

## بررسی تغییرات فراساختاری سلول‌های دیواره لوله‌های منی‌ساز بافت بیضه و تغییرات هورمون‌های گنادوتروپیکی و گنادی در موش‌های صحرایی بالغ دیابتی

داوود کیانی فرد<sup>۱</sup>، شاپور حسن زاده<sup>۲\*</sup>، رجبعلی صدرخانلو<sup>۳</sup>، امیرعباس فرشید<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت ۹۰/۰۲/۱۱ تاریخ پذیرش ۹۰/۰۳/۲۹

### چکیده

**پیش زمینه و هدف:** افزایش قند خون منجر به بروز تغییرات ساختاری و عملکردی در دستگاه تناسلی می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات دیابت بر ساختمان و عملکرد بافت بیضه با تاکید بر تغییرات فراساختاری سلول‌های رده اسپرماتوژنز است.

**مواد و روش کار:** دیابت تجربی در موش‌های صحرایی نر بالغ با تزریق داخل صفاقی استرپتوزتوسین صورت گرفت. در انتهای دوره ۷۰ روزه، اندازه‌گیری وزن بدن و گنادها، اندازه‌گیری غلظت خونی گنادوتروپین‌های هیپوفیزی و استروئیدهای بیضه و مطالعه فرا ساختاری لوله‌های منی‌ساز در بافت بیضه گروه‌های تحت مطالعه انجام شد.

**یافته‌ها:** کاهش معنی‌دار وزن بدن، گنادها، غلظت خونی گنادوتروپین‌ها، استرادیول و پروژسترون ( $p < 0.05$ ) در موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. کاهش درغلظت خونی تستوسترون مربوط به گروه موش‌های دیابتی مشاهده گردید ولی به سطح معنی‌دار آماری نرسید ( $p > 0.05$ ). تغییرات فراساختاری در لوله‌های منی‌ساز در موش‌های دیابتی شامل تغییر شکل میتوکندری‌ها (به شکل‌های غیرطبیعی حلقوی، موج و کاهش قطر)، کاهش حجم توری آندوپلاسمی، افزایش واکوئل‌های چربی در سلول‌های سرتولی و اختلال در اتصال بین سلولی در سلول‌های اسپرماتوگونی بود.

**بحث و نتیجه گیری:** این مطالعه نشان داد که افزایش قند خون به دنبال دیابت تجربی با ایجاد تغییر در میزان هورمون‌های دخیل در فرایند اسپرماتوژنز و نیز ایجاد تغییرات فراساختاری در سطح اندامک‌های سلولی، باعث اختلال در روند اسپرماتوژنز و در نتیجه کاهش باروری می‌گردد.

**کلید واژه‌ها:** دیابت، فوق ریزبینی، بیضه، اسپرماتوژنز، لوله‌های منی‌ساز

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره سوم، ص ۲۴۸-۲۳۹، مرداد و شهریور ۱۳۹۰

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، تلفن: ۰۴۴۱-۲۹۷۰۵۰۸

E-mail: shasanzadehs@yahoo.com

### مقدمه

است که تغییرات ساختاری در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط STZ مربوط به اثرات جانبی این ترکیب نمی‌باشد (۷،۶). اثرات دیابت بر عملکرد بیضه به دلیل تولید ناکافی انسولین و متعاقباً کاهش اثر این هورمون در تنظیم فعالیت سلول‌های سرتولی و لیدیک می‌باشد (۶). عملکرد بیضه‌ها به عنوان یکی از اعضای درون ریز دستگاه تناسلی، توسط گنادوتروپین‌های هیپوفیزی کنترل می‌شود (۶). هورمون محرک فولیکول (FSH) با تنظیم عملکرد سلول‌های سرتولی، عمل اسپرماتوژنز را تنظیم می‌نماید و هورمون لوتئینه کننده (LH)

عوارض ناشی از دیابت یکی از مهم‌ترین مشکلات موجود در بیماران دیابتی است (۱). مشخص شده که افزایش میزان قند خون منجر به بروز اختلالات ساختمانی و عملکردی در بافت‌ها و اندام‌های هدف می‌شود (۲). ایجاد دیابت تجربی در موش‌های صحرایی، با بروز اختلال در فعالیت دستگاه تناسلی همراه است (۳). ایجاد دیابت تجربی در موش صحرایی با کمک استرپتوزتوسین (STZ)، به عنوان مدلی برای مطالعه اثرات دیابت بر دستگاه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵،۴). ثابت شده

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری تخصصی بافت شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

<sup>۲</sup> دانشیار بافت شناسی و جنین شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> استاد بافت شناسی و جنین شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

<sup>۴</sup> دانشیار آسیب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

پس از گذشت ۴۸ ساعت از تزریق STZ از ورید دمی موش‌های صحرایی گروه دیابتی در حالت ناشتا خون‌گیری به عمل آمد و با استفاده از گلوکومتر (On Call EZ, SD, USA) قند خون آن‌ها اندازه‌گیری شد. در این مطالعه قند خون بالای ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی لیتر ملاک دیابتی بودن قرار گرفت (۱۵). به موش‌های صحرایی گروه کنترل، هم حجم با گروه دیابتی سیترات بافر به صورت داخل صفاقی تزریق شد. طول مدت آزمایش ۱۰ هفته متعاقب ایجاد دیابت تجربی بود.

#### اندازه‌گیری وزن بدن و گندها و خون‌گیری

پس از گذشت ۱۰ هفته، وزن حیوانات اندازه‌گیری شد. سپس موش‌های صحرایی ناشتا با کمک دی اتیل اتر مورد بیهوشی قرار گرفته و به منظور اندازه‌گیری قند خون و تجزیه و تحلیل هورمونی، اقدام به جمع‌آوری نمونه خون با روش پونکسیون قلبی گردید. پس از خون‌گیری، حیوانات در حالت بی‌هوشی قطع نخاع شده و گندهای راست و چپ از بدن جدا شده، وزن گندها اندازه‌گیری شد.

