

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

سید سجاد حجازی^{۱*}، رامین جهانگیر فرد^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)

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 ریزینی مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه حاضر، اثر مکمل کوآنزیم کیوتن بر تغییرات ساختار بافت بیضه در موش‌های صحرائی دیابتی شده توسط آلوکسان مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۴۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی 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 کوآنزیم کیوتن به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، بافت بیضه و سلول‌های اسپرماتوژنیک آن را در موش‌های صحرائی از آسیب ناشی از دیابت محافظت می‌کند.

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

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 سلول‌های 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، کلیه‌ها 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 اسپرم‌اتوزنز 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 صنایع پایین‌آورنده قند خون مانند بی‌گوانیدها، سولفونیل اوره‌ها، تیزولیدین 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 فردرکین 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 آنتی‌اکسیدانی 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 آنتی‌اکسیدانی آن انتخاب گردید. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات محافظتی کیوتن بر تغییرات ساختار بافت بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و در سال ۱۳۹۳ در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز انجام شد. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی 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، هیچ‌گونه آزمایشی به مدت یک هفته روی موش‌ها انجام نشد. حیوانات در محیطی با دمای 22 ± 2 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 به‌طور تصادفی به چهار گروه مساوی شامل: گروه اول به‌عنوان شاهد، گروه دوم به‌عنوان گروه کنترل کیوتن، گروه سوم به‌عنوان گروه دیابتی شده با آلوکسان و گروه چهارم به‌عنوان گروه دیابتی شده 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 به‌طور 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 ۴ میلی‌لیتر خون از سینوس پشت کره چشم در لوله‌های آزمایش حاوی فاکتور ضد انعقاد جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس با

صورت گرفت. مقادیر $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مورفومتری

اثر بر وزن بیضه: در موش‌های صحرائی گروه شاهد میانگین وزن بیضه‌ها $1/53 \pm 0/035$ ، در گروه کنترل کیوتن $1/55 \pm 0/03$ گرم، در گروه دیابتی $1/1 \pm 0/037$ گرم و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن $1/53 \pm 0/089$ گرم بود. در گروه موش‌های صحرائی دیابتی کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) در میانگین وزن بیضه‌ها نسبت به دو گروه کنترل و شاهد وجود داشت. در گروه تیمار ترکیبی داروی کیوتن افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) 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 $20/66 \pm 0/33$ میلی‌متر، در گروه کنترل کیوتن $21/8 \pm 0/31$ میلی‌متر، در گروه دیابتی $17 \pm 0/084$ میلی‌متر و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن $20/3 \pm 0/47$ میلی‌متر بود. در گروه موش‌های صحرائی دیابتی کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) در میانگین طول بیضه‌ها نسبت به دو گروه کنترل و شاهد وجود داشت. داروی کیوتن افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) در میانگین طول بیضه‌ها نسبت به گروه تیمار وجود داشت. بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

استفاده از سمپلر، سرم نمونه‌ها جداسازی شد و تا سنجش هورمونی در دمای $20 -$ 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 به روش قطع نخایی گردن (Cervical Dislocation) کشته شدند. بیضه‌ها جداسازی شد و توسط ترازوی دیجیتال مدل wtb ساخت شرکت radwag لهستان، با دقت $0/01$ گرم وزن آنها محاسبه شد. برای اندازه‌گیری طول بیضه از کولیس با دقت $0/1$ 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 $40 \times$) مورد ارزیابی قرار گرفتند (محمدی می‌آبادی و همکاران، ۱۳۹۳).

تحلیل آماری داده‌ها

تمامی پارامترهای کمی در گروه‌های مختلف به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (mean \pm 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

جدول ۱- مقایسه مقادیر میانگین \pm 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 \pm ۰/۰۳۵ ^a	۱/۵۵ \pm ۰/۰۳ ^a	۱/۱ \pm ۰/۰۳۷ ^b	۱/۵۳ \pm ۰/۰۸۹ ^a
طول بیضه (mm)	۲۰/۶۶ \pm ۰/۳۳ ^a	۲۱/۸ \pm ۰/۳۱ ^a	۱۷ \pm ۰/۰۸۴ ^b	۲۰/۳ \pm ۰/۴۷ ^a

ab: حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ($p < 0.05$).

