

تأثیر تجویز ویتامین E و دگزامتازون بر تغییرات بیوشیمیایی و بافتی کبد ناشی از القای واریکوسل در موش رت

هاجر خسروانیا^{۱*}، فرح فرخی^۲، مزدک رازی^۳، نوگس خسروانیا^۱

چکیده

زمینه و هدف: واریکوسل نه تنها اثرات عملکردی و ساختاری متنوعی بر سیستم تولیدمثلی نر دارد؛ بلکه بر سایر بافت‌های بدن نیز از جمله کبد تأثیرگذار است. بنابراین، در بیماران واریکوسلی تجویز ویتامین E (VE) و دگزامتازون (DEX) توصیه می‌شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر واریکوسل تجربی بر روی کبد و اثرات محافظتی VE و DEX انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه ۳۰ رأس موش رت نر به پنج گروه تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی در ۴ زیرگروه: واریکوسلی؛ واریکوسلی + ویتامین E (۱۵۰mg/kg)؛ واریکوسلی + دگزامتازون (۰/۲۵mg/kg) و واریکوسلی + ویتامین E + دگزامتازون قرار گرفتند. لاپاراتومی ساده در گروه شاهد القا شد. همزمان با اخذ نمونه خونی سطح سرمی؛ گلوکز، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان کربوهیدرات سیتوپلاسمی هپاتوسیت‌ها، به روش رنگ آمیزی پریودیک اسید شیف بررسی شد. آنالیز آماری با استفاده از آزمون واریانس و تست تعقیبی توکی صورت گرفت. سطح معنی‌داری، $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: میزان گلوکز، ALT و AST، به‌طور معنی‌داری در گروه‌های ویتامین E و دگزامتازون نسبت به گروه واریکوسلی کاهش نشان داد ($p < 0/05$). همچنین نکروز، اتساع ورید مرکزی و نفوذ سلول‌های لنفاوی کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج این مطالعه، واریکوسل در دو سطح بیوشیمیایی و بافت‌شناسی باعث بروز آسیب می‌شود که تجویز ویتامین E به همراه دگزامتازون عوارض ناشی از واریکوسل و مضافاً اثرات جانبی دگزامتازون را کاهش می‌دهد.

کلید واژه‌ها: واریکوسل؛ کبد؛ دگزامتازون؛ ویتامین E.

^۱ دانشجوی ارشد بافت‌شناسی و جنین‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۲ دانشیار زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۳ استادیار بافت‌شناسی و جنین‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

هاجر خسروانیا، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
h.khosravanian2012@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۵

تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۱۷

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Khosravanian H, Farrokhi F, Razi M, Khosravanian N. The effect of Vitamin E and dexamethasone Co-administration on varicocle-induced biochemical and histological alterations of liver in rats.
Qom Univ Med Sci J 2014;8(2):1-11. [Full Text in Persian]

مقدمه

مشکلات نازایی و عدم توان باروری در جمعیت مردان در حال افزایش است و بیماری واریکوسل به عنوان یکی از مهم ترین علل ناباروری در زوج های نازا به دلیل ناتوانی جنسی در مردان شناخته شده است. در حدود ۴۰-۲۰٪ از علل نازایی در مردان به دلیل بروز واریکوسل رخ می دهد. با وجود انجام مطالعات متعدد در این مورد، تاکنون پاتوژنز بیماری به خوبی شناخته نشده است (۱،۲). مشکلات التهاب در بافت بیضه افراد مبتلا به واریکوسل به همراه استرس های اکسیدی و نیتریدی شدید در گنادهای مردان مبتلا به واریکوسل، خود دلیلی برای تجویز داروهای ضدالتهاب و آنتی اکسیدانت است. از جمله داروهای ضدالتهاب تجویزی می توان به دگزامتازون و بتامتازون اشاره نمود که با تجویز این دسته از داروها فعالیت های بیوشیمیایی کبد نیز تغییر می کند. در بررسی بافت شناسی بافت بیضه مشخص شده است ادم شدید در بافت بینابینی، اتساع عروق همراه با ترومبوز و نفوذ قابل توجه سلول های ایمنی تک هسته ای به عنوان یکی از مهم ترین علل بروز کاهش توان جنسی در مردان مبتلا به واریکوسل می باشند (۳). تحقیقات هماتولوژیک و بیوشیمیایی نیز نشان داده است در بیماران واریکوسلی ظرفیت آنتی اکسیدان سرم و میزان مولکول های تیول کاهش می یابد. این در حالی است که ترکیبات بیوشیمیایی مخرب بافتی نظیر مالون دی آلدئید، نیتروژن ارگانیک و گروه های کربونیل نیز در بافت افزایش می یابند (۴)، که نتیجه این فرآیند به تخریب بافت بیضه و تولید اسپرماتوزوای غیرطبیعی منجر می شود. بنابراین، با توجه به موارد اشاره شده در بالا، بروز التهابات و همراه شدن آنها با استرس های بیوشیمیایی را می توان به عنوان عوامل بسیار مؤثر در کاهش توان باروری افراد واریکوسلی برشمرد. کبد اندامی مؤثر در حفظ سطح گلوکز خون در محدوده طبیعی بوده و افزایش قندخون منجر به عدم تعادل در واکنش های اکسیداسیون- احیا در درون هپاتوسیت ها می شود. هیپرگلیسمی نیز از طریق افزایش تولید محصولات انتهایی، قنددار شده (AGEPs) (Advanced Glycation End Products)، و باعث تسهیل در تولید رادیکال های آزاد از طریق اختلال در تولید زداینده های درونزا مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می شود (۵،۶).

