

## مطالعه اثر حفاظتی آن-استیل سیستین بر بافت بیضه و سلول‌های رده اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی بالغ دیابتی شده با استرپتوزوسین

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۱۱/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۱۵

### چکیده

**زمینه و هدف:** دیابت با ایجاد استرس اکسیداتیو بیضه‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. هدف از مطالعه حاضر مطالعه اثرات حفاظتی آن-استیل سیستین بر تعداد سلول‌های رده اسپرماتوژنز در موش‌های صحرایی دیابتی است. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ۴۲ موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار به ۷ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. این پژوهش در مدت دو دوره ۵ و ۲۸ روزه انجام شد. به این ترتیب که در دوره اول گروه شاهد مثبت و گروه‌های تجربی، ۱ میلی لیتر استرپتوزوسین محلول در آب مقطر با دوز ۵۰ mg/kg به مدت ۵ روز بصورت درون صفاقی دریافت کردند. در پایان روز ششم میزان قند خون موش‌های صحرایی به ۲۰۰ mg/dl رسید. در دوره دوم موش‌های صحرایی گروه کنترل بدون داشتن هیچ گونه تزریقی، گروه شم با تزریق درون صفاقی آب مقطر، گروه شاهد مثبت بدون تزریق، گروه شاهد منفی: دوز ۲۰۰ mg/kg آن-استیل سیستین بصورت درون صفاقی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند. گروه‌های تجربی ۱ و ۲ که شامل موش‌های صحرایی دیابتی بودند که به ترتیب دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg آن-استیل سیستین بصورت درون صفاقی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند. در پایان دوره آزمایش موش‌های صحرایی تحت بی هوشی با اثر قرار گرفتند. وزن بدن تمام حیوانات اندازه گیری شد و بیضه نیز خارج گشته و پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین-ئوژین مورد بررسی قرار گرفتند.

**نتایج:** میانگین وزن بدن، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و لیدیک در گروه شاهد مثبت نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی و لیدیک در تمام گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد مثبت افزایش معنی‌داری نشان داد. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه شاهد مثبت افزایش معنی‌داری نشان داد. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه شاهد مثبت افزایش معنی‌داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). دیابت همچنین منجر به تغییرات آسیب شناختی در لوله‌های سمینفر در موش‌های صحرایی دیابتی گردید. این درحالی است که مقادیر مختلف آن-استیل سیستین این را در گروه‌های تجربی بهبود بخشیدند.

**نتیجه گیری:** نتایج نشان دادند که آن-استیل سیستین از بیضه‌ها در مقابل دیابت محافظت کرده و فرآیند اسپرماتوژنز را در دیابت القاشده توسط استرپتوزوسین بهبود می‌بخشد.

**کلمات کلیدی:** دیابت، اسپرماتوژنز، آن-استیل سیستین، استرپتوزوسین، بیضه، موش‌های صحرایی

مریم حسن زاده مقدم<sup>۱</sup>، مهرداد شریعتی<sup>۲</sup>، سپروس نعیمی<sup>۳</sup>، محمد امین عدالت منش<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران  
<sup>۲</sup>گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران  
<sup>۳</sup>گروه ژنتیک، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

### نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۰۹۱۷-۳۱۳۳۳۲۲۱

E-mail: mehrdadshariati@hotmail.com

## مقدمه

می‌کند.<sup>۹</sup>

در مطالعه خردمندی و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داده شد که ان-استیل سیستئین ممکن است که صدمه بیضه ای القا شده توسط کلرپیریفوس را در موش‌های سوری تحریک کند.<sup>۱۰</sup> در مطالعه گالال و همکاران در سال ۲۰۱۹ مشخص گردید که ان-استیل سیستئین دارای اثر حفاظتی بر مسمومیت کبدی و نفرونی و عصبی القا شده توسط فنیتروتیون در اندامهای هدف از جمله در انسان می‌باشد.<sup>۱۱</sup> در مطالعه هو و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داده شد که ان-استیل سیستئین مرگ سلولی برنامه ریزی شده بیضه ای القا شده توسط فلورید را از طریق تعدیل فعالیت Nrf2 هسته ای و پیام‌رسانی IRE1a/JNK تصحیح می‌کند.<sup>۱۲</sup>

در مطالعه شیئو و همکاران در سال ۲۰۱۹ مشخص گردید که ان-استیل سیستئین دارای عملکرد حفاظتی بر کیفیت اسپرم در مسمومیت بیضه ای القا شده توسط سیکلوفسفامید در موش‌های صحرایی نر و استار می‌باشد.<sup>۱۳</sup> در مطالعه گنسالوس و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داده شد که القای حاد ان-استیل سیستئین کاهش بویایی القا شده توسط تروما را بهبود می‌بخشد.<sup>۱۴</sup> در مطالعه هیل و همکاران در سال ۲۰۱۹ مشخص گردید که ان-استیل سیستئین سلولهای کبدی را از صدمه سلولی القا شده توسط هیپوکسی حفاظت می‌کند و در نهایت مسیرهای ضد مرگ سلولی برنامه ریزی شده را فعال می‌کند.<sup>۱۵</sup>

در مطالعه ژو و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داده شد ان-استیل سیستئین امید منجر به حفاظت عصبی از طریق مسیر Nrf2-ARE در مدل‌های موش با صدمه مغزی ترومایی می‌گردد.<sup>۱۶</sup> در مطالعه موری و همکاران در سال ۲۰۱۹ مشخص گردید که ان-استیل سیستئین از نقایص حافظه فضایی در مدل‌های موش صحرایی مبتلا به آلزایمر جلوگیری می‌کند.<sup>۱۷</sup>

با توجه به اثرات حفاظتی ان-استیل سیستئین در درمان بیماریهای مختلف احتمال می‌رود که ان-استیل سیستئین باعث بهبود کیفیت اسپرم شود و می‌تواند به عنوان درمانی برای مردان مبتلا به ناباروری در نظر گرفته شود. با توجه به اهمیت اسپرماتوزن در پتانسیل باروری مردان و عدم وجود مطالعه مشابه در جمعیت بیماران مبتلا به دیابت هدف از انجام این مطالعه بررسی