#### تجزیه و تحلیل نمونه‌های پلاسمای خون

میزان قند خون به کمک اسپکتروفوتومتر (Unico 1200, Japan) بر اساس روش گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد. سطح خونی هورمون‌های تستوسترون، ۱۷- $\beta$  به تا استرادیول و پروژسترون با روش الیزا (ELISA) و استفاده از کیت‌های اختصاصی (Diaplus Inc. USA) اندازه‌گیری شد. غلظت خونی هورمون‌های FSH و LH نیز با این روش و استفاده از کیت‌های اختصاصی (DRG Instruments GmbH, Germany) اندازه‌گیری گردید.

#### آماده‌سازی بافت جهت مطالعه فوق ریزبینی

بدین منظور، پس از جدا نمودن بیضه‌ها از اپی دیدیم، قطعات کوچکی از بافت بیضه تهیه شده و سپس در محلول گلو تار آلدئید ۴ درصد و فسفات بافر (pH 7.2) به مدت ۴-۲ ساعت ثابت شدند. به منظور تثبیت ثانویه از تتراسید اسمیوم ۱ درصد استفاده شد. پس از پردازش بافتی، نمونه‌ها در اسپار رزین قالب‌گیری شدند. سپس برش‌های نازک با ضخامت تقریبی  $1 \mu\text{m}$  با استفاده از اولترامیکروتوم (LEICA ULTRACUT R, Austria) تهیه شده و پس از رنگ آمیزی با تولوئیدین بلو به منظور تعیین مکان مناسب مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از مشاهده برش‌های نازک با میکروسکوپ نوری، برش‌های فوق نازک از نمونه‌ها تهیه شده و بر روی گریدهای مسی قرار گرفته و با اورانیل استات و سیترات سرب رنگ آمیزی گشته و تغییرات سلولی با میکروسکوپ الکترونی (Philips C-100 Bio) مورد ارزیابی قرار گرفت.

فعالیت سلول‌های لیدیگ را کنترل می‌کند (۸). کاهش میزان انسولین در موش‌های صحرایی دیابتی شده با STZ، از طریق کاهش میزان هورمون FSH در گردش خون باعث اختلال در فرایند اسپرماتوزن می‌گردد. همچنین، انسولین سطح خونی هورمون LH را نیز کنترل می‌کند (۶). در این رابطه، اختلالات عملکردی مرتبط با هورمون LH در سلول‌های لیدیگ در شرایط دیابتی گزارش شده است (۲). براساس این گزارشات، تنظیم فعالیت بافت بیضه در نتیجه مجموعه مکانیسم‌هایی است که شامل اثرات نسبی انسولین/گلوکز، FSH و LH می‌باشد. برخی از اثرات دیابت بر ساختار دستگاه تناسلی مورد مطالعه قرار گرفته است. در این رابطه، تغییرات دژنراتیو سلول‌های زایگر، تشکیل سلول‌های غول پیکر، تغییرات بافت بینابینی، تغییر در اندازه لوله‌های منی‌ساز و تغییر در سلول‌های لیدیگ گزارش شده است (۹، ۱۰). علاوه بر این، اثرات دیابت بر تغییر وزن بدن و گندها در مطالعات مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱، ۲، ۱۱، ۱۲). اختلال در عملکرد گندها و کاهش میزان تستوسترون، منجر به تولید ناکافی اسپرماتوزوئیدها می‌گردد که این فرایند به نوبه خود به علت کاهش فعالیت سلول‌های دیواره لوله‌های منی‌ساز در شرایط دیابتی بروز می‌کند (۱۰، ۱۳، ۱۴). گزارشاتی در مورد تغییرات فراساختاری سلول‌های دیواره لوله‌های منی‌ساز در بافت بیضه متعاقب ایجاد دیابت انجام نگرفته است. با توجه به مطلب فوق الذکر، هدف از این مطالعه بررسی ساختار لوله‌های منی‌ساز به دنبال ایجاد دیابت تجربی با استفاده از مدل حیوانی، در سطح فوق ریزبینی است.

## مواد و روش کار

### حیوانات و گروه‌بندی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد اسپراگوداوی با میانگین وزن  $20 \pm 200$  گرم استفاده شد. موش‌های صحرایی جوان در قفس‌های نگهداری (دو موش در هر قفس) در شرایط استاندارد با دمای  $2 \pm 23$  درجه سانتی‌گراد با چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. در طول مدت آزمایش آب و غذای پلت استاندارد به صورت آزاد در اختیار حیوان قرار گرفت. در این مطالعه حیوانات به دو گروه آزمایشی تقسیم شدند. (۱) گروه کنترل: تعداد ۸ سر موش صحرایی بالغ و سالم؛ (۲) گروه دیابتی: این گروه شامل ۸ سر موش صحرایی بالغ بود که از طریق تزریق داخل صفاقی یک نوبت استرپتوزوتوسین (Sigma, ST. Louis, MO, USA) محلول در بافر سیترات سدیم ۰/۱ مولار با (pH 4.5) به مقدار ۴۵ mg/kg دیابتی شده بودند.

## تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از این تحقیق توسط نرم افزار Graph Pad Prism شماره ۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شده است. مقایسه نتایج بین گروه‌های تحت مطالعه با کمک روش آماری تی تست با سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) انجام گردید.

## یافته‌ها

## اثرات دیابت بر تغییرات وزن بدن و گنادها

میانگین وزن بدن در موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) کاهش یافت (جدول ۱). همچنین میانگین وزن گناد راست و چپ در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) نشان داد.