گلوکوکرتیکوئیدها داروهای قوی هستند که غالباً به طور وسیعی در اختلالات التهابی مانند آسم، آلرژی، عفونت، همچنین در بیماری های خودایمنی مانند آرتریت روماتیسم، گلوکومونفریت، اسکروزیس، اریتروماتوزولوپوس سیستمیک استفاده می شوند (۷). دگزامتازون یک گلوکوکرتیکوئید سنتتیک بوده که قدرت سرکوب کنندگی سیستم ایمنی آن ۳۰-۲۰ بار از هیدروکورتیزون و ۵-۴ بار از پردنیزون بیشتر است (۸). گلوکوکرتیکوئیدها به سرعت در سیستم گردش خون انتشار یافته و هنگام عبور از غشای سلول با اتصال به گیرنده های سیتوپلاسمی، باعث تنظیم رونویسی برخی از ژن ها می شوند. گلوکوکرتیکوئیدها، ژن هایی که نقش مهمی در التهاب دارند مانند سایتوکاین ها و آنزیم های التهابی مثل نیتریک اکسید سنتتاز را غیرفعال می کنند (۹). براساس شواهد قوی موجود، سایتوکاین ها به طور مستقیم می توانند باعث تحریک نسل ROS شوند (۱۰،۱۱). ویتامین E برخلاف دیگر ویتامین های محلول در چربی به طور معمول به صورت سمی در بدن انباشته نمی شود. این مسئله نشان دهنده آن است که متابولیسم و دفع این ویتامین در تنظیم غلظت بافتی ویتامین مذکور مهم و از عوارض جانبی آن بر سلامتی پیشگیری می کند (۱۲). مطالعات نشان می دهد تجویز ویتامین E (به صورت خوراکی) آسیب های بافتی ناشی از اکسیدانت ها را در سطح معنی داری کاهش می دهد (۱۳،۱۴) و اثر آنتی اکسیدانتی ویتامین E نیز به طور مستقیم با مهار رادیکال های آزاد باعث پایداری غشاهای حاوی اسیدچرب اشباع نشده می شود (۱۵). گرایش به درمان دارویی واریکوسل به دلیل پایین بودن احتمال اثر مداخلات جراحی، روز به روز افزایش می یابد. درمان با انواع اشکال دارویی کورتیکواستروئیدها مانند دگزامتازون و یا بتامتازون برای جلوگیری از بروز التهابات سلولی در بافت بیضه به همراه درمان با ترکیبات آنتی اکسیدانتی برای ممانعت از بروز استرس های اکسیدی در حال افزایش است. بنابراین، در مطالعه حاضر به روش تجربی در موش های رت نر واریکوسل القا شد و ویتامین E به عنوان ترکیب آنتی اکسیدانی و دگزامتازون به عنوان مهارکننده التهاب و ادم تجویز گردید تا تغییرات مربوط به ساختار بافت شناسی کبد و آنزیم های کبدی در بیماران واریکوسلی مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش بررسی

در این مطالعه، از ۳۰ رأس موش رت نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزنی 230 ± 30 g استفاده شد. تمامی حیوانات در محیط پرورشی استاندارد با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. غذا و آب به میزان کافی در اختیار حیوانات قرار گرفت. حیوانات متعاقب یک هفته سازگاری با محیط پرورشی، به طور تصادفی به ۵ گروه شاهد و گروه‌های آزمایشی تقسیم شدند و در هر گروه ۶ رأس موش رت قرار گرفت. برای ایجاد بی‌دردی مناسب در حیوانات، اقدام به بیهوشی عمومی به واسطه تزریق داخل صفاقی زایلانین ۲٪، به میزان ۵ mg/kg و داروی بیهوشی کتامین ۵٪ به میزان ۴۰ mg/kg گردید (۱۶). همزمان با بیهوشی عمومی، موش‌ها را در حالت خوابیده به پشت بر روی تخته مخصوص عمل جوندگان قرار داده و موهای ناحیه شکمی آنها به طور کامل با موزر تراشیده شد، سپس با الکل ۷۰ و محلول موضعی بتادین (پوئیدون آیدواین ۱۰٪) استریل شد. برای ایجاد واریکوسل تجربی، ابتدا یک برش ۲ سانتی‌متری در خط میانی شکم ایجاد شد، سپس اقدام به جداسازی و مشخص نمودن ورید کلیوی چپ، ورید میان خالی خلفی، بیضه‌ای داخلی و آدرنال گردید. در ادامه، ورید کلیوی چپ از بافت‌های مجاور جدا و نخ سیلک نمره ۴-۰ از زیر ورید مزبور عبور داده شد، سپس با قرار دادن سوزن بخیه Blunt به قطر ۰/۵ در کنار ورید، لیگاتور ناقصی بر روی ورید کلیوی القا گردید. لیگاتور ناقص در حفاصل ورید میان خالی خلفی و ورید بیضه‌ای چپ القا شد. متعاقب القای لیگاتور، سوزن بخیه Blunt از داخل لیگاتور خارج و در نتیجه به علت شل شدن لیگاتور (به میزان قطر سوزن) علاوه بر کاهش قطر خارجی ورید، جریان مجدد خون در داخل ورید برقرار گردید (۱۶). همزمان با اتمام عمل جراحی و قبل از بخیه، برش دیواره شکم محوطه بطنی و احشای حیوانات با محلول نرمال سالین شستشو داده شد. به منظور بخیه برش از نخ ویکریل نمره ۳-۰ و روش بخیه ساده تکی و برای بخیه برش پوست از نخ سیلک نمره ۴-۰ و روش بخیه ضربدری استفاده گردید. سپس بخیه پوست با استفاده از اسپری تتراسایکلین پانسمان شد. در گروه شاهد تنها لاپراتومی ساده صورت گرفت. گروه‌های آزمایشی به ۴ زیرگروه تقسیم شدند که در تمامی موش‌ها واریکوسل القا شد.