دیابت با القای تغییرات مولکولی، کیفیت اسپرم و عملکرد آن را تغییر داده و میزان بالایی از شیوع اختلالات باروری را نشان می‌دهد. در بررسی‌های انجام شده بر مدل‌های حیوانی دیابتی شده به وسیله استریتوزوسین مشخص گردیده است که قابلیت حرکت اسپرم در گروه موش‌های تیمار شده با استریتوزوسین به صورت معنی‌داری کاهش می‌یابد.<sup>۱</sup> نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که دیابت باعث تحلیل غدد ضمیمه تولید مثل، کاهش میل جنسی و تعداد اسپرم می‌گردد که در برخی از موارد ممکن است باعث ناباروری گردد. همچنین در بررسی‌های بافت‌شناسی در بیماران مبتلا به دیابت، تغییراتی در سیر تکاملی اسپرماتوزن شامل از بین رفتن اسپرماتوزوئیدها و پر خونی بافت اپیدیدیم مشاهده شده است. در بررسی‌های انجام شده بر روی حیوانات دیابتی مشخص گردیده است که قابلیت حرکت اسپرم‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافته است. دیابت از طریق اختلال در فرآیند اسپرماتوزن، عملکردها و ساختار اسپرم (تحرک، و غشا) و حتی کاهش شانس لقاح و لانه‌گزینی منجر به ناباروری می‌شود.<sup>۲،۳</sup>

ان-استیل سیستئین یک گونه استیل آمینو اسید است که به عنوان پادزهر مسمومیت با استامینوفن بکار می‌رود. این دارو دارای کاربرد بالینی گوناگونی می‌باشد که از توانایی آن برای حمایت از سیستم آنتی‌اکسیداتی و تضعیف سیستم اکسیداتی نیتریک اکساید منشا می‌گیرد.<sup>۴</sup> ان-استیل سیستئین خاصیت آنتی‌اکسیداتی مستقیم و غیر مستقیم دارد. گروه تیول آن قادر به برقراری ارتباط با گروه‌های الکتروفیلی گونه اکسیژن واکنشی (ROS) می‌باشد.<sup>۵،۶</sup>

در مطالعه لی و همکاران در سال ۲۰۱۹ مشخص گردید که ان-استیل سیستئین سوء عملکرد روده ای القا شده توسط لپوپلی ساکارید را تعدیل می‌کند.<sup>۷</sup> در مطالعه کوی و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داده شد که ان-استیل سیستئین مسمومیت نفرونی القا شده توسط جنتامیسین را بوسیله تحریک اتوفاژی و کاهش صدمه اکسیداتیو در خوک‌های مینیاتوری تصحیح می‌کند.<sup>۸</sup> در مطالعه Ma و همکاران در سال ۲۰۱۹ مشخص گردید که ان-استیل سیستئین دارای اثر درمانی بر پیوند سلول زاینده مزانشیمی مشتق از مغز استخوان را در موش‌های صحرایی با پانکراتیت مزمن تحریک

گروه‌های تجربی ۳ و ۲ و ۱ که شامل حیوانات دیابتی بودند، به ترتیب روزانه ۱ میلی لیتر دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ان-استیل سیستین بصورت درون صفاقی دریافت کردند. انتخاب دوزها و روش تزریق با استفاده از مطالعات قبلی انجام شد<sup>۱۹</sup>.

### آزمایش‌های بافت‌شناسی

در پایان دوره دوم حیوانات توسط اتر بیهوش شده و بیضه‌ها خارج گردید و تا زمان برش گیری درون فرمالین ۱۰٪ قرار داده شدند. پس از آن، بیضه‌ها به قطعات ۲ میلی‌متر مکعب تقسیم شدند و برای فیکس مجدد درون فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. پس از طی مراحل مرسوم بافتی، نمونه‌ها با پارافین قالب گیری شدند و از هر بیضه ۵ برش به ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید. برش‌های بافتی با همتاکسیلین-اثوزین رنگ آمیزی شدند و سپس در زیر میکروسکوپ نوری مورد ارزیابی هیستولوژیک قرار گرفتند. تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، لیدیک و سرتولی شمارش شد. به این صورت که ۲۵ توبول در هر فیلد و در هر برش عرضی بیضه انتخاب و سپس توسط میکروسکوپ نوری شمارش شد.

### آنالیز آماری

داده‌ها براساس برنامه SPSS18 و آزمون آماری ANOVA و تست توکی تجزیه و تحلیل گردیدند. مرز استنتاج آماری برای بررسی اختلاف معنی‌دار میانگین بین گروه‌های مختلف در سطح  $P \leq 0.05$  بوده است. در این پژوهش نتایج بدست آمده از آزمایشات انجام شده به همراه محاسبات آماری مربوطه در قالب نمودار آورده شده‌اند. نتایج بصورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین ( $\bar{x} \pm SEM$ ) ارائه شده است.

### نتایج

میانگین وزن بدن در گروه شاهد مثبت نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P \leq 0.05$ ). میانگین وزن بدن در گروه‌های تجربی ۳ و ۲ و ۱ در مقایسه با گروه شاهد مثبت تغییر

تأثیر حافظتی ان-استیل سیستین بر جمعیت سلولی رده اسپرماتوزنز و بافت بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی است.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

در این مطالعه تجربی از ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزن تقریبی ۲۶۰ گرم و سن ۲/۵ تا ۳ ماه استفاده شد. حیوانات بطور تصادفی در ۷ گروه ۶ تایی تا زمان انجام آزمایش در قفس‌های استاندارد و تحت شرایط یکسان با دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد و با چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آب و غذای کافی در اختیار آنها قرارگرفت و ملاحظات اخلاقی در مورد حیوانات با توجه به مصوبات وزارت بهداشت و پروتکل هلسینکی رعایت شد.

### تیمار حیوانات

حیوانات به هفت گروه کنترل، شم، شاهد مثبت، شاهد منفی و گروه‌های تجربی ۳ و ۲ و ۱ تقسیم بندی شدند. تیمار حیوانات به دو دوره تقسیم شد. دوره اول تیمار حیوانات که به مدت ۵ روز انجام شد. در این دوره گروه کنترل تنها آب و غذای معمولی دریافت کردند و تزریقی نداشتند. گروه شم تنها ۱ میلی لیتر آب مقطر روزانه بصورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد منفی روزانه ۱ میلی لیتر ان-استیل سیستین با دوز ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد مثبت و گروه‌های تجربی، روزانه ۱ میلی لیتر استرپتوزوسین محلول در آب مقطر با دوز ۵۰ mg/kg بصورت درون صفاقی دریافت کردند.<sup>۱۸</sup> در پایان روز ششم میزان قند خون حیوانات به ۲۰۰ mg /dl رسید. دوره دوم تیمار حیوانات به مدت ۲۸ روز انجام شد. در دوره دوم حیوانات گروه کنترل تنها آب و غذای معمولی دریافت کردند و تزریقی نداشتند. گروه شم تنها ۱ میلی لیتر آب مقطر روزانه بصورت درون صفاقی دریافت کردند. روزانه ۱ میلی لیتر ان-استیل سیستین با دوز ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد مثبت تنها آب و غذای معمولی دریافت کردند و تزریقی نداشتند.

