Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

The Protective Effect of Catechin on Fertility in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Mice

R. Keramati (PhD)[1], Gh. Najafi (DVSc)[*1], R. Seyrafi (DVSc)[2], A. Shalizar-Jalali (PhD)[1]

1.Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R.Iran.

2.Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, I.R.Iran.

Article Type

Research Paper

Received:
Feb 2nd 2022
Revised:
Apr 3rd 2022
Accepted:
Jul 9th 2022

ABSTRACT

Background and Objective: Diabetes affects many physiological systems of the body and can lead to fertility disorders. Since catechin, as a strong antioxidant, can improve sperm parameters and increase fertility, this study was conducted to investigate the effect of catechin on oxidative stress, sperm parameters and in vitro fertilization (IVF) of diabetic mice.

Methods: In this experimental study, 48 adult male NMRI mice were divided into 6 groups of 8: oral control, injection control, diabetic, diabetic with a low dose of catechin (25 mg per kilogram of body weight), diabetic with a medium dose of catechin (50 mg per kilogram of body weight) and diabetic with a high dose of catechin (100 mg per kilogram of body weight). Diabetes was induced via intraperitoneal injection of streptozotocin (50 mg per kilogram of body weight) and after the 30-day treatment period, sperm parameters, testosterone hormone level, catalase level, total oxidative capacity, malondialdehyde and IVF were evaluated.

Findings: In diabetic mice, sperm count (28.63±1.24) and sperm motility percentage (53.47±1.46) and live sperms (55.96±1.34), as we as zygote (57.68±1.56), two-cell embryos (62.93±3.92), blastocysts (41.69±1.49) and hatched embryos (34.51±2.98) were significantly reduced compared to the control group ($p<0.05$). In the diabetic group, the percentage of immature sperm (13.41±0.30) and damaged DNA (8.35±0.42) increased. Administering catechin improved sperm parameters, fertilization rate and embryo growth.

Conclusion: Considering the harmful effects of diabetes on fertility, catechin can increase conception and fertility due to its antioxidant ability and inhibition of free radicals.

Keywords: *Diabetes Mellitus, Mice, Oxidative Stress.*

Cite this article: Keramati R, Najafi Gh, Seyrafi R, Shalizar-Jalali A. The Protective Effect of Catechin on Fertility in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Mice. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2023; 25(1): 221-32.

© The Author(S).
Publisher: Babol University of Medical Sciences

***Corresponding Author: Gh. Najafi (DVSc)**
Address: Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R.Iran.
Tel: +98 (44) 33653271. **E-mail:** g.najafi2006@yahoo.com

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

اثر محافظتی کاتچین بر روی باروری موش‌های نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

رامین کرامتی (PhD)[۱]، غلامرضا نجفی (DVSc)[۱*]، رضا صیرفی (DVSc)[۲]، علی شالیزار جلالی (PhD)[۱]

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین، آمل، ایران

نوع مقاله
مقاله پژوهشی

دریافت:
۱۴۰۰/۱۱/۱۳
اصلاح:
۱۴۰۱/۱/۱۴
پذیرش:
۱۴۰۱/۴/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: دیابت بسیاری از سیستم‌های فیزیولوژیک بدن را تحت تاثیر قرار داده و می‌تواند باعث اختلال در باروری گردد. از آنجائیکه کاتچین به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قوی می‌تواند باعث بهبود پارامترهای اسپرمی و افزایش باروری گردد، لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر کاتچین بر روی استرس اکسیداتیو، پارامترهای اسپرمی و توان باروری آزمایشگاهی (In-Vitro Fertilization= IVF) موش‌های دیابتی طراحی گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۸ موش نر بالغ نژاد NMRI به ۶ گروه ۸ تایی شامل شاهد خوراکی، شاهد تزریقی، دیابتی، دیابتی به همراه دوز پایین کاتچین (۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، دیابتی به همراه دوز متوسط کاتچین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و دیابتی به همراه دوز بالای کاتچین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تقسیم شدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) القا گردید و بعد از اتمام دوره تیمار ۳۰ روزه، پارامترهای اسپرمی، میزان هورمون تستوسترون، میزان کاتالاز، ظرفیت آکسیدانتی تام، مالون دی آلدئید و IVF مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در موش‌های گروه دیابتی، تعداد اسپرم‌ها (۱/۲۴±۲۸/۶۳) و درصد تحرک اسپرم‌ها (۱/۴۶±۵۳/۴۷) و اسپرم‌های زنده (۱/۳۴±۵۵/۹۶) و همچنین زیگوت (۱/۵۶±۵۷/۶۸)، جنین‌های دو سلولی (۳/۹۲±۶۲/۹۳)، بلاستوسیست‌ها (۱/۴۹±۴۱/۶۹) و جنین‌های هچ شده (۲/۹۸±۳۴/۵۱) به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافته بودند ($p<0/05$). در گروه دیابتی، درصد اسپرم‌های نابالغ (۰/۳۰±۱۳/۴۱) و واجد DNA آسیب دیده (۰/۴۲±۸/۳۵) افزایش یافته بود. تجویز کاتچین باعث بهبود پارامترهای اسپرمی، میزان لقاح و رشد جنین گردید.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثرات مخرب دیابت بر روی باروری، کاتچین به دلیل داشتن قابلیت آنتی‌اکسیدانت و مهار رادیکال‌های آزاد می‌تواند باعث افزایش لقاح و باروری شود.

واژه‌های کلیدی: دیابت ملیتوس، موش، تنش اکسیداتیو.

استناد: رامین کرامتی، غلامرضا نجفی، رضا صیرفی، علی شالیزار جلالی. اثر محافظتی کاتچین بر روی باروری موش‌های نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل، ۱۴۰۲؛ ۲۵(۱): ۳۲-۲۲۱.

© The Author(S).
Publisher: Babol University of Medical Sciences

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

▣ این مقاله مستخرج از پایان نامه دکتری تخصصی آقای رامین کرامتی دانشجوی رشته آناتومی و جنین شناسی دانشگاه ارومیه می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر غلامرضا نجفی
آدرس: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه. تلفن: ۰۴۴-۳۳۶۵۳۲۷۱
رایانامه: g.najafi2006@yahoo.com

مقدمه

دیابت یک بیماری مزمن و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون ریز بدن می‌باشد که در اغلب موارد به علت کاهش ترشح انسولین توسط سلول‌های بتا موجود در جزایر لانگرهانس پانکراس ایجاد می‌گردد (۱). این بیماری موجب اختلال در عملکرد بیضه‌ها و تخمدان از جمله تغییر در رفتار استروس، رشد فولیکولی و بلوغ اووسیت و کاهش و یا عدم تخمک‌گذاری می‌گردد (۲). این تغییرات ناشی از ایجاد اختلال در محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و بیضه و تخمدان می‌باشد که منجر به کاهش میزان هورمون‌های جنسی و اختلال در تولید سلول‌های جنسی و باروری می‌گردد (۳).

تحقیقات نشان داده است که در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (Streptozotocin= STZ) به علت اختلال در روند اسپرماتوژنز، تعداد و تحرک اسپرم‌ها به شدت کاهش می‌یابد (۴). پژوهش‌های متعددی نشان داده‌اند که افزایش تنش اکسیداتیو و کاهش میزان آنتی‌اکسیدانت‌ها از مهم‌ترین علل مشکلات افراد دیابتی می‌باشد (۵) و عدم درمان قطعی دیابت با اختلال در دستگاه تناسلی و فعالیت‌های جنسی با درجات مختلف در بیماران همراه است (۶و۷).

