مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی بیست و چهارم، شماره‌ی ۲، صفحه‌های ۱۲۱ ـ ۱۱۰ (خرداد ـ تیر ۱۴۰۱)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر عصاره هیدروالکلی دارچین بر بیان ژن‌های کانال‌های کلسیمی اسپرم (Catsper) در موش‌های صحرایی نر دریافت‌کننده رژیم غذایی پر چرب

دکتر حسین مصطفوی، دکتر مهدی اسکندری، دکتر فاطمه مرادی، فرهاد محمدی

دپارتمان فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، ایران، **نشانی مکاتبه با نویسنده‌ی مسئول**: زنجان، شهرک کارمندان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، کدپستی: ٤٥١٣٩٦٤٦٨٦، دکتر مهدی اسکندری، e-mail: mehdiesk@zums.ac.ir

چکیده

مقدمه: دارچین گیاهی است که حاوی مواد ضدالتهابی، آنتی‌آپوپتوتیک و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. مطالعات پیشین تاثیر کاهشی چاقی و هیپرلیپیدمی و در مقابل اثر تقویتی دارچین بر باروری را نشان داده‌اند. از این‌رو؛ در پژوهش حاضر اثر عصاره هیدروالکلی دارچین بر نمایه توده بدنی **(BMI)** و میزان بیان ژن کانال کاتیونی اسپرم **(Catsper)**، در موش صحرایی نر نژاد ویستار دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب، مورد بررسی قرار گرفته است. **مواد و روش‌ها:** سی و شش سر موش صحرایی نر، در شش گروه تقسیم شدند. گروه شاهد هیچ تیماری دریافت نکرد و تغذیه معمولی داشت. پنج گروه دیگر به مدت ۸ هفته غذای پرچرب دریافت کردند. گروه شاهد تغذیه‌ای؛ فقط غذای پرچرب، گروه حلال دارو ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد، گروه لوواستاتین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی لوواستاتین، و دو گروه تیمار با دارچین به ترتیب ۱۳۰ و ۲۶۰ میلی‌گرم دارچین، به مدت ۶ هفته با تزریق داخل صفاقی، به صورت روزانه دریافت داشتند. در انتهای مطالعه **BMI** حیوانات اندازه‌گیری گردید. میزان بیان ژن‌های **Catsper** نیز با استفاده از روش **Real Time – PCR** مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها توسط نرم‌افزار **SAS** (ویرایش ۹/۱) و آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح معناداری **p<۰/۰۵** و با آزمون دانکن تحلیل شدند. **یافته‌ها:** عصاره هیدروالکلی دارچین باعث کاهش معنی‌دار **BMI** گردید **(p<۰/۰۵)**. بیان ژن‌های **Catsper1-4** در گروه‌های شاهد تغذیه‌ای و حلال دارو نسبت به گروه شاهد کاهش یافت **(p<۰/۰۵)**. در گروه‌های دارچین و لوواستاتین افزایش بیان ژن‌های **Catsper1-4** مشاهده شد. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد دارچین بعنوان پیش‌درمانگر اثرات مفیدی در راستای کاهش میزان **BMI** دارد. هم‌چنین پیش‌درمان با دارچین، با افزایش بیان ژن‌های **Catsper1-4** همراه است.

واژگان کلیدی: Catsper، عصاره هیدروالکلی، دارچین، نمایه توده بدنی، هیپرلیپیدمی

دریافت مقاله: ۱٤۰۱/٥/۲٦ـ دریافت اصلاحیه: ۱٤۰۱/۹/۲۸ـ پذیرش مقاله: ۱٤۰۱/۱۰/٥

مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات شایع در جهان است.[۱] چاقی و هیپرلیپیدمی از علل مهم ناباروری مردان می‌باشد.[۲] هیپرلیپیدمی بر اسپرماتوژنز و باروری جنس نر تاثیر منفی می‌گذارد. هم‌چنین انباشت کلسترول در سلول‌های سرتولی و اختلال در سد خونی بیضه‌ای، باعث ایجاد اختلال در تولید اسپرم، تحرک آن و ایجاد ناباروری در جنس نر می‌شود.[۳] چاقی علاوه بر ایجاد عوارض قلبی- عروقی، دیابت، تسریع پیری و بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی[i]، بر سیستم تولیدمثل نیز تاثیر منفی دارد و با واسطه‌هایی از قبیل هیپرانسولینمی[ii]، هیپرلپتینمی[iii]، التهاب مزمن و استرس اکسیداتیو باعث کاهش کیفیت مایع منی می‌گردد. به علاوه، چاقی با تغییر در عملکرد محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گنادی، اختلال در استروئیدزایی بیضه‌ای و اختلال در

i -Neurodegenerative
ii-Hyperinsulinemia
iii- Hyperleptinemia

فرایندهای متابولیک؛ باعث سوء عملکرد سیستم تولیدمثل می‌گردد.[۴،۵] یکی دیگر از دلایلی که منجر به کاهش تحرک اسپرم و به‌دنبال آن ناباروری در مردان می‌شود؛ اختلال در عملکرد پروتئین‌هایی است که به عنوان تنظیم‌کننده‌های تحرک اسپرم عمل می‌کنند.[۶] کانال‌های کاتیونی اسپرم یا Catsper [i] برای تامین تحرک فلاژل[ii] اسپرم و بنابراین باروری مردان امری ضروری هستند.[۷] Catsper ها کانال‌های هترودایمری هستند. در سال ۲۰۰۱ زیر واحدهای سازنده آن‌ها در اسپرماتوزوا شناسایی و مشخص گردید. این کانال‌ها از زیر واحد آلفا (چهار نوع زیر واحد آلفا وجود دارد که چهار نوع Catsper را ایجاد می‌کند) و سه زیر واحد به نام-های بتا، گاما و دلتا تشکیل شده‌اند. زیر واحدهای Catsper از طریق افزایش pH داخل سلولی فعال شده و اجازه ورود یون‌های کلسیم به داخل سیتوپلاسم فلاژل را فراهم می-نماید.[۸،۹]

کانال‌های Catsper در قسمت اصلی دم اسپرم و سر آکروزومی[iii] اسپرم مستقر هستند و نقش کلیدی در کنترل تحرک اسپرم و نفوذ به تخمک داشته و حضور آن‌ها برای باروری ضروری است.[۷،۱۰] Catsper های ۱ و ۲ برای تحرک اسپرم و باروری جنس نر ضروری هستند.[۱۱] در صورتی‌که Catsper های ۳ و ٤ در ناحیه آکروزومی سر اسپرم قرار دارند و در واکنش آکروزومی و نفوذ به تخمک نقش مهمی ایفا می‌کنند.[۱۲،۱۳]

یکی از راه‌های درمان ناباروری تلاش در جهت استفاده از گیاهان دارویی است.[۱٦-۱٤] دارچین یکی از شناخته شده‌ترین گیاهان دارویی است.[۱۷] دارچین از پوسته داخلی درختان جنس Cinnamomum به‌دست می‌آید.[۱۸] ترکیبات اصلی دارچین شامل سینامالدئید[iv]، اوژنول[v] و سافرول[vi] می‌باشد.[۱۹] این گیاه در افزایش قدرت باروری، تعداد و تحرک اسپرم موثر است. بعلاوه؛ دارچین اثر مثبت بر کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول خون دارد.[۱۷،۲۰] بر اساس مطالعات قبلی؛ دارچین به‌طور قابل توجهی جمعیت، تحرک و شانس زنده ماندن اسپرم را افزایش داده و همچنین بر اسپرماتوژنز تاثیر سودمندی دارد.[۲۱]

بر اساس بررسی‌های انجام شده، تاکنون اثر رژیم غذایی پرچرب؛ به عنوان یکی از عوامل ایجادکننده چاقی[۲۲] و همچنین عصاره هیدروالکلی دارچین، بر بیان ژن‌های Catsper مورد مطالعه قرار نگرفته است. بنابراین پژوهش حاضر جهت پاسخ‌گویی به این سوال طراحی گردیده است که آیا رژیم پرچرب می‌تواند برروی بیان ژن‌های Catsper اثر مهاری داشته باشد؟ و آیا مصرف دارچین می‌تواند این اثرات منفی را بر طرف کرده و بیان این ژن‌ها را افزایش دهد؟ بر این اساس در مطالعه حاضر موش‌های صحرایی نر که تحت رژیم غذایی پر چرب قرار گرفته بودند، تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی دارچین قرار گرفته و نمایه توده بدنی و میزان بیان ژن‌های Catsper در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

انتخاب و نگه‌داری حیوانات

در این پژوهش که در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی زنجان به مدت ٦ ماه انجام شد، ۳٦ سر موش صحرایی نر بالغ، از نژاد ویستار، با سن تقریباً یکسان (٦ الی ۸ هفته) و با وزن اولیه ۲۲۰ -۱۸۰ گرم، به طور تصادفی انتخاب شدند. تعداد نمونه‌ها بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شد.[۲۳] شرایط زیستی مناسب شامل؛ ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ساعت تاریکی، دما ۲۲ تا ۲٤ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ٦۰ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا برای حیوانات برقرار گردید. حیوانات به طور تصادفی به ٦ گروه ٦ تایی تقسیم شدند.