جدول شماره (۱): تغییرات وزن بدن و گنادها در گروه‌های تحت مطالعه

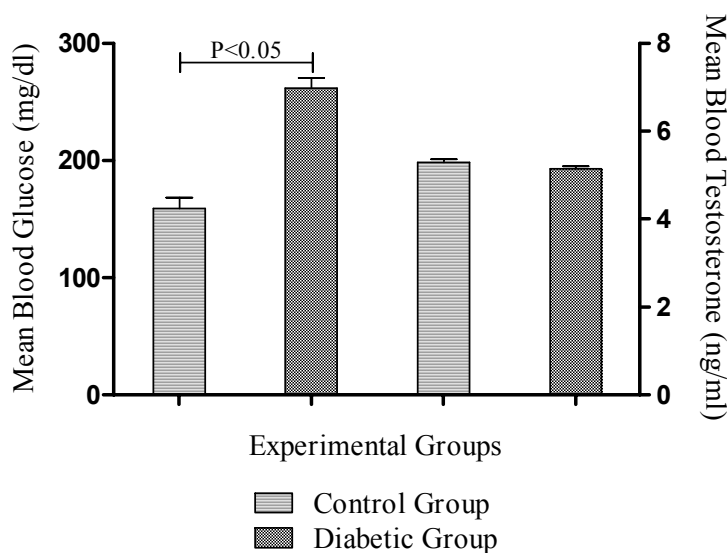
وزن بدن (گرم)	وزن گناد راست (گرم)	وزن گناد چپ (گرم)	
$257/5 \pm 4/902^*$	$2/360 \pm 0/110^*$	$2/275 \pm 0/045^*$	گروه کنترل
$160 \pm 8/976^*$	$1/659 \pm 0/134^*$	$1/663 \pm 0/152^*$	گروه دیابتی

نتایج به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده است. \* اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های تحت مطالعه ( $p < 0.05$ ).

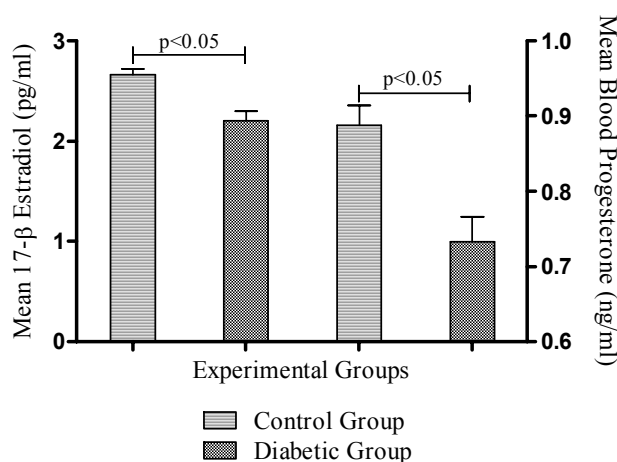
## اثرات دیابت بر میزان قند خون و استروئیدهای بیضه

میانگین قند خون ناشتا در موش‌های صحرایی دیابتی به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (نمودار ۱). میزان هورمون تستوسترون در خون موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با موش‌های کنترل کاهش یافت.

(نمودار ۱) ولی این کاهش به سطح معنی‌دار آماری نرسید ( $p > 0.05$ ). در این رابطه میزان غلظت خونی هورمون‌های ۱۷-به تا استرادیول و پروژسترون در موش‌های صحرایی دیابتی کاهش معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (نمودار ۲).



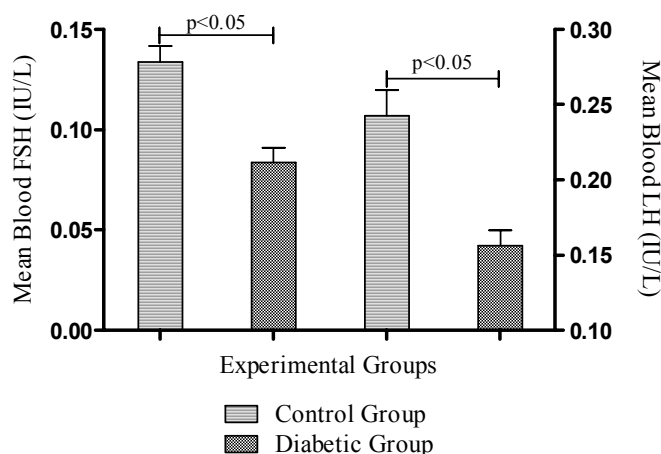
نمودار شماره (۱): میزان قند خون ناشتا و غلظت خونی تستوسترون در انتهای دوره در گروه‌های تحت مطالعه. نتایج به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده است.



**نمودار شماره (۲):** میزان غلظت خونی هورمون‌های ۱۷-به تا استرادیول و پروژسترون در انتهای دوره در گروه‌های تحت مطالعه. نتایج به صورت mean±SEM بیان شده است.

*اثرات دیابت بر غلظت خونی گنادوتروپین‌های هیپوفیز*

میانگین غلظت خونی هورمون‌های LH و FSH در موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) یافت (نمودار ۳).



**نمودار شماره (۳):** میزان غلظت خونی هورمون‌های LH و FSH در انتهای دوره در گروه‌های تحت مطالعه. نتایج به صورت mean±SEM بیان شده است.

*مطالعه فراساختاری سلول‌های رده اسپرمتوزنز*

مطالعه فوق ریزینی لوله‌های منی‌ساز در بافت بیضه موش‌های گروه کنترل نشان داد که دیواره این لوله‌ها از سلول‌های مختلفی تشکیل شده است. قاعده سلول‌های سرتولی بر روی غشای پایه منظم قرار داشته و سیتوپلاسم فوقانی در بخش میانی لوله‌های منی‌ساز سلول‌های جنسی در حال تکامل را احاطه نموده

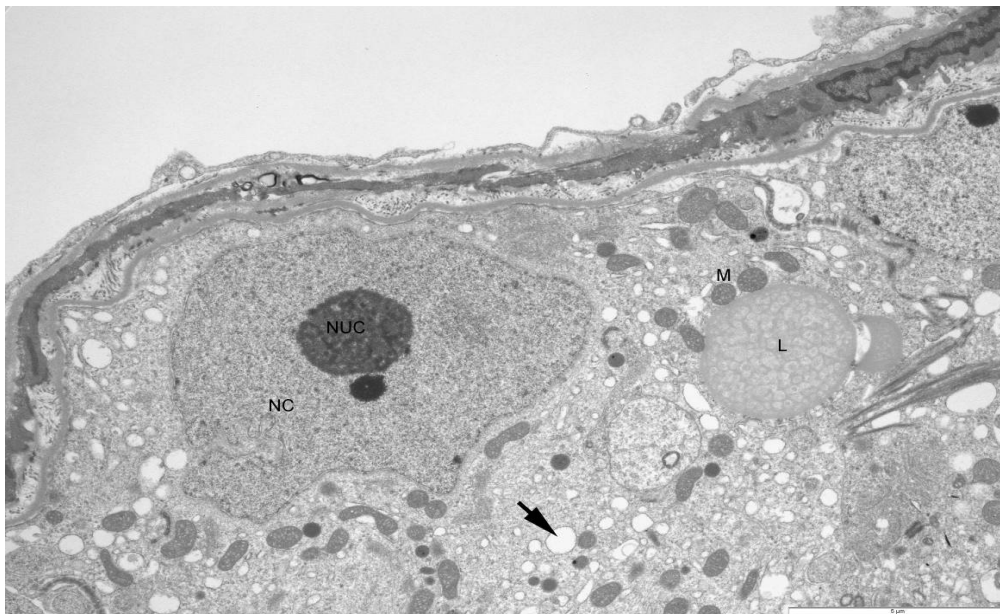
است. هسته این سلول‌ها در اغلب برش‌های بافتی به صورت بیضی شکل بوده و به موازات غشای پایه کشیده شده است. در اغلب مقاطع بافتی هستک در درون هسته مشخص بوده و توده هتروکروماتین در نزدیکی آن مشاهده می‌گردد (تصویر ۱). ارتباطات سلولی در بین سلول‌های سرتولی مجاور از نوع اتصالاتی محکم بود. در این نواحی فضاهای بین سلولی وسیعی مشاهده

