

بررسی تأثیر ملاتونین بر رفتار جنسی موش صحرایی نر مبتلا به دیابت

فرین بابائی^۱، دکتر رضا حیدری^۱، دکتر مینو ایلخانی‌پور^۱، دکتر سعید عزیزی^۲

۱) گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ۲) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، نشانی مکاتبه‌ی نویسندگی مسئول: ارومیه، بلوار بهداری، خیابان میرداماد، خیابان پنجم، کوی اول، پلاک ۴۴، فرین بابائی؛ e-mail: st_f. babaei@urmia.ac.ir

چکیده

مطالعه‌های بالینی متعدد نشان داده‌اند که فعالیت جنسی در افراد مبتلا به دیابت قندی کاهش می‌یابد. مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیکی اختلالات جنسی در بیماری دیابت ناشناخته است. در این بررسی اثرات درمانی احتمالی ملاتونین بر رفتار جنسی رت‌های نر دیابتی، به واسطه سیستم سروتونرژیک مرکزی مورد ارزیابی قرار گرفت. مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۳۰ رأس موش صحرایی نر از نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی 20 ± 200 گرم استفاده شد. حیوانات به سه گروه ده‌تایی: شاهد، دیابتی، و دیابتی دریافت‌کننده‌ی ملاتونین تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق داخل صفاقی 50 mg/kg استرپتوزوتوسین انجام شد. تیمار روزانه با ملاتونین (10 mg/kg i. p) سه روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین با مشاهده‌ی وضعیت هیپرگلیسمیک، آغاز شد و به مدت ۳۰ روز ادامه یافت. در پایان دوره‌ی تیمار، رفتار جنسی هر یک از موش‌های نر در مواجهه با موش ماده مطالعه گردید. فعالیت گیرنده‌های سروتونرژیک نوع دو (5-HT_{2A}) با بررسی رفتار WDS خودبخودی حین فعالیت مقاربتی ارزیابی شد. سپس داده‌های حاصل مورد تحلیل آماری قرار گرفت. یافته‌ها: نتایج به دست آمده بیانگر افزایش معنی‌دار مدت زمان سپری شده تا انجام اولین مانت، ایترومیشن و انزال در حیوانات دیابتی در مقایسه با حیوانات شاهد بود ($p < 0/05$). هم‌چنین تعداد دفعات مانت، ایترومیشن و انزال در مدت آزمون در حیوانات دیابتی به طور معنی‌دار ($p < 0/05$) کمتر از حیوانات شاهد بود. تیمار با ملاتونین نمایه‌های مذکور را به طور معنی‌دار ($p < 0/05$) در مقایسه با حیوانات دیابتی تغییر داد. مقایسه‌ی میانگین راندمان جفت‌گیری و شاخص فعالیت جنسی در گروه‌های مورد بررسی نشان داد که میزان فعالیت تولید مثلی در حیوانات دیابتی به طور معنی‌دار ($p < 0/05$) کمتر از دو گروه دیگر بود. هم‌چنین تفاوت‌های معنی‌داری در تعداد پاسخ‌های WDS خودبخودی، بین هر سه گروه مشاهده گردید ($p < 0/05$). بیشترین تعداد WDS به ترتیب مربوط به گروه‌های شاهد و ملاتونین بود. نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که اختلالات رفتار تولید مثلی در موش‌های دیابتی با کاهش فعالیت گیرنده‌های 5-HT_{2A} همراه بود و ملاتونین با تعدیل عملکرد سیستم سروتونرژیک مرکزی از بروز ناتوانی جنسی در این حیوانات جلوگیری نمود.

واژگان کلیدی: دیابت، ملاتونین، رفتار جنسی، WDS، 5-HT_{2A}، سیستم سروتونرژیک

دریافت مقاله: ۸۷/۱۱/۳ - دریافت اصلاحیه: ۸۷/۱۲/۲۷ - پذیرش مقاله: ۸۷/۱/۱۱

مقدمه

هستند و احتمال می‌رود که این آمار به رقم ۳۸۰ میلیون نفر در سال ۲۰۵۰ میلادی برسد.^۱ عوارض ناشی از بیماری دیابت، از عوامل عمده‌ی مرگ و میر در جهان به شمار می‌رود. بسیاری از افراد مبتلا به دیابت با اختلالات قلبی -

بر اساس آمار سازمان جهانی بهداشت (۲۰۰۸ میلادی) در حدود ۲۴۶ میلیون نفر از مردم دنیا به بیماری دیابت مبتلا