معنی داری نشان نداد (نمودار ۱).

میانگین وزن بیضه در گروه شاهد مثبت در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی داری نشان نداد. میانگین وزن بیضه در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ در مقایسه با گروه شاهد مثبت تغییر معنی داری نشان نداد (نمودار ۲).

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه شاهد مثبت در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه تجربی ۱ در مقایسه با شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه تجربی ۲ در مقایسه با شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه تجربی ۳ در مقایسه با گروه شاهد مثبت افزایش معنی نشان داد (نمودار ۳) ( $P \leq 0/05$ ).

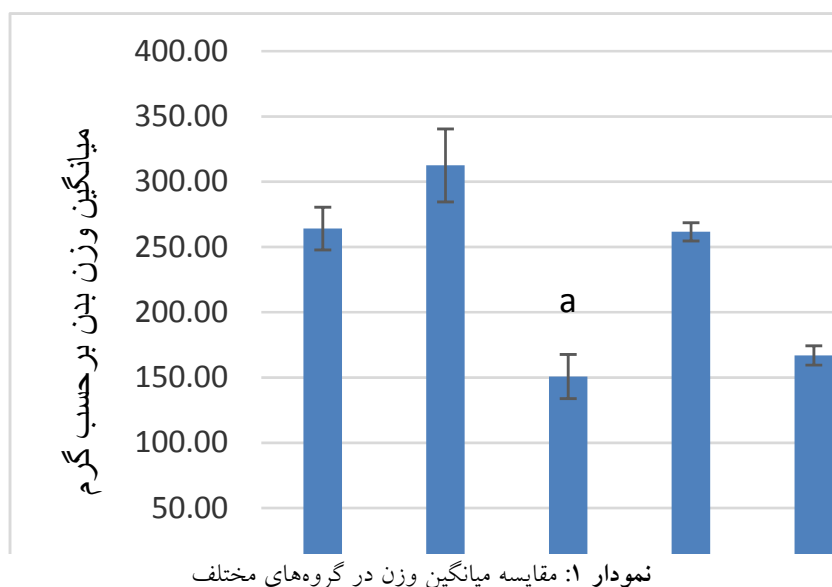
علاوه بر این میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه شاهد مثبت در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه تجربی ۱ در مقایسه با گروه شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه تجربی ۲ در مقایسه با گروه شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد (نمودار ۴) ( $P \leq 0/05$ ).

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه شاهد مثبت در

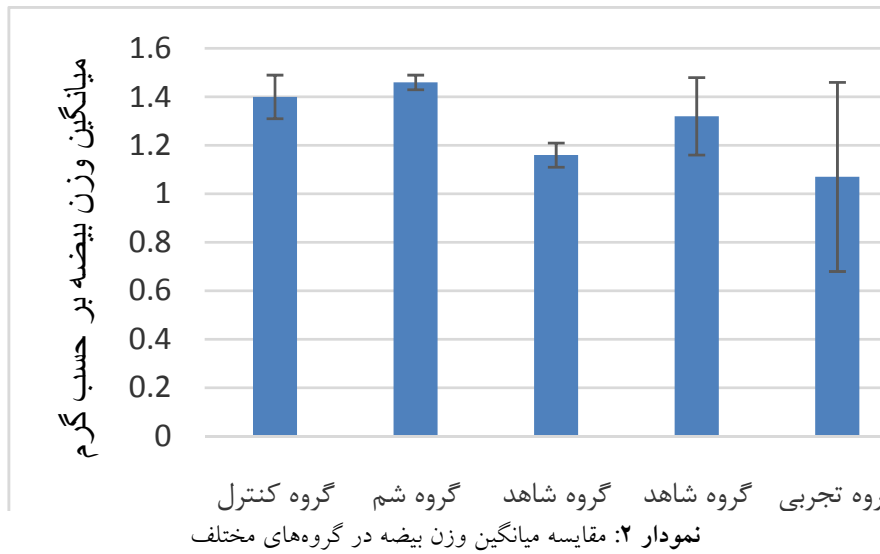
مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه تجربی ۱ در مقایسه با شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه تجربی ۲ در مقایسه با شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه تجربی ۳ در مقایسه با گروه شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد (نمودار ۵) ( $P \leq 0/05$ ).

علاوه بر این میانگین تعداد سلول سرتولی در گروه شاهد مثبت در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی داری نشان نداد. میانگین تعداد سلول سرتولی در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ در مقایسه با گروه شاهد مثبت تغییر معنی داری نشان نداد (نمودار ۶).

میانگین تعداد سلول لیدیگ در گروه شاهد مثبت در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول لیدیگ در گروه تجربی ۱ در مقایسه با شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول لیدیگ در گروه تجربی ۲ در مقایسه با شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میانگین تعداد سلول لیدیگ در گروه تجربی ۳ در مقایسه با گروه شاهد مثبت افزایش معنی داری نشان داد (نمودار ۷) ( $P \leq 0/05$ ).

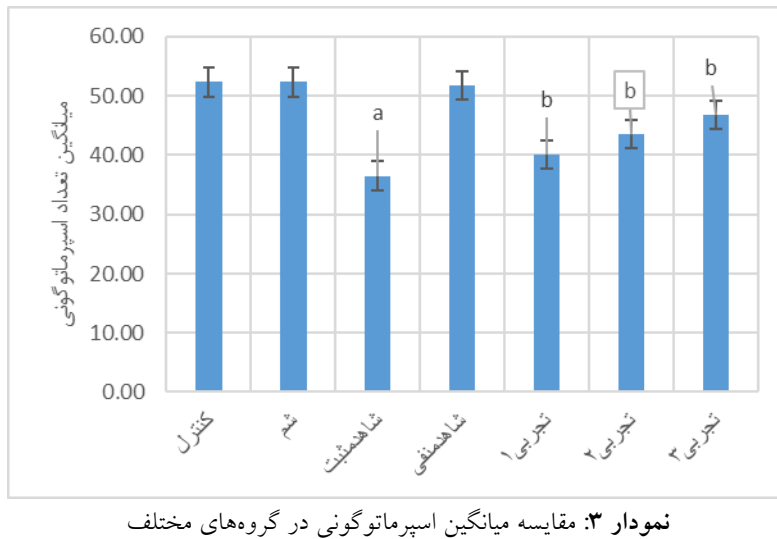


نتایج بصورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین ( $\bar{x} \pm SEM$ ) ارائه شده است. گروه کنترل: بدون تزریق، گروه شم: تزریق آب مقطر، گروه شاهد منفی:  $200 \text{ mg/kg}$  آن-استیل سیستئین، گروه شاهد مثبت: دیابتی، گروه تجربی ۱: دیابتی و  $100 \text{ mg/kg}$  آن-استیل سیستئین، گروه تجربی ۲: دیابتی و  $200 \text{ mg/kg}$  آن-استیل سیستئین، گروه تجربی ۳: دیابتی و  $300 \text{ mg/kg}$  آن-استیل سیستئین. a: نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه شاهد مثبت با گروه کنترل است.