بزرگ چربی مشاهده می‌شدند. کاهش میزان توری آندوپلاسمی از دیگر تغییرات قابل توجه در سلول‌های سرتولی بود. غشای پایه در بخش قاعده‌ای سلول‌های سرتولی نامنظم بوده و میزان رشته‌های کلاژنی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته بود ولی هیچ‌گونه تغییر قابل ملاحظه‌ای در اتصالاتی بین سلولی مشاهده نگردید (تصویر ۴).

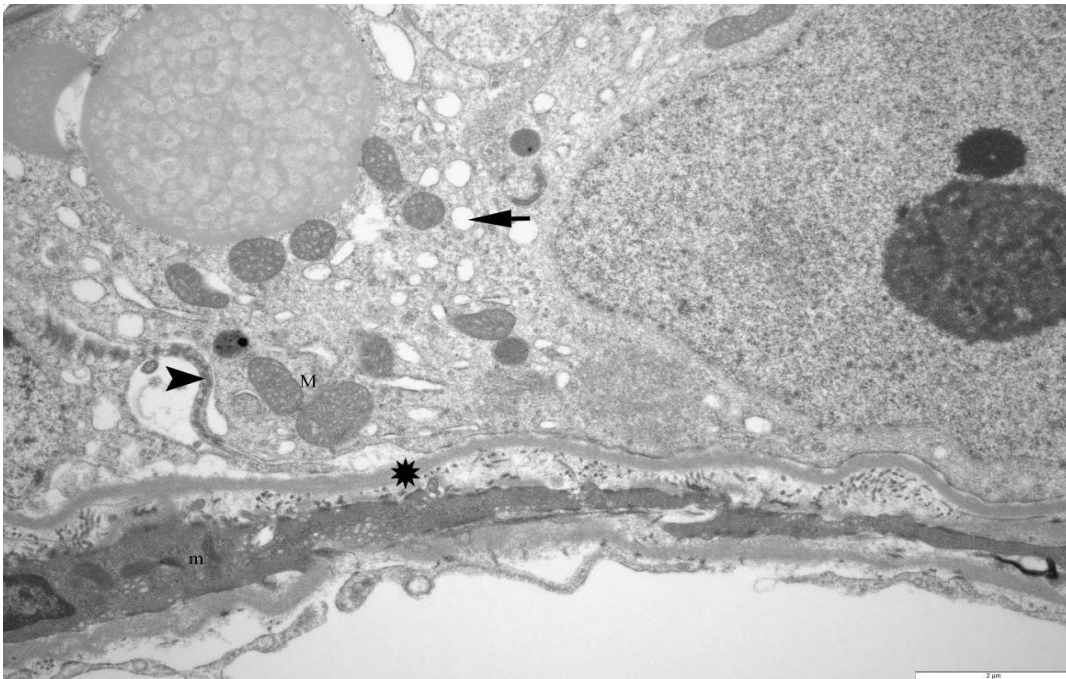
مطالعه فوق ریزبینی سایر سلول‌های رده اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی دیابتی نشان داد که تغییرات ساختاری به ویژه در اتصالات بین سلولی در سلول‌های مذکور متعاقب ایجاد دیابت به وجود آمده است. در سلول‌های اسپرماتوگونی، کاهش سطح اتصالات بین سلولی و افزایش فضای بین سلولی مشاهده گردید (تصویر ۵) ولی تغییر قابل ملاحظه‌ای در ساختار فوق ریزبینی این سلول‌ها مشاهده نشد. مطالعه فوق ریزبینی میتوکندری‌ها نشان داد که این ارگانل‌ها در سلول‌های اسپرماتوگونی نسبت به سایر سلول‌های رده اسپرماتوژنز دارای ستیغ‌های منظم‌تری می‌باشند. این ارگانل‌ها در اسپرماتیدها فاقد ستیغ‌های منظم بودند به طوری که ستیغ‌ها در سلول‌های مذکور در بخش حاشیه‌ای اندامک قرار داشته و ماتریس میتوکندری از وسعت بیشتری برخوردار بود. در سایر سلول‌های رده اسپرماتوژنز شامل اسپرماتوسیت‌ها و اسپرماتیدها اختلال فوق ریزبینی مشاهده نگردید.

گردید که این فضاها مربوط به قنات‌های توسعه یافته توری آندوپلاسمی صاف بوده که بین بخش‌های رشته‌ای کمپلکس اتصالی قرار گرفته است (تصویر ۲). سیتوپلاسم سلول‌های مذکور حاوی مقادیر فراوانی توری آندوپلاسمی و میتوکندری بود. میتوکندری‌ها در اغلب مقاطع بررسی شده به شکل کروی بود و دارای ماتریسی با دانسیته الکترونی بالا و ستیغ‌های ناکامل بوده (میتوکندری‌های وزیکولی) و میتوکندری‌های فنجان‌ی شکل در برخی نواحی سیتوپلاسم به چشم می‌خورد. این میتوکندری‌ها در ارتباط نزدیک با توری آندوپلاسمی قرار داشتند. دیواره لوله‌های منی‌ساز به وسیله سلول‌های میوئیدی احاطه شده و فضای بین غشاهای پایه و سلول‌های مذکور به وسیله رشته‌های کلاژنی پر شده بود (تصویر ۲). تمامی این مشاهدات منطبق بر طبیعت سالم سلول‌های مذکور در بعد فرا ساختاری است.

