلی دانه کرچک بر اسپرماتوژنز در موش. سال ۱۳، دوره ۲، شماره ۵۰، صفحات: ٤٤-۳۵.
- Asgary, S., Parkhideh, S., Solhpour, A., Madani, H., Mahzouni, P. and Rahimi, P. (2008). Effect of ethanoic extract of Juglans regia L. on blood sugar in diabetes-induced Rats. Journal of Medicinal Food, 11(3): 533-538.
- Borland, K. and Mita, M. (1985). The actions of insulin- like growth factor I and II on cultured sertoli cells. Endocrinology, 114: 240-246.
- Cameron, D.F., Murray, F.T. and Drylie, D.D. (1985). Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. Anatomical Record, 231(1): 53-62.
- Cunighum, J.G. (2002). Text book of Veterinary Physiology. 3rd ed., USA: Saunders, pp: 389-397.
- DeFronzo, R.A. (1997). Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. Diabetes Review, 5: 177-269.

Archive of SID

- Dey, L., Attele, A.S. and Yuan, C.S. (2002). Alternative therapies for type 2 diabetes. Alternative Medicine Review, 7(1): 45-58.
- Dhanasekaran, M. and Ren, J. (2005). The emerging role of coenzyme Q10 in aging neurodegeneration, cardiovascular disease, cancer and diabetic mellitus. Current Neurovascular Research, 2(5): 447- 459.
- Foglia, V.G., Rosner, J.M., Ramos, M. and Lema, B.E. (1969). Sexual disturbances in the male diabetic rat. Hormone and Metabolic Research, 1: 72-77.
- Hassen, N.S., EI-roub, N.M. and Omara, E.A. (2007). Evaluation of the influence of each of melatonin and chromium against diabetes-induced alteration in the testis of Albino rats using light and electron microscopies. Journal of Hospital Medicine, 27:143-162.
- Hughs, T., Gwynne, J. and Switzer, B. (1984). Effects of caloric restriction and weight loss on glycemic control, insulin release and resistance and atherosclerotic risk in obese patients with type II diabetes mellitus. American Journal of Medicine, 77(1): 7-17.
- Iwasaki, M., Fuse, H. and Katayama, T. (1995). Histological and endocrinological investigations of cyclosporine effects on the rat testis. Andrologia, 27 (3): 185-189.
- Quanhong, L., Caili, F., Yukui, R., Guanghui, H. and Tongyi, C. (2005). Effects of protein–bound polysaccharide isolated from pumpkin on insulin in diabetic rats. Plant Foods for Human Nutrition, 60: 13-16.
- Lazos, E.S. (1986). Nutritional Fatty acids and oil characteristics of pumpkin and melon seeds. Journal of Food Science, 51(5): 1382-1383.
- Littarru, G.P. (1994). Energy and Defense. Facts and perspectives on Coenzyme Q_{10} in biology and medicine. Casa Editrice Scientifica Internazionale, 1-91.
- Nishimura, A., Fujimura, M., Hasegawa, F. and Nobuhito, S. (2010). Pharmacokinetic interaction between nifedipine and coenzyme Q10 in rat. Journal of Health Science, 56(3): 310-320.
- Noor, A., Gunasekaran, S., Soosai, M.A. and Vijayalakshmi, M.A. (2008). Antidiabetic activity of Aloe vera and histology of organs in streptozotocin induced diabetic rats. Current Science, 94: 8-25.
- Ricci, G., Catizone, A., Esposito, R., Pisanti, A., Vietri, M.T. and Galdieri, M. (2009). Diabetic rat testis: Morphological and functional alteration. Andrologia, 41: 361-368.
- Swanson, J.E., Ben, R.N., Burton, G.W. and Parker, R.S. (1999). Urinary excretion of 2, 7, 8-trimethyl- beta-carboxyethyl)-6 hydroxychroman is a major route of elimination of gamma tocopherol in humans. Journal of Lipid Research, 40: 665-671.
- Ugbenyen, A.M. and Odetola, A.A. (2009). Hypoglycemic potential of young leave methanolic extract of Magnifera indica in alloxan induced diabetic rat. Pakistan Journal of Nutrition, 8(3): 239-241.

.ir