

Investigating Fenugreek Seed Aqueous Extract on Sperm Parameters in Selected Type II Rats

Ghahremani P¹, Moradi Sardareh H², Yaghoubi H^{*3}, Farazi N⁴, Asadi A⁴

1. Department of Biology, Payame Noor University, East Tehran Branch, Iran

2. Department of Basic Sciences, Asadabad School of Medical Sciences, Asadabad, Iran

3. Department of Biology, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran

4. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

*** Corresponding author.** Tel: +984533447031, Fax: +984533287080, E-mail: yaghoubi_h@iauardabil.ac.ir

Received: May 1, 2022 Accepted: Nov 14, 2022

ABSTRACT

Background & objectives: Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) is one of the most ancient and well-known medicinal plants, and its useful role has been well - established in treating of many diseases. The purpose of this study was to investigate the effect of Fenugreek on spermatogenesis, total antioxidant capacity and malondialdehyde (MDA) level in male diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 24 male Wistar rats weighing approximately 200±20 gram were used. The rats were randomly divided into 4 groups of six. group1: control group, Group2: diabetic, Group3: diabetic+Fenugreek (8gram /kg diet), group4: diabetic+Fenugreek (2gram /kg diet). This treatment continued for 4 weeks. Blood glucose, total antioxidant capacity, malondialdehyde, and sperm profiles were determined.

Results: Blood glucose in diabetic rats which received Fenugreek significantly reduced compared with diabetic animals. Fenugreek also reduced body weight and MDA level of semen ($p<0.05$). On the other hand, Fenugreek increased the total antioxidant capacity of semen ($p<0.05$) and normalized sperm profiles ($p<0.05$).

Conclusion: According to the present results, it can be concluded that consumption of Fenugreek extract probably reduced MDA level, body weight, and normalized sperm profile thus, Fenugreek extract can be used to treat sexual dysfunction in males.

Keywords: Antioxidant; Sperm; Testis; Diabetes; Rat; Aqueous Extract of Fenugreek

بررسی اثرات عصاره آبی دانه شنبلیله بر پارامترهای اسپرم در موش‌های صحرائی دیابتی نوع II

پریسا قهرمانی^۱، هیمن مرادی سردره^۲، هاشم یعقوبی^{۳*}، ندا فرازی^۴، اسداله اسدی^۴

۱. گروه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور، واحد تهران شرق، تهران، ایران

۲. گروه علوم پایه، دانشکده علوم پزشکی اسدآباد، اسدآباد، ایران

۳. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، اردبیل، ایران

۴. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۳۴۴۷۰۳۱ فاکس: ۰۴۵۳۳۲۸۷۰۸۰ پست الکترونیک: yaghoubi_h@iauardabil.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: اثرات عصاره گیاه و دانه شنبلیله به صورت مستقیم در بهبود دیابت تأیید شده است. از آنجایی که یکی از اثرات افزایش قند خون ایجاد استرس اکسیداتیو و کاهش کیفیت و کمیت اسپرم‌ها در مردان است، هدف اصلی این تحقیق، بررسی اثرات عصاره آبی دانه شنبلیله بر روند اسپرماتوژنز است.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با وزن 20 ± 20 گرم استفاده شد. موش‌های صحرائی به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: گروه ۱: کنترل سالم، گروه ۲: کنترل دیابتی، گروه ۳: دیابتی+ عصاره آبی دانه شنبلیله با دوز ۸ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا، گروه ۴: دیابتی+ عصاره آبی دانه شنبلیله با دوز ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا. پس از تقسیم بندی گروه‌ها، مطالعه بر روی این گروه‌ها به مدت ۴ هفته ادامه یافت. میزان گلوکز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، مالون دی‌آلدئید و شاخص‌های اسپرمی اندازه‌گیری شد. نتایج توسط آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: سطح سرمی گلوکز خون در موش‌های صحرائی دیابتی دریافت‌کننده عصاره آبی دانه شنبلیله کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان داد. مصرف عصاره آبی دانه شنبلیله سبب کاهش غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA) ($p < 0.05$)؛ وزن بدن ($p < 0.05$)؛ و از طرف دیگر سبب نرمال شدن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ($p < 0.05$)؛ و تحرک، مورفولوژی و تعداد اسپرم‌های زنده ($p < 0.05$) در موش‌های صحرائی دیابتی شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان به این نتیجه رسید که شنبلیله با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی قوی می‌تواند به بهبود شاخص‌های اسپرمی در افراد دیابتی بینجامد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسپرم، بیضه، دیابت، موش صحرائی، عصاره آبی شنبلیله

دریافت: ۱۴۰۱/۲/۱۱ پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۲۳

مقدمه

بیماری دیابت (DM) یکی از شایع‌ترین اختلالات غدد درون‌ریز می‌باشد که سالانه بیش از ۱۰۰ میلیون نفر را مبتلا می‌کند و یکی از مهمترین علل شناخته شده مرگ و میر در دنیا است [۱]. اولین مشخصه این

اختلال هیپرگلیسمی مزمن است که به دلیل نقص در ترشح انسولین از سلول‌های بتا پانکراس یا مقاومت سلول‌های بدن به انسولین یا هر دو می‌باشد. هیپرگلیسمی روی اکثر بافت‌های بدن از جمله چشم، اعصاب، کلیه و عروق خونی تأثیر می‌گذارد [۲]. مبتلایان به دیابت در سطح جهانی در سال ۲۰۱۴

حدود ۴۲۲ میلیون نفر بودند در مقایسه با تعداد مبتلایان در سال ۱۹۸۰ که ۱۰۸ میلیون نفر بودند و شیوع این بیماری از ۴/۷ به ۸/۵ درصد افزایش داشته است. سازمان بهداشت جهانی (WHO) افزایش شیوع جهانی دیابت نوع دو از ۲/۸ درصد در سال ۲۰۰۰ به ۴/۴ درصد در سال ۲۰۳۰ را پیش‌بینی کرده است [۳]. DM عوارض زیادی به همراه دارد که از مهمترین آن‌ها می‌توان به نوروپاتی، نفروپاتی، رتینوپاتی، کمای هیپراسمولار، بیماری‌های قلبی عروقی و غیره اشاره کرد [۴]. برخی از این عوارض قاتلان خاموش هستند و در زمان تشخیص اغلب قابل برگشت نیستند [۵]. بنابراین، این اختلال متابولیکی یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است و از ۵۶/۴ میلیون مرگ و میر در سال ۲۰۱۵، حدود ۱/۶ میلیون نفر به دلیل دیابت بودند [۶]. از طرف دیگر از جمله دلایل ناباروری در مردان دیابتی مشکلاتی است که در تولید، بلوغ، تحرک و قابلیت لقاح اسپرم ایجاد می‌گردد [۷]. بسیاری از محققین گزارش کرده‌اند که احتمالاً افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایجاد استرس اکسیداتیو نقش اساسی در پاتوژنز عوارض ناشی از دیابت از جمله اختلالات تولید مثلی ایفا می‌کند [۸]. بر اساس شواهد موجود در افراد دیابتی رده‌های مختلف سلولی در افراد دیابتی در طی روند اسپرماتوژنز آسیب می‌بیند. در مبتلایان به بیماری دیابت افزایش قند خون سبب تحریک ماکروفاژها و افزایش بیان سایتوکین‌های التهابی در بیضه موش می‌گردد. از طرف دیگر سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود. استرس اکسیداتیو یک واسطه قوی در مرگ سلولی بوده و نشان داده شده است مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در لوله‌های منی‌ساز موش‌های دیابتی شده با استریتوزوتوسین افزایش می‌یابد. لذا استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌تواند در کاهش این اختلالات بسیار موثر باشد [۹].