چای سبز (*Camellia sinensis*) دارای سه گروه عمده پلی‌فنول شامل کاتچین‌ها، تئوفلاوین‌ها و تئوروبیژن‌ها می‌باشد. کاتچین‌ها نوعی آنتی‌اکسیدانت و از مهم‌ترین فلاونوئیدها به شمار می‌روند و ۲۵ تا ۳۵ درصد از وزن خشک چای سبز را شامل می‌شوند (۸). بر اساس تحقیقات انجام شده، تجویز عصاره چای سبز می‌تواند درصد تحرک، مورفولوژی طبیعی اسپرم و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز و ضخامت اپیتلیوم زایا را در موش‌های صحرایی مصرف کننده آرسنیت سدیم تا حدود زیادی بهبود ببخشد (۹). همچنین، استفاده از عصاره چای سبز به دلیل آنتی‌اکسیدان‌های موجود در آن به خصوص کاتچین، تحرک و تعداد اسپرم و میزان اسپرم‌های طبیعی را متعاقب القای تنش حرارتی در موش‌های صحرایی افزایش داده است (۱۰).

با توجه به اینکه تاکنون آثار کاتچین بر روی لقاح داخل آزمایشگاهی (In-Vitro Fertilization= IVF) و رشد جنین در موش مورد مطالعه قرار نگرفته بود، در این پژوهش آثار کاتچین بر روی تنش اکسیداتیو، پارامترهای اسپرمی و IVF در موش‌های دیابتی شده با STZ مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۸ موش نر (NMRI) با وزن متوسط ۲±۲۶ گرم و سن ۸ هفته از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری و با پلیت مخصوص موش تغذیه شدند. آب نیز به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار داده شد. این مطالعه بر اساس دستورالعمل‌های مصوب کمیته اخلاق دانشگاه ارومیه با کد اخلاق IR-UU-AEC- ۶۷/پد/۳ انجام و تمام موارد اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. متعاقب یک هفته سازگاری با شرایط محیط حیوانات به طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند:

گروه شاهد خوراکی: در این گروه حیوانات بافر سیترات (۰/۵ میلی‌لیتر) به صورت خوراکی (گاواژ) دریافت کردند.

گروه شاهد تزریقی: در این گروه حیوانات سرم فیزیولوژی (۰/۱ میلی‌لیتر) به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه دیابتی: در این گروه موش‌ها توسط تزریق داخل صفاقی STZ (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) دیابتی شدند.

گروه دیابتی به همراه دوز پایین کاتچین: موش‌های دیابتی شده توسط STZ، کاتچین را با دوز ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی روزانه (گاواژ) دریافت کردند.

گروه دیابتی به همراه دوز متوسط کاتچین: موش‌های دیابتی شده توسط STZ، کاتچین را با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی روزانه (گاواژ) دریافت کردند.

گروه دیابتی به همراه دوز بالای کاتچین: موش‌های دیابتی شده توسط STZ، کاتچین را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی روزانه (گاواژ) دریافت کردند. دوره تیمار نیز ۳۰ روز بود (۱۱).

القای دیابت با تزریق داخل صفاقی ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن STZ (Sigma, Germany) حل شده در بافر سیترات انجام شد. سنجش قند خون برای تشخیص القای دیابت، ۷۲ ساعت بعد از تزریق STZ با استفاده از خون سیاهرگ دمی، به کمک کیت گلوکومتر انجام شد. موش‌هایی با قند خون بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. تمامی موش‌های موجود در هر ۶ گروه، ۲۴ ساعت بعد از آخرین تیمار توسط تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین بیهوش و سپس توسط جابجایی مهره‌های گردنی آسان‌کشی شدند (۱۲).

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

تهیه اسپرم از دم اپیدیدیم: بعد از ایجاد برش در ناحیه شکم، دم اپیدیدیم از بیضه جدا و بعد از ایجاد چند برش در آن، به لوله فالکون استریل حاوی یک میلی‌لیتر محیط کشت Human tubular fluid (HTF) و ۴ میلی‌گرم آلبومین سرم گاوی (BSA) منتقل، سپس به انکوباتور با CO_2 ۵٪ و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد منتقل شدند. پس از گذشت یک ساعت، اسپرم‌های استحصال شده، جهت ارزیابی پارامترهای اسپرمی و IVF مورد استفاده قرار گرفتند (۱۳).

ارزیابی تحرک اسپرم: پس از استحصال اسپرم‌ها از دم اپیدیدیم، ۱۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده (۱به ۲۰) حاوی اسپرم، روی لام قرار داده شد و اسپرم‌ها از نظر درصد تحرک مورد بررسی قرار گرفتند. جهت محاسبه درصد تحرک، ۱۰ میدان میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ روی لام بررسی و میانگین کل اسپرم‌های متحرک در ۱۰ میدان دید میکروسکوپ نوری به عنوان درصد تحرک بیان گردید (۱۳).

ارزیابی قابلیت زنده‌مانی اسپرم: به منظور ارزیابی اسپرم‌های زنده و تشخیص اسپرم‌های زنده از مرده، رنگ‌آمیزی ائوزین- نگروزین مورد استفاده قرار گرفت. مقدار ۲۰ میکرولیتر از نمونه اسپرم‌هایی که از دم اپیدیدیم تهیه شده بود بر روی یک لام تمیز قرار داده شد و سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر ائوزین به آن اضافه و پس از ۵ ثانیه، ۵۰ میکرولیتر نکروزین اضافه، سپس با هم مخلوط و گسترش تهیه شد. پس از خشک شدن لام، با استفاده از میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۴۰۰، درصد اسپرم‌های زنده و مرده (رنگ گرفته) محاسبه گردید (۱۳).

ارزیابی بلوغ هسته اسپرم: برای این منظور از رنگ‌آمیزی آنیلین بلو استفاده شد. پس از تهیه گسترش (۵ میکرولیتر)، از اسپرمی که از ناحیه دم اپیدیدیم استحصال گردید، لام‌ها در هوا خشک و تثبیت نمونه‌ها توسط محلول ثبوتی گلوتارآلدئید ۳٪ در بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=۷/۲) انجام شد. نمونه‌ها توسط محلول ۵٪ آنیلین بلو ترکیب شده با اسید استیک ۴٪ (pH=۳/۵)، به مدت ۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. سپس، لام‌ها شستشو و با میکروسکوپ نوری با عدسی شیئی ۱۰۰ بررسی شدند. ۱۰۰ اسپرم از هر لام شمارش و نتایج بر حسب درصد بیان شد. اسپرم‌های نابالغ به رنگ آبی و اسپرم‌های بالغ با رنگ‌پذیری کمتری قابل مشاهده بودند (۱۴).