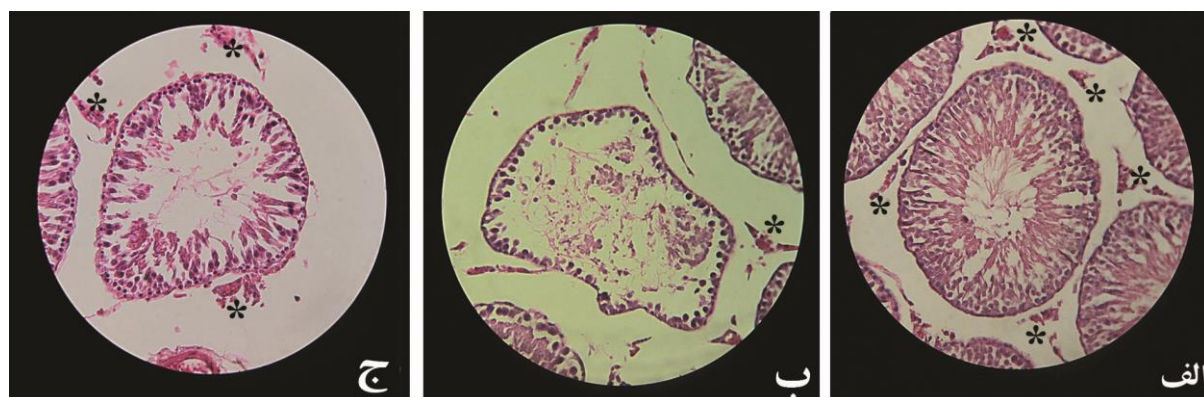
یافته‌های ریزبینی

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 آلبوزینا) 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 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 (شکل‌های ۱ و ۲).



شکل ۱- نمای ریزبینی از مقطع بافت بیضه موش صحرایی. الف) گروه کنترل کیوتن: یکدست بودن ساختار لوله‌های منی‌ساز و وضعیت طبیعی تراکم آنها. ب) گروه دیابتی: بی‌نظمی در قطر و شکل لوله‌های منی‌ساز، 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 منی‌ساز، کاهش فضاهای بینابینی و کاهش گسترش عروق در فضای زیر کپسولی در مقایسه با گروه دیابتی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، درشت‌نمایی $\times 100$).



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 به همراه 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 به همراه ترمیم دیواره لوله منی‌ساز و افزایش سلول‌های لایدیگ (ستاره‌ها) در مقایسه با گروه تیمار دیابتی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، درشت‌نمایی $\times 400$).

اثر بر ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز: در موش‌های صحرائی گروه شاهد میانگین ضخامت کپسول بیضه $8/4 \pm 0/36$ میکرومتر، در گروه کنترل کیوتن $8/8 \pm 0/35$ میکرومتر، در گروه دیابتی $16/4 \pm 0/81$ میکرومتر و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن $14/6 \pm 0/65$ میکرومتر بود. در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری ($p < 0/001$) 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 ($p < 0/05$). بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).

اثر بر ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز: در موش‌های صحرائی گروه شاهد میانگین ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز $29/7 \pm 0/97$ میکرومتر، در گروه کنترل کیوتن $31/9 \pm 0/8$ میکرومتر، در گروه دیابتی $16/5 \pm 0/73$ میکرومتر و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن $21 \pm 0/9$ میکرومتر بود. در گروه موش‌های صحرائی دیابتی کاهش معنی‌داری ($p < 0/001$) در میانگین طول بیضه‌ها نسبت به دو گروه کنترل کیوتن و شاهد وجود داشت. در گروه دیابتی تیمار با کیوتن، کیوتن باعث افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) در ضخامت اپیتلیوم لوله منی‌ساز نسبت به گروه دیابتی شد. بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد، اختلاف معنی‌داری برآورد نگردید (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه مقادیر میانگین \pm خطای استاندارد پارامترهای کمی ضخامت اپی تلیوم 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
اپی تلیوم لوله منی‌ساز (μm)	۲۹/۷ \pm ۰/۷۷ ^a	۳۱/۶ \pm ۰/۸ ^a	۱۶/۵ \pm ۰/۸۳ ^c	۲۱ \pm ۰/۸ ^b
کپسول بیضه (μm)	۸/۴ \pm ۰/۳۶ ^a	۸/۸ \pm ۰/۳۵ ^a	۱۶/۴ \pm ۰/۸۱ ^c	۱۴/۶ \pm ۰/۶۵ ^b

abc حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین بین گروه‌ها می‌باشد ($p < 0.05$).

یافته‌های بیوشیمیایی

اثر بر گلوکز خون: در موش‌های صحرایی گروه شاهد، میانگین گلوکز خون $98 \pm 2/24$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، در گروه کنترل کیوتن $100 \pm 3/25$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، در گروه دیابتی $293 \pm 5/34$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن $255 \pm 4/42$ 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 ($p < 0.05$). 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 معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳).