درمان‌های قابل دسترس برای دیابت نوع دو شامل تغییر سبک زندگی با ورزش، تغذیه، داروهای خوراکی و انسولین می‌باشند [۱۰]. درمان سنتی دیابت با استفاده از برخی گیاهان و یا عصاره‌های گیاهی در سرتاسر جهان شناخته شده است. از دسته گیاهان دارویی که به نظر می‌رسد در درمان و کنترل دیابت نقش مهمی داشته باشد شنبلیله را می‌توان نام برد. شنبلیله از گیاهان نهاندانه گلدار دولپه‌ای و جدا گلبرگ و در زمره *Calciflores* است این گیاه از راسته *Rosales* و تیره *Leguminosae* می‌باشد. سه گونه مختلف از جنس *Trigonella* در ایران گزارش شده است که مهمترین آن‌ها - *Trigonella foenum-graecum* L است. در سال‌های اخیر گزارش شده است که مواد موجود در شنبلیله دارای خاصیت انسولینی می‌باشند [۱۱]. در برخی از مطالعات مشخص شده که شنبلیله باعث کاهش قند و شاخص‌های لیپیدی می‌شود. همچنین نشان داده شده است که این گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. لذا، از آنجا که دیابت سبب کاهش باروری می‌شود و از طرف دیگر شواهد متعدد مبنی بر اثرات بهبوددهنده عوارض دیابت به وسیله شنبلیله و اثر تقویت‌کننده مصرف آن بر کاهش قند خون و افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد [۱۲]. در مطالعه‌ای که توسط خلیل^۱ انجام شد مشخص شد که دانه‌های شنبلیله دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌توانند تغییرات ناشی از دیابت را بهبود بخشند به همین دلیل پیشنهاد کردند که غلظت‌های بالاتر دانه‌های شنبلیله ممکن است بازسازی سلول‌های بتا در پانکراس را دو برابر کند. همچنین گزارش کردند که عصاره آبی دانه شنبلیله دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است که تغییرات بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک ناشی از آلوکسان را بهبود می‌بخشد [۱۳]. در مطالعه‌ای که الغزالی^۲ و همکاران انجام دادند مشخص شد که

^۱ Khalil^۲ Elghazaly

موش‌های صحرایی دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش آشکاری را در تعداد سلول‌های ژرمینال و سلول‌های زاینده در مجرای لوله‌های اسپرم‌ساز علاوه بر عدم وجود اسپرم بالغ نشان دادند. این در حالی بود که در موش‌های تیمارشده توسط شنبلیله، تعداد سلول‌های اسپرم‌زا و اسپرم‌های بالغ افزایش داشت و سلول‌های نکروری نیز کاهش یافت [۱۴]. با توجه به مطالعات گذشته هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره آبی دانه شنبلیله بر پارامترهای اسپرم و همچنین وضعیت آنتی‌اکسیدانی در موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو می‌باشد.

روش کار

حیوانات

این پژوهش از نوع تجربی بوده و همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شد و قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. همچنین این پژوهش با تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل با کد IR.IAU.ARDABIL.REC1396. 15 به تصویب رسید.

در این پژوهش تجربی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی 20 ± 20 گرم از انستیتو پاستور تهران، ایران، خریداری شد. حیوان‌ها در قفس‌هایی در اتاق حیوانات با درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و نور کنترل‌شده ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی با دسترسی کامل به آب و غذا نگهداری شدند.

تهیه عصاره آبی دانه شنبلیله

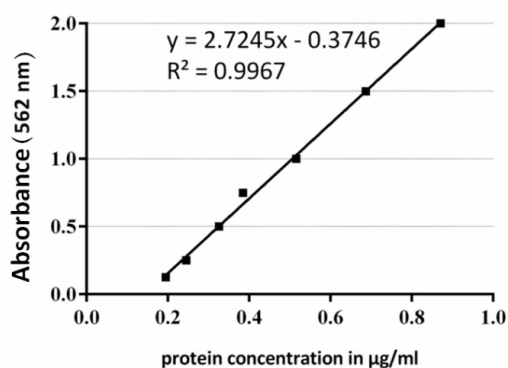
دانه شنبلیله از بازار تهیه و پس از تأیید کارشناس هرباریوم گیاهان دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل با کد (Ard10026) مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا دانه‌ها در دمای اتاق و در

سایه خشک شدند و سپس توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل شدند. ۵۰ گرم از پودر را در یک ارلن ریخته و به آن ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. سپس به مدت ۴۸ ساعت بر روی روتاتور و در حرارت اتاق قرار داده شد. سپس با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی جدا شده و در بن ماری خشک گردید تا جایی که محتویات به صورت لایه بدون آبی در ظرف باقی ماند [۱۵]. سپس مقادیر ۲ و ۸ گرم از پودر عصاره دانه شنبلیله تهیه شده به ازای هر کیلوگرم غذا به غذای پایه گروه‌های مختلف اضافه شد.

دیابتی کردن موش‌های صحرایی

پس از یک هفته سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه، جهت القا دیابت به موش‌های صحرایی استرپتوزوسین (65 mg/kg/bw) و نیکوتین آمید (110 mg/kg/bw) به صورت درون صفاقی به موش‌های صحرایی تزریق شد [۱۶]. مقدار استرپتوزوسین مورد نیاز پس از توزین در سرم فیزیولوژی سرد حل و مورد استفاده قرار گرفت. پس از گذشت ۷۲ ساعت در حالی که موش‌های صحرایی به مدت ۱۲ ساعت ناشتا بودند از دم حیوانات خونگیری انجام شد و قند خون ناشتای آن‌ها توسط گلوکومتر اندازه‌گیری شد. حیواناتی که قند خون ناشتا مساوی یا بیشتر از 250 mg/dl داشتند، به عنوان موش صحرایی دیابتی در نظر گرفته می‌شدند [۱۷]. پس از تایید دیابتی‌شدن، موش‌های صحرایی بالغ در ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل سالم که دیابتی نشدند و تنها توسط نرمال‌سالین تحت تزریق قرار گرفتند؛ گروه کنترل دیابتی که دیابتی شده و تنها توسط نرمال‌سالین تحت تزریق قرار گرفتند و دارویی دریافت نکردند؛ گروه دیابتی + ۲ گرم پودر عصاره دانه شنبلیله به ازای هر کیلوگرم غذا؛ و گروه دیابتی + ۸ گرم پودر عصاره دانه شنبلیله به ازای هر کیلوگرم غذا. تجویز دارو بر اساس گروه‌بندی ذکرشده به مدت ۴ هفته انجام شد. در آخر دوره، پس از یک شب ناشتایی، از دم

شد. ۲۵ μL از رقت‌های مختلف پروتئین را به ۲۰۰ μL محلول BCA در پلیت ۹۶ خانه الیزا به صورت دوبار تکرار اضافه کرده، بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷°C، میزان جذب اندازه‌گیری شد. با داشتن میزان جذب، غلظت نمونه‌های مجهول با استفاده از معادله رگرسیون خطی حاصل از نمودار استاندارد محاسبه گردید (شکل ۱).



شکل ۱. منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف BSA

اندازه‌گیری آنتی اکسیدان تام (TAC)

برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان تام در مایع منی، یکی از اپیدیدیم‌ها را برش زده و بعد از سانتریفیوژ کردن از مایع رویی برای سنجش استفاده شد. اندازه‌گیری TAC با روش دستی FRAP صورت گرفت. این روش بر اساس توانایی نمونه در احیای یون‌های Fe^{3+} (فریک) به Fe^{2+} (فرو) در حضور ماده‌ای به نام TPTZ استوار است. کمپلکس $TPTZ-Fe^{+2}$ کمپلکس آبی رنگی است. در این روش ترکیبات آنتی‌اکسیدان با احیای یون آهن باعث ایجاد رنگ می‌شوند که میزان غلظت با کمک اسپکتروفتومتر مدل JENWAY UV/Vis 6105 در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در این تست از فروس سولفات (1mM) به عنوان استاندارد استفاده شد.