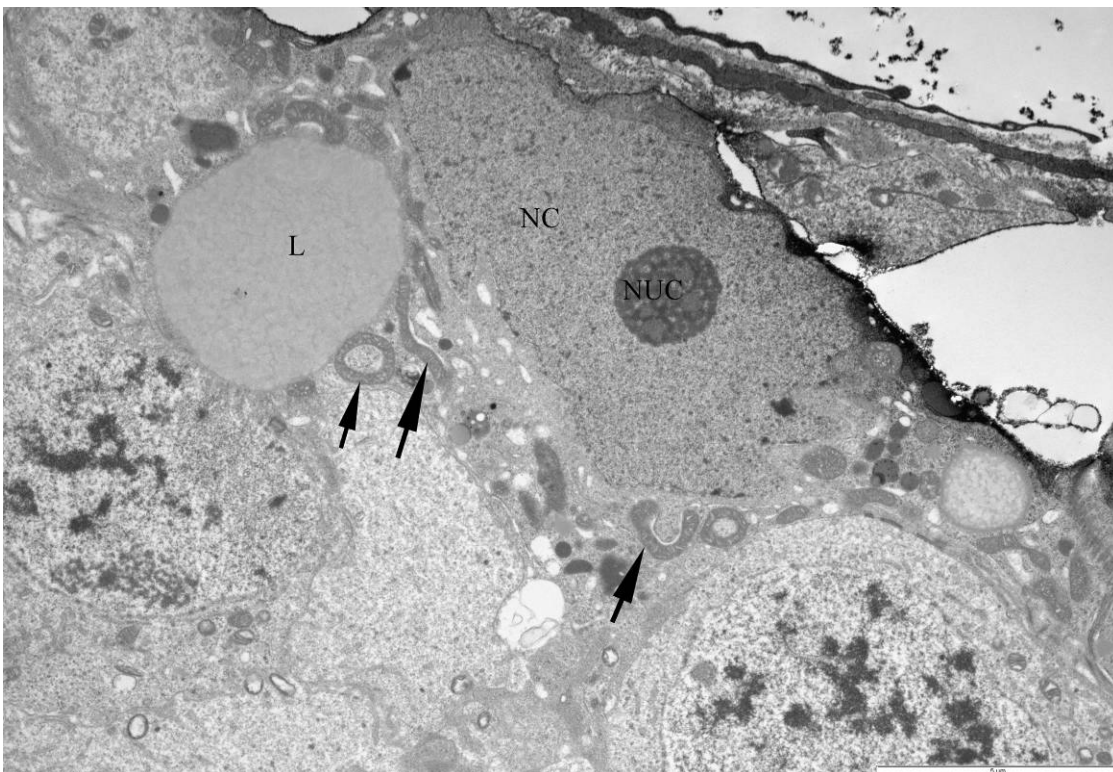
مطالعه فوق ریزبینی سلول‌های سرتولی در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی نشان داد که این سلول‌ها در اکثر لوله‌های منی‌ساز دچار تغییرات ساختاری قابل ملاحظه‌ای شده‌اند. هسته سلول‌های مذکور تغییر شکل یافته و ارگانل‌های سلولی به شدت کاهش یافته است. تغییر شکل میتوکندری‌ها از حالت کروی به فرم بسیار بزرگ با شکل مارپیچ، ستیغ‌های نامنظم و کاهش در تعداد آن‌ها، مهم‌ترین تغییر در اندامک مذکور بود (تصویر ۳). میتوکندری‌های تغییر شکل یافته، اغلب در اطراف واکوئل‌های



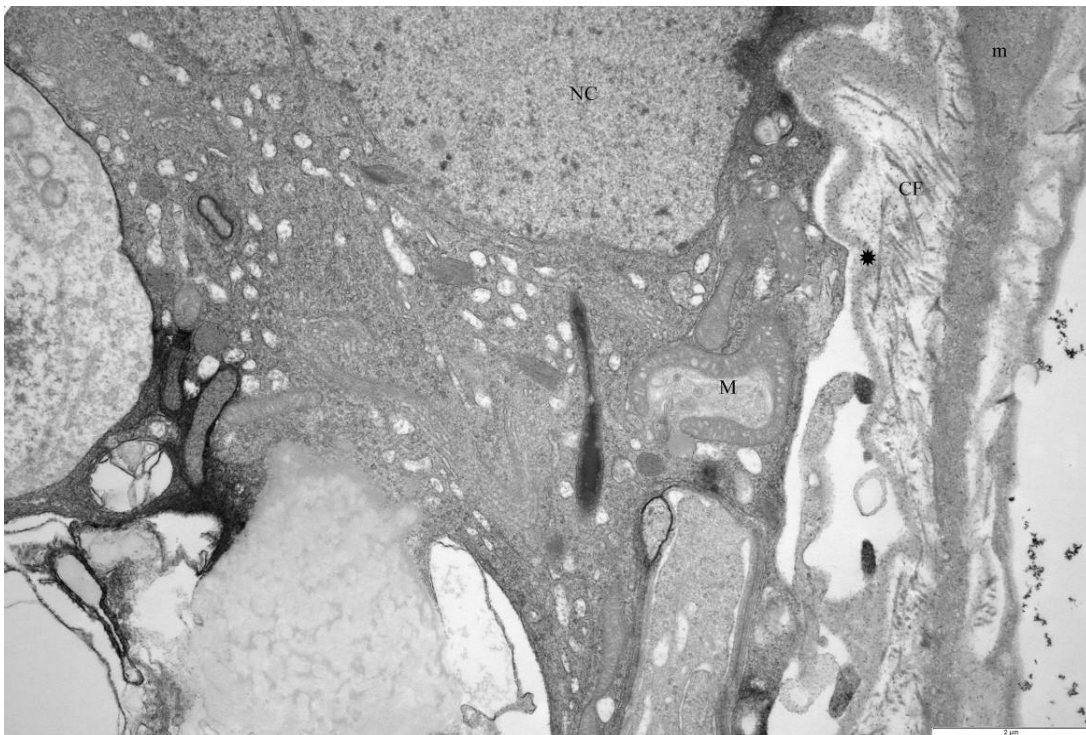
**تصویر (۱):** فوتومیکروگراف الکترونی بخشی از دیواره لوله منی‌ساز در موش صحرایی گروه کنترل. سلول سرتولی طبیعی با هسته بزرگ و بیضی شکل (NC) و هستک (NUC) کاملاً مشخص. توده هتروکروماتین در ارتباط نزدیک با هستک قرار دارد. تعداد فراوانی میتوکندری (M) کروی شکل و توری آندوپلاسمی (فلش) گسترده در سیتوپلاسم مشاهده می‌شود. یک واکوئل چربی (L) نیز در سیتوپلاسم مشاهده می‌گردد. بزرگ‌نمایی  $\times 5800$