ارزیابی آسیب DNA اسپرم: برای این منظور رنگ‌آمیزی آکریدین اورنژ مورد استفاده قرار گرفت. در این رنگ‌آمیزی هنگام بررسی لام‌ها توسط میکروسکوپ فلورسنت، DNA سالم به رنگ سبز، DNA دو رشته‌ای ناپیوسته به رنگ زرد و DNA تک‌رشته‌ای به رنگ قرمز دیده می‌شود. پس از تهیه گسترش از اسپرم‌هایی که از ناحیه دم اپیدیدیم استحصال شده بودند و خشک کردن در هوا، تثبیت نمونه‌ها توسط محلول کارنوی به مدت حداقل ۲ ساعت صورت گرفت و سپس رنگ آکریدین اورنژ، با غلظت ۰/۱۹ میلی‌گرم در بافر سیترات فسفات به مدت ۱۰ دقیقه برای رنگ‌آمیزی به کار رفت. پس از شستشو، لام‌ها توسط میکروسکوپ فلورسنت در یک محیط تاریک با فیلتر nm ۴۹۰-۴۵۰ بررسی شدند و نتایج برحسب درصد بیان شد (۱۵).

اخذ تخمک و IVF: به منظور تحریک تخمک‌گذاری در موش‌های ماده بالغ، ۱۰ واحد بین‌المللی هورمون گنادوتروپین مادیان آبستن (Pregnant Mare Serum Gonadotropin= PMSG) به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. پس از ۴۸ ساعت، هورمون گنادوتروپین جفت انسان (Human Chorionic Gonadotropin= HCG) به میزان ۱۰ واحد بین‌المللی به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ۱۰ تا ۱۲ ساعت بعد از تزریق HCG موش‌ها پس از بیهوشی با کتامین- زایلازین، آسان‌کشی شدند. بعد از باز کردن محوطه شکمی، اویداکت‌ها از موش جدا و داخل محیط کشت HTF قرار داده شد. سپس، با استفاده از سرنگ انسولین گیج ۲۸ از ناحیه اویداکت در زیر استریومیکروسکوپ اووسیست‌ها به همراه توده کومولوسی گرفته شدند. تخمک‌ها پس از شستشو داخل قطرات محیط کشت لقاح HTF حاوی آلبومین سرم گاوی (Bovine Serum Albumin= BSA) در زیر روغن معدنی گذاشته شدند. اسپرم‌های جدا شده مربوط به تمامی گروه‌ها پس از طی روند ظرفیت‌یابی به طور مجزا به تعداد یک میلیون به ازای هر میلی‌لیتر محیط کشت اضافه شدند. عمل لقاح حدود ۴ تا ۶ ساعت بعد از اضافه کردن اسپرم صورت گرفت. پس از این مدت، تعداد زیگوت‌های تشکیل شده در هر گروه بررسی و به صورت درصد لقاح در هر گروه بیان شد. بررسی درصد جنین‌های دو سلولی ۲۴ ساعت بعد از لقاح و همچنین درصد مورولا، بلاستوسیست‌های ایجاد شده و جنین‌های هچ شده در روز ۵ بعد از لقاح مورد ارزیابی قرار گرفتند (۱۷و۱۶).

سنجش غلظت سرمی تستوسترون: جهت بررسی سطح تستوسترون نمونه‌های خونی از قلب موش‌ها اخذ، سپس، سانتریفوژ (۳۰۰۰ دور در ۵ دقیقه) و نمونه‌های سرمی تهیه شدند و سطح هورمون تستوسترون در سرم با روش رادیوایمنواسی با استفاده از کیت (پیشتاز طب، ایران) و دستگاه Elecsys ۲۰۱۰ به روش الکتروکمی لومینسانس انجام گرفت (۱۸).

سنجش میزان مـــالون‌دی‌آلدئیـــد (MDA) بافت بیضه: متعاقب آسان‌کشی موش‌ها، بافت بیضه جدا و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در زمان آزمایش، بافت‌های بیضه منجمد شده در بافر فسفات صفر درجه سانتی‌گراد ۰/۰۵مولار با pH=۴/۷ و با غلظت ۱۰٪ (W/V) هموژنیزه گردید. سپس، محلول‌های به دست آمده با دور g ۱۰۰۰ سانتریفوژ شد و مایع رویی جهت سنجش میزان محصولات پراکسیداسیون لیپیدها مورد استفاده قرار گرفت. میزان پراکسیداسیون لیپیدی بر مبنای تشکیل MDA تعیین گردید. ۱۵۰ میکرولیتر از بافت هموژن شده به ۳۰۰ میکرولیتر اسید تری‌کلرواستیک ۱۰٪ اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با g ۱۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. به ۳۰۰ میکرولیتر از مایع رویی، ۳۰۰ میکرولیتر اسید تیوباربیتوریک (TBA) ۰/۶۷٪ اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار گرفت. متعاقب خنک شدن محلول یک رنگ

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

صورتی ناشی از واکنش MDA با TBA ظاهر و جذب محلول صورتی رنگ در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد. میزان MDA به کمک ضریب جذبی مالون‌دی‌آلدئید محاسبه و به صورت میکرومول بر گرم بافت بیان شد (۱۹).

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی تام (TAC) بافت بیضه: ارزیابی TAC بر اساس توانایی پلاسما در احیای یون Fe^{3+} به Fe^{2+} در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری و داده‌ها بر حسب نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین، بیان گردید (۲۰).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) بافت بیضه: فعالیت آنزیم CAT بر اساس توانایی آن در تجزیه H_2O_2 در بافت هموژن شده بیضه تعیین گردید. برای این منظور از پراکسید هیدروژن ۳۰ میلی‌مولار به عنوان سوبسترا و از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) به عنوان جایگزین سوبسترا در محلول بلانک استفاده شد. محلول سنجش حاوی ۲ میلی‌لیتر محلول هموژن بافتی و ۱ میلی‌لیتر محلول پراکسید هیدروژن بود. واکنش با افزودن H_2O_2 آغاز، کاهش در جذب به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۳۰ ثانیه بررسی و مقادیر بر حسب واحد بر گرم بافت بیان گردید (۲۱).

ارزیابی آماری: در این تحقیق از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ جهت تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد. داده‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی مورد تحلیل قرار گرفتند و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

تعداد اسپرم‌های دم اپیدیدیم: تعداد اسپرم‌های دم اپیدیدیم در گروه دیابتی (۱/۲۴±۲۸/۶۳) کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های شاهد خوراکی (۱/۶۶±۵۶/۲۲) و تزریقی (۰/۹۹±۵۷/۵۶) نشان داد ($p<۰/۰۵$). در گروه‌های دیابتی به همراه هر سه دوز کاتچین افزایش در تعداد اسپرم‌ها دیده شد ولی این افزایش فقط در دوزهای کاتچین ۵۰ میلی‌گرم (۰/۴۴±۳۴/۲۵) و ۱۰۰ میلی‌گرم (۰/۴۳±۳۵/۲۷) اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه دیابتی داشت ($p<۰/۰۵$) (جدول ۱).

قابلیت زنده‌مانی اسپرم: درصد اسپرم‌های زنده در گروه دیابتی (۱/۳۴±۵۵/۹۶) کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های شاهد خوراکی (۰/۶۰±۹۵/۲۳) و تزریقی (۰/۹۸±۹۵/۰۶) داشت ($p<۰/۰۵$). در گروه‌های دیابتی به همراه هر سه دوزکاتچین افزایش در تعداد اسپرم‌های زنده مشاهده شد ولی این افزایش فقط در دوز کاتچین ۱۰۰ میلی‌گرم (۱/۳۴±۸۱/۶۵) در مقایسه با گروه دیابتی اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین، اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی به همراه کاتچین دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در مقایسه با دیابتی به همراه کاتچین دوزهای ۵۰ میلی‌گرم (۰/۵۳±۶۳/۹۳) و ۲۵ میلی‌گرم (۲/۸۳±۶۵/۹۳) مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) (جدول ۱).