200 ml بافر استات + 20 ml TPTZ + 20 ml محلول $FeCl_3$ + 24 ml آب مقطر (این نسبت‌ها می‌تواند با

¹ Tripuridyl-S-triazine

حیوانات با استفاده از گلوکومتر قند خون آنها سنجیده شد و سپس حیوانات توسط تزریق داروی کتامین (100 mg/m) بیهوش و بیضه و اپیدیدیم آن‌ها جدا و جهت آزمایشات بعدی استفاده شد. لازم به ذکر است بعد از جراحی وزن بیضه هر موش محاسبه گردید.

تعیین سرعت و تحرک اسپرم‌ها

بلافاصله پس از بیهوش کردن موش‌ها، بیضه‌های آنها جداسازی شد. یکی از بیضه‌ها (راست) در همه موش‌ها برای آزمایشات پاتولوژی در فرمالین فیکس شد و بیضه و اپیدیدیم دیگر (چپ) برای بررسی‌های آنالیز اسپرم مورد استفاده قرار گرفت. پس از جداکردن cauda epididymis (قطعه انتهایی اپیدیدیمیس)، با سرم فیزیولوژی شستشو و در پتری‌دیش حاوی ۱۰ ml محیط از پیش گرم‌شده Ham's F10 قرار داده شد. سپس دو انتهای ناحیه جداشده را توسط تیغ جراحی بریده و در غلاف اپیدیدیم جدا شده توسط سوزن ته‌گرد ضدعفونی و استریل سوراخ‌هایی ایجاد شد تا اسپرم‌ها از توپول‌های اپیدیدمی خارج شوند. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و محیط حاوی ۵٪ دی‌اکسید کربن، انکوبه شد. تعداد اسپرم‌ها توسط لام هموسایتومتر اندازه‌گیری شد و تحرک طبیعی اسپرم‌ها روی لام نئوبار توسط میکروسکوپ نوری ارزیابی شد (Germany, 015447, Zeiss).

بررسی مورفولوژی و حیات اسپرم

پس از بررسی تحرک اسپرم، سپس با تهیه اسمیرهای جداگانه‌ای مورفولوژی اسپرم‌ها و زنده‌مانی آنها به ترتیب توسط رنگ‌آمیزی سریع اسپرم (Diff-Quick، ARI-AND-01، Avicenna Research Institute) و رنگ‌آمیزی ائوزین-نگروزین بررسی شد [۱۸].

اندازه‌گیری پروتئین توتال

میزان پروتئین توتال توسط بافر RIPA با استفاده از روش BCA و رسم منحنی استاندارد اندازه‌گیری شد. برای رسم نمودار استاندارد غلظت‌های معینی از استاندارد کیت (BSA) با رقیق‌سازی متوالی استفاده

توجه به مقدار استفاده به یک میزان کم شود). این محلول‌ها در موقع انجام تست مخلوط شدند و قبل استفاده حداقل ۱۰ دقیقه در بن ماری 37°C نگهداری شد. با Reagent Frap اسپکتروفتومتر در طول موج 593 nm صفر شد و سپس جذب نمونه‌ها ($50\text{ }\mu\text{L}$) نمونه به همراه $1/5\text{ ml}$ Reagent Frap در همین طول موج خوانده شد و غلظت نمونه‌ها بر اساس منحنی استاندارد محاسبه گردید [۱۹].

اندازه گیری مالون دی آلدئید توسط روش تیوباریتوریک اسید TBA

برای اندازه گیری مالون دی آلدئید در مایع منی، یکی از اپیدیدیم‌ها را برش زده و بعد از سانتریفیوژ کردن از مایع رویی برای سنجش استفاده شد. وقتی که استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد، پراکسیداسیون لیپیدی اسیدهای چرب غیراشباع افزایش می‌یابد. رادیکال‌های آزاد با اثر بر لیپیدها منجر به آسیب آنها و تولید آلدئیدهای گوناگونی از جمله MDA (مالون دی آلدئید) می‌شوند که با تیوباریتوریک اسید در pH اسیدی و دمای بالا واکنش می‌دهد. حداکثر جذب کمپلکس صورتی‌رنگ حاصل در 532 nm نانومتر است [۲۰]. در این روش محصولات واکنش بصورت TBARS نشان داده می‌شوند زیرا علاوه بر MDA آلدئیدهای دیگری نیز با TBA

واکنش می‌دهند. نظر به کاربرد وسیع تست TBA در سال‌های اخیر دستور کارهای متفاوتی جهت آرائه شده است ولی حرارت دادن نمونه با معرف TBA در دمای بالا و pH اسیدی در همه روش‌ها مشترک است و ممکن است که نوع اسید، pH، زمان واکنش، ترکیب محلول TBA باعث تفاوت آنها گردد.

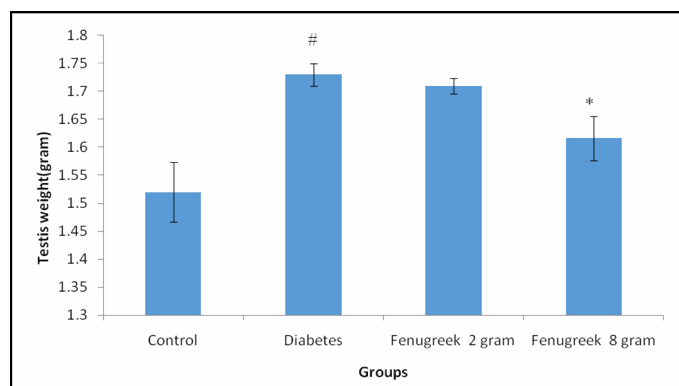
تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل با استفاده از آزمون آماری ANOVA و با استفاده از تست تعقیبی TUKEY بین گروه‌ها مقایسه شد. مقادیر کمتر از 0.05 به عنوان حد معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تأثیر شنبلیله بر وزن بیضه

مقایسه وزن بیضه در گروه‌های مختلف نشان داد که اختلاف معنی‌داری در وزن بیضه گروه‌های مختلف مطالعه وجود دارد. وزن بیضه در گروه کنترل دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم، افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.01$). مقایسه وزن بیضه گروه دیابتی دریافت‌کننده شنبلیله با دوز ۸ گرم، با گروه کنترل دیابت، تغییر معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$) (شکل ۲).



شکل ۲. تأثیر مصرف شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی وزن بیضه موش‌های صحرایی دیابتی

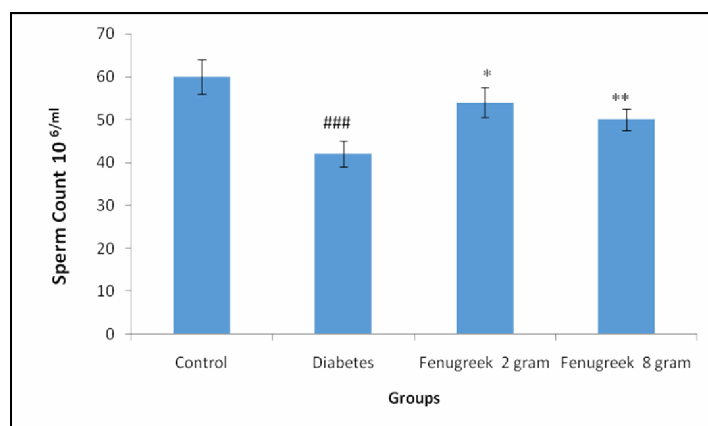
داده‌ها بصورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه شنبلیله در مقایسه با دیابتی معنی‌دار است. معنی‌داری بصورت $P < 0.01$ [#] در مقایسه با گروه کنترل درمان نشده، $P < 0.05$ ^{*} در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نمایش داده شده است.