نتایج بصورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین ( $\bar{x} \pm SEM$ ) ارائه شده است.

گروه کنترل: بدون تزریق، گروه شام: تزریق آب مقطر، گروه شاهد منفی: ۲۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه شاهد مثبت: دیابتی، گروه تجربی ۱: دیابتی و ۱۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه تجربی ۲: دیابتی و ۲۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه تجربی ۳: دیابتی و ۳۰۰mg/kg ان-استیل سیستین

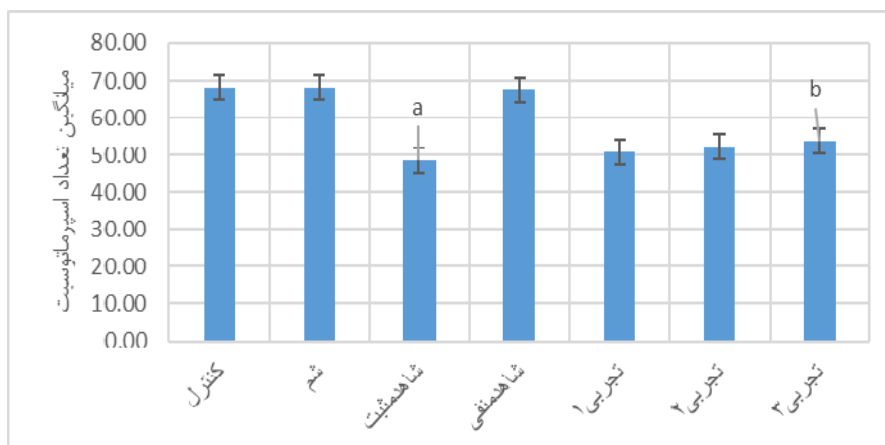


نتایج بصورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین ( $\bar{x} \pm SEM$ ) ارائه شده است.

گروه کنترل: بدون تزریق، گروه شام: تزریق آب مقطر، گروه شاهد منفی: ۲۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه شاهد مثبت: دیابتی، گروه تجربی ۱: دیابتی و ۱۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه تجربی ۲: دیابتی و ۲۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه تجربی ۳: دیابتی و ۳۰۰mg/kg ان-استیل سیستین

a: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه شاهد مثبت با گروه کنترل است.

b: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه‌های تجربی با گروه شاهد مثبت است.



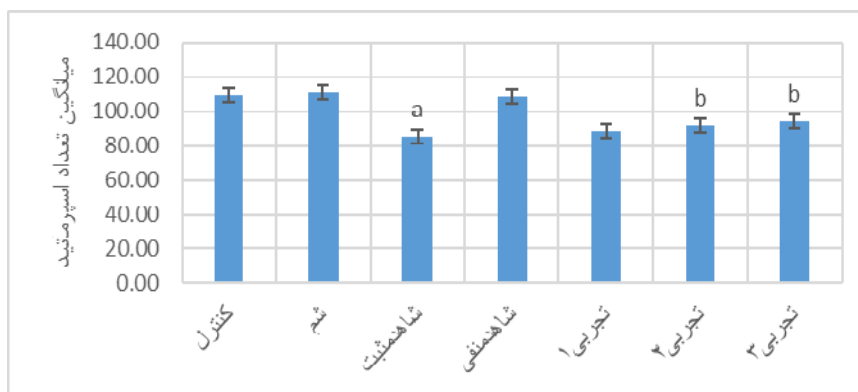
نمودار ۴: مقایسه میانگین اسپرماتوسیت در گروه‌های مختلف

نتایج بصورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین ( $\bar{x} \pm SEM$ ) ارائه شده است.

گروه کنترل: بدون تزریق، گروه شم: تزریق آب مقطر، گروه شاهد منفی: ۲۰۰ mg/kg آن-استیل سیستئین، گروه شاهد مثبت: دیابتی، گروه تجربی ۱: دیابتی و ۱۰۰ mg/kg آن-استیل سیستئین، گروه تجربی ۲: دیابتی و ۲۰۰ mg/kg آن-استیل سیستئین، گروه تجربی ۳: دیابتی و ۳۰۰ mg/kg آن-استیل سیستئین

a: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه شاهد مثبت با گروه کنترل است.

b: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه‌های تجربی با گروه شاهد مثبت است.



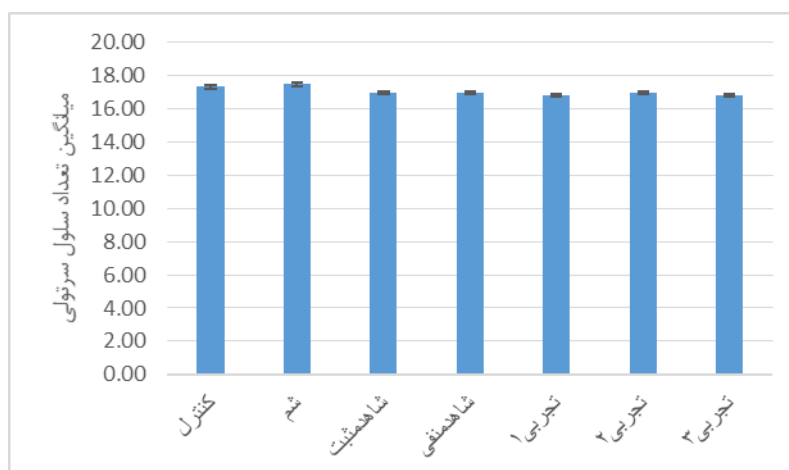
نمودار ۵: مقایسه میانگین اسپرماتید در گروه‌های مختلف

نتایج بصورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین ( $\bar{x} \pm SEM$ ) ارائه شده است.