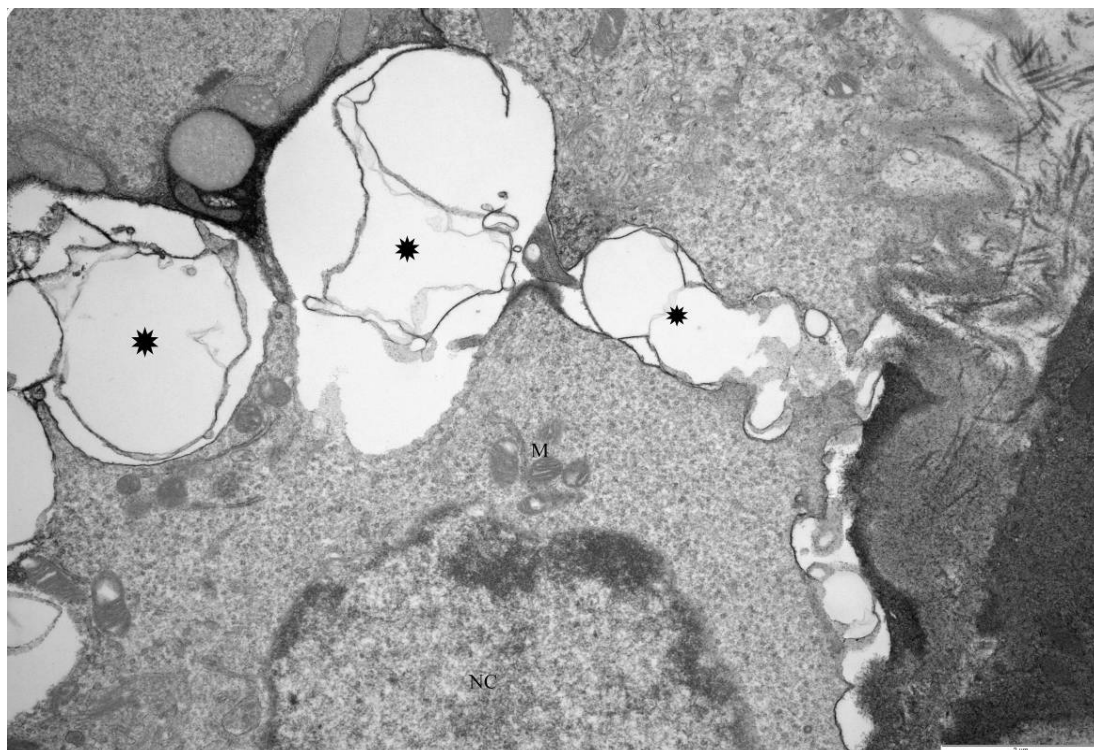
**تصویر (۲):** فوتومیکروگراف الکترونی بخشی از لوله منی‌ساز در موش صحرایی گروه کنترل. سلول سرتولی طبیعی در محل اتصال با غشای پایه (\*). کمپلکس اتصالی بین سلول‌های سرتولی مجاور قابل مشاهده است (نوک پیکان). سلول میوئیدی (m) به همراه سیتوپلاسم در زیر غشای پایه مشاهده می‌شود. توری آندوپلاسمیک (فلش)، میتوکندری (M). بزرگنمایی  $\times 9700$



**تصویر (۳):** فوتومیکروگراف الکترونی بخشی از لوله منی‌ساز بافت بیضه موش صحرایی دیابتی. سلول سرتولی با هسته نامنظم (NC) و هسته گرد (NUC). افزایش حجم واکوتل چربی (L) و تغییر شکل میتوکندری‌ها (فلش‌ها) در سیتوپلاسم به چشم می‌خورد. بزرگنمایی  $\times 5800$



**تصویر (۴):** فوتومیکروگراف الکترونی بخشی از سلول سرتولی در بافت بیضه موش صحرایی دیابتی. پیچ خوردگی و بی نظمی غشای پایه (\*) و افزایش میزان رشته‌های کلاژن (CF) کاملاً واضح است. سلول میوئیدی (M)، هسته سلول سرتولی (NC). بزرگ‌نمایی  $\times 9700$



**تصویر (۵):** فوتومیکروگراف الکترونی بخشی از لوله منی‌ساز در بافت بیضه موش صحرایی دیابتی. سلول اسپرمانوگونی با هسته کروی و توده‌های هتروکروماتین در حاشیه هسته مشاهده می‌شود. افزایش فضای بین سلولی (\*) نشان‌دهنده کاهش اتصالی سلولی و چروکیدگی سلول است. هسته سلول (NC)، میتوکندری (M). بزرگ‌نمایی  $\times 9700$