تأثیر شنبلیله بر تعداد اسپرم

مقایسه تعداد اسپرم‌ها در گروه‌های مختلف مطالعه نشان داد که اختلاف معنی‌داری در تعداد اسپرم در گروه‌های مختلف مطالعه وجود دارد. تعداد اسپرم در گروه کنترل دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی‌دار داشت ($p < 0.001$). تعداد اسپرم در گروه‌های دیابتی تیمار شده با دوزهای ۲ و ۸ گرم پودر عصاره دانه شنبلیله در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معنی‌داری را نشان داد (به ترتیب $p < 0.05$ و $p < 0.01$) (شکل ۳).

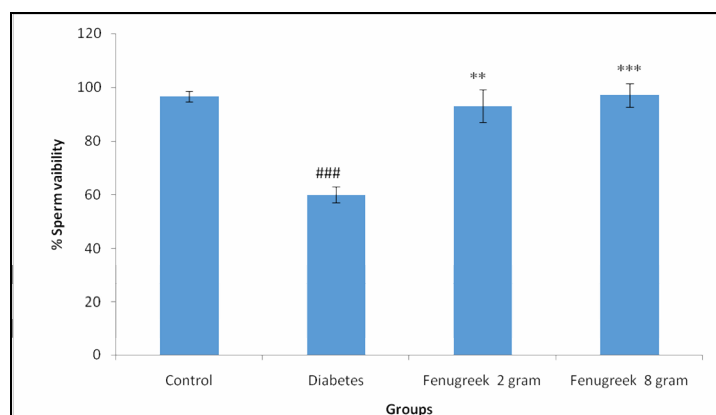
تأثیر شنبلیله بر درصد زنده ماندن اسپرم

زنده ماندن اسپرم در گروه‌های مختلف مطالعه توسط رنگ‌آمیزی اختصاصی ائوزین-نگروزین انجام شد. میزان زنده ماندن اسپرم در گروه کنترل دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی‌دار نشان داد ($p < 0.001$). میزان زنده ماندن اسپرم‌ها در گروه‌های دیابتی تیمار شده با دوزهای ۲ و ۸ گرم پودر عصاره دانه شنبلیله در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معنی‌داری را نشان داد (به ترتیب $p < 0.001$ و $p < 0.01$) (شکل ۴).



شکل ۳. تأثیر مصرف شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی تعداد اسپرم

داده‌ها بصورت Mean $\pm$ SEM نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه شنبلیله در مقایسه با دیابتی معنی‌دار است. معنی‌داری بصورت $^{###}P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل درمان نشده، $^{*}P < 0.05$ و $^{**}P < 0.01$ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نمایش داده شده است.



شکل ۴. تأثیر مصرف شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر درصد زنده ماندن اسپرم

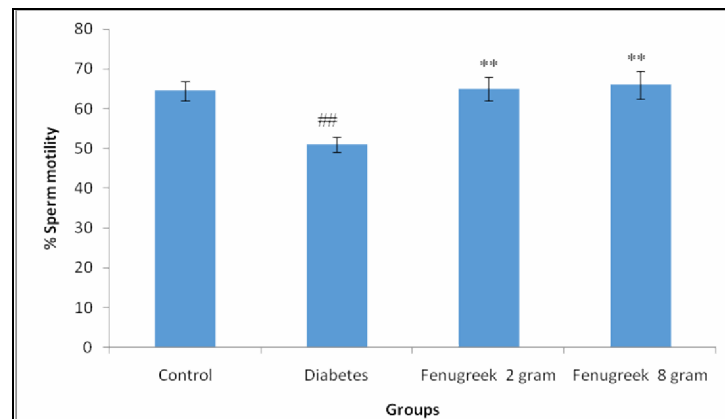
داده‌ها بصورت Mean $\pm$ SEM نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه شنبلیله در مقایسه با دیابتی معنی‌دار است. معنی‌داری بصورت $^{###}P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل درمان نشده، $^{**}P < 0.01$ و $^{***}P < 0.001$ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نمایش داده شده است.

تأثیر شنبلیله بر حرکت اسپرم

بررسی حرکت اسپرم‌ها در گروه‌های مختلف مطالعه اختلاف معنی‌داری را نشان داد. میزان حرکت اسپرم در گروه کنترل دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.01$). در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده ۲ و ۸ گرم پودر عصاره دانه شنبلیله در مقایسه با گروه کنترل دیابت افزایش معنی‌داری در حرکت اسپرم دیده شد ($p < 0.01$) (شکل ۵).

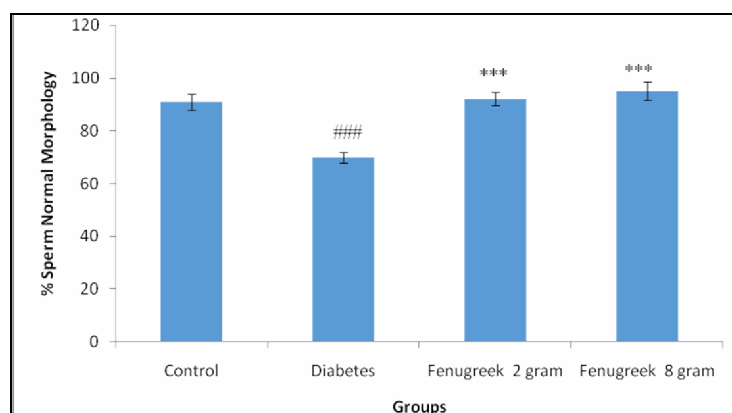
تأثیر شنبلیله بر مورفولوژی اسپرم

نتایج این مطالعه اختلاف معنی‌داری را در مورفولوژی اسپرم در گروه‌های مختلف مطالعه نشان داد. در گروه کنترل دیابت، تعداد اسپرم‌های دارای مورفولوژی طبیعی در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی‌داری را نشان داد. در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده پودر عصاره دانه شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم در مقایسه با گروه کنترل دیابت، افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی دیده شد ($p < 0.01$) (شکل ۶).



شکل ۵. تأثیر مصرف شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر حرکت اسپرم

داده‌ها بصورت Mean $\pm$ SEM نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه شنبلیله در مقایسه با دیابتی معنی‌دار است. معنی‌داری بصورت $^{##}P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل درمان نشده $^{**}P < 0.01$ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نمایش داده شده است.



شکل ۶. تأثیر مصرف شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم بر مورفولوژی اسپرم

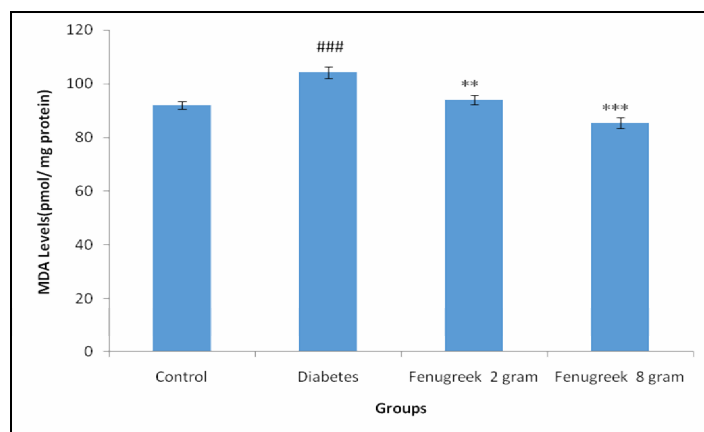
داده‌ها بصورت Mean $\pm$ SEM نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه شنبلیله در مقایسه با دیابتی معنی‌دار است. معنی‌داری بصورت $^{###}P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل درمان نشده و $^{***}P < 0.01$ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نمایش داده شده است.