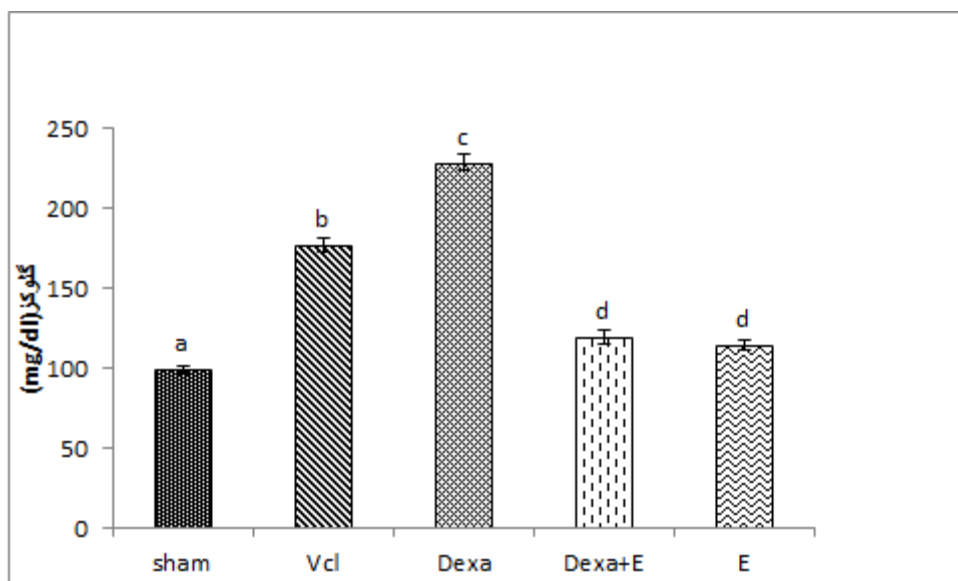
در گروه آزمایشی اول (VCL) به مدت ۲ ماه هیچ درمانی صورت نگرفت. در گروه آزمایشی دوم (VCL+DEX) موش‌های واریکوسلی توسط دگزامتازون با دوز (۰/۲۵ mg/kg) از طریق تزریق داخل صفاقی (به مدت ۲ ماه) درمان شدند. موش‌های گروه سوم (VCL+DEX+E) به شکل همزمان دو ترکیب دگزامتازون و ویتامین E را دریافت کردند. در نهایت، گروه چهارم (VCL+E) با ویتامین E در دوز ۱۵۰ mg/kg به شکل گاواژ (به مدت ۲ ماه) درمان شدند. همه موش‌ها پس از اتمام دوره تیمار با دی‌متیل اتر خونی (۳۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفوژ شده و نمونه‌های سرمی جدا گردید. سطوح سرمی گلوکز، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) براساس دستورالعمل کیت‌های اختصاصی (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شدند. غلظت گلوکز سرم به روش Barham با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالیزور (مدل RA1000 ساخت شرکت تکنیکون آمریکا) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش آب اکسیژنه آزادشده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز، با فنل و ۴- آمینو آنتی‌پیرین در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کمپلکس رنگی کینونیمین داد (میزان کینونیمین تشکیل شده که به صورت فتومتریک قابل اندازه‌گیری است با مقدار گلوکز رابطه مستقیم دارد و افزایش رنگ در طول موج ۵۰۰ nm اندازه‌گیری می‌شود) (۱۷). سنجش آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) سرم با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و براساس دستورالعمل‌های مربوطه با دستگاه اتوآنالیزور (مدل RA1000 ساخت شرکت تکنیکون آمریکا) اندازه‌گیری شد. ترانس آمینازها واکنش‌هایی را کاتالیز می‌کنند که حاصل آن آزاد کردن استات است. آزاد استات حاصل نیز دیکربوکسیله شده و ایجاد پیرووات می‌کند. پیرووات حاصل با ۲ و ۴ دی‌نیتروفنیل، هیدرازین تشکیل می‌دهد که در محیط قلیایی به کمپلکس قهوه‌ای رنگ تبدیل می‌شود. (فعالیت این آنزیم با اندازه‌گیری این رنگ در ۳۴۰ nm منحنی استاندارد محاسبه می‌شود). در سنجش ترانس آمینازها فقط سوبسترها با هم فرق دارند و بقیه شرایط یکسان می‌باشد (۱۸، ۱۹). برای مطالعه بافت‌شناسی ۲ ماه بعد از تیمار و آسان‌کشی حیوانات، نمونه‌های کبدی آنها برداشته شد.

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و آزمون واریانس و تست تعقیبی توکی صورت گرفت. سطح معنی داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه بیشترین سطح سرمی گلوکز به ترتیب در موش‌های گروه‌های VCL+DEX و VCL مشاهده شد. سطح سرمی گلوکز در گروه درمان‌شده با دگزامتازون، نسبت به گروه دگزامتازون همراه با ویتامین E، به طور معنی داری بالا بود ($p < 0.05$). این در حالی است که سطح گلوکز سرمی موش‌های درمان‌شده با دگزامتازون حتی بالاتر از گروه واریکوسلی بود. همچنین سطح سرمی گلوکز در گروه درمان‌شده با ویتامین E نسبت به گروه درمان‌شده با دگزامتازون همراه با ویتامین E، کاهش نشان داد، اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($p > 0.05$) (نمودار شماره ۱ و جدول).

سپس نمونه‌ها با نرمال سالین شستشو داده شدند و بعد از گذراندن مراحل آماده‌سازی بافتی و تهیه بلوک‌های پارافینی، مقاطع بافتی به قطر ۵ میکرون تهیه گردید. در ادامه، مقاطع بافتی به روش پریودیگ اسید شیف (PAS) رنگ‌آمیزی شدند. جهت مشخص کردن واکنش کربوهیدرات در بافت‌ها از واکنش ابتدا قالب‌های پارافینی که حاوی نمونه‌های مورد نظر بودند تهیه و با ایجاد برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون، بر روی اسلایدهای از قبل آماده‌شده منتقل شدند. سپس نمونه‌ها به وسیله گزلیل، پارافین‌زدایی شده و لام‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در اسید پریودیگ قرار گرفتند. متعاقباً نمونه‌ها با آب مقطر شسته شده و به مدت ۲۵ دقیقه در محلول شیف قرار گرفتند. سپس به مدت ۱۰-۵ دقیقه مجدداً در آب جاری شستشو داده شدند. جهت رنگ‌آمیزی افتراقی نیز نمونه‌ها با رنگ هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی و مجدداً در آب شسته شدند. در انتها لام‌ها در الکل مطلق قرار گرفتند و سپس توسط گزلیل شفاف شدند (۲۰).