روش آزمایشگاهی (Experimental) برای بررسی رفتار تولید مثلی جنس نر در کشورمان ارایه نشده است. در مطالعه‌ی حاضر با در نظر گرفتن پارامترهای رفتاری مناسب، فعالیت تولید مثلی موش‌های صحرایی نر دیابتی با موش‌های نر سالم مقایسه شد. در این راستا اثرات درمانی ملاتونین در موش‌های مبتلا به دیابت مورد ارزیابی قرار گرفت. ملاتونین به عنوان هورمون تاریکی، یکی از اجزای مهم سیستم تنظیم ساعت درونی بدن محسوب می‌شود و فرایندهای مهم فیزیولوژیکی اعم از چرخه‌ی خواب - بیداری، سازش فصلی و مراحل تکامل تولید مثلی را تنظیم می‌کند.^{۱۲} این هورمون علاوه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی منحصر به فرد خود^{۱۴،۱۵} دارای اثرات متقابل با سیستم سروتونرژیک مرکزی است.^{۱۶،۱۷} شواهدی مبنی بر تأثیر افزایشی هورمون ملاتونین بر فعالیت جنسی پستانداران به واسطه سیستم سروتونرژیک مغزی وجود دارد؛^{۱۸} علاوه بر این، گزارش‌های فراوانی در خصوص اثرات درمانی غلظت‌های فارماکولوژیکی ملاتونین در بیماری دیابت ارایه شده است؛^{۱۹،۲۰} بنابراین با توجه به بروز ناتوانی‌های جنسی در بیماران دیابتی و اثرات افزایشی ملاتونین بر فعالیت‌های مقاربتی، در این آزمایش تأثیر غلظت فارماکولوژیکی این هورمون بر فعالیت تولیدمثلی حیوانات نر مبتلا به دیابت مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر و ماده‌ی بالغ از نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی 20 ± 200 گرم، خریداری شده از مؤسسه‌ی پاستور استفاده شد. ۳۰ رأس موش نر و معادل این تعداد، موش ماده، به طور جداگانه و به تعداد ۵ رأس در هر قفس در محیطی با شرایط کنترل شده: دمای $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ، رطوبت محیطی $2 \pm 38\%$ ، شدت نور در مرکز اتاق 300 لوکس و دوره‌های متوالی ۱۲ ساعته‌ی نور و تاریکی نگهداری می‌شدند. آب و غذای مناسب (کنسانتره) به اندازه‌ی کافی در دسترس حیوان‌ها قرار داشت. داروهای به کار رفته در این آزمایش شامل ملاتونین، استرپتوزوتوسین، استرادیول بنزوات، پروژسترون، کتامین و زایلازین بود که

عروقی، نارسایی کلیوی، نایبایی، قطع عضو ناشی از نوروپاتی، و اختلال‌های رفتاری مواجه هستند.^۲ همچنین بیماری دیابت عامل خطر مهمی برای بروز ناتوانی‌های جنسی به شمار می‌رود.^۲ مطالعه‌های اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که شیوع اختلال‌های جنسی در مردان مبتلا به دیابت بیش از مردان غیردیابتی هم‌سن آنها است.^{۵،۴}

مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیکی ناتوانی جنسی در بیماری دیابت به طور کامل شناخته نشده است. برخی از مطالعه‌های بیانگر ارتباط بین سیستم سروتونرژیک مغز و رفتار تولید مثلی در مدل‌های مختلف آزمایشگاهی است.^{۶،۷} تغییر در میزان سنتز و متابولیسم سروتونین (5-HT)^۱ و به تبع آن تغییر در فعالیت گیرنده‌های 5-HT در نواحی متعدد مغزی در مدل‌های حیوانی مبتلا به دیابت نشان داده شده است.^۸ از طرفی مطالعه‌های نوروفارماکولوژیک به درگیری احتمالی مکانیسم‌های ۵-هیدروکسی تریپتامینرژیک مرکزی در بروز پاسخ‌های رفتاری «WDS»^۹ اشاره دارد. رفتار WDS را می‌توان به صورت تکانهای لرزشی شدید، ناگهانی و کوتاه‌مدت^{۱۱} در نواحی سر، گردن و تنه تعریف نمود که به دو صورت خودبخودی (ناشی از تغییرات فیزیولوژیک) یا القایی (ناشی از محرک‌های آگروژن) بروز می‌کند.^۹ تجویز سیستمیک داروهایی که فعالیت گیرنده‌های 5-HT_{2A} را تقویت می‌نمایند، عموماً منجر به القای رفتار WDS در موش‌های صحرایی می‌شوند.^{۱۰،۱۱} بنا بر این پاسخ‌های WDS در مطالعه‌های رفتاری مختلف، می‌تواند به عنوان نمایه‌ی فعالیت گیرنده‌های سروتونین در تنظیم فعالیت جنسی رت‌های نر دخالت دارد و تعداد پاسخ‌های WDS خودبه‌خودی^{۱۲} هنگام فعالیت مقاربتی موش صحرایی نر تغییر می‌کند.^{۱۰،۱۱} در این مطالعه جهت بررسی مکانیسم احتمالی تغییرات رفتار تولید مثلی در حیوانات دیابتی از شاخص WDS خودبخودی استفاده شد.