تأثیر شنبلیله بر میزان MDA مایع منی

نتایج آماری ANOVA حاکی از اختلاف معنی‌داری در میزان MDA در گروه‌های مختلف مطالعه بود. در گروه کنترل دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم میزان MDA به طور معنی‌دار افزایش یافت ($p < 0.001$). در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده پودر عصاره دانه شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم در مقایسه با گروه کنترل دیابت، کاهش معنی‌داری در میزان MDA مشاهده شد (به ترتیب $p < 0.01$ و $p < 0.001$) (شکل ۷).

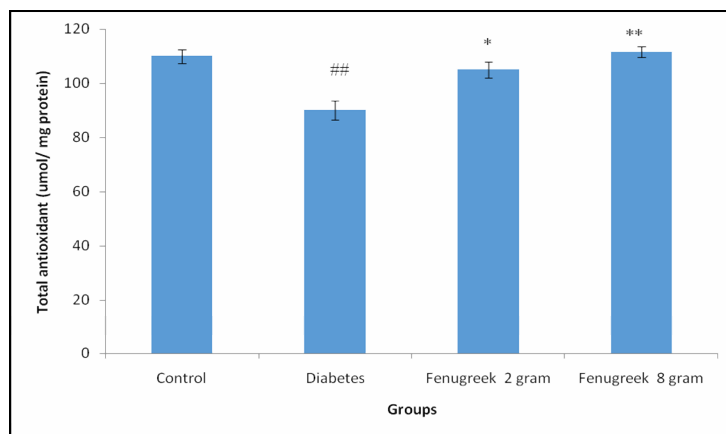
تأثیر شنبلیله بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام مایع منی پلاسما

نتایج آماری ANOVA حاکی از اختلاف معنی‌داری در میزان آنتی‌اکسیدان تام در گروه‌های مختلف بود. میزان آنتی‌اکسیدان تام در گروه کنترل دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد ($p < 0.05$). در گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده پودر عصاره دانه شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم در مقایسه با گروه کنترل دیابت، افزایش معنی‌داری در میزان TAC مشاهده شد (به ترتیب $p < 0.05$ و $p < 0.01$) (شکل ۸).



شکل ۷. تأثیر مصرف شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم بر میزان MDA

داده‌ها بصورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه شنبلیله در مقایسه با دیابتی معنی‌دار است. معنی‌داری بصورت $###P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل درمان نشده، $**P < 0.01$ و $***P < 0.001$ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نمایش داده شده است.



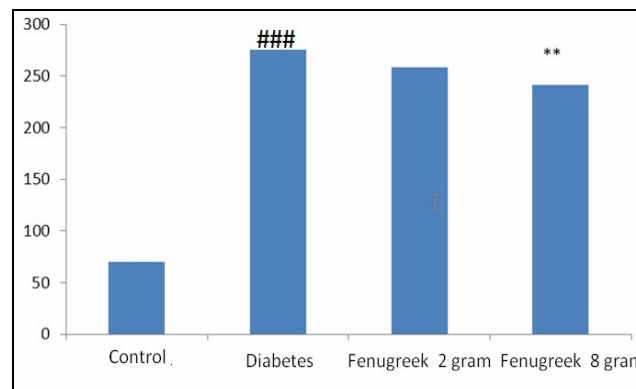
شکل ۸. تأثیر مصرف شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم بر میزان آنتی‌اکسیدان تام

داده‌ها بصورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه شنبلیله در مقایسه با دیابتی معنی‌دار است. معنی‌داری بصورت $##P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل درمان نشده، $*P < 0.05$ و $**P < 0.01$ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نمایش داده شده است.

تأثیر شنبلیله بر میزان گلوکز خون

نتایج آماری ANOVA حاکی از اختلاف معنی‌داری میزان گلوکز خون در گروه‌های مختلف تحت درمان بود. میزان گلوکز خون در گروه کنترل دیابت در مقایسه با گروه کنترل افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد ($p < 0.001$). پودر عصاره شنبلیله با دوز ۲ گرم، در مقایسه با گروه کنترل دیابت موجب کاهش

معنی‌دار در سطح گلوکز خون نشد. اما در گروه دیابتی دریافت‌کننده پودر عصاره شنبلیله با دوز ۸ گرم در مقایسه با گروه کنترل دیابت کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز خون مشاهده شد ($p < 0.01$) (شکل ۹).



شکل ۹. تأثیر مصرف شنبلیله با دوزهای ۲ و ۸ گرم بر میزان گلوکز خون

داده‌ها بصورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه شنبلیله در مقایسه با دیابتی معنی‌دار است. معنی‌داری بصورت $###P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل درمان نشده و $**P < 0.01$ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده نمایش داده شده است.

بحث

دیابت یک اختلال مزمن متابولیکی است که با افزایش قند خون و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین مشخص می‌گردد [۲۱]. امروزه دیابت یکی از مهمترین مشکلات بهداشتی درمانی و اجتماعی-اقتصادی جهان محسوب می‌گردد. طبق مطالعه انجام‌شده در سال ۱۳۸۰ جمعیت بیماران دیابتی در ایران در جمعیت بالای ۲۰ سال ۱/۶ میلیون نفر برآورد شده است. همچنین تخمین زده می‌شود که در این سال نزدیک به ۱۰۰ هزار نفر به بیماری دیابت نوع II مبتلا بوده‌اند [۲۲]. بر مبنای پیش‌بینی سازمان بهداشت جهانی میزان شیوع دیابت نوع II در ایران در سال‌های ۲۰۰۰ و ۲۰۲۵ به ترتیب ۵/۷ و ۸/۶ درصد برآورده شده است [۲۳]. همه‌گیری دیابت نوع II بار شدید و فزاینده‌ای را در سراسر جهان بر سازمان‌های مراقبت پزشکی تحمیل کرده است. در

مطالعات انجمن دیابت آمریکا (ADA) به ترتیب میزان هزینه‌های مستقیم پزشکی و هزینه‌های غیرمستقیم ناشی از بیماری دیابت در سال ۱۹۹۷، ۴۴/۲ و ۵۴ میلیارد دلار، در سال ۲۰۰۲، ۹۱/۸ و ۳۹/۸ میلیارد دلار و در سال ۲۰۰۷، ۱۱۶ و ۵۸ میلیارد دلار برآورد گردید [۲۵، ۲۴].