نمودار شماره ۱: اثر دگزامتازون و ویتامین E بر سطح سرمی گلوکز رت‌های واریکوسلی

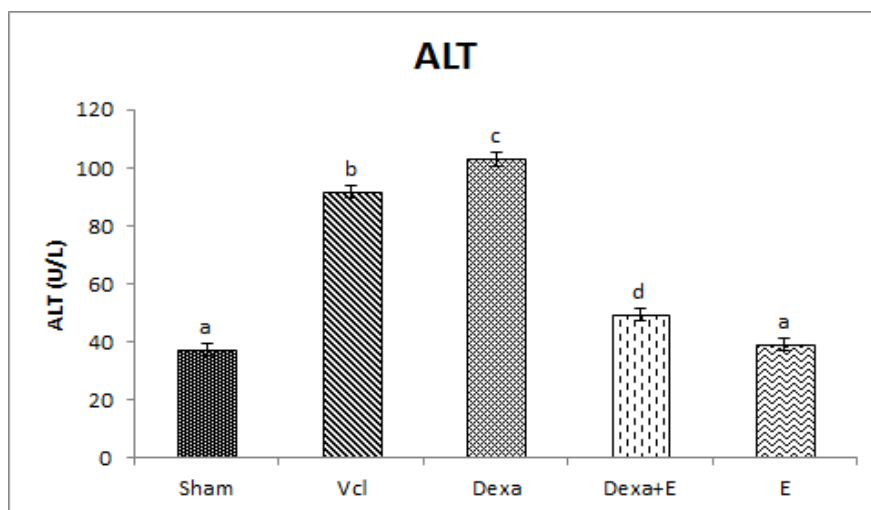
داده‌ها بر اساس میانگین $\pm$ انحراف معیار (۶ رأس موش در هر گروه) ارائه شده‌اند.

a, b, c: حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی دار است ($p < 0.05$) sham شاهد، Vcl: واریکوسل، Dex: دگزامتازون،

Dex+E: دگزامتازون ویتامین E، E: ویتامین E

همچنین اختلاف معنی‌داری بین داده‌های مربوط به گروه VCL+DEX و VCL+DEX+E نیز مشاهده شد ($p < 0.05$)، اما گروه تیمار شده با ویتامین E نسبت به گروه شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$) (نمودار شماره ۲ و جدول).

سطح آلانین آمینوترانسفر از سرم در گروه تیمار شده با دگزامتازون و گروه واریکوسل نسبت به سایر گروه‌ها، به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد ($p < 0.05$). تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی ALT بین گروه‌های VCL+DEX+E در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید ($p < 0.05$).



نمودار شماره ۲: اثر دگزامتازون و ویتامین E بر سطح ALT سرم رت‌های واریکوسلی

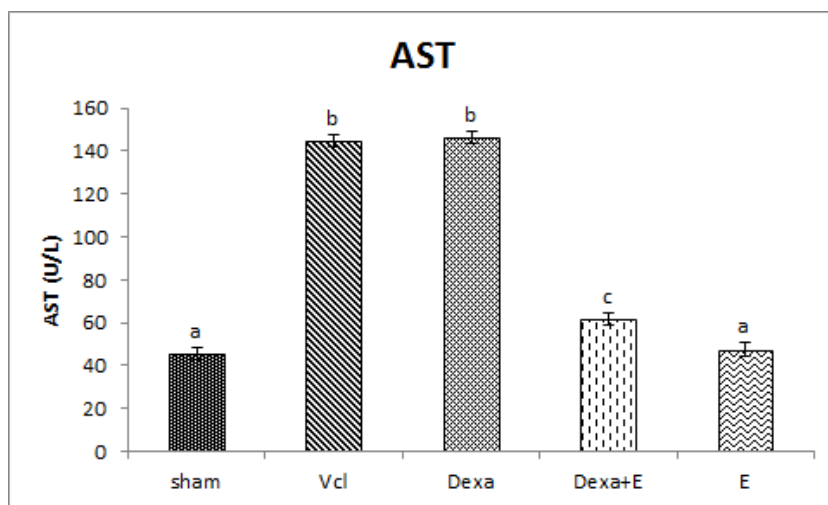
داده‌ها براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار (۶ رأس موش در هر گروه) ارائه شده‌اند.

a, b, c, d: حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$). sham: شاهد، Vcl: واریکوسل، Dexa:

دگزامتازون، Dexa+E: دگزامتازون و ویتامین E، E: ویتامین E

به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$)، ولی بین دو گروه VCL+E و شاهد تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای مشاهده نشد ($p > 0.05$) (نمودار شماره ۳ و جدول).

سطح آسپاراتات آمینوترانسفر از سرم در گروه واریکوسلی و گروه تیمار شده با دگزامتازون نسبت به سایر گروه‌ها به‌صورت معنی‌داری افزایش نشان داد ($p < 0.05$). سطح AST سرم در گروه VCL+DEX نسبت به گروه تیمار شده با گروه VCL+DEX+E،



نمودار شماره ۳: اثر دگزامتازون و ویتامین E بر سطح AST سرم رت‌های واریکوسلی

داده‌ها براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار (۶ رأس موش در هر گروه) ارائه شده‌اند.

a, b, c, d: حروف غیرمشابه در هر ستون، نشانگر اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$). sham: شاهد، Vcl: واریکوسلی،