۱. گروه شاهد: حیواناتی که به مدت ۱٤ هفته دریافت کننده رژیم غذایی معمولی بودند.
۲. گروه شاهد تغذیه‌ای: حیواناتی که هیچ عصاره‌ای دریافت نمی‌کنند و ۸ هفته غذای پرچرب و سپس ٦ هفته غذای عادی دریافت‌کردند.
۳. گروه لوواستاتین (شاهد مثبت): حیواناتی که به مدت ۸ هفته دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب بوده و سپس لوواستاتین را به مقدار ۱۰ میلی‌گرم به ازا هر کیلوگرم وزن بدن، به مدت ٦ هفته همراه با غذای عادی، دریافت کردند.
٤. گروه حلال دارو: حیواناتی که به مدت ۸ هفته دریافت-کننده رژیم غذایی پرچرب بودند و سپس به مدت ٦ هفته کربوکسی متیل سلولز را به مقدار ٥ میلی‌گرم به

i -Cation Channel of Sperm
ii -Flagellum
iii-Acrosomal
iv-Cinnamaldehyde
v- Eugenol
vi -Safrole

ازاء هر کیلوگرم وزن بدن (بعنوان حلال پودر لوواستاتین)، همراه با غذای عادی، دریافت کردند.

۵. گروه تیمار با عصاره دارچین ۱۳۰: حیواناتی که به مدت ۸ هفته دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب بوده و سپس عصاره دارچین را روزانه به مقدار ۱۳۰میلی‌گرم، به مدت ٦ هفته همراه با غذای عادی، دریافت کردند.

٦. گروه تیمار با عصاره دارچین ۲٦۰: حیواناتی که به مدت ۸ هفته دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب بوده و سپس عصاره دارچین را روزانه به مقدار ۲٦۰ میلی‌گرم، به مدت ٦ هفته همراه با غذای عادی، دریافت کردند.

در پایان زمان مداخله، حیوانات با کلرال‌هیدرات[i] (شرکت مرک[ii]/آلمان)، به میزان ٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن[۲٤] بیهوش شده و درشرایط سترون با ایجاد شکافی در قسمت تحتانی شکم، بیضه‌های راست و چپ جهت استخراج RNA خارج گردید.

تهیه غذای پرچرب

به منظور ایجاد چاقی از غذای حاوی ٤۰-۳۵ درصد چربی استفاده شد.[۲۲] برای تهیه غذای پرچرب، ابتدا غذای استاندارد موش‌های صحرایی (غذای فشرده) آسیاب شده و به ازای هر ۸۰۰ گرم غذای آسیاب شده، ۲۰۰ گرم چربی حیوانی (دنبه گوسفند) به آن اضافه گردید. جهت خمیری کردن این ترکیب به آن آب مقطر افزوده و با ورز دادن کاملا مخلوط شد. این ترکیب خمیری به شکل دانه‌های گرد فشرده در آورده شد و در مقابل نور آفتاب خشک گردید. این غذا به صورت هفتگی تهیه و در یخچال نگه‌داری می‌شد. حیوانات گروه‌های دو تا شش به مدت ۸ هفته با غذای پر چرب تهیه شده تغذیه گردیدند.

تهیه عصاره دارچین و محلول تزریقی لوواستاتین

عصاره هیدروالکلی دارچین به شکل آماده از شرکت گل دارو تهیه گردید. لوواستاتین به صورت پودر از شرکت دارویی اسوه خریداری شد. کربوکسی‌متیل‌سلولز[iii] (CMC) ۱۵-۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به عنوان حلال این پودر در نظر گرفته شد. جهت جلوگیری از ژله‌ای شدن این ماده، کمترین میزان پیشنهادی، یعنی۵ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر آب مقطر در نظر گرفته شد. [۲۵]

تزریق‌ها

عصاره هیدروالکلی دارچین با مقادیر ۱۳۰ و ۲٦۰ میلی‌گرم[۲٦] به هر موش صحرایی به مدت شش هفته به حیوانات گروه پنج و شش تزریق گردید. هم‌زمان لوواستاتین با توجه به مقادیر پیشنهادی مقالات[۲۷]، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی در کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد حل و به مدت شش هفته به حیوانات گروه لوواستاتین تزریق گردید. حلال لوواستاتین (CMC ۰/۵ درصد) به مدت شش هفته به حیوانات گروه حلال دارو تزریق گردید. تمامی تزریقات به صورت داخل صفاقی (IP) و روزانه صورت گرفت. کار با حیوانات بر اساس معیارهای بین‌المللی اخلاق کار با حیوانات و تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی زنجان با شناسه IR.ZUMS.REC.1397.128 صورت گرفت. حیواناتی که پس از دوره تزریق، دچار عفونت یا التهاب پرده صفاقی می‌شدند از مطالعه خارج شدند.

اندازه‌گیری نمایه توده بدنی

وزن و قد موش های صحرایی در روز اول آزمایش و در پایان هفته ١٤، با استفاده از ترازوی دیجیتال و متر اندازه‌گیری و ثبت گردید. از نتایج اندازه‌گیری برای محاسبه‌ی نمایه توده بدنی[iv] (BMI) و براساس فرمول زیر استفاده گردید.

[وزن بدن (به کیلوگرم) تقسیم بر مربع طول بدن (به متر)].[۲۸]

اندازه‌گیری بیان ژن‌ها

استخراج RNA تام از بافت بیضه با استفاده از محلول ترایزول[v] محصول شرکت اینویتروژن[vi] انجام شد. پس از تعیین غلظت RNA استخراج شده، سنتز cDNA از RNA تام، با استفاده از کیت پرفکت ریل تایم[vii]، ساخت شرکت تاکارا[viii] (ژاپن)، طبق دستور کار کیت، انجام گرفت.

i -Chloral Hydrate
ii- Merck
iii-Carboxymethyl Cellulose

iv-Body Mass Index
v -Trizol
vi- Invitrogen
vii -PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time)
viii- Takara Bio

طراحی پرایمرها با استفاده از نرم‌افزارهای ژن رانر[i] و الیگو[ii] انجام شد. سپس در پایگاه ملی اطلاعات بیوتکنولوژی[iii] جهت تایید، بلاست[iv] گردید و با استفاده از نرم‌افزار از نظر وجود دایمر بررسی گردید. پرایمرها به صورت شیمیایی توسط شرکت سیناکلون سنتز شدند. ژن بتا اکتین[v] به عنوان ژن کنترل داخلی (مرجع) استفاده شد. پرایمرهای مورد استفاده و طول قطعات حاصل از PCR آن‌ها به این شرح بود: برای ژن Catsper1 توالی پرایمر رفت F: 5′-TGTAGCTTTGTCCCATCCCTC-3′ و توالی برگشت R: 5′-TGGGAAAGGTTGTCTGAAAGG-3′ و طول قطعه حاصل ۱۲۹ جفت باز و شماره دسترسی در بانک اطلاعاتی XM_039101330.1 بود. برای ژن Catsper2 توالی پرایمر رفت F: 5′-TCTGAATACCTTTGTGCTGAT-3′ و توالی برگشت R: 5′-ATCTCTACAATGAAGCTAAGC-3′ و طول قطعه حاصل ۱۲٦ جفت باز و شماره دسترسی در بانک اطلاعاتی XM_008762187.3 بود. برای ژن Catsper3 توالی پرایمر رفت F: 5′-TTGATGGCTGGACAAACCTAC-3′ و توالی برگشت R: 5′-GGAAGATGAAGGAGGCAAGCA-3′ و طول قطعه حاصل ۱۰۲ جفت باز و شماره دسترسی در بانک اطلاعاتی NM_001106101.2 بود. برای ژن Catsper4 توالی پرایمر رفت F: 5′-TCGGTCAGAAACACTATGAGT-3′ و توالی برگشت R: 5′-TATTCCAGCCATCCTTCCAGAA-3′ و طول قطعه حاصل ۱۲۳ جفت باز و شماره دسترسی در بانک اطلاعاتی XM_039111286.1 بود. برای ژن β-actin توالی پرایمر رفت F: 5′-CATGTACGTTGCTATCCAGGC-3′ و توالی برگشت R: 5′-CTCCTTAATGTCACGCACGAT-3′ و طول قطعه حاصل ۲۵۰ جفت باز و شماره دسترسی در بانک اطلاعاتی NM_031144.3 بود.