بروز عوارض مزمن دیابت با مقادیر بالای گلوکز و از طرف دیگر اتصال قند به پروتئین‌های خون و سایر بافت‌ها ارتباط دارد. عوارض غیرقابل برگشت دیابت اغلب به علت محصولات نهایی گلیکاسیون است که با ایجاد تغییر در ترکیب کلاسترول، آلبومین، کلاژن و هموگلوبین زمینه بروز عوارض مختلف را در افراد دیابتی فراهم می‌سازد. به همین دلیل افراد دیابتی بیشتر از افراد عادی در معرض عوارضی چون نابینایی، ناراحتی‌های قلبی، نوروپاتی، نفروپاتی قرار می‌گیرند [۲۶]. در این بیماری همچنین اختلال عملکرد جنسی در

تمامی شکل‌های آن مانند کاهش نعوظ، ناتوانی جنسی، کاهش میل جنسی، کاهش تحرک اسپرم و کاهش تعداد اسپرم دیده می‌شود [۲۷]. به همین دلیل ناباروری در دیابت یکی از معضلات جوامع امروزی می‌باشد [۹]. این مطالعات نشان می‌دهند که دیابت اثرات مخربی بر عملکرد و ساختارهای سیستم تولید مثل دارد. این تغییرات، می‌تواند منجر به کاهش سطح تستوسترون، تحلیل غدد ضمیمه تولید مثلی، کاهش میل و رفتارهای جنسی و کاهش تعداد اسپرم شود که در نهایت ممکن است سبب ناباروری شود. همچنین نتایج تحقیقات هیستولوژی نشان می‌دهد که در افراد دیابتی، تغییراتی در سیر تکامل اسپرماتوژنز شامل از بین رفتن اسپرماتوزوئیدها و پرخونی بافت بینابینی در اپیدیدیم مشاهده می‌شود [۲۸]. از سوی دیگر، دیابت باعث افزایش استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی در بیضه می‌شود. استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت با مشکلات عروقی، اختلال اندوتلیال و نوروپاتی در بافت نعوظی در ارتباط است [۲۹]. از علایم دیگر دیابت می‌توان به آتروفی بیضه‌ها، کاهش وزن بدن و اندام‌های جنسی، و کاهش تعداد اسپرم در اپیدیدیم و بیضه اشاره نمود [۳۰].

مطالعاتی مبنی بر تغییرات بافت بیضه و اسپرماتوژنز در بیماران دیابتی وجود دارد. بسیاری از محققین گزارش کرده‌اند که احتمالاً افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایجاد استرس اکسیداتیو نقش اساسی در پاتوژنز عوارض ناشی از دیابت از جمله اختلالات تولیدمثلی بازی می‌کند [۸]. بر اساس شواهد موجود در افراد دیابتی رده‌های سلولی مختلف در افراد دیابتی در طی روند اسپرماتوژنز آسیب می‌بینند [۹]. گزارش شده است که در دیابت شرایط هیپرگلیسمی سبب تحریک ماکروفاژها و افزایش بیان سایتوکین‌های التهابی، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و ROS در بیضه حیوانات آزمایشگاهی می‌گردد. استرس اکسیداتیو یک واسطه قوی در مرگ سلولی بوده و نشان داده شده است مرگ برنامه‌ریزی‌شده

سلولی در لوله‌های منی ساز موش‌های دیابتی شده یا استرپتوزوتوسین افزایش می‌یابد [۹]. در حال حاضر در اکثر مراکز درمان ناباروری از آزمایش منی جهت افتراق افراد بارور و نابارور استفاده می‌گردد و آنالیز اسپرم اولین مرحله در ارزیابی ناباروری است. برای حل این مشکلات ناباروری، داروهای شیمیایی زیادی استفاده می‌شود که برخی از این داروها دارای عوارض جانبی نیز می‌باشند و بهبودی رضایت‌بخشی برای بیماران فراهم نمی‌شود. لذا یافتن داروهای موثر با عوارض جانبی کمتر لازم و ضروری می‌باشد. استفاده طولانی‌مدت از داروهای شیمیایی برای درمان دیابت و عوارض ناخواسته این داروها باعث شده است تا توجه محققان پزشکی به سمت داروهای گیاهی که طبیعی بوده و عوارض جانبی کمتری دارند معطوف گردد [۳۱].

کمیته متخصصین سازمان بهداشت جهانی در سال ۱۹۸۰ توصیه کرده است که روش‌های سنتی درمان بیماری‌ها، بیشتر مورد بررسی قرار گیرند؛ زیرا مشکلاتی در استفاده از داروهای رایج فعلی وجود دارد. در کشورهایی مانند هندوستان و چین که طب سنتی، از سابقه‌ای دیرینه برخوردار است، اطلاعات مهمی در زمینه استفاده از بسیاری از گیاهان ناشناخته وجود دارد [۳۲].

در این مطالعه پارامترهای پایه منی از جمله حجم، غلظت، اسپرم‌های متحرک و پیش‌رونده و اسپرم با شکل نرمال مشخص گردید. اختلالات مورفولوژیکی اسپرم مانند میزان نقص سر، گردن و دم مشخص شد. یک شاخص منحصر به فرد، بررسی پارامترهای حرکتی اسپرم و رسم نمودار الگوی حرکت اسپرم می‌باشد که می‌تواند اطلاعات بالینی وسیعی را راجع به اسپرم مشخص نماید [۳۳]. در مطالعه حاضر تعداد اسپرم در گروه تحت درمان با شنبلیله نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت. رابطه استرس اکسیداتیو با تخریب غشای میتوکندری به اثبات رسیده است. در صورت تخریب میتوکندری سیتوکروم C از

میتوکندری به سیتوزول رها و باعث القای مرگ سلولی آپوپتوز می شود؛ DNA آسیب دیده خود می تواند آسیب های توسط استرس اکسیداتیو را تشدید کند و در نتیجه در این حالت اسپرم فعالیت خود را از دست می دهد [۳۴]. در این مطالعه تعداد اسپرم در گروه دیابتی بدون درمان در مقایسه با گروه نرمال کاهش معنی دار داشت. بیشتر گیاهانی که سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدان هستند تعداد اسپرم، قدرت حرکت و قابلیت های مورفولوژیکی اسپرم را افزایش می دهند [۳۵]. افزایش تعداد اسپرم در گروه دریافت کننده شنبلیله به احتمال زیاد به اثر آنتی اکسیدانی شنبلیله مربوط است، زیرا آنتی اکسیدان ها به طور مستقیم یا غیرمستقیم با تأثیر بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه، تعداد اسپرم و میزان باروری را افزایش می دهند [۳۶]. از طرفی مشخص شده است که فیتواستروژن های موجود در گیاهان دارویی به گیرنده های استروژن در بیضه متصل شده و سبب افزایش لایه اپی تلیال، قطر لوله های اسپرم ساز و افزایش قطر لومینال در طی مراحل از اسپرماتوژنز سبب تحریک این فرآیند می شوند [۳۷].

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق در گروه های دریافت کننده شنبلیله، حرکت پیش رونده و درصد اسپرم های زنده نسبت به گروه دیابتی به طور معنی داری افزایش داشت. حرکت پیش رونده اسپرم شاخصی است که بهبود آن بیانگر حرکت رو به جلو و جابجایی مناسب اسپرم در دستگاه تناسلی جنس ماده است. مطالعات نشان داده اند که گیاهانی که از نظر خواص آنتی اکسیدانی قوی هستند سبب افزایش تحرک اسپرم می گردند [۳۹، ۳۸]. پس این احتمال وجود دارد که فنل و فلاونوئیدهای موجود در شنبلیله دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی بوده که به احتمال زیاد بر تحرک اسپرم و درصد اسپرم های زنده اثر فزاینده داشته اند. هرچند کاهش ناهنجاری های شکلی اسپرم در گروه شنبلیله ۲ گرم و ۸ گرم نسبت به

گروه دیابتی معنی دار بود. این اثر نیز می تواند به آنتی اکسیدان های موجود در شنبلیله مربوط باشد. پژوهش های انجام شده بر روی مردان نابارور، کاهش در تعداد، قدرت تحرک و مورفولوژی طبیعی را نشان می دهد که ممکن است اکسیداسیون DNA اسپرم این افراد توسط رادیکال های آزاد در ایجاد ناباروری نقش داشته باشد [۴۰]. نتایج تحقیق محمد مصطفی و همکاران نشان داده که آسیب ایجاد شده بوسیله رادیکال های فعال اکسیژن (ROS) در اسپرم انسان یکی از علل اصلی ناباروری مردان است و در نتیجه تولید ROS بوسیله اسپرم های معیوب با میزان و کیفیت تحرک اسپرم ها ارتباط عکس دارد و بین تغییرات ایجاد شده در پارامترهای باروری مردان نابارور و سطح بالای ROS ارتباط معنی داری مشاهده شده است [۴۱]. علاوه بین کاهش ظرفیت تام آنتی اکسیدان (TAC) سمینال با کاهش کیفیت اسپرم نیز ارتباط نزدیکی وجود دارد. به علت تولید بیش از حد ROS، آسیب ایجاد شده در غشای اسپرم منجر به کاهش تحرک اسپرم، غیرفعال شدن آنزیم های گلیکولیتیک و آسیب غشای آکروزومی، اکسید شدن DNA و در نهایت باعث ناتوانی اسپرم در باروری تخمک می شود [۴۲].