گروه کنترل: بدون تزریق، گروه شم: تزریق آب مقطر، گروه شاهد منفی: ۲۰۰ mg/kg آن-استیل سیستئین، گروه شاهد مثبت: دیابتی، گروه تجربی ۱: دیابتی و ۱۰۰ mg/kg آن-استیل سیستئین، گروه تجربی ۲: دیابتی و ۲۰۰ mg/kg آن-استیل سیستئین، گروه تجربی ۳: دیابتی و ۳۰۰ mg/kg آن-استیل سیستئین

a: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه شاهد مثبت با گروه کنترل است.

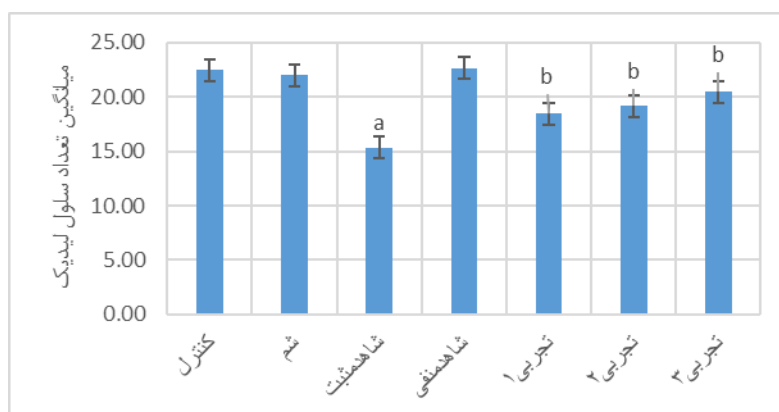
b: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار گروه‌های تجربی با گروه شاهد مثبت است.



#### نمودار ۶: مقایسه میانگین سرتولی در گروه‌های مختلف

نتایج بصورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین ( $\bar{x} \pm SEM$ ) ارائه شده است.

گروه کنترل: بدون تزریق، گروه شم: تزریق آب مقطر، گروه شاهد منفی: ۲۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه شاهد مثبت: دیابتی، گروه تجربی ۱: دیابتی و ۱۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه تجربی ۲: دیابتی و ۲۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه تجربی ۳: دیابتی و ۳۰۰mg/kg ان-استیل سیستین



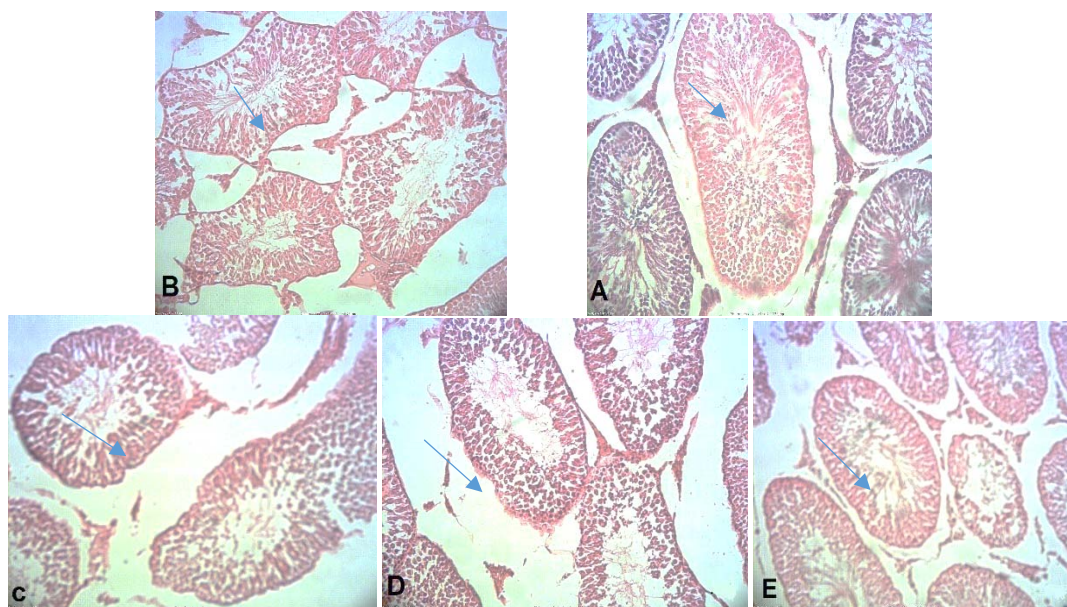
#### نمودار ۷- مقایسه میانگین لیدیک در گروه‌های مختلف

نتایج بصورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین ( $\bar{x} \pm SEM$ ) ارائه شده است.

گروه کنترل: بدون تزریق، گروه شم: تزریق آب مقطر، گروه شاهد منفی: ۲۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه شاهد مثبت: دیابتی، گروه تجربی ۱: دیابتی و ۱۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه تجربی ۲: دیابتی و ۲۰۰mg/kg ان-استیل سیستین، گروه تجربی ۳: دیابتی و ۳۰۰mg/kg ان-استیل سیستین

a: نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه شاهد مثبت با گروه کنترل است.

b: نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های تجربی با گروه شاهد مثبت است.



شکل ۱: فتومیکروگراف از برش عرضی بافت بیضه در گروه‌های مختلف با بزرگنمای  $10\times$  (H&E). A - گروه کنترل، B - گروه دیابتی، C - E به ترتیب گروه‌های تجربی دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ mg/kg ان-استیل سیستئین.