واکنش PCR Gradient با استفاده از مستر میکس Red- Mix MgCl2 ساخت شرکت Ampliqo جهت یافتن دمای ذوب (Tm) اپتیمم پرایمرها انجام گردید. این دما برای ژن‌های β-actin=٦٢ ºC، Catsper1=٥٩/٩ ºC، Catsper2=٥٣/١ ºC، Catsper3=٥٨/٥ ºC و Catsper4=٥٧/٤ ºC به دست آمد.

در این مطالعه از دستگاه ریل تایم[vi] PCR ساخت شرکت ABI و روش سایبرگرین[vii] استفاده شد. برنامه دمایی واکنش PCR مشتمل بود بر: مرحله واسرشت سازی اولیه (۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد) و سپس ٤٠ چرخه تکثیر به ترتیب، ۱۵ ثانیه در ۹۳ درجه سانتی‌گراد (واسرشت)، ۳۰ ثانیه در دمای مناسب به دست آمده برای هر ژن (جفت شدن)، ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (طویل شدن). تمامی واکنش‌ها به صورت تکرار سه تایی انجام شدند. در این آزمایش نمونه‌هایی که کنترل‌های منفی آن‌ها مثبت بود؛ واجد آلودگی خارجی شناخته شده و از مطالعه خارج گردیدند.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های نمایه توده بدنی و بیان ژن‌های Catsper با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گردید. اختلاف آماری گروه‌ها با در نظر گرفتن شرایط آزمون پارامتری، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شد و در صورت معنی‌دار بودن تفاوت‌ها، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با حدود اطمینان ۹۵ درصد ($P<0/05$) برای مشخص شدن اختلاف میانگین‌ها استفاده شد. در تفسیر آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SAS، عدم وجود حروف مشترک در هر گروه بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است. مقادیر شامل میانگین سه تکرار±انحراف معیار است. برای مقایسه نمایه توده بدنی در سه زمان مورد نظر مطالعه از آزمون t همبسته استفاده گردید.

یافته‌ها

اثر پیش تغذیه عصاره دارچین بر نمایه توده بدنی

مقادیر مربوط به وزن بر حسب گرم، طول بدن (از پوزه تا ابتدای دم) بر حسب سانتی‌متر در سه زمان شروع مطالعه، هفته هشتم (قبل از زمان شروع تزریق‌ها) و هفته چهاردهم (بعد از اتمام دوره) در جدول یک آورده شده است. شاخص لی[viii] با استفاده از فرمول (ریشه سوم وزن (گرم) تقسیم بر طول بدن (میلی‌متر)) ضرب در ۱۰۰۰، نیز محاسبه شده و در جدول ۱ آورده شده است.

i-Gene Runner
ii-Oligo
iii -National Center for Biotechnology Information (NCBI)
iv -Blast
v -Beta Actin

vi-Real Time
vii-SYBR Green
viii-Lee Index

جدول ۱- مقادیر مربوط به شاخص‌های فیزیکی بدن در سه زمان شروع مطالعه (اولیه)، قبل از تزریق و نهایی (بعد) در گروه‌های مورد مطالعه

شاخص‌های اندازه‌گیری شده	عنـــــــوان																	
	شاهد			شاهد تغذیه‌ای			حلال دارو			لوواستاتین			دارچین ۱۳۰			دارچین ۲۶۰		
	اولیه	قبل	بعد	اولیه	قبل	بعد	اولیه	قبل	بعد	اولیه	قبل	بعد	اولیه	قبل	بعد	اولیه	قبل	بعد
وزن بدن	۱۹۳±۵	۲۸۱±۱۶	۳۰۶±۱۵	۱۹۴±۵	۳۲۵±۱۶	۳۵۷±۱۹	۱۸۲±۲	۳۳۴±۱۲	۳۲۵±۱۰	۲۱۴±۳	۳۳۵±۸	۳۱۵±۱۷	۲۰۴±۷	۳۳۴±۱۴	۳۴۴±۱۷	۲۲۱±۵	۳۵۸±۱۶	۳۱۸±۹
طول بدن	۱۸/۴±۰/۱۸	۲۰/۹±۰/۱۸	۲۳/۱±۰/۲۹	۱۸/۴±۰/۲۳	۲۰/۹±۰/۳	۲۳/۰۸±۰/۴۱	۱۷/۹±۰/۱۶	۲۱/۳±۰/۲۵	۲۲/۷±۰/۲	۱۹±۰/۱۵	۲۰/۴±۰/۱	۲۲/۸±۰/۴۶	۱۸/۶±۰/۳۳	۲۰/۵±۰/۱۵	۲۲/۷±۰/۳۵	۱۹/۰۸±۰/۲۳	۲۱/۲±۰/۱۱	۲۲/۵±۰/۱۸
نمایه توده بدن	۵/۸±۰/۰۶	۶/۴±۰/۲۲	۶±۰/۱	۵/۹±۰/۰۹	*۷/۴±۰/۲۲	۶/۹±۰/۱†	۵/۸±۰/۰۶	۷/۳±۰/۱‡	۶/۷±۰/۱†	۵/۸±۰/۰۹	۸±۰/۱۳‡	۶/۳±۰/۱§	۵/۸±۰/۰۶	۷/۹±۰/۲۹*	۶/۴±۰/۲†	۵/۹۶±۰/۰۹	۷/۹±۰/۲*	۶/۵±۰/۲†
شاخص لی	۳۱±۰/۱۱	۳۱±۰/۳۹	۲۹±۰/۴	۳۱±۰/۳۳	۳۳±۰/۳۱	۳۱±۰/۱۶	۳۲±۰/۶۱	۳۳±۰/۲۷	۳۰±۰/۲۱	۳۱±۰/۱	۲۴±۰/۲	۳۰±۰/۳۷	۳۲±۰/۲۲	۳۴±۰/۴۱	۳۱±۰/۶۸	۳۲±۰/۳	۳۳±۰/۳۸	۳۰±۰/۱۸

یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار در موش‌های شش گروه شاهد، شاهد تغذیه‌ای حلال دارو، لوواستاتین و گروه تیمار توسط دارچین ۱۳۰ (Cin 130) و دارچین ۲۶۰ (Cin 260) بیان شده‌اند. شاخص وزن بدن بر حسب گرم و طول بدن بر حسب سانتی‌متر می‌باشد. (تعداد در هر گروه=۶).