در مطالعه حاضر ظرفیت تام آنتی اکسیدان در حیوانات دیابتی در مقایسه با گروه کنترل کاهش قابل توجهی داشت. در حالی که در گروه دیابتی تحت درمان با شنبلیله نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی مشاهده شد. مطالعات ایتکن^۱ و همکاران نشان داد که افزایش تولید ROS و محصولات آن بوسیله سلول های زاینده مردان ارتباط نزدیکی با سرطان بیضه و کاهش کیفیت اسپرم دارد. نشان داده شده است زمانی که میزان تولید ROS پایین باشد این رادیکال ها نقش مهمی در عملکرد اسپرم ایفا می کنند ولی وقتی به مقدار زیاد تولید شوند باعث

¹ Aitken

قطعه‌قطعه شدن DNA و افزایش تومور بدخیم بیضه می‌شوند [۴۳].

نجاتی و همکاران با بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ بارهنگ بر مورفولوژی بافت بیضه و پارامترهای اسپرمی و سطح تستوسترون در موش‌های نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین نشان دادند که در گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره، افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم و کاهش معنی‌داری در درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نسبت به گروه دیابتی دیده شد [۴۳]. نشان داده شده است که گیاهانی که دارای آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند، سبب کاهش ناهنجاری‌های شکلی اسپرم می‌شوند [۳۰]. همچنین امینی و همکاران نشان دادند که آب انار به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر روی شاخص‌های اسپرم پس از تنش اکسیداتیو مؤثر بوده و باعث بهبودی تعداد کل اسپرم و کاهش درصد اسپرم‌های غیرطبیعی شده است [۴۴]. از طرف دیگر پراکسیداسیون لیپیدهای موجود در غشاء سلول‌ها از جمله مهمترین اهداف رادیکال‌های آزاد می‌باشد. در این حالت ساختن غشاء و عملکرد آن تحت تأثیر قرار می‌گیرد و بعضی از محصولات ناشی از اکسیداسیون مانند مالون‌دی‌آلدهید می‌تواند با بیومولکول‌ها واکنش داده و اثرات سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک از خود نشان دهد. در نتیجه وجود مقادیر بالای رادیکال‌های آزاد بویژه پراکسیدها، نقش کلیدی در بیماری‌های مختلف ایفا می‌کند [۴۴]. در تحقیق حاضر میزان مالون دی‌آلدهید در گروه دیابتی به مقدار قابل‌ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. در حالی که در گروه دیابتی تحت درمان با شنبلیله در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده میزان مالون دی‌آلدهید کاهش قابل توجهی داشت.

همانطور که ذکر شد اختلال ایجاد شده در فسفولیپیدها و DNA اسپرم انسان در اثر ROS در پاتوژنز باروری مردان نقش بسزایی دارد. آسیب DNA و تولید ROS بیشترین مقدار را در اسپرم‌های

نابالغ با باقیمانده سیتوپلاسمی و سر غیرطبیعی و کمترین مقدار را در اسپرم‌های کاملاً بالغ نشان می‌دهد. اولرو^۱ و همکاران تفاوت معنی‌داری در تولید ROS، محتوای لیپیدی غشاء و ساختمان کروماتین در اسپرم‌های انزال شده انسان مشاهده کردند و نیز تغییرات عمده‌ای در حین فرآیند بالغ شدن اسپرم در این پارامترها مشاهده نمودند [۴۵]. در ساختمان مولکول DNA سلول‌های بدن از جمله اسپرم، رادیکال‌های آزاد می‌توانند موجب اکسیداسیون بازهای پورین و پیریمیدین، ایجاد شکستگی در یک یا دو رشته، ایجاد جایگاه‌های بدون باز، تشکیل پل‌های عرضی بین DNA و پروتئین و تغییر در قند دزاکسی ریبوز شوند. رادیکال‌های آزاد قادر هستند که بیومولکول‌های حیاتی از جمله DNA را مورد حمله اکسیداتیو قرار داده و تغییراتی در ساختمان DNA ایجاد نمایند، که این تغییرات در DNA اسپرم می‌تواند موجب ناباروری شود [۳۵].

نتیجه‌گیری

نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که تجویز شنبلیله در موش‌های صحرایی دیابتی سبب بهبود شاخص‌های اسپرمی می‌شود. از طرف دیگر شنبلیله سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و همچنین سبب افزایش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. به نظر می‌رسد که شنبلیله با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی منجر به بهبود شاخص‌های اسپرمی می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل که در اجرای هرچه بهتر تحقیق یاری کردند صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

^۱ Ollero

تعارض منافع

در این پژوهش هیچ گونه تضاد منافی
برای نویسندگان وجود ندارد.

References

- 1-Cheng D. Prevalence, predisposition and prevention of type II diabetes. *Nutr Metab (Lond)*. 2005 Oct; 2:(29):1-12.
- 2- Mang B, Wolters M, Schmitt B, Kelb K, Lichtinghagen R, Stichtenoth DO, et al. Effects of a cinnamon extract on plasma glucose, HbA_{1c}, and serum lipids in diabetes mellitus type 2. *Eur J Clin Invest*. 2006 May; 36(5):340-4.
- 3- Rahimi MA, Izadi N, Niroumand E, Rezvan Madani F, Najafi F, Asarezadegan M, et al. Comparison of serum level of 25- hydroxy vitamin d in diabetic patients and healthy subjects. *Med J Mashhad Univ Med Sci*. 2016 Summer; 59(2):97-105. [Full text in Persian]
- 4- Baynes HW. Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *J diabetes metab*. 2015 May; 6(5):1-9.
- 5- Vickers NJ. Animal communication: when I'm calling you, will you answer too? *Curr Biol*. 2017 Jul; 27(14):713-15.
- 6- WHO. The top 10 causes of death fact sheet No 310. Geneva, Switzerland: World Health Organization. 2013.
- 7- Soudamani S, Malini T, Balasubramanian K. Effects of streptozotocin-diabetes and insulin replacement on the epididymis of prepubertal rats: histological and histomorphometric studies. *Endocr Res*. 2005 Jan; 31(2):81-98.
- 8- Edris B, Espinosa I, Mühlenberg T, Mikels A, Lee CH, Steigen SE, et al. ROR2 is a novel prognostic biomarker and a potential therapeutic target in leiomyosarcoma and gastrointestinal stromal tumour. *J Pathol*. 2012 Jun; 227(2):223-33.
- 9- Molzemi S, Shiravi A, Kalalian Moghaddam H, Babakhani A, Ghanbari F. Effect of chronic administration of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetic male rat. *Knowledge Health*. 2012 Autumn; 7(3):136-140. [Full text in Persian]
- 10- Chao KC, Chao KF, Fu YS, Liu SH. Islet-like clusters derived from mesenchymal stem cells in Wharton's Jelly of the human umbilical cord for transplantation to control type 1 diabetes. *PloS one*. 2008 Jan; 1(1451):1-9.
- 11- Solomon DH, Cadarette SM, Choudhry NK, Canning C, Levin R, Sturmer T. A cohort study of thiazolidinediones and fractures in older adults with diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Aug; 94(8):2792-98.
- 12- Khaksar Z, Tavakol K. Effect of fenugreek seed extract (*Trigonella Foenum-graecum*) on brachial region of the spinal cord of an 18-day old rat offspring with diabetes. *Armaghane-danesh*. 2013 Aug; 18(4):272-283. [Full text in Persian]
- 13- Khalil EA. Biochemical and histopathological studies on the influence of aqueous extract of fenugreek seed (*Trigonella foenum graecum*) on alloxan diabetic male rats. *Egypt J Hosp Med*. 2004 Apr; 15(1):83-94.
- 14- Elghazaly NA, Zaatout HH, Radwan EH, Elghazaly MM, Elsheikha EA. *Trigonella foenum graecum* extract benefits on hematological, biochemical and male reproductive system as a complementary therapy with glimepiride in treating streptozotocin induced diabetic rats. *J Bioinform Diabetes*. 2019 Feb; 1(3):45-59.
- 15- Khosla P, Gupta DD, Nagpal RK. Effect of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek) on blood glucose in normal and diabetic rats. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1995 Apr; 39(2):173-178.
- 16- Zhao J, Jin KK, Wu L, Chen GR, Li JM. Effects of extract of ginkgo biloba on learning and memory ability and NGF and NT-3 expression in diabetic rats. *Chin J Appl Physiol*. 2012 Sep; 28(5):467-471.