## بحث و نتیجه گیری

افزایش قند خون منجر به ایجاد تغییرات ساختمانی و عملکردی در بافت‌ها و اندام‌های هدف می‌شود (۲). در مطالعه حاضر، میزان قند خون در موش‌های صحرایی دیابتی به مقدار معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بالاتر از گروه کنترل بود و این سطوح افزایش یافته قند خون در تمام طول مدت تحقیق مشاهده گردید. در این مطالعه از استرپتوزوتوسین جهت ایجاد دیابت تجربی استفاده شد. این ترکیب آلکیله کننده، به‌طور اختصاصی باعث از بین رفتن سلول‌های بنای جزایر لانگرهانس لوزالمعده می‌شود. بنابراین کاهش جمعیت سلول‌های بتا با کاهش تولید انسولین همراه بوده که این امر منجر به افزایش قند خون می‌گردد (۱۴). در مطالعه حاضر، کاهش معنی‌دار وزن بدن در موش‌های صحرایی دیابتی مشاهده شد. کاهش وزن بدن متعاقب دیابت می‌تواند به علت شکسته شدن پروتئین‌ها رخ دهد (۱۶،۱). همچنین در این مطالعه، میانگین وزن گندها در موش‌های دیابتی در مقایسه با موش‌های گروه کنترل کاهش یافت. این کاهش وزن می‌تواند به دلیل تحلیل رفتن بیضه و یا کاهش وزن اپی دیدیم باشد. تاثیر دیابت بر عملکرد دستگاه تناسلی و محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گنادورویپین مطالعه قرار گرفته است (۱۸،۱۷،۱۰). کاهش بیوسنتز و سوخت و ساز آندروژن‌های بیضه‌ای متعاقب ایجاد دیابت در مطالعات مختلف گزارش شده است (۱۹،۱۰،۴). این کاهش تولید هورمون‌های استروئیدی بیضه می‌تواند در ارتباط با کاهش میزان گنادورویپین‌های هیپوفیزی باشد (۲۲-۴،۲۰). مطالعات اخیر ارتباط مستقیم بین میزان تستوسترون خون و گنادوتروپین‌ها را نشان داده است (۱۲).

میزان تبدیل پیش‌سازهای استروئیدی به آندروژن‌ها در شرایط دیابتی کاهش می‌یابد و این امر منجر به کاهش میزان تبدیل پرگنولون و پروژسترون به تستوسترون و سایر استروئیدهای بیضه‌ای می‌گردد (۴). در این رابطه در بعضی از گزارشات به نقش استروژن‌ها در بروز اختلالات آندوکرینی بیضه در حیوانات دیابتی اشاره شده است (۴). در مطالعه حاضر، غلظت خونی هورمون ۱۷- به تا استرادیول و پروژسترون در موش‌های صحرایی دیابتی به طور معنی‌داری کاهش نشان داد. این کاهش می‌تواند به دلیل تولید و تجمع این هورمون‌ها در بافت بیضه و عدم آزاد شدن آن‌ها به جریان خون رخ دهد (۴). در مطالعه حاضر، غلظت خونی هورمون‌های FSH و LH در موش‌های صحرایی دیابتی کاهش یافت. فقدان انسولین باعث کاهش سطوح پلاسمایی هورمون FSH در موش‌های دیابتی شده است (۶). FSH به همراه LH باعث تحریک تولید آندروژن‌ها می‌گردد، بنابراین، کاهش غلظت خونی این هورمون می‌تواند نقش مهمی در ایجاد

کاهش تولید تستوسترون توسط بافت بیضه داشته باشد (۳). دیابت باعث کاهش غلظت خونی هورمون LH که جهت فعالیت طبیعی سلول‌های لیدیگ مورد نیاز است، می‌گردد (۲۳). انسولین جهت پایداری گیرنده‌های LH در سلول‌های لیدیگ مورد نیاز است. از طرف دیگر، انسولین تقسیمات سلولی و سوخت و ساز سلول‌های لیدیگ را کنترل می‌کند (۶،۳). بنابراین کاهش میزان انسولین می‌تواند منجر به اختلالاتی در فعالیت سلول‌های مذکور شده که این امر سبب کاهش تعداد این سلول‌های و کاهش تولید هورمون‌های استروئیدی از جمله تستوسترون گردد.

دیابت باعث اختلال در فرایند اسپرماتوژنز می‌گردد (۲۵،۲۴). در مطالعه حاضر، بررسی فوق ریزینی سلول‌های رده اسپرماتوژنز در دیواره لوله‌های منی‌ساز نشان داد که عمده تغییرات در سلول‌های سرتولی رخ داده است. تغییر شکل میتوکندری‌ها و کاهش توری آندوپلاسمی صاف نشان دهنده اختلال در فعالیت این اندامک‌ها و در نتیجه اختلال در فعالیت سلول‌های مذکور می‌باشد. سلول‌های سرتولی نقش مهمی در کنترل فعالیت طبیعی بافت بیضه بر عهده دارند (۲۶). بعلاوه، سلول‌های زایگر دیواره لوله‌های منی‌ساز می‌توانند عملکرد سلول‌های سرتولی را تحت تاثیر قرار دهند. برای مثال مشخص شده است که سلول‌های اسپرمتید از مهم‌ترین کنترل کننده‌های فعالیت سلول‌های سرتولی می‌باشند (۲۶). کاهش حجم توری آندوپلاسمی صاف در سلول‌های سرتولی نشان‌دهنده تغییر در فعالیت اندامک مذکور در تولید هورمون‌های استروئیدی است. افزایش تعداد و اندازه واکوئل‌های چربی در سیتوپلاسم سلول‌های سرتولی در بافت بیضه موش‌های دیابتی نشان می‌دهد که میزان فعالیت استروئید سازی این سلول‌ها متعاقب ایجاد دیابت کاهش یافته است. در این مطالعه، افزایش ضخامت دیواره لوله‌های منی‌ساز در بافت بیضه موش‌های دیابتی مشاهده شد. این افزایش ضخامت به دلیل افزایش میزان رشته‌های کلاژن در فضای بین غشای پایه و سلول‌های میوتید ایجاد گردید که به نوبه خود می‌تواند باعث اختلال در فرایند جابجایی مواد از دیواره لوله‌های منی‌ساز شود. افزایش ضخامت دیواره لوله‌های منی‌ساز می‌تواند نشان‌دهنده فعالیت غیر طبیعی فیبروبلاست‌های پیرامون لوله‌های منی‌ساز باشد (۲۷،۱۳،۳).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهند ارتباط مستقیمی بین تغییرات فراساختاری در سلول‌های رده اسپرماتوژنز و سلول‌های سرتولی با بروز تغییرات هورمونی در محور هیپوفیز - بیضه وجود دارد و همه این وقایع به دلیل تغییرات ساختاری و عملکردی در بافت بیضه به دنبال افزایش قند خون بروز می‌کنند. دیابت باعث ایجاد اختلال در فرایند اسپرماتوژنز در هر دو گونه



## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات جناب آقای دکتر امیر عباس فرشید رئیس مرکز میکروسکوپ الکترونی دانشگاه ارومیه و کارکنان گروه بیولوژی سلولی دانشکده پزشکی دانشگاه گرونینگن هلند، در تهیه مقاطع و تصاویر میکروسکوپ الکترونی کمال تشکر و قدردانی را داریم.