* $P<0.01$، ‡ $P<0.001$ در مقایسه با مقادیر اولیه

† $P<0.01$، § $P<0.001$ در مقایسه با مقادیر قبل از تزریق

به منظور بررسی اثر پیش تغذیه عصاره دارچین بر شاخص‌های اندازه‌گیری فیزیکی بدن، از نمایه توده بدنی استفاده گردید. به منظور مقایسه BMI اولیه با BMI قبل از تزریق و مقایسه BMI قبل از تزریق با BMI نهایی، با توجه به رعایت شدن مفروضه‌های آمار پارامتریک، از آزمون تی برای گروه‌های همبسته استفاده شد. جهت تحقیق افزایش BMI در موش‌ها پس از تغذیه با غذای پرچرب، مقادیر BMI اولیه با مقادیر قبل از تزریق و جهت تحقیق تأثیر عصاره دارچین بر کاهش BMI موش‌ها، مقادیر BMI قبل از تزریق با BMI نهایی مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج آزمون تی همبسته نشان داد که در گروه شاهد تفاوت معنی‌دار بین میانگین BMI اولیه با قبل از تزریق وجود ندارد (P>۰/۰۵). در گروه‌های شاهد تغذیه‌ای، لوواستاتین، حامل دارو و دارچین (با مقدار مصرف ۱۳۰ و ۲۶۰ میلی‌گرم) مقادیر میانگین BMI قبل از تزریق به طور معناداری نسبت به مقادیر اولیه افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۱). در مقایسه میانگین BMI قبل از تزریق با BMI نهایی در گروه شاهد تفاوت معناداری مشاهده نشد. در تمامی گروه‌ها BMI نهایی به طور معناداری نسبت به BMI قبل از تزریق کاهش پیدا کرد (P<۰/۰۱) (جدول ۱).

مقایسه نمایه توده بدنی در ابتدای مطالعه و قبل از شروع رژیم غذایی پرچرب نشان داد که در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. ولی مقایسه نتایج میانگین BMI قبل از تزریق نشان می‌دهد که در گروه‌های دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب به مدت ۸ هفته، نمایه توده بدنی به طور معناداری در گروه‌های شاهد تغذیه‌ای (۷/٤±۰/۲۲)، لوواستاتین (۸±۰/۱۳)، حلال دارو (۷/۷±۰/۱) و گروه‌های دریافت‌کننده دارچین ۱۳۰ (۷/۹±۰/۲۹) و ۲٦۰ (۷/۹±۰/۲) نسبت به گروه شاهد (٦/٤±۰/۲۲) افزایش داشت. مقایسه BMI قبل از تزریق در بین سایر گروه‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد (جدول ۱).

نتایج محاسبه نمایه توده بدنی پس از تزریق (پایان دوره مطالعه)

میانگین BMI نهایی گروه شاهد (٦±۰/۱) به طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد تغذیه‌ای (٦/۹±۰/۱) و حلال دارو (٦/۷±۰/۱) پایین‌تر بود. بین میانگین گروه شاهد با گروه لوواستاتین (٦/۳±۰/۱) و گروه دارچین ۱۳۰ (٦/٤±۰/۲) در BMI نهایی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین BMI نهایی گروه دارچین ۲٦۰ (٦/٥±۰/۲) به طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد، لوواستاتین و گروه دارچین با ۱۳۰ میلی‌گرم، بیشتر بود. بین BMI نهایی گروه شاهد تغذیه‌ای و گروه حلال دارو تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

اثر پیش تغذیه‌ای عصاره دارچین بر بیان نسبی ژن Catsper۱

مقدار بیان ژن Catsper۱ در گروه شاهد تغذیه‌ای (۰/۰۰٤±۰/۰٥۱) و حلال دارو (۰/۰۱±۰/۲۸۱) نسبت به سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری کاهش داشت. بیان این ژن در گروه‌های دریافت‌کننده دارچین و لوواستاتین (۱/۸۲±۰/۱٤) نسبت به گروه سالم و همچنین نسبت به گروه‌های شاهد تغذیه‌ای و حلال دارو افزایش معنی‌دار داشت. گروه دارچین با مقدار ۲٦۰ (۳/۲۱±۰/۳۸) بیشترین افزایش بیان را نشان داد (نمودار ۱- الف).

اثر پیش تغذیه‌ای عصاره دارچین بر بیان نسبی ژن Catsper۲

مقدار بیان ژن Catsper۲ در گروه شاهد تغذیه‌ای (۰/۰۰٥±۰/۰٥۸) و حلال دارو (۰/۰۱±۰/٤۹) نسبت به سایر گروه‌ها کمتر است و به طور معنی‌داری با تمامی گروه‌ها تفاوت دارد. بیان این ژن در گروه‌های دریافت‌کننده دارچین و لوواستاتین (۱/۹۷±۰/۱٦) نسبت به گروه سالم و همچنین نسبت به گروه‌های شاهد تغذیه‌ای و حلال دارو افزایش معنی‌دار داشت. گروه دارچین با مقدار ۲٦۰ (۲/۸۹±۰/۱٦) بیشترین افزایش بیان را نشان داد (نمودار ۱- ب).

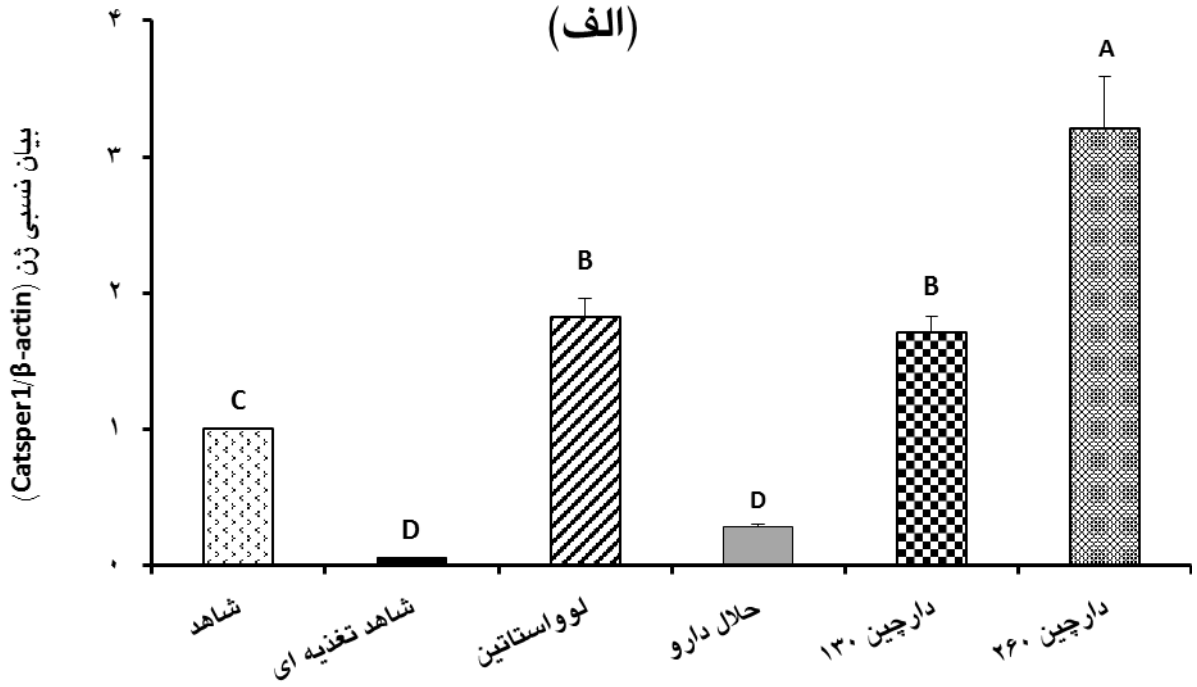
اثر پیش تغذیه‌ای عصاره دارچین بر بیان نسبی ژن Catsper۳