اثر بر تستسترون خون: در موش‌های صحرایی گروه شاهد میانگین تستسترون خون 0.82 ± 0.03 نانوگرم بر میلی‌گرم، در گروه کنترل کیوتن 0.83 ± 0.05 نانوگرم بر میلی‌گرم، در گروه دیابتی 0.58 ± 0.04 نانوگرم بر میلی‌گرم و در گروه دیابتی تیمار با کیوتن 0.64 ± 0.05 نانوگرم بر میلی‌گرم بود. در میانگین سطح هورمون تستسترون خون موش‌های گروه دیابتی نسبت به دو گروه شاهد و کنترل کیوتن کاهش معنی‌دار دیده شد ($p < 0.01$). در گروه دیابتی تیمار با کیوتن، اختلاف معنی‌داری در سطح هورمون تستسترون بیضه نسبت به گروه دیابتی دیده شد ($p < 0.05$). بین دو گروه کنترل کیوتن و شاهد، اختلاف معنی‌داری برآورد نگردید (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه مقادیر میانگین \pm 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 ۱۲۰ mg/kg	گروه دیابتی تیمار با کیوتن
قند خون (mg/dl)	۹۸ \pm ۲/۲۴ ^a	۱۰۰ \pm ۳/۲۵ ^a	۲۹۳ \pm ۵/۳۴ ^b	۲۵۵ \pm ۴/۴۲ ^b
تستسترون (ng/mg)	۰/۸۲ \pm ۰/۰۳ ^a	۰/۸۳ \pm ۰/۰۵ ^a	۰/۵۸ \pm ۰/۰۴ ^c	۰/۶۴ \pm ۰/۰۵ ^b

abc حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ($p < 0.05$).

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 آلبوزینا) 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 پراکنندگی و

موقعیت سلول‌های سرتولی در موش‌های دیابتی گزارش شده است (عرفانی و همکاران، ۱۳۹۲). بورلند و همکاران در سال ۱۹۸۴، فوگلیا و همکاران در سال ۱۹۶۹ 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 صحرایی 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 آنتی‌اکسیدانی 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 آنتی‌اکسیدان 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

سال ۱۳۹۱، چنین بیان شده است که موش‌های دیابتی کاهش وزن معنی‌داری در وزن بیضه‌ها داشت (ایوبی و همکاران، ۱۳۹۱). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که القاء دیابت نوع یک توسط آلوکسان، افزایش معنی‌داری را در سطح قند خون موجب می‌گردد و تجویز کیوتن در گروه دیابتی موجب کاهش قند خون نمی‌گردد. در نتیجه مصرف کیوتن در بیماران دیابتی نوع یک جهت کاهش قند خون بی‌اثر خواهد بود. نتیجه حاصل در این مطالعه با نتیجه مطالعه‌ای که در سال ۱۳۹۰، با القاء دیابت توسط آلوکسان انجام گرفته بود همخوانی دارد (عمواوغلی تبریزی و مهاجری، ۱۳۹۰). ایواساکی و همکاران در سال ۱۹۹۵، نشان دادند که فرآیند اسپرمتوزن و بلوغ اسپرم به غلظت بالای آندروژن داخل بیضه‌ای و گردش خون وابسته است بنابراین، کاهش در غلظت آندروژن‌ها به احتمال قوی به اسپرمتوزن و بلوغ اسپرم صدمه می‌زند (Iwasaki *et al.*, 1995). در این مطالعه استفاده از تک دوز آلوکسان باعث کاهش معنی‌داری در سطح هورمون تستسترون خون در گروه دیابتی شد که منجر به کاهش روند اسپرمتوزن شد. در این راستا نشان داده شده است که القاء دیابت نوع یک باعث کاهش تعداد و آتروفی سلول‌های لایدیگ می‌شود که به دنبال آن کاهش سطح هورمون تستسترون خون تظاهر پیدا می‌کند (Ricci *et al.*, 2009)، که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین در این مطالعه سطح هورمون تستسترون در گروه دیابتی تیمار با کیوتن افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی داشت که این اتفاق می‌تواند به دنبال تاثیر آنتی‌اکسیدانی کیوتن در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو بر سلول‌های لایدیگ باشد (Littarru, 1994). بر اساس