موش صحرایی و انسان می‌گردد (۲۴). بدیهی است تعمیم تغییرات مشاهده شده در این مطالعه به تغییرات بافت بیضه در انسان و نیز مکانیسم‌های احتمالی درگیر که بتواند توجیه کننده ارتباط دیابت با اختلالات باروری باشد، نیاز به تحقیقات بیشتر به ویژه در ابعاد سلولی و مولکولی دارد.

## References

1. Yanardag R, Ozsoy-Sacan O, Bolkent S, Orak H, Karabulut-Bulan O. Protective effects of metformin treatment on the liver injury of streptozotocin-diabetic rats. *Hum Exp Toxicol* 2005; 24:129-35.
2. Cai L, Chen S, Evans T, Xi Deng D, Mukherjee K, Chakrabarti S. Apoptotic germ-cell death and testicular damage in experimental diabetes: prevention by endothelin antagonism. *Urol Res* 2000; 28:342-47.
3. Orth JM, Murray FT, Bardin CW. Ultrastructural Changes in Leydig Cells of Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Anat Rec* 1979; 195:415-30.
4. Kuhn-Velten N, Waldenburger D, Staib W. Evaluation of Steroid Biosynthetic Lesions in Isolated Leydig Cells from the Testes of Streptozotocin-Diabetic Rats. *Diabetol* 1982; 23:529-33.
5. Morimoto S, Mendoza-Rodriguez CA, Hiriart M, Larrieta ME, Vital P, Cerbon MA. Protective effect of testosterone on early apoptotic damage induced by streptozotocin in rat pancreas. *J Endocrinol* 2005; 187:217-24.
6. Oksanen A. Testicular lesions of streptozotocin diabetic rats. *Horm Res* 1975; 6:138-44.
7. Ballester J, Carmen Munoz M, Dominguez J, Rigau T, Guinovart JJ, Rodriguez-Gil J. Insulin-dependent diabetes affect testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *J Androl* 2004; 25:706-19.
8. Ward DN, Bousfield GR, Moore KH. Gonadotropins. In: Cupps PT, Editor. *Reproduction in domestic animals*. San Diego: California Academic Press; 1991.P.25-67.
9. Tesone M, Oliviera-Filho RM, Biella de Souza Valle L, Calvo JC, Baranao JLS, Foglia VG, et al. Androgen Receptors in the Diabetic Rat. *Diabetol* 1980; 18:385-90.
10. Ozdemir O, Akalin PP, Baspinar N, Hatipoglu F. Pathological changes in the acute phase of streptozotocin-induced diabetic rats. *Bull Vet Inst Pulawy* 2009; 53:783-90.
11. Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Eur Surg Res* 2008; 40:354-60.
12. Navarro-Cassado L, Juncos-Tobarra MA, Chafer-Rudilla M, Iniguez de Onzono L, Blazquez-Cabrera JA, Miralles-Garcia JM. Effect of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity. Study in rats. *J Androl* 2010; 31(6):584-92.
13. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985; 213:53-62.
14. Steger RW, Rabe M. The effect of diabetes mellitus on endocrine and reproductive function. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 214:1-11.
15. Venkateswaran S, Pari L. Antioxidant effect of *Phaseolus vulgaris* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pacific J Clin Nutr* 2002; 11(3):206-9.

16. Andulla B, Varadacharyulu NCh. Antioxidant role of mulberry leaves in streptozotocin-diabetic rats. *Clin Chim Acta* 2003; 338:3-10.
17. Hunt EL, Baily DW. The effects of alloxan diabetes on the reproductive system of young male rats. *Acta Edocrinol* 1961; 38:432-40.
18. Howland BE, Zebrowski EJ. Serum and pituitary gonadotropins levels in alloxan-diabetic rats. *Horm Metab Res* 1974; 6:121-4.
19. Kuhn-Velten N, Schermer R, Staib W. Effect of streptozotocin-induced hyperglycemia on androgen-binding protein in rat testis and epididymis. *Diabetol* 1984; 26:300-03.
20. Paz-Frenkel G, Homonnai ZT, Drasnin N, Sofer A, Kaplan R, Kraicer PF. Fertility of the streptozotocin-diabetic male rat. *Andrologia* 1978; 10:127-36.
21. Paz-Frenkel G, Homonnai ZT, Harell A, Kraicer PF. Improvement in the fertility of streptozotocin-diabetic male rats following treatment with insulin and human chorionic gonadotropin. *Isr J Med Sci* 1978; 14:1073-8.
22. Calvo JC, Valle LBS, Baranao JL, Teson M, Charreau EH. NADPH generating enzymes in Leydig cells from diabetic rats. *Horm Metab Res* 1979; 11:161-4.
23. Khaki A, Nouri M, Fathiazad F, Ahmadi-Ashtiani HR, Rastgar H, Rezazadeh S. Protective Effect of Quercetin on Spermatogenesis in Streptozotocin-induced Diabetic Rat. *J Med Plan* 2009; 8:57-64.
24. Cameron DF, Orth J, Murray FT. Morphological alteration in the testes from diabetic man and rat. *Diabetes* 1982; 31:11A.
25. Rossi GI, Aeschlimann M. Morphometric studies of pituitary gland and testes in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Andrologia* 1982; 14:532-42.
26. Hassan G, Abdel Moneium T. Structural changes in the testes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Suez Canal Univ Med J* 2001; 4(1):17-25.
27. Hutson JC. Altered biochemical responses by rat Sertoli cells and peritubular cells cultured under stimulated diabetic conditions. *Diabetologia* 1984; 26:155-8.