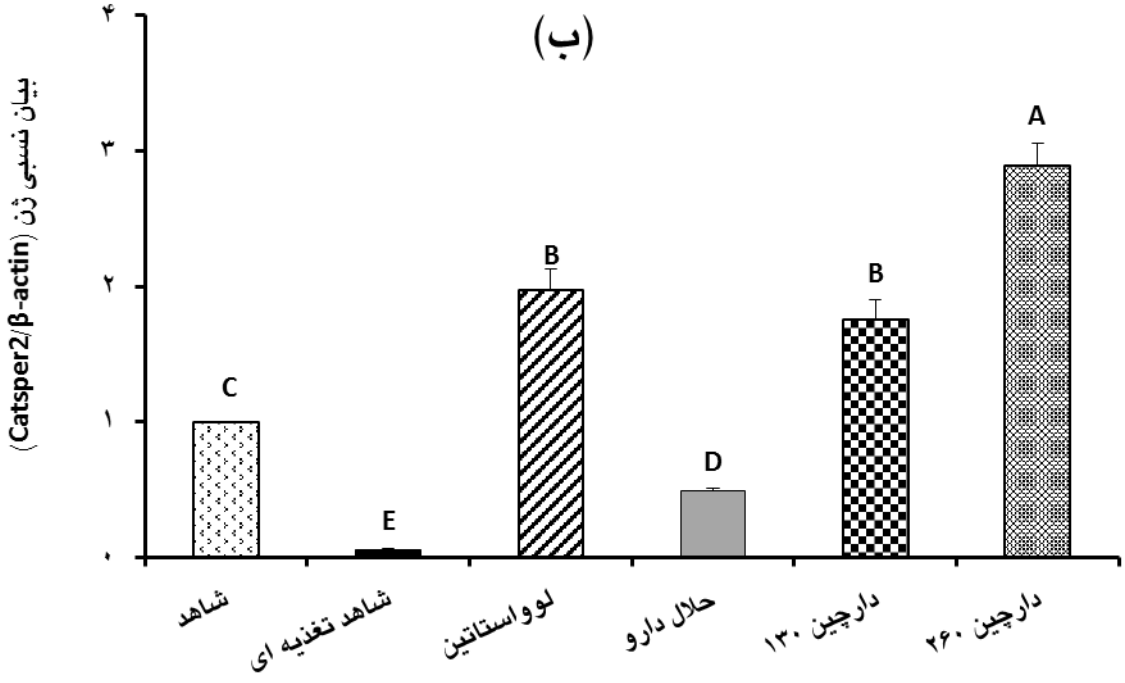
مقدار بیان ژن Catsper۳ در گروه شاهد تغذیه‌ای (۰/۰۰۲±۰/۰۹۱) و حلال دارو (۰/۰۱±۰/٥۸۹) نسبت به سایر گروه‌ها کمتر است و به طور معنی‌داری با تمامی گروه‌ها تفاوت دارد. بیان این ژن در گروه‌های دریافت‌کننده دارچین و لوواستاتین (۱/۷۹±۰/۰۱) نسبت به گروه سالم و همچنین نسبت به گروه‌های شاهد تغذیه‌ای و حلال دارو افزایش معنی‌دار داشت. گروه دارچین با مقدار ۲٦۰ (۲/۸۸±۰/۰۲) بیشترین افزایش بیان را نشان داد (نمودار ۱- پ).

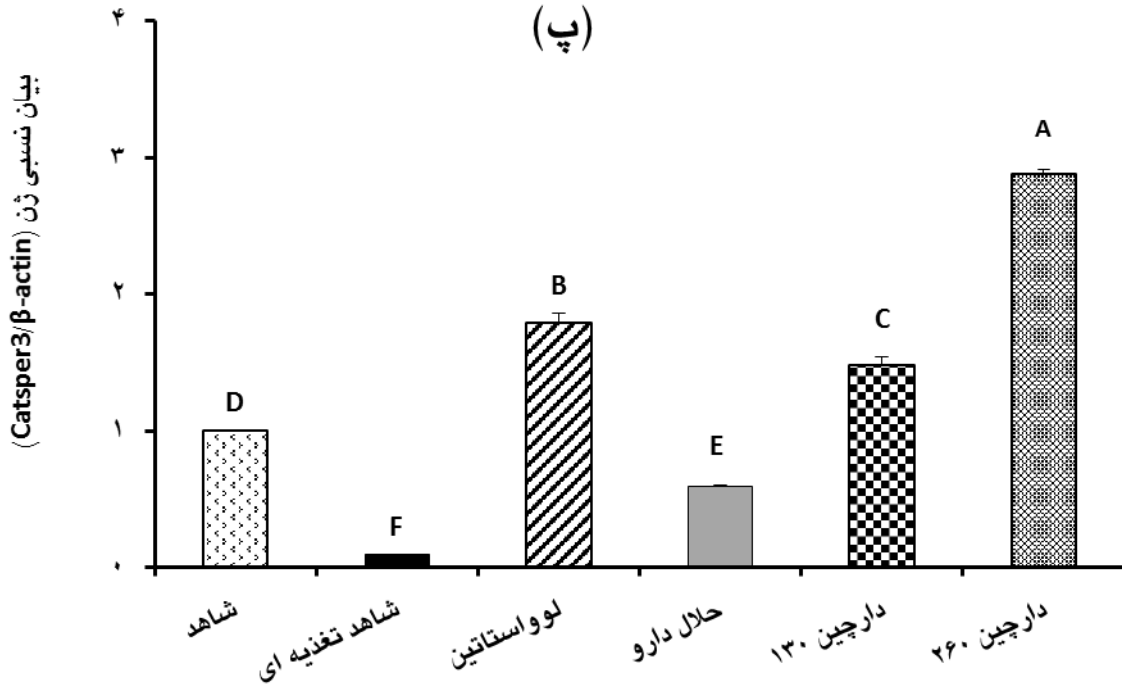
بررسی اثر پیش تغذیه‌ای عصاره دارچین بر بیان نسبی ژن Catsper۴

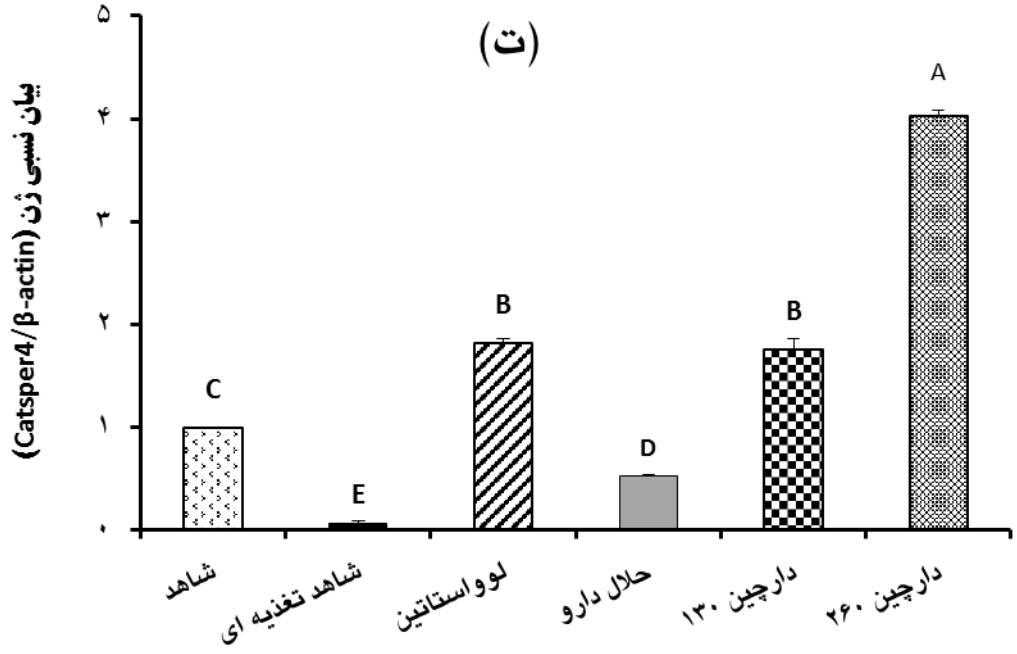
بیان ژن Catsper ٤ هم الگویی شبیه بیان ژن‌های Catsper قبلی داشت. مقدار بیان ژن Catsper ٤ در گروه شاهد تغذیه‌ای

(۰/۰۱±۰/۰۷) و حلال دارو (۰/۰۰٤±۰/۵۳۱) نسبت به سایر گروه‌ها کمتر است و به طور معنی‌داری با تمامی گروه‌ها تفاوت دارد. بیان این ژن در گروه‌های دریافت‌کننده دارچین و لوواستاتین (۰/۰٤±۱/۸۲) نسبت به گروه سالم و هم‌چنین نسبت به گروه‌های شاهد تغذیه‌ای و حلال دارو افزایش معنی‌دار داشت. گروه دارچین با مقدار ۲٦۰ (۰/۰۵±٤/۰۲) بیشترین افزایش بیان را نشان داد (نمودار ۱- ت).