طراحی مطالعه‌های آزمایشگاهی با هدف بررسی تأثیر برخی داروها در بهبود اختلال‌های جنسی ناشی از شرایط پاتوفیزیولوژیک، از اهمیت خاصی برخوردار است. تا کنون

- i - 5- Hydroxytryptamine
- ii - Wet-dog shakes (WDS)
- iii- Paroxistic shudder
- iv - Spontaneous WDS

درپوش مشبک متحرک مورد بررسی قرار گرفت. کف این محفظه با تراشه چوب (ترجیحاً تراشه درخت کاج) پوشانده شده بود. نور محیط محدود به روشنایی دو لامپ مادون قرمز ۲۵ وات می‌شد که در سطح فوقانی محفظه، با فاصله‌ی مناسب نصب شده بود.^{۲۱} مشاهدات رفتاری ۲ ساعت پس از شروع فاز تاریکی آغاز شد.^{۲۲} کمی قبل از شروع مشاهدات رفتاری، موش‌های ماده‌ی تحریک شده، تحت آزمون receptivity (پذیرا بودن) قرار گرفتند. هر موش ماده، برای مدت کوتاهی در کنار یک موش نر قرار داده می‌شد؛ ماده‌هایی که هنگام مانع موش نر، وضعیت لوردوزⁱ (انحنای ستون فقرات به سمت جلو) از خود نشان می‌دادند، برای ادامه کار انتخاب می‌شدند.

به منظور انطباق با محیط آزمایش، هر موش نر به تنهایی به مدت ۵ دقیقه در محفظه‌ی آزمون قرار داده شد. بلافاصله پس از این مدت، موش ماده وارد محفظه گردید و مشاهدات رفتاری به مدت ۴۰ دقیقه انجام شد. در مدت مشاهده پارامترهای رفتاری زیر ثبت گردید:

مدت زمان سپری شدهⁱⁱ تا انجام اولین مانتⁱⁱⁱ (قرار گرفتن موش نر بر روی موش ماده بدون جفتگیری) (ML)، اولین اینترومیشن^{iv} (قرار گرفتن موش نر بر روی موش ماده همراه با جفتگیری) (IL) و اولین انزال^v (قرار گرفتن موش نر بر روی موش ماده همراه با انزال) (EL)؛ تعداد دفعات مانت (NM)، اینترومیشن (NI) و انزال (NE) در مدت ۴۰ دقیقه مشاهده؛ تعداد دفعات مانت (nM) و اینترومیشن (nI) قبل از انجام اولین انزال؛ وقفه‌ی بعد از اولین انزال تا اولین اینترومیشن بعدی (PEI)^{vi} تعداد دفعات پاسخ رفتاری WDS خودبخودی؛ همچنین راندمان جفتگیری (CE)^{vii} و شاخص فعالیت جنسی (SAI)^{viii} مطابق با روش Agmo^{۲۳}، به صورت زیر محاسبه شد:

$$CE = NI + NE / NM + NI + NE$$

i- Lordosis

ii - Latency

iii - Mount

iv - Intromission

v - Ejaculation

vi - Post Ejaculatory Interval

vii - Copulatory Efficiency

viii- Sexual Activity Index

همگی از شرکت سیگما (St. Louis, MO, USA) تهیه شده بود. اتانول (شرکت پاکدیس) و روغن ذرت (شرکت مارگارین) نیز به عنوان حلال برخی داروها مورد استفاده قرار گرفت. غلظت داروهای مصرفی بر مبنای مقالات موجود در این زمینه انتخاب گردید.

موش‌های صحرایی نر به سه گروه: شاهد، دیابتی، و دیابتی دریافت‌کننده‌ی ملاتونین تقسیم شدند. هر گروه شامل ۱۰ رأس حیوان بود.