تحرک اسپرم: در گروه دیابتی (۱/۴۶±۵۳/۴۷) درصد تحرک اسپرم‌ها کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های شاهد خوراکی (۱/۹۴±۹۳/۲۹) و تزریقی (۱/۶۰±۹۲/۲۳) داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین، میزان تحرک اسپرم‌ها در گروه‌های دیابتی دریافت کننده کاتچین دوزهای ۲۵ میلی‌گرم (۰/۸۳±۵۹/۸۸)، ۵۰ میلی‌گرم (۱/۳۰±۶۴/۹۱) و ۱۰۰ میلی‌گرم (۰/۹۹±۶۵/۵۸) نسبت به گروه دیابتی افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$) ولی هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دیابتی به همراه کاتچین در هر سه دوز وجود نداشت (جدول ۱).

بلوغ هسته‌ای اسپرم و میزان اسپرم‌های نابالغ: در موش‌های دیابتی (۰/۳۰±۱۳/۴۱) درصد اسپرم‌های نابالغ در مقایسه با گروه‌های شاهد خوراکی (۰/۴۴±۶/۱۶) و تزریقی (۰/۵۶±۵/۴۲) افزایشی معنی‌داری را نشان دادند ($p<۰/۰۵$). در گروه‌های دیابتی به همراه کاتچین در هر سه دوز ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کاهش در درصد اسپرم‌های نابالغ دیده شد ولی این کاهش فقط در گروه‌های دیابتی به همراه کاتچین دوزهای ۵۰ میلی‌گرم (۰/۳۵±۱۰/۵۴) و ۱۰۰ میلی‌گرم (۰/۷۳±۱۱/۰۷) اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه دیابتی داشت ($p<۰/۰۵$). هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی و گروه دیابتی همراه کاتچین دوز ۲۵ میلی‌گرم مشاهده نشد (جدول ۱).

اسپرم‌های دارای DNA آسیب‌دیده: افزایش درصد اسپرم‌های واجد DNA آسیب دیده در گروه دیابتی (۰/۴۲±۸/۳۵) اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های شاهد خوراکی (۰/۴۶±۳/۵۱) و تزریقی (۰/۱۶±۳/۴۰) نشان داد ($p<۰/۰۵$). در حالی که با وجود کاهش در تعداد اسپرم‌های با DNA آسیب دیده، در گروه‌های دیابتی به همراه کاتچین در هر سه دوز ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در مقایسه با گروه دیابتی هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اگرچه کاهش در میزان اسپرم‌های با DNA آسیب دیده در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در مقایسه با دوز ۲۵ میلی‌گرم بیشتر بود ولی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱).

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

جدول ۱. میانگین پارامترهای اسپرم‌های دم اپیدیدیم در گروه‌های مختلف آزمایشی

گروه‌ها	تعداد اسپرم (×۱۰^۶)	درصد تحرک اسپرم Mean±SD	درصد اسپرم زنده Mean±SD	درصد اسپرم نابالغ Mean±SD	درصد اسپرم با DNA آسیب دیده Mean±SD
شاهد خوراکی	۵۶/۲۲±۱/۶۶^{a}	۹۳/۲۹±۱/۹۴^{a}	۹۵/۲۳±۰/۶۰^{a}	۶/۱۶±۰/۴۴^{a}	۳/۵۱±۰/۴۶^{a}
شاهد تزریقی	۵۷/۵۶±۰/۹۹^{a}	۹۲/۲۳±۱/۶۰^{a}	۹۵/۰۶±۰/۹۸^{a}	۵/۴۲±۰/۵۶^{a}	۳/۴۰±۰/۱۶^{a}
دیابتی	۲۸/۶۳±۱/۲۴^{b}	۵۳/۴۷±۱/۴۶^{b}	۵۵/۹۶±۱/۳۴^{b}	۱۳/۴۱±۰/۳۰^{b}	۸/۳۵±۰/۴۲^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۲۵ میلی‌گرم	۲۹/۶۲±۰/۸۳^{b}	۵۹/۸۸±۰/۸۳^{c}	۶۵/۹۳±۲/۸۳^{b}	۱۲/۵۵±۰/۳۲^{bc}	۷/۵۷±۰/۲۵^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۵۰ میلی‌گرم	۳۴/۲۵±۰/۴۴^{c}	۶۴/۹۱±۱/۳۰^{c}	۶۳/۹۳±۰/۵۳^{b}	۱۰/۵۴±۰/۳۵^{c}	۶/۷۲±۰/۲۷^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	۳۵/۲۷±۰/۴۳^{c}	۶۵/۵۸±۰/۹۹^{c}	۸۱/۶۵±۱/۳۴^{c}	۱۱/۰۷±۰/۷۳^{c}	۶/۷۷±۰/۲۶^{b}

حروف متفاوت (a، b، c) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ستون بین گروه‌های مختلف می‌باشد.

سطح سرمی هورمون تستوسترون: میزان هورمون تستوسترون در سرم موش‌های دیابتی (۰/۳۰±۰/۱۱) در مقایسه با گروه شاهد خوراکی (۰/۵۱±۰/۰۱) و تزریقی (۰/۴۹±۰/۲۶) کاهش معنی‌داری را نشان داد. اما در موش‌های دیابتی به همراه کاتچین در دوزهای ۵۰ میلی‌گرم (۰/۳۸±۰/۰۲) و ۱۰۰ میلی‌گرم (۰/۳۹±۰/۰۲) کاتچین افزایش در میزان هورمون تستوسترون دیده شد که اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه دیابتی داشت ($p<0/05$) (جدول ۲).

سطح CAT بافت بیضه: میزان فعالیت CAT در بافت بیضه در گروه دیابتی (۳۱۹/۲۸±۱۵/۰۵) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد خوراکی (۴۹۵/۳۴±۴/۱۵) و تزریقی (۴۸۵/۱۴±۷/۶۸) داشت ($p<0/05$). در گروه‌های دیابتی به همراه هر سه دوز کاتچین افزایش در میزان CAT وجود داشت و این افزایش فقط در گروه دیابتی به همراه کاتچین با دوز ۵۰ میلی‌گرم (۳۷۱/۵۲±۹/۴۶) اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه دیابتی داشت ($p<0/05$) (جدول ۲).

میزان TAC بافت بیضه: میانگین TAC بیضه کاهش معنی‌داری در گروه دیابتی (۲/۲۰±۰/۲۳) نسبت به گروه‌های شاهد خوراکی (۳/۴۰±۰/۱۰) و تزریقی (۳/۵۵±۰/۳۴) نشان داد ($p<0/05$). در گروه‌های دیابتی دریافت کننده کاتچین در هر سه دوز ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم افزایش در سطح TAC وجود داشت و این افزایش در گروه‌های کاتچین ۵۰ میلی‌گرم (۲/۹۸±۰/۰۶) و ۱۰۰ میلی‌گرم (۲/۹۰±۰/۱۲) در مقایسه با گروه دیابتی اختلاف معنی‌داری داشت ($p<0/05$) (جدول ۲).