### یافته‌های بافت‌شناسی بیضه

ساختارهای بافتی در گروه دیابتی با استرپتوزوسین تخریب شده و کاهش قابل توجهی در مجموعه‌های سلولی مشاهده گردید. ساختار بافتی بیضه در گروه درمان با ان-استیل سیستئین، بهبود معنی‌داری در مقایسه با گروه دیابتی با استرپتوزوسین نشان داد. این اثرات وابسته به دوز مصرفی ان-استیل سیستئین می‌باشد و در دوز بالا با ان-استیل سیستئین بهبود کامل ساختار بافتی مشاهده شد که قابل مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

همان‌طور که تصاویر میکروسکوپی تهیه شده از بافت بیضه در حیوانات مورد مطالعه نشان می‌دهد بافت بیضه و لوله‌های سمینیفیر در بررسی آسیب‌شناسی حیوانات گروه کنترل سالم و طبیعی مشاهده می‌شوند (شکل A). در حیوانات دیابتی تخریب لوله‌های سمینیفیر همراه با کاهش سلول‌های ژرمینال و سایر سلول‌های تشکیل‌دهنده لوله‌های سمینیفیر و همچنین ادم فضای بین‌بافتی به خوبی قابل مشاهده است (شکل B). در حالی که مقادیر مختلف ان-استیل سیستئین میزان آسیب‌ها را در حیوانات دیابتی درمان شده به مقدار قابل ملاحظه‌ای کاهش داده است. از طرفی قطر لوله‌های سمینیفیر و

ضخامت در حیوانات دیابتی شده با استرپتوزوسین کاهش یافت در حالی که در گروه‌های تجربی تیمار شده با مقادیر مختلف ان-استیل سیستئین از این تغییرات در حیوانات دیابتی درمان شده جلوگیری کرد. این اثرات وابسته به دوز مصرفی ان-استیل سیستئین بود (اشکال C, D, E).

### بحث

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی و لیدینگ در تمام گروه‌های تجربی دریافت‌کننده ان-استیل سیستئین نسبت به گروه شاهد مثبت دریافت‌کننده استرپتوزوسین افزایش معنی‌داری نشان داد. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ دریافت‌کننده ان-استیل سیستئین نسبت به گروه شاهد مثبت دریافت‌کننده استرپتوزوسین افزایش معنی‌داری نشان داد. میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه تجربی ۳ دریافت‌کننده ان-استیل سیستئین نسبت به گروه شاهد مثبت دریافت‌کننده استرپتوزوسین افزایش معنی‌داری نشان داد. دیابت همچنین منجر به تغییرات آسیب‌شناختی در لوله‌های



در مطالعه دی سیلوا و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داده شد که هم القایی ان-استیل سیستین اثرات مخرب آرسنیک تری اکسید بر سیستم زاینده موش نر را تصحیح می‌کند.<sup>۲۹</sup> نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه فنگ و همکاران در سال ۲۰۱۵ مشخص گردید که ان-استیل سیستین دارای اثرات تصحیح کننده بر استرس اکسیداتیو و صدمه DNA القاشده توسط فلورید در بیضه موش‌های صحرایی نر می‌باشد.<sup>۳۰</sup> نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه ردی و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داده شد که ان-استیل سیستین دارای اثرات حفاظتی بر علیه استرس اکسیداتیو و مسمومیت تولید مثلی القاشده توسط آرسنیک اسید در موش سوری نر می‌باشد.<sup>۳۱</sup> نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه آکناس و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داده شد که ان-استیل سیستین دارای اثرات حفاظتی بر صدمه بیضه ای القاشده توسط اِسکمی و پرپیژون تجربی در موش‌های صحرایی می‌باشد.<sup>۳۲</sup> نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه باردوآج و همکاران در سال ۲۰۱۸ نشان داده شد که ان-استیل سیستین قطعه قطعه شدن DNA القاشده توسط مالاتیون و پارامترهای استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد که به موجب آن پراکسیداسیون لیپید کاهش یافته و قدرت آنتی اکسیدانتی احیاکنندگی فریک در درون سلولهای زاینده بیضه تحریک می‌شود. بنابراین ان-استیل سیستین مسمومیت بیضه ای القاشده توسط مالاتیون را بهبود بخشیده و می‌تواند در درمان ناباروری بکار رود.<sup>۳۳</sup> نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه لی و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داده شد که ان-استیل سیستین دارای اثر حفاظتی بر علیه مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده سلول های زاینده القاشده توسط کادمیوم از طریق مهار استرس شبکه اندوپلاسمی در بیضه‌ها می‌باشد.<sup>۳۴</sup> نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه تورکمان و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داده شد که

سمینفر در موش‌های صحرایی دیابتی گردید. این درحالی است که مقادیر مختلف ان-استیل سیستین این تغییرات را در گروه‌های تجربی بهبود بخشیدند. به طور کلی دیابت با ایجاد رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو منجر به اکسیداسیون لیپید، پروتئین، آسیب به DNA گردیده، متعاقباً آسیب گسترده ای را در بیضه‌ها ایجاد می‌کند. دیابت تغییرات بافتی بیضه را از طریق آپوپتوز، آتروفی و کاهش قطر توپول های سمینفر و کاهش مجموعه های سلولی اسپرماتوزیک ایجاد می‌نماید.<sup>۳۵</sup> لذا آتروفی لوله‌های اسپرم ساز سلول اسپرماتوزیک نشانه اختلال مورفولوژیک در اسپرماتوزن محسوب می‌شود.<sup>۳۶</sup> بیماران نابارور پس از تیمار با ان-استیل سیستین در مواردی شامل شمارش سلولی، حرکت و مورفولوژی اسپرم بهبودی قابل ملاحظه ای را نشان دادند.<sup>۳۱</sup> از طرفی ان-استیل سیستین می‌تواند موجب کاهش آپوپتوز در سلول‌های زایای مردانه و در نهایت افزایش بقای آنها گردد.<sup>۳۲</sup> مطالعات بسیاری نشان داده اند که بین شرایط استرس اکسیداتیو در اسپرم و نقص عملکرد اسپرماتوزوآ رابطه وجود دارد.<sup>۳۳</sup> مطالعات آسیب‌های بیضه ناشی از نانوذرات و مهار اسپرماتوزن ممکن است به تغییرات بافتی در بیضه منجر شود. براین اساس تحقیقات انجام شده بر روی موش‌های صحرایی نر بیمار شده با نانو ذرات تیتانیم اکساید نشان داد که تیمار این موش‌های صحرایی با ان استیل سیستین سبب بهبود لوله‌های اسپرم ساز می‌شود.<sup>۳۴</sup> سلول های اسپرم پستانداران دارای مقادیر بالای اسید های چرب غیراشباع در پلاسما لوزن و اسفنگومیلین است که سوبستراهای مهم عمل اکسیداسیون به شمار می‌روند.<sup>۳۵</sup> در حالت طبیعی، آنتی اکسیدان در بافت‌های تولید مثلی وجود داشته و از بروز آسیب های اکسیداتیو در گنادهای بالغ و اسپرماتوزوآ جلو-گیری می‌کنند.<sup>۳۶</sup>

در مطالعه المبو و همکاران در سال ۲۰۱۸ نشان داده شد که ان-استیل سیستین دارای اثرات آنتی اکسیدانتی و حفاظتی بر علیه صدمه اسپرماتوزن ایجاد شده توسط پارانویل فنول می‌باشد.<sup>۳۷</sup> نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه محمدی-ساردو و همکاران در سال ۲۰۱۸ مشخص گردید که ان-استیل سیستین دارای اثرات حفاظتی بر صدمه اکسیداتیو بیضه ای القاشده توسط مانکوزب می‌باشد.<sup>۳۸</sup> نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد.