القای دیابت با تزریق داخل صفاقی ۵۰ mg/kg b.w. استرپتوزوتوسین (STZ)، حل شده در بافر سیترات ۰/۰۵ M با pH ۴/۵ انجام شد. سنجش قند خون برای تشخیص القای دیابت، ۷۲ ساعت بعد از تزریق استرپتوزوتوسین و با استفاده از خون سیاهرگ دمی، به کمک کیت گلوکومتر ACON Laboratories, Inc. USA انجام شد. موش‌های با قند خون بیش از ۲۲۰ mg/dL به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. همزمان با تزریق محلول STZ، موش‌های گروه شاهد، بافر سیترات ۰/۰۵ M با pH ۴/۵ به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. تیمار با ملاتونین (۱۰ mg/kg داخل صفاقی) به صورت حل شده در سالین حاوی اتانول، از زمان تشخیص القای دیابت آغاز شد و به مدت ۳۰ روز به ۱۰ رأس از موش‌های مبتلا به دیابت (گروه ملاتونین) تزریق گردید. موش‌های گروه شاهد و دیابتی در طی این مدت، حامل (سالین حاوی اتانول) دریافت کردند.

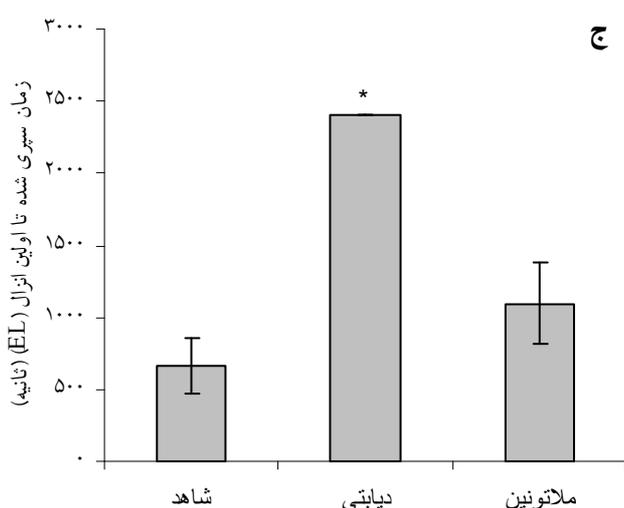
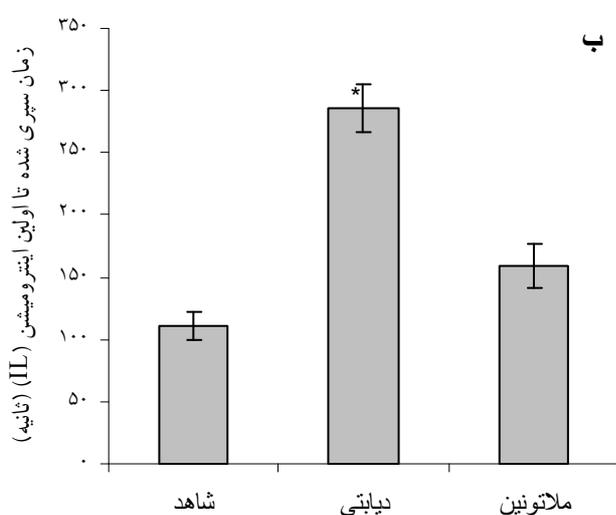
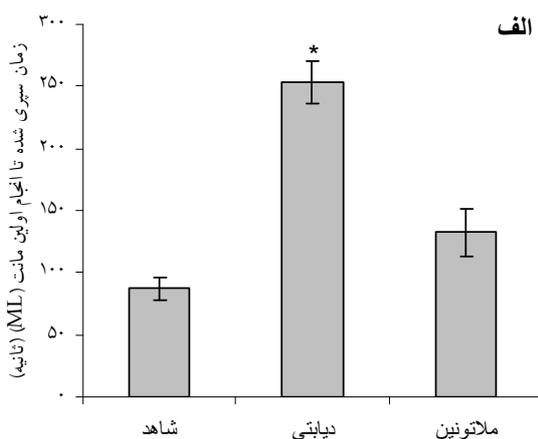
موش‌های صحرایی ماده، پس از بیهوشی با مخلوط کتامین/زایلازین، مورد جراحی استاندارد اواریکتومی (ovariectomy) قرار گرفتند تا القای مرحله استروس در این موش‌های تحت کنترل آزمایشگر باشد. این عمل چهل روز قبل از آزمون رفتاری موش‌ها نر انجام گرفت. تحریک جنسی موش‌های ماده‌ی اواریکتومی شده، به کمک تزریق زیرجلدی هورمون‌های استرادیول بنزوات (۵۰ μg/kg، ۵۴ ساعت قبل از آزمون رفتاری) و پروژسترون (۲ mg/kg، ۶ ساعت قبل از آزمون رفتاری) به صورت حل شده در روغن ذرت انجام شد.