میزان MDA بافت بیضه: میانگین میزان MDA بیضه مشخص کرد که کاهش نسبی در گروه دیابتی دریافت کننده کاتچین در هر سه دوز وجود داشت. به طوریکه این کاهش در گروه‌های دوز ۵۰ میلی‌گرم (۱۶/۸۳±۰/۱۵) و ۱۰۰ میلی‌گرم (۱۶/۷۷±۰/۲۲) در مقایسه با گروه دیابتی (۱۷/۷۶±۰/۲۶) معنی‌دار بود ($p<0/05$) (جدول ۲).

جدول ۲. میانگین پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در سرم و بافت بیضه در گروه‌های مختلف آزمایشی

گروه‌ها	(µ/mg) CAT Mean±SD	(µmol/gr tissue) MDA Mean±SD	(nmol/mg.protein) TAC Mean±SD	تستوسترون (ng/ml) Mean±SD
شاهد خوراکی	۴۹۵/۳۴±۴/۱۵^{a}	۱۵/۷۹±۰/۳۰^{a}	۳/۴۰±۰/۱۰^{a}	۰/۵۱±۰/۰۱^{a}
شاهد تزریقی	۴۸۵/۱۴±۷/۶۸^{a}	۱۵/۴۸±۰/۳۹^{a}	۳/۵۵±۰/۳۴^{a}	۰/۴۹±۰/۲۶^{a}
دیابتی	۳۱۹/۲۸±۱۵/۰۵^{b}	۱۷/۷۶±۰/۲۶^{b}	۲/۲۰±۰/۲۳^{b}	۰/۳۰±۰/۱۱^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۲۵ میلی‌گرم	۳۰۳/۳۲±۴/۰۴^{bc}	۱۷/۰۱±۰/۲۲^{cb}	۲/۸۳±۰/۰۶^{cb}	۰/۳۲±۰/۰۲^{cb}
دیابتی+کاتچین دوز ۵۰ میلی‌گرم	۳۷۱/۵۲±۹/۴۶^{c}	۱۶/۸۳±۰/۱۵^{c}	۲/۹۸±۰/۰۶^{c}	۰/۳۸±۰/۰۲^{c}
دیابتی+کاتچین دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	۳۳۱/۹۶±۷/۶۴^{bc}	۱۶/۷۷±۰/۲۲^{cb}	۲/۹۰±۰/۱۲^{c}	۰/۳۹±۰/۰۲^{c}

حروف متفاوت (a، b، c) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ستون بین گروه‌های مختلف می‌باشد.

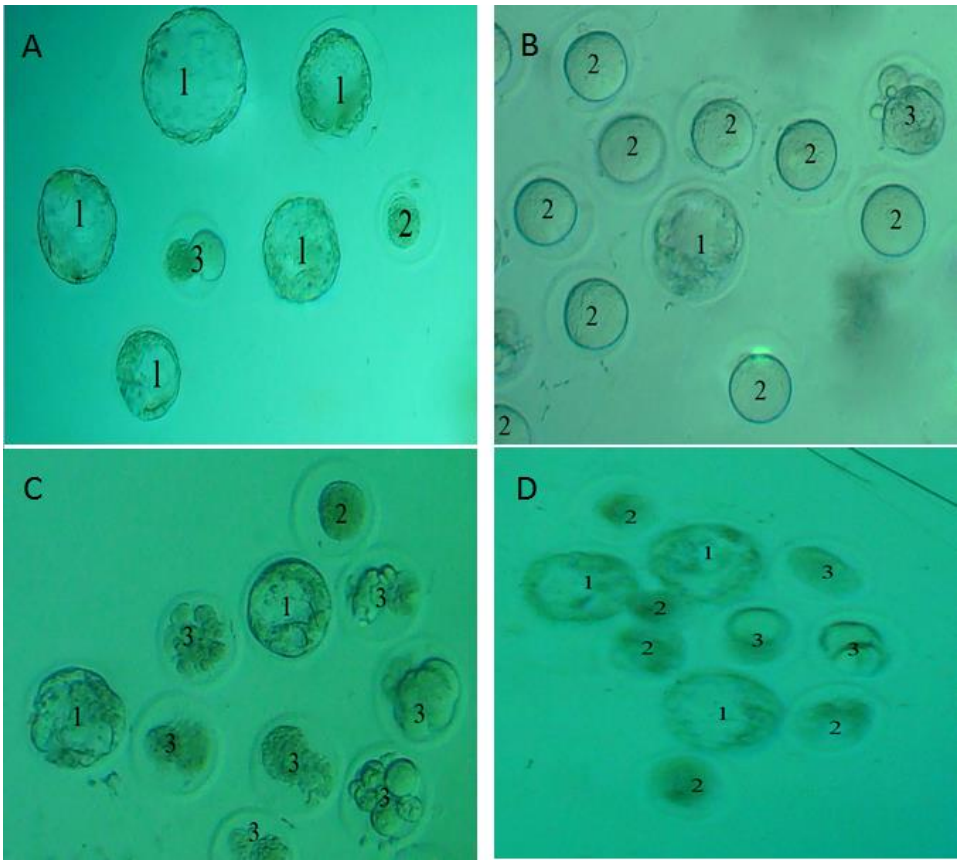
[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

میزان لقاح: درصد لقاح در گروهی که تحت تاثیر دیابت (۱/۵۶±۵۷/۶۸) قرار گرفته بودند، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه‌های شاهد خوراکی (۱/۲۷±۹۲/۱۹) و تزریقی (۰/۹۰±۹۳/۴۳) نشان داد (p<۰/۰۵). در حالی که درصد لقاح در گروه دیابتی به همراه کاتچین در هر سه دوز افزایش یافت و این افزایش در دوز ۵۰ میلی‌گرم (۲/۶۲±۷۲/۷۰) و ۱۰۰ میلی‌گرم (۳/۹۳±۷۱/۷۳) کاتچین اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه دیابتی نشان داد. بین مقدار دوز مصرفی کاتچین در گروه‌های دیابتی هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (p<۰/۰۵) (شکل ۱ و جدول ۳).

جنین‌های دو سلولی: در گروه دیابتی (۳/۹۲±۶۲/۹۳) درصد جنین‌های دو سلولی کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های شاهد خوراکی (۳/۳۶±۸۷/۲۳) و تزریقی (۲/۳۰±۸۹/۰۶) نشان داد (p<۰/۰۵). افزایش درصد جنین‌های دو سلولی در گروه دیابتی به همراه کاتچین با دوزهای ۵۰ میلی‌گرم (۱/۸۵±۶۸/۴۶) و ۱۰۰ میلی‌گرم (۱/۵۳±۴۲/) نیز تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه دیابتی نشان داد (p<۰/۰۵) (شکل ۱ و جدول ۳).