## نتیجه‌گیری کلی

دیابت تأثیرات ناخوشایندی بر سیستم تولید مثلی مردانه دارد و باعث کاهش معنی‌دار جمعیت سلولی رده اسپرماتوژنز می‌شود. از طرفی ان-استیل سیستئین می‌تواند تأثیر بسزایی بر بهبود اسپرماتوژنز داشته باشد. افزایش دوز ان-استیل سیستئین با افزایش جمعیت سلولی رده اسپرماتوژنز اثرات مثبتی بر بهبود باروری در مردان دیابتی خواهد داشت. با توجه به نتایج بررسی‌های انجام شده می‌توان این چنین بیان کرد که مصرف ان-استیل سیستئین در دوز ۴۰۰ mg/kg بیشترین تأثیر را بر بهبود اسپرماتوژنز خواهد داشت.

## تشکر و سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان‌نامه دکتری تخصصی خانم مریم حسن زاده مقدم می‌باشد. از زحمات مقامات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر قوامی شیراز و کلیه اساتید محترمی که در طول این پژوهش ما را از راهنمایی خود بهره‌مند ساخته‌اند نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

## References

- Ghasemi M, Talebi A, Rahmany M, Nahangi H, Ghanizadeh T. Effects of Diabetes Mellitus type 2 on Semen Parameters. *JSSU*. 2017; 25 (8): 621-628.
- Vignon F, Le Faou A, Montagnon D, Pradignac A, et al. Comparative study of semen in diabetic and healthy men. *Diabete Metab*. 1991;17(3):350-4.
- Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Diabetes mellitus and sperm parameters. *J andrology* 2012; 33(2): 145-53.
- Ercal N, Treeratphan P, Lutz P, Hammond TC, Matthews RH. N-acetylcysteine protects Chinese hamster ovary (CHO) cells from lead-induced oxidative stress. *Toxicology* 1996;15;108(1-2): 57-64.
- Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989;6(6): 593-7.
- Dekhuijzen P. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2004;23(4): 629-36.
- Lee SI, Kang KS. N-acetylcysteine modulates lipopolysaccharide-induced intestinal dysfunction. *Sci Rep*. 2019;9(1):1004.
- Cui J, Li T, Hong Q, Lin S, Sun X, Cai G, Bai XY, Chen X. N-Acetylcysteine Ameliorates Gentamicin-Induced Nephrotoxicity by Enhancing Autophagy and Reducing Oxidative Damage in Miniature Pigs. *Shock*. 2019. doi: 10.1097/SHK.0000000000001319.
- Ma Z, Song G, Liu D, Qian D, Wang Y, Zhou J, Gong J, Meng H, Zhou B, Yang T, Song Z. N-Acetylcysteine enhances the therapeutic efficacy of bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in rats with severe acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2019. pii: S1424-3903(19)30005-5.
- Kheradmandi R, Jorsaraei SGA, Feizi F, Moghadamnia AA, Neamati N. Protective Effect of N-Acetyl Cysteine on Chlorpyrifos-Induced Testicular Toxicity in Mice. *Int J Fertil Steril*. 2019;13(1):51-56.
- Galal AAA, Ramadan RA, Metwally MMM, El-Sheikh SMA. Protective effect of N-acetylcysteine on fenitrothion-induced toxicity: The antioxidant status and metabolizing enzymes expression in rats. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2019;171:502-510.
- Hu Y, Wang Y, Yan T, Feng D, Ba Y, Zhang H, Zhu J, Cheng X, Cui L, Huang H. N-acetylcysteine alleviates fluoride-induced testicular apoptosis by modulating IRE1 $\alpha$ /JNK signaling and nuclear Nrf2 activation. *Reprod Toxicol*. 2019;84:98-107.