Dexa: دگزامتازون، Dexa+E: دگزامتازون و ویتامین E، E: ویتامین E

جدول: شاخص‌های بیوشیمیایی در رت‌های واریکوسلی تحت تأثیر دگزامتازون و ویتامین E

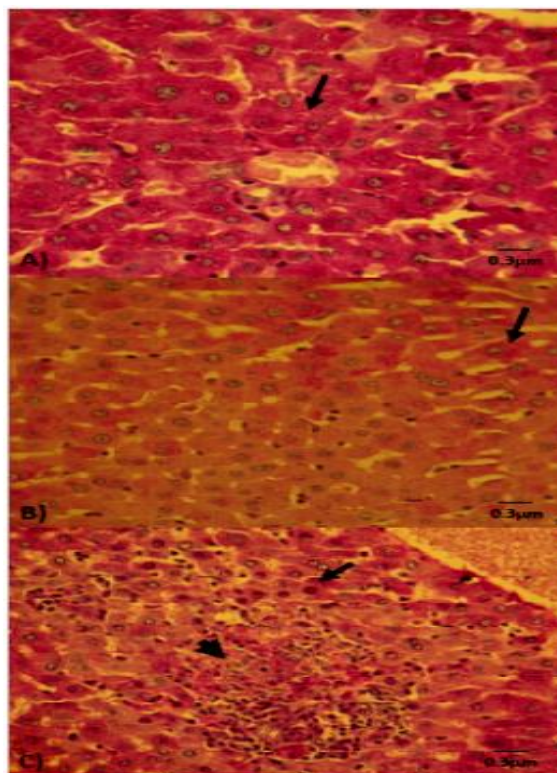
پارامترها	Sham	Vcl	Dexa	Dexa+E	E
گلوکز (mg/dl)	99/3±2/4 ^a	176/4±4/3 ^b	228/1±5/0 ^c	118/8±4/4 ^d	114/3±3/1 ^d
ALT (U/L)	37/4±2/1 ^a	91/7±2/1 ^b	103/0±2/3 ^c	49/5±2/2 ^d	39/2±2/0 ^a
AST (U/L)	45/4±2/8 ^a	144/5±2/9 ^b	146/3±2/8 ^b	61/6±3/0 ^c	47/5±3/2 ^a

داده‌ها براساس میانگین±انحراف معیار (۶ رأس موش در هر گروه) ارائه شده‌اند. a, b, c, d: حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر اختلاف

معنی‌دار است (p<0/05): sham: شاهد، Vcl: واریکوسلی، Dexa: دگزامتازون، Dexa+E: دگزامتازون و ویتامین E، E: ویتامین E

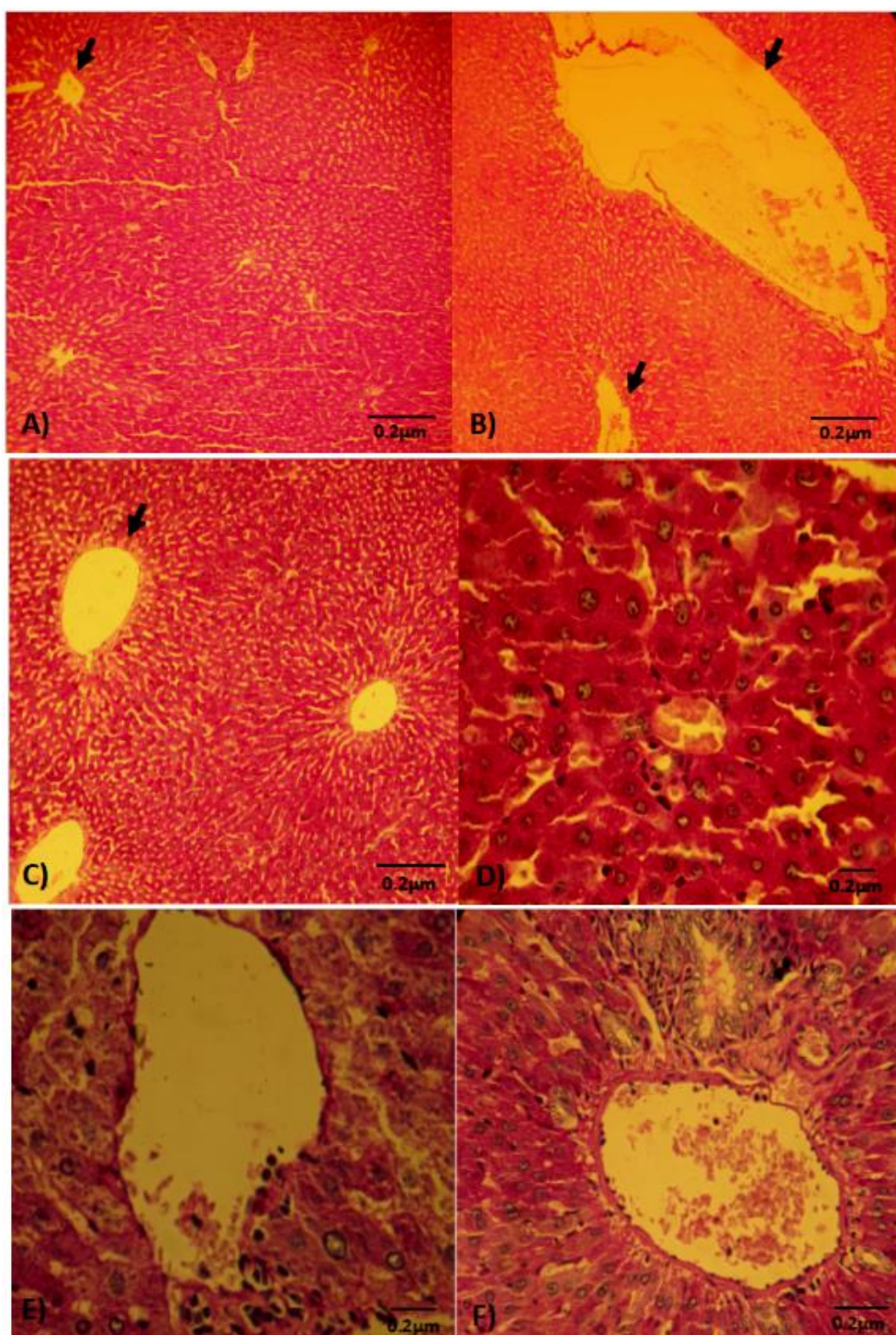
نیز مشاهده شد، اما نفوذ سلول‌های تک‌هسته‌ای رؤیت نشد. در گروه VCL+DEX+E ورید مرکزی و ذخایر گلیکوژن بافتی تقریباً مشابه با گروه شاهد ارزیابی گردید. در گروه تیمار شده با ویتامین E، ذخایر گلیکوژن بافتی افزایش یافته و اتساع ورید مرکزی نیز دیده نشد (شکل شماره ۲).