- 17- Fukaya M, Tamura Y, Chiba Y, Tanioka T, Mao J, Inoue Y, et al. Protective effects of a nicotinamide derivative, isonicotinamide, against streptozotocin-induced β -cell damage and diabetes in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Dec; 442(1-2):92-98.
- 18- Moradi-Sardareh H, Basir HR, Hassan ZM, Davoudi M, Amidi F, Paknejad M. Toxicity of silver nanoparticles on different tissues of Balb/C mice. *Life Sci*. 2018 Oct; 211(15):81-90.
- 19- 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.
- 20- Mohammadi A, Mirzaei F, Jamshidi M, Yari R, Pak S, Sorkhani AN, et al. The in vivo biochemical and oxidative changes by ethanol and opium consumption in Syrian hamsters. *Int J Biol*. 2013 Oct; 5(4):14-22.
- 21- Marion JF, Evert AB. Medical nutrition therapy for diabetes mellitus and hyperglycemia of nondiabetic origin. *Krause's Food Nutr Diet Ther*. 2004 Oct; 5(4):774-80.
- 22- Larijani B, Abolhasani F, Tabatabai O, Mohajeri Tehrani MR. Prevalence of diabetes mellitus in Iran in 2000. *Iran J Diabet Lipid Disord*. 2005; Sep; 4(3):75-83.
- 23- King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes care*. 1998 Sep; 21(9):1414-31.
- 24- Dall T, Nikolov P, Hogan PF. Economic costs of diabetes in the US in 2002. *Diabetes Care*. 2003 Mar; 26(3):917-932.
- 25- Dall T, Mann SE, Zhang Y, Martin J, Chen Y. Economic costs of diabetes in the US in 2007. *Diabetes Care*. 2008 Mar; 31(3):596-612.
- 26- Gregg EW, Beckles GL, Williamson DF, Leveille SG, Langlois JA, Engelgau MM, et al. Diabetes and physical disability among older US adults. *Diabetes care*. 2000 Sep; 23(9):1272-7.
- 27- Kolodny RC. Sexual dysfunction in diabetic females. *Diabetes*. 1971 Aug; 20(8):557-9.
- 28- Vignon F, Le Faou A, Montagnon D, Pradignac A, Cranz C, Winiszewsky P, et al. Comparative study of semen in diabetic and healthy men. *Diabetes Metab J*. 1991 May; 17(3):350-4.
- 29- Ricci G, Catizone A, Esposito R, Pisanti FA, Vietri MT, Galdieri M. Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. *Andrologia*. 2009 Dec; 41(6):361-368.
- 30- Mallidis C, Green BD, Rogers D, Agbaje IM, Hollis J, Migaud M, et al. Metabolic profile changes in the testes of mice with streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus. *Int J Androl*. 2009 Apr; 32(2):156-65.
- 31- Venkatesh S, Reddy GD, Reddy BM, Ramesh M, Rao AA. Antihyperglycemic activity of *Caralluma attenuata*. *Fitoterapia*. 2003 Apr; 74(3):274-279.
- 32- Pari L, Saravanan G. Antidiabetic effect of Cogent db, a herbal drug in alloxan-induced diabetes mellitus. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2002 Jan; 131(1):19-25.
- 33- Youn JS, Cha SH, Park CW, Yang KM, Kim JY, Koong MK, et al. Predictive value of sperm motility characteristics assessed by computer-assisted sperm analysis in intrauterine insemination with superovulation in couples with unexplained infertility. *Clin Exp Reprod Med*. 2011 Mar; 38(1):47-52.
- 34- Wang X, Sharma RK, Sikka SC, Thomas Jr AJ, Falcone T, Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril*. 2003 Sep; 80(3):531-5.
- 35- Ryan E, Galvin K, O'Connor TP, Maguire AR, O'Brien NM. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods Hum Nutr*. 2007 Sep; 62(3):85-91.
- 36- Wing TY, Christensen AK. Morphometric studies on rat seminiferous tubules. *Am J Anat*. 1982 Sep; 165(1):13-25.
- 37- Oluoyemi KA, Jimoh OR, Adesanya OA, Omotuyi IO, Josiah SJ, Oyesola TO. Effects of crude ethanolic extract of *Garcinia cambogia* on the reproductive system of male Wistar rats. *Afr J Biotechnol*. 2007; 6(10):1236-8.
- 38- Adesanya OA, Oluoyemi KA, Ofusori DA, Omotuyi IU, Okwuonu CO, Ukwanya VA, et al. Micromorphometric and stereological effects of ethanolic extracts of *Garcinia cambogia* seeds on the testes and epididymides of adult Wistar rats. *Internet J altern med*. 2007; 5(1):14-17.

- 39- Kodama H, Yamaguchi R, Fukuda J, Kasai H, Tanaka T. Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertil Steril*. 1997 Sep; 68(3):519-24.
- 40- Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, Mascha E, Abdel□Hafez MA, Thomas AJ, et al. Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Hum Reprod*. 2004 Jan; 19(1):129-138.
- 41- Aitken RJ. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. *Reprod Fertil Dev*. 1995 Sep; 7(4):659-668.
- 42- Nejati V, Khanshi F. Effect of hydroalcoholic extract of *Plantago major* leaf on the testis morphology, sperm parameters and testosterone level in streptozotocin-induced diabetic rats. *Horiz Med Sci*. 2014 February; 20(1):49-55. [Full text in Persian]
- 43- Amini Rad O, Khalili MA, Soltani Gord Faramarzi HR. Influence of pomegranate juice on sperm parameters and fertility in mice. *J Hormozgan Univ Med Sci* 2009 Autumn; 13(3): 183-7. [Full text in Persian]
- 44- Kamaliroosta L, Ghavami M, Gharachorloo M, Azizinezhad R. Isolation of cinnamon extract and assessing its effect on the stability of sunflower oil. *Iran J Nutr Sci Food Technol*. 2011 Spring; 6(1):13-22. [Full text in Persian]
- 45- Ollero M, Gil-Guzman E, Lopez MC, Sharma RK, Agarwal A, Larson K, et al. Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility. *Hum Reprod*. 2001 Sep; 16(9):1912-21.