نمودار ۱- مقایسه میزان بیان ژن Catsper1 (الف)، Catsper2 (ب)، Catsper3 (پ) و Catsper4 (ت) در پایان دوره مطالعه در موش‌های شش گروه شاهد، شاهد تغذیه‌ای، لوواستاتین، حلال دارو و گروه تیمار توسط ۱۳۰ میلی‌گرم دارچین و ۲۶۰ میلی‌گرم دارچین. وجود حروف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت بین گروه‌ها می‌باشد. حروف غیر مشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با P<۰/۰۵ می‌باشد. ترتیب حروف انگلیسی براساس مقادیر عددی می‌باشد. مقادیر شامل میانگین±انحراف معیار است. (تعداد در هر گروه=۶).

بحث

تاثیر پیش تغذیه عصاره هیدروالکلی دارچین بر چاقی و نمایه توده بدنی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه با رژیم غذایی پرچرب باعث چاقی و افزایش نمایه توده بدنی در موش‌های صحرایی شده است. به طوری‌که گروه‌های تغذیه‌کننده با رژیم غذایی پرچرب پس از هشت هفته دچار افزایش معنی‌داری نمایه توده بدنی نسبت به گروه شاهد گردیده بودند. شاخص رایج مورد استفاده برای ارزیابی چاقی در موش‌ها، شاخص لی[i] می‌باشد که بر اساس وزن و قد موش (از پوزه تا ابتدای دم) محاسبه می‌گردد.[۲۹] در این مطالعه از وزن و قد موش‌های صحرایی [وزن بدن (به کیلوگرم) تقسیم بر مربع طول بدن (به متر)] برای اندازه‌گیری نمایه توده بدنی استفاده شد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که تغذیه با رژیم غذایی پرچرب و افزایش نمایه توده بدنی باعث کاهش بیان ژن‌های Catsper می‌گردد. استفاده از دارچین ضمن کاهش نمایه توده بدنی، تاثیر مثبتی هم بر بیان ژن‌های مذکور داشته و باعث افزایش بیان آن‌ها شد.

امروزه کم تحرکی ناشی از زندگی ماشینی و رژیم غذایی، یکی از مخاطرات سلامتی یعنی چاقی را به عنوان یک چالش بزرگ اجتماعی به وجود آورده است. به واسطه چاقی؛ افراد بیشتری در معرض بیماری‌های مزمن خطرناک قرار می‌گیرند که در نهایت با کاهش طول عمر و مرگ زودرس مواجه هستند.[۳۰] تجمع بافت چربی که باعث چاقی می‌شود؛ یکی از عوامل ایجادکننده استرس اکسیداتیو است و می‌تواند سطح گونه‌های فعال اکسیژن[ii] (ROS) را از طریق انتشار سیتوکین‌های التهابی افزایش دهد. افزایش ROS در اپی‌دیدیم سبب کاهش تولید و تحرک اسپرم و علاوه بر این با توجه به مورفولوژی خاص اسپرم، منجر به کاهش توانایی پایداری غشاء پلاسمایی در اسپرماتوژنز، آکروزوم و دم اسپرم می‌گردد.[۳۱،۳۲] هرچند در این مطالعه شاخص‌های مربوط به اسپرم اندازه‌گیری نشده است، ولی در مطالعه‌های دیگر همین گروه نشان داده شده است که سیتوکین‌های التهابی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، که عصاره دارچین دریافت نموده بودند، به ترتیب کاهش و افزایش یافته است.[۲۴،۳۳] بنابراین به نظر می‌آید دارچین با اصلاح چاقی، کاهش سیتوکین‌های التهابی و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند بر شاخص‌های اسپرمی نیز تاثیرگذار باشد که نیاز به بررسی بیشتر دارد.

کاهش توده بدنی و اصلاح چاقی از آن جهت اهمیت دارد که چاقی می‌تواند منجر به هیپوگنادیسم ثانویه[iii] از طریق مهار محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد شود و با سازوکار استرس اکسیداتیو منجر به کاهش اسپرماتوژنز و آسیب اسپرم گردد.[۲۴] اثرات فارماکولوژیک دارچین در مطالعات پایه و طب نوین نشان داده شده است.[۳۵] نتیجه حاصل از این مطالعه با مطالعات پیشین در راستای تاثیر دارچین بر کاهش توده بدنی به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های اندازه‌گیری چاقی، هم جهت بوده و اظهار می‌دارد تیمار با عصاره هیدروالکلی دارچین منجر به کاهش معنی‌دار وزن در موش‌های مورد مطالعه گردید. مطالعات گوناگونی در جهت تاثیر عصاره‌ها و داروهای گیاهی بر میزان وزن بدن و نیم‌رخ لیپیدی انجام گرفته است. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۱، تیمار با سیاه دانه موجب کاهش پیشرفت هیپرلیپیدمی در مقایسه با گروه شاهد گردید. بطوری‌که سطح سرمی کلسترول کل و تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین کم چگال طی دو ماه مداخله با سیاه دانه کاهش معنی‌داری نشان داد.[۳۶] در مطالعه دیگر این گروه که به طور موازی با مطالعه حاضر انجام شده است، نشان داده شد که استفاده از عصاره هیدروالکلی دارچین باعث بهبود نیم‌رخ لیپیدی می‌گردد. [۲۴]

نتایج این مطالعه حاکی از کاهش ژن‌های Catsper پس از چاقی و افزایش این کانال‌ها به واسطه استفاده از دارچین است. در سال ۲۰۰۱ محققینی که در زمینه توالی همولوگ کانال‌های انتخابی کلسیم وابسته به ولتاژ مطالعه می‌کردند، برای نخستین بار زیر واحدهای سازنده‌ی کانال‌های Catsper را در اسپرماتوزوا شناسایی کردند و اعلام داشتند حضور این کانال‌ها برای باروری مردان امری ضروری محسوب می‌گردد.[۷]

نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر بیان می‌دارد که میزان بیان ژن‌های Catsper در گروه شاهد تغذیه‌ای نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری داشته است، ولی با گروه حلال دارو تفاوتی مشاهده نشده است. دارچین در مقادیر بالا در مقایسه با تمامی گروه‌ها افزایش معنی‌داری در بیان ژن

i -Lee Index
ii- Reactive Oxygen Species
iii-Secondary Hypogonadism

دارد. در حالی‌که گروه دارچین ۱۳۰ میلی‌گرم و لوواستاتین تفاوتی نداشته ولی با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری دارند. در کل گروه ۲۶۰ میلی‌گرم دارچین نسبت به سایر گروه‌ها در بیان ژن افزایش معنی‌داری داشته ولی میزان بیان ژن Catsper3 فقط در گروه دارچین ۱۳۰ میلی‌گرم نسبت به لوواستاتین کاهش معنی‌داری دارد. در نتیجه بر اساس یافته‌های این مطالعه می‌توان گفت که دارچین سبب افزایش بیان ژن‌های Catsper در گروه‌های تحت تیمار می‌شود. این افزایش بیان ژن وابسته به مقدار بود. بنابراین به نظر می‌رسد با انتخاب مقادیر صحیحی از دارچین؛ احتمالا اثرات بهتری در شاخص‌های مورد نظر به دست می‌آید. با توجه به نقش فیزیولوژیک Catsper در عملکرد اسپرم‌ها و از آنجا که حفظ یا افزایش تحرک اسپرم به عنوان یکی از رویکردهای پژوهشی برای جلوگیری از ناباروری مردان مطرح می‌باشد،[۳۷] به نظر می‌رسد با توجه به اثرات افزایش‌دهنده مقادیر بالاتر دارچین بر بیان ژن‌های Catsper، شاید با تایید مطالعات بیشتر در مواردی که نقص تحرک اسپرم مطرح باشد بتوان از این مداخله استفاده کرد.