در بررسی‌های بافتی کبد موش‌های واریکوسلی، ذخایر گلیکوژن بافتی کاهش نشان داد، همچنین نکروز هپاتوسیت‌ها و نفوذ سلول‌های تک‌هسته‌ای، به‌خصوص لمفوسیت‌ها و اتساع ورید مرکزی در مقاطع بافتی موش‌های واریکوسلی مشاهده شد (شکل شماره ۱). در گروه VCL+DEX کاهش ذخایر گلیکوژن بافتی نسبت به گروه واریکوسلی بیشتر بود و اتساع ورید مرکزی



شکل شماره ۱: برش عرضی از بافت کبد: (A) گروه شاهد؛ (B) گروه (VCL+DEX) واریکوسلی تیمار شده با دگزامتازون؛ (C) گروه (VCL) واریکوسل.

سلول‌های PAS مثبت با پیکان نمایش داده شده‌اند. میزان ذخایر کربوهیدراتی در گروه‌های درمانی VCL+DEX و VCL در سطح قابل توجهی کاهش یافته است. محل نکروز سلول‌های کبدی و نفوذ سلول‌های ایمنی تک‌هسته‌ای در تصویر (C) نمایش داده شده‌اند (نوک پیکان). رنگ‌آمیزی PAS، بزرگنمایی ۴۰۰ برابر



شکل شماره ۲: برش عرضی از بافت کبد: (A) گروه شاهد؛ (B) گروه VCL+DEX؛ (C) گروه VCL+DEX+E؛ (D) گروه VCL+E؛ (E) گروه VCL+DEX؛ (F) گروه VCL. ورید مرکزی با پیکان نمایش داده شده‌اند. علاوه بر اتساع ورید مرکزی، اتساع ورید پورتال نیز در گروه VCL و VCL+DEX می‌شود (پیکان بالا در شکل B). محل تکروز سلول‌های کبدی در شکل (E) و نفوذ سلول‌های ایمنی تک‌هسته‌ای در شکل (F) نمایش داده شده‌اند (نوک پیکان). رنگ آمیزی PAS، تصاویر A, B, C بزرگنمایی ۱۰۰ برابر و تصاویر D, E, F بزرگنمایی ۴۰۰ برابر

بحث

مطالعه حاضر نشان داد تجویز داروی دگزامتازون در بیماران واریکوسلی برای جلوگیری از التهابات بافت بیضه می‌تواند آسیب‌های بافتی واضحی را در بافت کبد القا و بدین ترتیب فاکتورهای بیوشیمیایی وابسته به بافت کبد را در بیماران واریکوسلی دچار تغییر کند. در تحقیق حاضر، تجویز داروی دگزامتازون در موش‌های واریکوسلی باعث افزایش قابل توجه در سطح ALT، AST و گلوکز گردش خون شد. در مقابل، تجویز ویتامین E به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانت، میزان آسیب‌های بافتی در کبد و تغییرات بیوشیمیایی ناشی از آن را به شکل قابل‌ملاحظه‌ای کاهش داد. بدین ترتیب آسیب‌های بافتی در موش‌هایی که ویتامین E را با دگزامتازون دریافت نمودند، کمتر بود، همچنین تجویز ویتامین E باعث تنظیم سطوح سرمی ALT، AST و گلوکز سرم گردید.

کبد محل اصلی سمیت‌زدایی داروها در بدن است. در ارزیابی آسیب کبد، سنجش سطوح آنزیم‌هایی نظیر ALT، AST و ALP به‌طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد. نکرور بافت کبدی یا آسیب به غشای هپاتوسیت‌ها باعث رها شدن این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود. افزایش سطح ALT در سرم، آسیب‌های کبدی نظیر هپاتیت‌های ویروسی، انفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی را نشان می‌دهد. در همین راستا، سطوح سرمی آنزیم مذکور در موش‌های گروه‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت و مشاهده گردید سطح سرمی آنزیم مذکور در گروه واریکوسلی و گروهی که دگزامتازون را به تنهایی دریافت کرده‌اند، بالاتر از سایر گروه‌ها می‌باشد. در این راستا، مطالعات انجام‌شده بافت‌شناسی برای ارزیابی هرگونه آسیب بافتی نیز نشان داد آسیب‌های بافت کبدی (اتساع عروق پورتال، وریدهای مرکزی و نکرور سلول‌های هپاتوسیتی) در موش‌های درمان‌شده با دگزامتازون و در موش‌های واریکوسلی (البته به میزان بیشتر)، به شکل قابل‌توجهی بالاتر از سایر گروه‌ها بوده است. همچنین قابل‌ذکر است که آسیب‌های بافتی کبد در دو گروه واریکوسلی و درمان‌شده با دگزامتازون می‌تواند تا حدود بسیار زیادی در افزایش ALT سرمی دخیل باشد. از طرفی، مطالعات قبلی نیز نشان دادند استفاده درازمدت از دگزامتازون باعث افزایش میزان

گلوکز، ALT، AST سرم و افزایش فشار خون می‌شود که به‌نوبه خود منجر به آسیب‌های بافتی کبد می‌گردد (۲۱، ۲۲). مطالعات قبلی نشان دادند آلانین آمینوترانسفراز (ALT) تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند و برای کبد اختصاصی‌تر بوده و پارامتر مناسب‌تری نیز برای تشخیص آسیب کبدی می‌باشد (۲۳). همچنین با توجه به گزارش‌های قبلی، سطوح سرمی افزایش‌یافته آنزیم ALT حاکی از نشت سلولی بوده و نشانگر آسیب ساختاری بافت کبد و اختلال عملکرد غشاهای سلولی هپاتوسیت‌ها در کبد می‌باشد (۲۴).