جنین‌های مرحله مورولا و بلاستوسیست: درصد مورولا (۳/۰۲±۵۶/۹۲) و بلاستوسیست (۱/۴۹±۴۱/۶۹) در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های شاهد نشان داد (p<۰/۰۵). در حالیکه در گروه دیابتی به همراه کاتچین در دوزهای ۵۰ میلی‌گرم، درصد مورولا (۲/۹۲±۶۳/۷۹) و درصد بلاستوسیست (۲/۶۱±۵۳/۵۰) و در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم، درصد مورولا (۱/۸۹±۶۳/۲۴) و درصد بلاستوسیست (۲/۵۴±۵۵/۰۶) در مقایسه با گروه دیابتی افزایش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵) (شکل ۱ و جدول ۳).

جنین‌های هچ شده: درصد بلاستوسیست‌های هچ شده (۲/۹۸±۳۴/۵۱) در گروه دیابت، کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های شاهد خوراکی (۰/۱۸±۶۴/۱۶) و تزریقی (۱/۰۹±۶۵/۱۸) نشان داد (p<۰/۰۵). در گروه دیابتی به همراه کاتچین در هر ۳ دوز درصد جنین‌های هچ شده افزایش یافت ولی اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با گروه دیابتی نشان نداد. همچنین، تفاوت معنی‌داری بین دوزهای مختلف کاتچین مشاهده نشد (شکل ۱ و جدول ۳).



شکل ۱. رشد جنین در روز ۵ بعد از لقاح در گروه‌های مختلف آزمایشی. جنین‌های مرحله بلاستوسیست (1)، اووسیت‌های بارورنشده (2) و جنین‌های متوقف شده (3) در گروه شاهد (A)، گروه دیابتی (B)، گروه دیابتی+کاتچین دوز پایین (C) و گروه دیابتی+کاتچین با دوز متوسط (D) قابل مشاهده می‌باشند (درشت نمایی×۲۰۰).

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

جدول ۳. میانگین نتایج به دست آمده از ارزیابی توان باروری آزمایشگاهی در گروه‌های مختلف آزمایشی

گروه‌ها	درصد لقاح Mean±SD	درصد جنین‌های دوسلولی Mean±SD	درصد جنین‌های مرحله مورولا Mean±SD	درصد بلاستوسیست Mean±SD	درصد جنین‌های هچ شده Mean±SD
شاهد خوراکی	۹۲/۱۹±۱/۲۷^{a}	۸۷/۲۳±۳/۳۶^{a}	۷۸/۴۴±۱/۱۲^{a}	۷۴/۷۳±۱/۶۲^{a}	۶۴/۱۶±۰/۱۸^{a}
شاهد تزریقی	۹۳/۴۳±۰/۹۰^{a}	۸۹/۰۶±۲/۳۰^{a}	۸۱/۹۳±۱/۸۹^{a}	۷۶/۳۳±۱/۶۴^{a}	۶۵/۱۸±۱/۰۹^{a}
دیابتی	۵۷/۶۸±۱/۵۶^{b}	۶۲/۹۳±۳/۹۲^{b}	۵۶/۹۲±۳/۰۲^{b}	۴۱/۶۹±۱/۴۹^{b}	۳۴/۵۱±۲/۹۸^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۲۵ میلی‌گرم	۵۹/۲۵±۱/۸۳^{bc}	۶۳/۵۵±۳/۱۵^{bc}	۵۹/۳۰±۳/۲۰^{bc}	۴۵/۱۷±۰/۲۰^{bc}	۳۷/۵۲±۱/۵۳^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۵۰ میلی‌گرم	۷۲/۷۰±۲/۶۲^{c}	۶۸/۴۶±۱/۸۵^{c}	۶۳/۷۹±۲/۹۲^{c}	۵۳/۵۰±۲/۶۱^{c}	۴۳/۲۲±۲/۹۱^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	۷۱/۷۳±۳/۹۳^{c}	۷۱/۴۲±۱/۵۳^{c}	۶۳/۲۴±۱/۸۹^{c}	۵۵/۰۶±۲/۵۴^{c}	۴۳/۳۹±۴/۵۹^{b}

حروف متفاوت (a، b، c) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ستون بین گروه‌های مختلف می‌باشد.

جنین‌های متوقف شده: درصد جنین‌های متوقف شده در گروه دیابتی (۱۳/۴۱±۵۱/۷۶) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد خوراکی (۲/۱۰±۱۶/۶۴) و تزریقی (۲/۹۷±۱۶/۷۲) نشان داد ($p<۰/۰۵$). در گروه‌های دریافت کننده کاتچین در هر سه دوز ۲۵ میلی‌گرم (۳/۶۸±۲۸/۵۹)، ۵۰ میلی‌گرم (۴/۱۳±۲۸/۳۰) و ۱۰۰ میلی‌گرم (۲/۷۱±۰/۹۴) کاهش جنین‌های متوقف شده اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه دیابتی داشت ($p<۰/۰۵$). اما هیچ اختلاف معنی‌داری بین هر سه دوز کاتچین مشاهده نشد. درصد جنین‌های متوقف شده نوع یک در گروه دیابتی (۴/۸۲±۴۲/۰۶) افزایش یافت و در مقایسه با گروه‌های شاهد خوراکی (۱/۶۶±۲۳/۳۳) و تزریقی (۳/۰۹±۱۹/۷۶) اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). اما، فقط در گروه دریافت کننده کاتچین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم (۳/۶۷±۱۸/۰۵) کاهش در تعداد جنین‌های متوقف شده نوع یک اختلاف معنی‌داری با گروه دیابتی داشت ($p<۰/۰۵$). هیچ اختلاف معنی‌داری در درصد جنین‌های متوقف شده نوع دو بین گروه‌های مورد مطالعه دیده نشد. درصد جنین‌های متوقف شده نوع سه در گروه دیابتی (۵/۵۱±۲۴/۲۰) کاهش یافت و در مقایسه با گروه‌های شاهد خوراکی (۳/۳۳±۵۳/۳۳) و تزریقی (۲/۹۷±۵۵/۷۱) اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). با وجود افزایش در درصد جنین‌های متوقف شده نوع سه در هر سه دوز کاتچین فقط در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم (۵/۵۵±۵۵/۵۵) اختلاف معنی‌دار با گروه دیابتی مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) (شکل ۱ و جدول ۴).

جدول ٤. میانگین کیفیت جنین‌های متوقف شده در گروه‌های مختلف آزمایشی

گروه‌ها	درصد جنین‌های متوقف شده Mean±SD	درصد جنین‌های نوع ۱ Mean±SD	درصد جنین‌های نوع ۲ Mean±SD	درصد جنین‌های نوع ۳ Mean±SD
شاهد خوراکی	۱۶/۶۴±۲/۱۰^{a}	۲۳/۳۳±۱/۶۶^{a}	۲۳/۳۳±۱/۶۶^{a}	۵۳/۳۳±۳/۳۳^{a}
شاهد تزریقی	۱۶/۷۲±۲/۹۷^{a}	۱۹/۷۶±۳/۰۹^{a}	۲۴/۵۲±۲/۴۸^{a}	۵۵/۷۱±۲/۹۷^{a}
دیابتی	۵۱/۷۶±۱۳/۴۱^{b}	۴۲/۰۶±۴/۸۲^{b}	۳۳/۷۲±۵/۱۵^{a}	۲۴/۲۰±۵/۵۱^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۲۵ میلی‌گرم	۲۸/۵۹±۳/۶۸^{c}	۲۸/۹۶±۲/۴۱^{ba}	۵۲/۳۸±۲/۳۸^{b}	۱۸/۶۴±۳/۲۵^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۵۰ میلی‌گرم	۲۸/۳۰±۴/۱۳^{c}	۳۱/۱۱±۵/۸۷^{ba}	۳۱/۱۱±۵/۸۷^{a}	۳۷/۷۷±۲/۲۲^{b}
دیابتی+کاتچین دوز ۱۰۰ میلی‌گرم	۲۲/۹۴±۲/۷۱^{c}	۱۸/۰۵±۳/۶۷^{ca}	۲۶/۳۸±۶/۰۵^{a}	۵۵/۵۵±۵/۵۵^{ca}

حروف متفاوت (a، b، c) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ستون بین گروه‌های مختلف می‌باشد.