13. Shittu SA, Shittu ST, Akindele OO, Kunle-Alabi OT, Raji Y. Protective action of N-acetylcysteine on sperm quality in cyclophosphamide-induced testicular toxicity in male Wistar rats. *JBRA Assist Reprod*. 2019. doi: 10.5935/1518-0557.20180079.
14. Goncalves S, Goldstein BJ. Acute N-Acetylcysteine Administration Ameliorates Loss of Olfactory Neurons Following Experimental Injury In Vivo. *Anat Rec (Hoboken)*. 2019. doi: 10.1002/ar.24066.
15. Heil J, Schultze D, Schemmer P, Bruns H. N-acetylcysteine protects hepatocytes from hypoxia-related cell injury. *Clin Exp Hepatol*. 2018;4(4):260-266.
16. Zhou Y, Wang HD, Zhou XM, Fang J, Zhu L, Ding K. N-acetylcysteine amide provides neuroprotection via Nrf2-ARE pathway in a mouse model of traumatic brain injury. *Drug Des Devel Ther*. 2018;12:4117-4127.
17. More J, Galusso N, Veloso P, Montecinos L, Finkelstein JP, Sanchez G, Bull R, Valdés JL, Hidalgo C, Paula-Lima A. N-Acetylcysteine Prevents the Spatial Memory Deficits and the Redox-Dependent RyR2 Decrease Displayed by an Alzheimer's Disease Rat Model. *Front Aging Neurosci*. 2018;10:399.
18. Didem OnkI, Oruç Alper OnkII, Hüseyin Serkan ErolIII, et al. Effect of melatonin on antioxidant capacity, inflammation and apoptotic cell death in lung tissue of diabetic rats1. *Acta Cir Bras*. 2018;33(4):375-385.
19. Muthukumaran Jayachandran, Ramachandran Vinayagam, Ranga Rao Ambati, Baojun Xu, Stephen Sum Man Chung. Guava Leaf Extract Diminishes Hyperglycemia and Oxidative Stress, Prevents  $\beta$ -Cell Death, Inhibits Inflammation, and Regulates NF-kB Signaling Pathway in STZ Induced Diabetic Rats. *Biomed Res Int*. 2018; 2018: 4601649.
20. Babaei Balderlou F, Ilkhanipour M, Heidari R, Zare S, Bernousi I. Effect of melatonin on peripheral Neuropathic pain in diabetic rat. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism Services* 2009; 11(1):79-87.[In Persian].
21. Dehghani K, Foroughian F , Tajik A, Taghavi P. The effects of N- acetyl- l- cysteine on reduction of semen viscosity. *Medical Sciences*. 2010; 20 (2) :104-107
22. Erkkilä K, Hirvonen V, Wuokko E, Parvonen M, Dunkel L. N-acetyl-L-cysteine inhibits apoptosis in human male germ cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2523-31
- 23 . Fanaei H, Azizi Y, Khayat S. A Review: Role of oxidative stress in male infertility. *J Fasa Univ Med Sci*. 2013; 3 (2) :93-103
24. Amir M. Bassam Elnagar, Abdelnasser Ibrahim And amro mohammad Soliman. Histopathological Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles and The Possible Protective Role of N-Acetylcysteine on The Testes of Male Albino Rats. *Int J Fertil Steril*. 2018; 12(3): 249–256.
25. Abdollah Nezhad A, Gol A, Dabiri SH, Javadi AD. Effect of allium sativum on testicular damage in streptozotocin induced diabetes. rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism Services* 2009;11(4):443-53.[In Persian].
26. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes form impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985;213:53-62.
27. Malmir M, Soleimani Mehranjani M, Naderi Noreini S, Faraji T. Protective antioxidant effects of N-acetylcysteine against impairment of spermatogenesis caused by paronyl phenol. *Andrologia*. 2018;50(10):e13114.
28. Mohammadi-Sardoo M, Mandegary A, Nabiuni M, Nematollahi-Mahani SN, Amirheidari B. Mancozeb induces testicular dysfunction through oxidative stress and apoptosis: Protective role of N-acetylcysteine antioxidant. *Toxicol Ind Health*. 2018;34(11):798-811.
29. da Silva RF, Borges Cdos S, Villela E Silva P, Missassi G, Kiguti LR, Pupo AS, Barbosa Junior F, Anselmo-Franci JA, Kempinas Wde G. The Co administration of N-Acetylcysteine Ameliorates the Effects of Arsenic Trioxide on the Male Mouse Genital System. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:4257498.
30. Feng D, Huang H, Yang Y, Yan T, Jin Y, Cheng X, Cui L. Ameliorative effects of N-acetylcysteine on fluoride-induced oxidative stress and DNA damage in male rats' testis. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2015;792:35-45.
31. Reddy PS, Rani GP, Sainath SB, Meena R, Supriya Ch. Protective effects of N-acetylcysteine against arsenic-induced oxidative stress and reprotoxicity in male mice. *J Trace Elem Med Biol*. 2011;25(4):247-53.
32. Aktaş BK, Bulut S, Bulut S, Baykam MM, Ozden C, et al. The effects of N-acetylcysteine on testicular damage in experimental testicular ischemia/reperfusion injury. *Pediatr Surg Int*. 2010;26(3):293-8.
33. Bhardwaj JK, Saraf P, Kumari P, Mittal M, Kumar V. N-Acetyl-cysteine mediated inhibition of spermatogonial cells apoptosis against malathion exposure in testicular tissue. *J Biochem Mol Toxicol*. 2018;32(4):e22046.
34. Ji YL, Wang H, Zhang C, Zhang Y, Zhao M, Chen YH, Xu DX. N-acetylcysteine protects against cadmium-induced germ cell apoptosis by inhibiting endoplasmic reticulum stress in testes. *Asian J Androl*. 2013;15(2):290-6.
35. Turkmen R, Akosman MS, Demirel HH. Protective effect of N-acetylcysteine on MK-801-induced testicular oxidative stress in mice. *Biomed Pharmacother*. 2019;109:1988-1993.
36. Jallouli M, El Bini Dhouib I, Dhouib H, Lasram M, Gharbi N, El Fazaa S. Disruption of steroidogenesis after dimethoate exposure and efficacy of N-acetylcysteine in rats: an old drug with new approaches. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016;23(8):7975-84.

Maryam Hassanzadeh Moghadam<sup>1</sup>, Mehrdad Shariati<sup>2\*</sup>, Sirous Naeimi<sup>3</sup>, Mohammad Amin Edalatmanesh<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

<sup>3</sup> Department of Genetics, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

## Study of the Protective Effect of N-acetylcysteine on Testicular Tissue and Spermatogenesis Cells in Streptozotocin-diabetic Adult Rats

Received: 3 Feb. 2019 ; Accepted: 6 Jun. 2019

### Abstract

**Background and aim:** Diabetes affects the testicles by oxidative stress. The aim of this study was to investigate the protective effects of N-acetylcysteine on the number of spermatogenesis cells in diabetic rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 42 adult male Wistar rats were divided into 7 groups of 6. This study was carried out in two periods of 5 and 28 days. Thus, in the first period, the positive sham group and experimental groups received 1 ml streptozotocin solution in distilled water at 50 mg / kg for 5 days intraperitoneally. At the end of the sixth day, the blood glucose levels in rats reached 200 mg / dl. In the second period, control group without any injections, sham group received intraperitoneal injection of distilled water, positive control group without injection, negative sham group received 200 mg / kg of n-acetylcysteine intraperitoneally for 28 days. Experimental group 1, 2 and 3, which included diabetic rats receiving 100, 200 and 400 mg / kg doses of N-acetylcysteine intraperitoneally for 28 days, respectively. At the end of the experimental period, rats were under anesthetized anesthesia. The body weight of all animals was measured and the testicles were removed and examined after staining and staining by hematoxylin-eosin method.

**Results:** Mean body weight, spermatogonia, spermatocyte, spermatid and leydig showed a significant decrease in the positive sham group compared to the control group. The mean number of spermatogonium and leydig cells in all experimental groups showed a significant increase compared to the positive sham group. The mean number of spermatid cells in experimental groups 2 and 3 was significantly higher than the positive sham group. The mean number of spermatocyte cells in the experimental groups 3 was significantly higher than the positive sham group ( $P \leq 0.05$ ). Diabetes also led to pathological changes in the seminiferous tubes in diabetic rats. This is while different amounts of N-acetylcysteine have improved this in experimental groups.

**Conclusion:** The results showed that N-acetylcysteine protects the testicles against diabetes and improved the spermatogenesis process in streptozotocin induced diabetes.

**Keywords:** Diabetes, Spermatogenesis, N-acetylcysteine, Streptozotocin, Testis, Rats

**\*Corresponding Author:**  
Department of Biology,  
Kazerun Branch, Islamic Azad  
University, Kazerun, Iran

Tel: 0917-3133221

E-mail: mehrdadshariati@hotmail.com