این نکته در یافته‌های بیوشیمیایی و بافت‌شناختی مطالعه حاضر به‌خوبی نشان داد که سطوح سرمی ALT در موش‌های واریکوسلی و درمان‌شده با دگزامتازون به تنهایی در سطح قابل‌توجهی بالاتر می‌باشد و این در حالی است که تجویز ویتامین E باعث کاهش سطح سرمی آنزیم مذکور می‌شود. بنابراین، می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که ویتامین E به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانت می‌تواند آسیب‌های غشایی احتمالی ناشی از استرس‌های مختلف بافتی (نظیر استرس اکسیدی) ایجادشده در اثر واریکوسل و دگزامتازون را کاهش دهد و بدین ترتیب آسیب‌های بافتی و تغییرات بیوشیمیایی مربوط به کبد محدودتر می‌شود. کاهش قابل‌ملاحظه در انتشار سلول‌های ایمنی در بافت کبد موش‌های درمان‌شده با ویتامین E به تنهایی و دگزامتازون+ویتامین E نیز می‌تواند این فرضیه را تأیید کند. کبد به‌عنوان یکی از نقاط تأثیرپذیر انسولین، نقش مهمی را در حفظ و ثبات سطوح گلوکز خون بازی می‌کند (۲۵، ۲۶). همان‌طوری‌که در بالا ذکر گردید واریکوسل نه تنها اثرات عملکردی و ساختاری متنوعی بر سیستم تولیدمثلی نر دارد؛ بلکه بر سایر بافت‌های بدن از جمله کبد نیز تأثیرگذار است. با توجه به اینکه کبد در ذخیره منابع کربوهیدراتی نقش فیزیولوژیک مهمی را ایفا می‌کند، بنابراین هرگونه آسیب به این بافت قادر است تا ذخایر گلیکوژنی کبد را دچار تغییر کند. در مطالعه حاضر افزایش گلوکز سرم در گروه‌های واریکوسلی و تیمارشده با دگزامتازون قابل‌مشاهده بود و افزایش گلوکز سرم در گروه تیمارشده با دگزامتازون نسبت به گروه واریکوسلی نیز معنی‌دار بود. یافته اخیر بیانگر این نکته است که دگزامتازون باعث افزایش گلوکز سرم

سلول‌های لیدیگ نیز کاهش یافته و در نتیجه سطح تستوسترون خونی تا حدودی حفظ می‌شود که این نکته به نوبه خود قادر است تا در حفظ غلظت سرمی گلوکز دخیل باشد. در راستای این فرضیه، این نکته نیز به خوبی مشخص شده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانت با بهبود روند گلوکونئوز، تأثیرات مہاری بر روی سطح سرمی گلوکز را دارا هستند (۳۲). همچنین تجویز ویتامین E با کاهش استرس اکسیداتیو می‌تواند در بهبود عملکرد انسولین مؤثر باشد (۳۳، ۳۲).

نتیجه‌گیری

طبق نتایج این مطالعه، واریکوسل به تنهایی قادر است تا در سطوح سرمی ALT، AST و گلوکز تغییر ایجاد کند، اما تجویز ترکیبات ضدالتهاب مانند دگزامتازون علاوه بر مهار آسیب‌های ناشی از واریکوسل در بافت بیضه، قادر است تا اثرات مخرب واریکوسل را بر روی مؤلفه‌های بیوشیمیایی مرتبط با بافت کبد افزایش دهد. بنابراین، تجویز همزمان آنتی‌اکسیدانتی مانند ویتامین E می‌تواند در جهت بهبود خود واریکوسل مؤثر باشد، همچنین عوارض جانبی دگزامتازون نیز در سطح قابل توجهی کاهش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر توسط حمایت‌های مالی و آزمایشگاهی بخش زیست‌شناسی دانشکده علوم و بخش بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی به انجام رسیده است، لذا نویسندگان این مقاله بدین وسیله قدردانی خود را از تمامی همکاران بخش‌های مذکور اعلام می‌دارند.

می‌شود. مطالعات قبلی بر روی مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد دگزامتازون با تحریک روند گلوکونئوز، گلوکز خون را افزایش می‌دهد (۲۷). لذا می‌توان این گونه نتیجه‌گیری کرد که افزایش سطح سرمی گلوکز در موش‌هایی که دگزامتازون را دریافت می‌کنند می‌تواند در اثر دو مکانیسم متفاوت رخ دهد: اول اینکه بروز آسیب‌های بافتی در بافت کبد، روند ذخیره منابع کربوهیدراتی را در این موش‌ها دچار اختلال کرده و بدین ترتیب این منابع به شکل گلوکز در گردش خون آزاد باقی می‌مانند، که یافته‌های هیستوشیمیایی نیز این موضوع را تأیید می‌کند؛ زیرا هپاتوسیت‌های کبدی در موش‌های درمان‌شده با ویتامین E، واکنش مثبتی را در برابر رنگ‌آمیزی PAS نشان می‌دهند. دوم اینکه با افزایش روند گلوکونئوز در سلول‌های مختلف، همچنین در سلول‌های کبدی سالم، میزان این مولکول‌ها در خون افزایش می‌یابد. بررسی‌های بافت‌شناسی نشان داده‌اند سطح بسیار پایین تستوسترون در بیماران واریکوسلی به دلیل ایجاد اختلال در سلول‌های لیدیگ باعث از بین رفتن فعالیت بیولوژیک سلول‌های سرتولی در بافت بیضه می‌شود (۲۹، ۲۸). به نظر می‌رسد تستوسترون برای حفظ حساسیت به انسولین در مردان ضروری است (۳۰). از سوی دیگر، مطالعات اخیر نشان داده‌اند در مردان با سطح تستوسترون پایین، خطر ابتلا به دیابت افزایش می‌یابد (۳۱). این مطلب بیانگر این است که در موش‌های واریکوسلی به علت کاهش میزان تستوستون، گلوکز سرم افزایش می‌یابد و این در حالی است که در مطالعه حاضر تجویز ویتامین E به تنهایی یا به همراه دگزامتازون سطح سرمی گلوکز را کاهش داد. با توجه به اینکه تجویز ویتامین E باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی در بافت بیضه می‌شود، طبیعتاً آسیب‌های ناشی از واریکوسل بر روی

References:

1. Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A. Pathophysiology of varicoceles in male infertility. Hum Reprod Update 2001 SepOct; 7(5):473-8.
2. French DB, Desai NR, Agarwal A. Varicocele repair: Does it still have a role in infertility treatment? Curr Opin Obstet Gynecol 2008 Jun; 20(3):269-74.
3. Friesenecker B, Tsai AG, Intaglietta M. Cellular Basis of inflammation, edema and the activity of daflon 500mg. Int J Microcirc Clin Exp 1995;15 Suppl 1:17-21.