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که دیابت با اثر سوء بر روی پارامترهای اسپرمی باعث کاهش باروری و کاتچین با کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود پارامترهای اسپرمی موجب افزایش باروری و کیفیت جنین‌ها می‌گردد. با وجود کاهش میزان هورمون تستوسترون در موش‌های دیابتی، کاتچین به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت در موش‌های دیابتی باعث افزایش میزان تستوسترون شد که نقش بسیار مهمی در تولید اسپرم و توان باروری دارد. با توجه به اهمیت بیضه‌ها در تولید هورمون تستوسترون و اسپرم، بیضه‌ها از اندام‌هایی می‌باشند که ساختمان آن تحت تاثیر دیابت قرار می‌گیرد و در نهایت باروری فرد دچار اختلال می‌گردد (۲۲).

دیابت می‌تواند ترشح گنادوتروپین‌ها را کاهش دهد و یا متوقف کند و موجب اختلال در تولید اسپرم و یا تخمک و مهار تولید مثل گردد. دو هورمون LH و FSH در کنار تستوسترون نقش فیزیولوژیک بسیار مهمی در حفظ تداوم روند تخمک‌گذاری و تولید اسپرم ایفا می‌کنند. افزایش تنش اکسیداتیو و کاهش سطوح آنتی‌اکسیدانت‌ها یکی از علل مهم مشکلات افراد مبتلا به دیابت می‌باشد (۲۳) که از طریق تولید و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، زمینه‌ساز پیشرفت مقاومت انسولین و دیابت نوع دو می‌گردد (۲۴). همچنین، آنتی‌اکسیدانت‌ها با ویژگی‌های شیمیایی مختلف می‌توانند یکدیگر را در شبکه آنتی‌اکسیدانتی تقویت کنند و دفاع آنتی‌اکسیدانت درون سلولی را از طریق القای آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی بهبود ببخشند (۲۵).

تحقیقات نشان داده است که القاء دیابت تجربی توسط STZ در موش‌های صحرایی باعث کاهش سطح تستوسترون در مقایسه با گروه شاهد می‌گردد، در حالی که برخی از مطالعات گزارش داده است که متعاقب دیابت تجربی سطح تستوسترون در موش‌های صحرایی بدون تغییر باقی می‌ماند (۲۶). در این مطالعه در موش‌های دیابتی، میزان CAT و TAC کاهش یافت، در حالی که میزان MDA افزایش نشان داد. تحقیقات پیشین نشان داده است که رادیکال‌های آزاد تولید شده در موش‌های دیابتی از دلایل مهم توقف جنینی و مرگ سلولی می‌باشند (۲۷). به علاوه، توقف رشد جنین‌های دو سلولی موش متعاقب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی گزارش شده است (۲۸).

شواهد فراوانی بر نقش بارز تنش اکسیداتیو در ناباروری دلالت دارند. در تحقیق حاضر، در گروه دیابتی، تعداد اسپرم و درصد تحرک اسپرم و اسپرم زنده کاهش یافت، در حالی که درصد اسپرم‌های نابالغ و دارای DNA آسیب دیده افزایش نشان داد. همچنین، در موش‌های دیابتی درصد لقاح و جنین‌های دو سلولی، مورولا، بلاستوسیست و هچ شده کاهش یافت. در گروه دیابتی همچنین درصد جنین‌های متوقف شده افزایش نشان داد. از آنجائیکه تنش اکسیداتیو به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است، لذا آنتی‌اکسیدانت‌ها می‌توانند نقش مهمی در محافظت بدن در برابر بیماری دیابت ایفا کنند. مطالعات مختلف نشان داده است که آنتی‌اکسیدانت‌ها قادرند باعث بهبود کیفیت و کمیت اسپرم و تخمک شوند. آثار تخریبی رادیکال‌های آزاد توسط دستگاه آنتی‌اکسیدانتی درون سلولی مانند گلوتاتیون، اسید آسکوربیک و آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، ماتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز کنترل و یا مهار می‌گردد (۲۹). بررسی‌های آزمایشگاهی صورت گرفته نقش آنتی‌اکسیدانت‌ها را در کاهش تولید ROS و بهبود توانایی تکامل جنین مورد تایید قرار داده است (۳۰). تحقیقات همچنین نشان داده است که افزودنی‌های غذایی با خاصیت آنتی‌اکسیدانتی، موجب ارتقاء کیفیت لقاح و افزایش بلوغ داخل آزمایشگاهی اووسیت می‌شوند (۳۱).

تحقیقات اخیر نشان داده است که استفاده از چای سبز باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در موش‌های دریافت کننده تیواستامید می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در موش‌های دریافت کننده چای سبز نشان دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانتی آن می‌باشد که به کاتچین موجود در چای سبز نسبت داده شده است (۳۲). دریافت چای سبز در موش‌هایی با هیپرتری‌گلیسریدمی و هیپرکلسترولمی موجب کاهش مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد گردیده است (۳۳).

کاتچین با مهار تجمع رادیکال‌های آزاد از گسترش پراکسیداسیون لیپیدها ممانعت به عمل می‌آورد و موجب کاهش میزان سرمی MDA می‌گردد (۳۴). در پژوهش حاضر نیز مشخص شد که مصرف کاتچین در موش‌های دیابتی میزان MDA بافت بیضه را کاهش داد و همچنین باعث افزایش میزان CAT و TAC گردید. در گروه‌های دریافت کننده کاتچین همچنین غلظت هورمون تستوسترون افزایش و تعداد اسپرم و میزان تحرک و اسپرم‌های زنده افزایش یافت. علاوه بر این، درصد اسپرم‌های نابالغ و اسپرم‌های واجد DNA آسیب دیده کاهش و درصد لقاح و جنین‌های دو سلولی، مورولا، بلاستوسیست و هچ شده افزایش یافت.

نتایج این مطالعه نشان داد که دیابت با برهم زدن تعادل اکسیداسیون– احیاء موجب بروز تنش اکسیداتیو می‌گردد و آسیب‌های وارده بر بافت بیضه را افزایش و میزان باروری و لقاح و تولید جنین را کاهش می‌دهد. این در حالی است که کاتچین به سبب دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانتی قوی به واسطه مهار رادیکال‌های آزاد، اختلالات ایجاده شده در بیضه تحت تاثیر دیابت را بهبود می‌بخشد و توان باروری را افزایش می‌دهد.

تضاد منافع: در این پژوهش هیچ تضاد منافعی توسط نویسندگان گزارش نمی‌گردد.