تاثیر فراورده‌های گیاهی در افزایش بیان ژن‌های Catsper و یا بهبود شاخص‌های اسپرم در سایر مطالعات هم دیده شده است. به طور مثال، اون هوا پارک و همکارانش در سال ۲۰۱٤ مشاهده کردند که جنسینگ نقش مهمی در بیش‌فعالی از طریق بیان ژن Catsper دارد.[۳۸] مطالعه ای در سال ۲۰۱٤ هم نشان داده است که عصاره گیاه کالیگونوم[i] باعث افزایش عملکرد اسپرم و بیان ژن‌های Catsper2,4 می‌شود.[۳۹]

پژوهشی انجام شده در سال ۲۰۱۵ نشان داد که عصاره شنبلیله[ii] باعث افزایش عملکرد اسپرم می‌شود.[٤۰] با توجه به اینکه تا کنون مطالعه‌ای در جهت بررسی تاثیر دارچین بر بیان ژن‌های Catsper انجام نگرفته است، با استناد به نتایج این پژوهش و با استفاده از مطالعات پیشین، شاید بتوان گفت که دارچین در بهبود روند تولید اسپرم موثر است. سازوکار احتمالی این تاثیر می‌تواند از طریق افزایش بیان ژن‌های Catsper و بنابراین افزایش سطح کلسیم در طول مسیری که اسپرم پس از رها شدن از اپی‌دیدیم در آن قرار می‌گیرد، و با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی که در مورد دارچین به اثبات رسیده است،[٤۱] با سرکوب ROS، بهبود سلول‌های اپی‌تلیال و به دنبال آن جلوگیری از آسیب سلول‌های سرتولی و در نهایت تولید اسپرم‌های طبیعی باشد.[۱۷]

در طی لقاح، برای نفوذ به تخمک، اسپرم به خمیدگی تاژک‌ها با دامنه بالا همراه با بیش فعالی نیاز دارد. شروع و حفظ تحرک بیش فعال با افزایش غلظت کلسیم در تاژک مرتبط است. جذب کلسیم فرآیندی است که طی آن اسپرم پستانداران ظرفیت انجام واکنش آکروزوم و بارور کردن تخمک‌ها را به دست می‌آورد.[٤۲،٤۳] کانال‌های Catsper در فرایندهای ذکر شده، نقش مهمی بر عهده دارند.[٤٤] بنابراین عواملی که بتوانند تعداد این کانال‌ها را افزایش دهند، با افزایش تحرک موثر اسپرم و واکنش آکروزومی بهتر با تخمک، امکان لقاح موفق و باروری را افزایش خواهد داد.

در مطالعه‌ای، استفاده از رژیم غذایی پرچرب باعث ایجاد ناهنجاری های بافتی، فراساختاری و بیوشیمیایی شدید در بافت بیضه شده است. تجویز خوراکی دارچین اثرات معنی‌داری بر تمامی شاخص‌های تعیین شده در موش‌های صحرایی داشته است. در مطالعه مذکور اثر کاهش‌دهندگی چربی‌ها و اثر ضد التهابی دارچین عامل بهبودی شاخص‌های مربوط به بیضه معرفی شده‌اند و نتیجه گرفته‌اند که دارچین می تواند بر عوارض متابولیک پس از چاقی غلبه کند و بنابراین ممکن است نویدبخش ایجاد یک درمان جدید برای درمان آسیب بیضه ناشی از هیپرکلسترولمی باشد.[٤۵]

در این پژوهش استفاده از دارچین به عنوان یکی از چاشنی‌های غذایی رایج، به عنوان مداخله بررسی شد و بنابراین در صورت تایید نتایج در مطالعات بیشتر، با استفاده آن در سبک زندگی روزمره، پیشگیری از برخی موارد ناخواسته فراهم می‌گردد. این تحقیق دارای محدودیت‌هایی هم بوده است. تعداد کم نمونه در هر گروه یکی از موارد می‌باشد که با توسعه تحقیق و افزایش تعداد نمونه‌ها می‌توان آن را برطرف کرد. شاخص‌های اسپرمی از قبیل شمارش تعداد اسپرم‌ها، بررسی مورفولوژی و تحرک اسپرم‌ها و هم‌چنین بررسی عملکرد آن‌ها در این مطالعه انجام نشده است و اندازه‌گیری این شاخص‌ها در مطالعات آتی ضروری می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

چاقی و رژیم غذایی پرچرب، اثر کاهشی بر بیان ژن‌های Catsper دارد. دارچین نقش مهمی در بهبود نمایه توده بدنی و القای بیان Catsper ایفا می‌کند. بنابراین احتمالا با بهبود

i -Calligonum
ii-Trigonella

تحرک و بیش فعال شدن اسپرم برای درمان اختلال عملکرد تولید مثل و ناباروری مردان موثر باشد.

سپاسگزاری: این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد آقای فرهاد محمدی با کد سمات A-12-129-8 و با حمایت مالی معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی زنجان می‌باشد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از این حمایت مالی ابراز می‌دارند.

تعارض در منافع: نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچگونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Babakhanzadeh E, Nazari M, Ghasemifar S, Khodadadian A. Some of the Factors Involved in Male Infertility: A Prospective Review. Int J Gen Med 2020; 13: 29-41.
2. Lainez NM, Coss D. Obesity, Neuroinflammation , and Reproductive Function. Endocrinology 2019; 160: 2719-36.
3. Morgan DH, Ghribi O, Hui L, Geiger JD, Chen X. Cholesterol-enriched diet disrupts the blood-testis barrier in rabbits. Am J Physiol Endocrinol Metab 2014; 307: E1125-30.
4. Leisegang K, Sengupta P, Agarwal A, Henkel R. Obesity and male infertility: Mechanisms and management. Andrologia 2021; 53: e13617.
5. Katib A. Mechanisms linking obesity to male infertility. Cent European J Urol 2015; 68: 79-85.
6. Jodar M, Soler-Ventura A, Oliva R, of Reproduction MB, Group DR. Semen proteomics and male infertility. J Proteomics 2017; 162: 125-34.
7. Ren D, Navarro B, Perez G, et al. A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. Nature 2001; 413: 603-9.
8. Singh AP, Rajender S. CatSper channel, sperm function and male fertility. Reprod Biomed Online 2015; 30: 28-38.
9. Nowicka-Bauer K, Szymczak-Cendlak M. Structure and Function of Ion Channels Regulating Sperm Motility-An Overview. Int J Mol Sci 2021; 22: 3259.
10. Wang H, McGoldrick LL, Chung JJ. Sperm ion channels and transporters in male fertility and infertility. Nat Rev Urol 2021; 18: 46-66.
11. Quill TA, Sugden SA, Rossi KL, Doolittle LK, Hammer RE, Garbers DL. Hyperactivated sperm motility driven by CatSper2 is required for fertilization. Proc Natl Acad Sci U S A 2003; 100: 14869-74.
12. Jin J-L, O'Doherty AM, Wang S, Zheng H, Sanders K-M, Yan W. Catsper3 and catsper4 encode two cation channel-like proteins exclusively expressed in the testis. Biol Reprod 2005; 73: 1235-42.
13. Park EH, Do Rim Kim HYK, Park SK, Chang MS. Panax ginseng induces the expression of CatSper genes and sperm hyperactivation. Asian J Androl 2014; 16: 845-51.
14. Zavvari Oskuye Z, Mirzaei Bavil F, Hamidian GR, Mehri K, Oadiri A, et al. Troxerutin affects the male fertility in prepubertal type 1 diabetic male rats. Iran J Basic Med Sci 2019; 22: 197-205.
15. Qadiri A, Mirzaei Bavil F, Hamidian G, Zavvari Oskuye Z, Ahmadi M, et al. Administration of troxerutin improves testicular function and structure in type-1 diabetic adult rats by reduction of apoptosis. Avicenna J Phytomed 2019; 9: 374-85.
16. Khaki A, Khaki AA, Hajhosseini L, Golzar FS, Ainehchi N. The anti-oxidant effects of ginger and cinnamon on spermatogenesis dys-function of diabetes rats. Afr J Tradit Complement Altern Med 2014; 11: 1-8.
17. Boroujeni SN, Malamiri FA, Bossaghzadeh F, Esmaeili A, Moudi E. The most important medicinal plants affecting sperm and testosterone production: a systematic review. JBRA Assist Reprod 2022; 26: 522-30.
18. Agasthya A, Jayapal N, Naveenkumar E, Goud N, Vijayanand J, Hemapriya J. In vitro study of antimicrobial activity of the South Indian spices against enteric pathogens. Asian J Microbiol, Biotechnol Environ Sci 2009; 11: 173-80.
19. McBride J. Cinnamon extracts boost insulin sensitivity. Agricultural Research 2000; 48: 21-21.
20. Khan A, Safdar M, Khan MMA, Khattak KN, Anderson RA. Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. Diabetes Care 2003; 26: 3215-8.
21. Khaki A. Effect of Cinnamomum zeylanicumon on Spermatogenesis. Iran Red Crescent Med J 2015; 17: e18668.
22. Lutz TA, Woods SC. Overview of animal models of obesity. Curr Protoc Pharmacol 2012; Chapter 5: Unit 5.61.
23. Eskandari M, Ghalyanchi Langeroudi A, Zeighami H, Rostami A, Kazemi M, Eyni H, et al. Co-administration of ginseng and ciprofloxacin ameliorates epididymo-orchitis induced alterations in sperm quality and spermatogenic cells apoptosis following infection in rats. Andrologia 2017; 49(3).
24. Mostafavi H, Hatami M, Alipour M, Mousavi S.S, Feizi H. Effect of cinnamon on antioxidant content and ZO-1 gene expression in brain following middle cerebral artery occlusion in rats receiving high-fat diet. Physiology and Pharmacology 2022. Available from: URL: https: //ppj.phypha.ir/article-1-1823-en.html.
25. Mirhadi K. Effect of Intraperitoneally Injection of Different Doses of Lovastatin on Pain and Inflammatory Response Induced by Formalin in Mice. American Journal of Animal and Veterinary Sciences 2011; 6: 160-5. Available from: URL: https: //thescipub.com/abstract/110.3844/ajavsp.2011.3160.3165.
26. Ranasinghe P, Perera S, Gunatilake M, Abeywardene E, Gunapala N, Premakumara S, et al. Effects of Cinnamomum zeylanicum (Ceylon cinnamon) on blood glucose and lipids in a diabetic and healthy rat model. Pharmacognosy Res 2012; 4: 73-9.
27. Hammouda FM, Saleh MA, Abdel-Azim NS, Shams KA, Ismail SI, Shahat AA, et al. Evaluation of the essential oil of Foeniculum vulgare Mill (fennel) fruits extracted by three different extraction methods by GC/MS. Afr J Tradit Complement Altern Med 2014; 11: 277-9.
28. Azemi AK, Siti-Sarah AR, Mokhtar SS, Rasool AHG. Time-Restricted Feeding Improved Vascular Endothelial Function in a High-Fat Diet-Induced Obesity Rat Model. Vet Sci 2022; 9: 217.
29. Daneshyar S, Shokati Basir S, Jalali Moghim F. Effects of Endurance Training on the Expression of Cathepsin B (CTSB) and Cathepsin L (CTSL) genes in the Adipose Tissue of Mice with a High-Fat Diet. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2020; 22: 305-15.