4. Agarwal A, Sharma RK, Desai NR, Prabakaran S, Tavares A, Sabanegh E. Role of oxidative stress in pathogenesis of varicocele and infertility. *Urology* 2009 Mar; 73(3):461-9.
5. Cameron NE, Gibson TM, Nangle MR, Cotter MA. Inhibitors of advanced glycation end product formation and neurovascular dysfunction in experimental diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2005 Jun; 1043:784-92.
6. Kalia K, Sharma S, Mistry K. Non-enzymatic glycosylation of immunoglobulins in diabetic. *Clin Chim Acta* 2004 Sep; 347(1-2):169-76.
7. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids-new mechanisms for old drugs. *N Engl J Med* 2005 Oct 20;353(16):1711-23.
8. Mager DE, Moledina N, Jusko WJ. Relative immunosuppressive potency of therapeutic corticosteroids measured by whole blood lymphocyte proliferation. *J Pharm Sci* 2003 Jul; 92(7):1521-5.
9. Barnes PJ. Corticosteroid effect on cell ignaling. *Eur Respir J* 2006 Feb; 27(2):413-26.
10. Corda S, Laplace C, Vicaut E, Duranteau J. Rapid reactive oxygen species production by mitochondria in endothelial cells exposed to tumor necrosis factor- α I smediated by ceramide. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001 Jun; 24(6):762-8.
11. Ferro TJ, Hocking DC, Johnson A. Tumor necrosis factor- α alters pulmonary vasoreactivity via neutrophil-derived oxidants. *Am J Physiol* 1993 Nov; 265(5 Pt 1):L462-71.
12. Traber MG. Vitamin E nuclear receptors and xenobiotic metabolism. *Arch Biochem Biophys* 2004 Mar 1;423(1):6-11.
13. Sakarya M, Eris F, Derbent AB, Koca U, Tuzun S, Onat T, et al. The antioxidant effects of Vitamin C and Vitamin E on oxidative stress. *Clin Intensive Care* 1999;10:245-50.
14. Factor VM, Laskowska D, Jensen MR, Woitach JT, Popescu NC, Thorgerirsson S. Vitamin E reduces chromosomal damage and inhibits hepatic tumor formation in a transgenic mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000 Feb 29;97(5):2196-201.
15. Burton GW. Vitamin E: Molecular and biological function. *Proc Nutr Soc* 1994 Jul; 53(2):251-62.
16. Jarow JP. Effects of varicocele on male fertility. *Hum Reprod Update* 2001;7(1):59-64.
17. Barham D, Trinder P. An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system analyst. *Analyst* 1972 Feb; 97(151):142-5.
18. Bergmeyer HU, Hørder M, Rej R. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee, Analytical Section: Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase (L-aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.1). *J Clin Chem Clin Biochem* 1986 Jul; 24(7):497-510.
19. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee, Analyticalsection: Approved recommendation(1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3 IFFC method for alanine aminotransferase (L-alanine:2- oxoglutarate aminotransferase. Ec 2.6.1.2). *J Clin Chem Clin Biochem* 1986 Jul; 24(7):481-95.
20. Akhatari K, Razi M, Malekinejad H. Uterine artery interruption: Evidence for follicular growth and histochemical and biochemical changes. *J Reprod Infertil* 2012 Oct;13(4):193-203.
21. Eken H, Ozturk H, Ozturk H, Buyukbayram H. Dose-related effects of dexamethasone on liver damage due to bile duct ligation in rats. *World J Gastroenterol* 2006 Sep 7;12(33):5379-83.
22. Jackson ER, Kilroy C, Joslin DL, Schomaker SJ, Pruimboom-Brees I, Amacher DE. Theearly effects of short-term dexamethasone administration on hepatic and serum alanine aminotransferase in the rat. *Drug Chem Toxicol* 2008;31(4):427-45.

23. Muriel P, Garciapiña T, Perez-Alvarez V, Mourelle M. Departamentode Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. *J Appl Toxicol* 1992 Dec;12(6):439-42.
24. Drotman R, Lawhan G. Serum enzymes are indications of chemical induced liver damage. *Drug Chem Toxicol* 1978;1(2):163-71.
25. Dhahbi JM, Mote PL, Cao SX, Spindler SR. Hepatic gene expression profiling of streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2003;5(3):411-20.
26. Parker G, Taylor R, Jones D, McClain D. Hyperglycemia and inhibition of glycogen synthase in streptozotocin-treated mice: Role of o-linked N-acetylglucosamine. *J Biol Chem* 2004 May 14;279(20):20636-42.
27. Philipp H, Goossens L, Limper J, Quirke JF. Effect of dexamethasone on milk yield in ketotic cows. *Vet Rec* 1991 May 4;128(18):427.
28. Sikka SC, Rajasekaran M, Hellstrom WJG. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *J Androl* 1995;16(6):464-8.
29. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 1996 Dec; 48(6):835-50.
30. Rubinow KB, Snyder CN, Amory JK, Hoofnagle AN, Page ST. ACUTE testosterone deprivation reduces insulin sensitivity in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;76(2):281–288.
31. Zitzmann M, Faber S, Nieschlag E: Association of specific symptoms and metabolic risks with serum testosterone in older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Nov; 91(11):4335-43.
32. Attele AS, Zhou YP, Xie JT, Wu JA, Zhang L, Dey L, et al. Antidiabetic effects of Panax ginseng berry extract and the identification of an effective component. *Diabetes* 2002 Jun; 51(6):1851-8.
33. Manning PJ, Sutherland WH, Walker RJ, Williams SM, De Jong SA, Ryalls AR. et al. Effect of highdose Vitamin E on insulin resistance and associated parameters in overweight subjects. *Diabetes Care* 2004 Sep; 27(9):2166-71.