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری وقت دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه آقای دکتر موسی توسلی و کارشناس بخش بافت شناسی دانشکده آقای دکتر علی کریمی که در این تحقیق ما را یاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

References

1.Ballester J, Muñoz MC, Domínguez J, Palomo MJ, Rivera M, Rigau T, et al. Tungstate administration improves the sexual and reproductive function in female rats with streptozotocin-induced diabetes. Hum Reprod. 2007;22(8):2128-35.

2.Masters C. Omega-3 fatty acids and the peroxisome. Mol Cell Biochem. 1996;165(2):83-93.

3.Colton SA, Pieper GM, Downs SM. Altered meiotic regulation in oocytes from diabetic mice. Biol Reprod. 2002;67(1):220-31.

4.Carvalho MG, Silva KM, Aristizabal VH, Ortiz PE, Paranzini CS, Melchert A, et al. Effects of Obesity and Diabetes on Sperm Cell Proteomics in Rats. J Proteome Res. 2021;20(5):2628-42.

5.Diaz O, Berquand A, Dubois M, Di Agostino S, Sette C, Bourgoin S, et al. The mechanism of docosahexaenoic acid-induced phospholipase D activation in human lymphocytes involves exclusion of the enzyme from lipid rafts. J Biol Chem. 2002;277(42):39368-78.

6.Domínguez C, Ruiz E, Gussinye M, Carrascosa A. Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. Diabetes Care. 1998;21(10):1736-42.

7.Narayana K. A purine nucleoside analogue-acyclovir [9-(2-hydroxyethoxymethyl)-9h-guanine] reversibly impairs testicular functions in mouse. J Toxicol Sci. 2008;33(1):61-70.

8.Choi SJ, Park SY, Park JS, Park SK, Jung MY. Contents and compositions of policosanols in green tea (*Camellia sinensis*) leaves. Food Chem. 2016;204:94-101.

9.Asadi SY, Zamiri A, Ezzati S, Parsaei P, Rafieian M, Shirzad H. Effect of alcoholic extract of green tea (*Camellia sinensis*) on the healing process in surgical and burn wounds in rats. J Birjand Univ Med Sci. 2011;18(1):1-9. [In Persian]

10.Vieira JI, Silva TA, Barbosa WM, Azevêdo GL, Arruda LC, Guerra MM, et al. Effect of green tea extract (*Camellia sinensis*) on the spermatic parameters of Wistar rats submitted or not to testicular heat shock. Anim Reprod. 2020;17(2):e20190049.

11.Hamaishi K, Kojima R, Ito M. Anti-ulcer effect of tea catechin in rats. Biol Pharm Bull. 2006;29(11):2206-13.

12.Mothagi A, Aghababa H, Heydari M, Hosseini S, Zarei A, Voghofi R, et al. Effect of Alcoholic Extract of Ziziphora tenuior L on Blood Glucose and Lipid Profiles in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Iran J Endocrinol Metab. 2019;20(6):312-9. [In Persian]

13.Wyrobek AJ, Gordon LA, Burkhart JG, Francis MW, Kapp RW, Letz G, et al. An evaluation of the mouse sperm morphology test and other sperm tests in nonhuman mammals. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat Res. 1983;115(1):1-72.

14.Terquem A, Dadoune JP. Aniline Blue Staining of Human Spermatozoon Chromatin. Evaluation of Nuclear Maturation. In: André J, editors. The Sperm Cell. Springer, Dordrecht; 1983. p. 249-52.

15.Tejada RI, Mitchell JC, Norman A, Marik JJ, Friedman S. A test for the practical evaluation of male fertility by acridine orange (AO) fluorescence. Fertil Steril. 1984;42(1):87-91.

16.Byers SL, Payson SJ, Taft RA. Performance of ten inbred mouse strains following assisted reproductive technologies (ARTs). Theriogenology. 2006;65(9):1716-26.

17.González R, Ruiz-León Y, Gomendio M, Roldan ER. The effect of glucocorticoids on mouse oocyte in vitro maturation and subsequent fertilization and embryo development. Toxicol In Vitro. 2010;24(1):108-15.

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]

18.Hadipour Jahromy M, Amini Moghadam A. Effects of Sertraline on Sperm Motility, Number and Viability and Its Relation to Blood Levels of Testosterone, FSH and LH in Adult Male Mice. Adv Sex Med. 2014;4(2):17-24.
19.Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods Enzymol. 1990;186:407-21.
20.Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymol. 1999;299:15-27.
21.Aebi H. Catalse in vitro. Methods Enzymol. 1984;105:121-6.
22.John S, Luben R, Shrestha SS, Welch A, Khaw KT, Hart AR. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and the aetiology of ulcerative colitis: a UK prospective cohort study. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2010;22(5):602-6.
23.Kofuji K, Aoki A, Tsubaki K, Konishi M, Isobe T, Murata Y. Antioxidant Activity of β-Glucan. ISRN Pharm. 2012;2012:125864.
24.Lombardo YB, Chicco AG. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. J Nutr Biochem. 2006;17(1):1-13.
25.Mahdavi R, Nemati A, Feizi E, Amani M, Alimohammadi Asl H, Mazani M, et al. Effect of ω 3 Fatty Acid Supplementation on Oxidative Stress in Gastric Cancer Patients Undergoing Chemotherapy. J Ardabil Univ Med Sci. 2011;11(2):166-75. [In Persian]
26.Nettleton JA. Omega-3 fatty acids: comparison of plant and seafood sources in human nutrition. J Am Diet Assoc. 1991;91(3):331-7.
27.McLean MP, Warden KJ, Sandhoff TW, Irby RB, Hales DB. Altered ovarian sterol carrier protein expression in the pregnant streptozotocin-treated diabetic rat. Biol Reprod. 1996;55(1):38-46.
28.Nasr-Esfahani M, Johnson MH, Aitken RJ. The effect of iron and iron chelators on the in-vitro block to development of the mouse preimplantation embryo: BAT6 a new medium for improved culture of mouse embryos in vitro. Hum Reprod. 1990;5(8):997-1003.
29.Traish AM, Cushman T, Hoyt R, Kim NN. Diabetes attenuates female genital sexual arousal response via disruption of estrogen action. Korean J Urol. 2009;50(3):211-23.
30.Wang X, Falcone T, Attaran M, Goldberg JM, Agarwal A, Sharma RK. Vitamin C and vitamin E supplementation reduce oxidative stress-induced embryo toxicity and improve the blastocyst development rate. Fertil Steril. 2002;78(6):1272-7.
31.Wirleitner B, Vanderzwalmen P, Stecher A, Spitzer D, Schuff M, Schwerda D, et al. Dietary supplementation of antioxidants improves semen quality of IVF patients in terms of motility, sperm count, and nuclear vacuolization. Int J Vitam Nutr Res. 2012;82(6):391-8.
32.Sharifi A, Naghsh N, Razmi N. The Antioxidant Effect of Camellia Sinesison on the Liver Damage Induced by Tioacetamide in Male Mice. Med Lab J. 2014;7(4):13-8. [In Persian]
33.Amouoghli Tabrizi B, Mohajeri D. Preventive Effects of Green Tea Extract from Hepatic Steatosis in the Rats Fed with High Fat Diet. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2014;13(2):125-40. [In Persian]
34.Azam S, Hadi N, Khan NU, Hadi SM. Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties. Toxicol In Vitro. 2004;18(5):555-61.

[DOI: 10.22088/jbums.25.1.221]