خود رسید. عرفانی و همکاران در سال ۱۳۹۲ نیز ضخامت اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز بافت بیضه را در گروه دیابتی تیمار با آلوئه‌ورا بیشتر از گروه دیابتی گزارش کرده‌اند. ایشان اثرات مفید آلوئه‌ورا را به خواص آنتی‌اکسیدانی آن نسبت دادند (عرفانی و همکاران، ۱۳۹۲). در بررسی حاضر ضخامت کپسول بیضه در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری داشت که با تجویز کوآنزیم کیوتن کاهش قابل ملاحظه‌ای در آن ایجاد شد. عرفانی و همکاران در سال ۱۳۹۲، افزایش ضخامت کپسول بیضه را در گروه دیابتی گزارش کرده‌اند که این یافته با نتایج بررسی حاضر همخوانی دارد. در مطالعه حاضر قطر لوله‌های منی‌ساز در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری داشت هاسن و همکاران در سال ۲۰۰۷ طی مطالعه‌ای اشاره به کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان داشته‌اند که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد (Hassen *et al.*, 2007). همچنین، کاهش چشمگیری در قطر و تعداد سلول‌های زاینده لوله‌های منی‌ساز موش‌های دیابتی در مطالعه ایوبی و همکاران در سال ۱۳۹۱ گزارش شد (ایوبی و همکاران، ۱۳۹۱). در بررسی ما، کاهش معنی‌داری در وزن بیضه موش‌های صحرایی دیابتی مشاهده شد و از طرفی کیوتن توانست این کاهش ایجاد شده در موش‌های دیابتی را جبران کند. این بدین معنی است که کیوتن می‌تواند نقش مهمی در بهبود وضعیت بافت بیضه موش‌های دیابتی داشته باشد. در مطالعه عرفانی و همکاران در سال ۱۳۹۲، گزارش شده است که متعاقب دیابت، وزن بیضه در موش‌های صحرایی به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد (عرفانی و همکاران، ۱۳۹۲). در مطالعه ایوبی و همکاران در

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.

نتایج حاصله از این مطالعه، استفاده از کوآنزیم کیوتن به صورت یک آنتی‌اکسیدان، 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

منابع

- ایوبی، ع.، ولی زاده، ر.، آرشامی، ج. و موسوی، ز. (۱۳۹۳). تأثیر عصاره آبی-الکلی صمغ آغوزه بر وزن بدن و بیضه، هورمون تستسترون و اسپرماتوژنز در رت‌های بالغ ویستار. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران، دوره ۶، شماره ۲، صفحات: ۱۸۰-۱۷۸.
- حاتمی، ل. و استخر، ج. (۱۳۹۲). تأثیر 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: ۶۲-۵۶.
- عرفانی، ن.، بهرامی، م. و مروتی، ح. (۱۳۹۲). مطالعه اثر محافظتی آلوئه‌ورا بر تغییرات هیستولوژیک و هیستومتریکی بیضه موش صحرایی دیابتی. مجله دامپزشکی ایران، دوره ۹، شماره ۳۹، صفحات: ۸۷-۷۸.
- عمواغلی تبریزی، ب. و مهاجری، د. (۱۳۹۰). تأثیر عصاره الکلی ریشه شلغم بر نفروپاتی پیش‌رس دیابتی در موش‌های صحرایی. مجله تحقیقات علوم پزشکی زاهدان، دوره ۱۳، شماره ۶، 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: ۴۴-۳۵.
- 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.

- 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 Q₁₀ 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.

The effect of coenzyme Q10 on the prevention of testicular tissue damages in Alloxan-induced diabetic rats

Hejazi, S.^{1*}, Jahangirfard, R.²

1- Assistant Professor, Department of Anatomy, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.
2- Postgraduate Student of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding author email: sajjad.hejazi@iaut.ac.ir
(Received: 2015/7/21 Accepted: 2015/10/19)

Abstract

Coenzyme Q10 is considered as a vitamin or a vitamin-like substance which is found in food resources naturally like other vitamins. In recent years, several drugs have been used effectively for treatment of diabetes, but the treatment or protective effect of few of them have been studied microscopically. In the present study, the complementary effect of Q10 on testicular structure in alloxan-induced diabetic rats was studied. Forty male Wistar rats were randomly divided into four groups of 10 rats. The first group was the control group; the second group was the control group treated with 75 mg/kg Q10 for one month, orally (gavage); the third one was the alloxan-induced diabetic treatment group in which a single dosage of 120 mg/kg alloxan was administered intra peritoneally, and the fourth group was the diabetic treatment group treated with Q10. The rats' weight, testis weight, seminiferous tubule diameter, testicular capsule thickness and seminiferous tubular epithelium thickness were measured. Statistical analysis was performed using ANOVA and Duncan's multiple range test. Q10 demonstrated a modifying effect on the diabetic rats' testicular damage such that damages in tissue structure and the sex cells, as well as shrinkage of the seminiferous tubules were observed very slightly. Furthermore, Q10 could inhibit the infiltration of the vessels into and under the capsule space which was significant in diabetic group. The use of Q10 as an antioxidant significantly protected the spermatogenic cells, testicular capsule, testis weight, and seminiferous tubule diameter from the damage of diabetes in rats.

Key words: Alloxan, Testis, Q10, Rat.