30. Herpich C, Müller-Werdan U, Norman K. Role of plant-based diets in promoting health and longevity. Maturitas 2022; 165: 47-51.
31. Leisegang K. Oxidative Stress in Men with Obesity, Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes Mellitus: Mechanisms and Management of Reproductive Dysfunction. Adv Exp Med Biol 2022; 1358: 237-56.
32. F. SG. A Review Article on Hyperlipidemia: Types, Treatments and New Drug Targets. Biomed Pharmacol J 2014; 7(2): Available from: URl: https: //biomedpharmajournal.org/vol7no2/a-review-article-on-hyperlipidemia-types-treatments-and-new-drug-targets/.
33. M.R. M. The effect of Cinnamomum zeylanicum extract pre-nutrition on stroke induced neurological deficits in high fat diet rats. [dissertation]. Zanjan, Zanjan University of Medical Sciences; 2017.
34. Jia YF, Feng Q, Ge ZY, Guo Y, Zhou F, Zhang KS, et al. Obesity impairs male fertility through long-term effects on spermatogenesis. BMC Urol 2018; 18: 42.
35. Gruenwald J, Freder J, Armbruester N. Cinnamon and health. Crit Rev Food Sci Nutr 2010; 50: 822-834.
36. Pourghassem-Gargari B, Abedini S, Babaei H, Aliasgarzadeh A, Pourabdollahi P. Effect of supplementation with grape seed (Vitis vinifera) extract on antioxidant status and lipid peroxidation in patient with type diabetes. Journal of Medicinal Plants Research 2011; 5: 2029-34.
37. Dcunha R, Hussein RS, Ananda H, Ananda H, Kumari S, Adiga SK, et al. Current Insights and Latest Updates in Sperm Motility and Associated Applications in Assisted Reproduction. Reprod Sci 2022; 29: 7-25.
38. Park EH, Kim DR, Kim HY, Park SK, Chang MS. Panax ginseng induces the expression of CatSper genes and sperm hyperactivation. Asian J Androl 2014; 16: 845-51.
39. Askari Jahromi M, Movahedin M, Mazaheri Z, Amanlu M, Mowla S.J, Batool. H. Evaluating the effects of Escanbil (Calligonum) extract on the expression level of Catsper gene variants and sperm motility in aging male mice. Iran J Reprod Med 2014; 12: 459-66.
40. Kim DR, Kim HY, Kim HY, Chang MS, Park SK. Trigonellae Semen Enhances Sperm Motility and the Expression of the Cation Sperm Channel Proteins in Mouse Testes. Evid Based Complement Alternat Med 2015; 2015: 817324.
41. Shen Y, Jia LN, Honma N, Hosono T, Ariga T, Seki T. Beneficial effects of cinnamon on the metabolic syndrome, inflammation, and pain, and mechanisms underlying these effects - a review. J Tradit Complement Med 2012; 2: 27-32.
42. Quill TA, Sugden SA, Rossi KL, Doolittle LK, Hammer RE, Garbers DL. Hyperactivated sperm motility driven by CatSper2 is required for fertilization. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2003; 100: 14869-74.
43. Cavarocchi E, Whitfield M, Saez F, Touré A. Sperm Ion Transporters and Channels in Human Asthenozoospermia: Genetic Etiology, Lessons from Animal Models, and Clinical Perspectives. Int J Mol Sci 2022; 23: 3926
44. Singh AP, Rajender S. CatSper channel, sperm function and male fertility. Reproductive biomedicine online 2015; 30: 28-38.
45. Arisha SM, Sakr SA, Abd-Elhaseeb FR. Cinnamomum zeylanicum alleviate testicular damage induced by high fat diet in albino rats; histological and ultrastructural studies. Heliyon 2020; 6: e05584.

Original Article

The Effect of Cinnamon Hydroalcoholic Extract on the Expression of Sperm Calcium Channels (Catsper) Genes in Male Rats Receiving a High-fat Diet

Mostafavi H, Eskandari M, Moradi F, Mohammadi F

Department of Physiology, School of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, I.R. Iran

e-mail: mehdiesk@zums.ac.ir

Received: 17/08/2022 **Accepted:** 26/12/2022

Abstract

Introduction: Cinnamon is a plant containing anti-inflammatory, anti-apoptotic, and antioxidant substances. Previous studies have revealed the reducing effects of obesity and hyperlipidemia and, on the contrary, the reinforcing effects of cinnamon on fertility. Therefore in this study the effect of the hydroalcoholic extract of cinnamon on Body Mass Index (BMI) and gene expression of cation channel of sperm (CatSper) in male Wistar rats receiving high-fat diets was investigated. Materials and Methods: Thirty-six male rats were divided into six groups. Control group received normal diet and no treatment. The five other groups received high-fat diet for eight weeks. The diet control group received only high-fat diet, the vehicle group received carboxymethyl cellulase 0.5% (5 mg/kg), the lovastatin group received 10 mg/kg lovastatin, and the cinnamon groups received 130 and 260 mg intra peritoneum for six weeks daily. BMI was measured at the end of the study. The expression levels of Catsper genes were also evaluated using Real-Time PCR. Data were analyzed with SAS software version 9.1 using one-way analysis of variance (ANOVA) and Duncan tests ($p<0.05$). Results: The hydroalcoholic extract of cinnamon significantly reduced BMI ($p<0.05$). The expression level of Catsper1-4 genes decreased in the model and vehicle groups compared to the control group ($p<0.05$); however, the expression level of Catsper1-4 genes increased in the cinnamon and lovastatin groups compared to the control group. Conclusion: Cinnamon as a pretreatment has beneficial and reducing effects on BMI. Moreover, in pretreatment with cinnamon, the increased expression of Catsper1-4 genes is observed.

Keywords: Catsper, Cinnamon hydroalcoholic extract, BMI, Hyperlipidemia