تمام داروها با حجم ۰/۱ میلی‌لیتر به ازای ۱۰۰ گرم وزن

بدن به موش‌های نر و ماده تزریق گردید.

رفتار جنسی حیوانات نر در پایان دوره‌ی تیمار، در

محفظه‌ای چوبی (۵۶×۳۲×۳۲cm) با سطح قدامی شیشه‌ای و



$$SAI = \log(1/ML \times t) + \log(1/IL \times t) + \log(1/EL \times t) \sqrt{(nM + nI)} + Y$$

در رابطه‌ی بالا t کل مدت زمان مشاهده و Y برای موش‌هایی که انزال انجام نداده‌اند، صفر و برای سایر موش‌ها، عدد ثابت ۴ در نظر گرفته می‌شود.

تمام زمان‌های محاسبه شده بر حسب ثانیه بیان گردید. پارامترهای nM ، nI و PEI برای موش‌هایی که قادر به انزال نبودند، محاسبه نشد.

داده‌های به دست آمده، به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد. آزمون کولموگروف - اسمیرنوف نشان دهنده‌ی توزیع نرمال پارامترهای مورد بررسی بود؛ بنابراین تحلیل داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن آزمون توکی HSD با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۵ انجام گرفت. اختلاف با احتمال کمتر از ۰/۰۵ بین گروه‌های آزمایشی از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مطابق نمودار ۱، میانگین مدت زمان سپری شده تا انجام اولین مانیت (ML)، اولین اینترومییشن (IL)، و اولین انزال (EL) در حیوان‌های مبتلا به دیابت به ترتیب $253/3 \pm 17/5$ ثانیه، $285/6 \pm 18/9$ ثانیه و $2400 \pm 0/0$ ثانیه بود که به طور معنی‌دار ($p < 0/05$) بیشتر از مدت زمان معادل در حیوان‌های گروه شاهد (به ترتیب $110/8 \pm 10/9$ ثانیه، $87/3 \pm 9/5$ ثانیه و $664/2 \pm 195$ ثانیه) بود. شاخص EL برای حیوان‌های گروه دیابتی، حداکثر زمان (۲۴۰۰ ثانیه) در نظر گرفته شد.

توزیع ملاتونین به حیوان‌های مبتلا به دیابت پارامترهای ML، IL، و EL را به ترتیب به $132/8 \pm 19/3$ ثانیه، $159/3 \pm 17/9$ ثانیه و $1099 \pm 285/7$ ثانیه رساند که کاهش معنی‌داری را در مقایسه با حیوان‌های دیابتی نشان داد. اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های شاهد و ملاتونین مشاهده نشد.

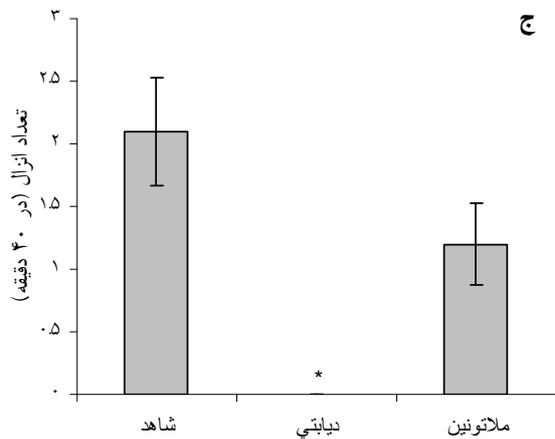
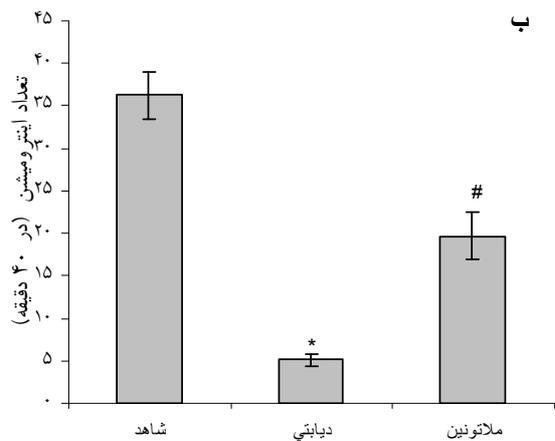
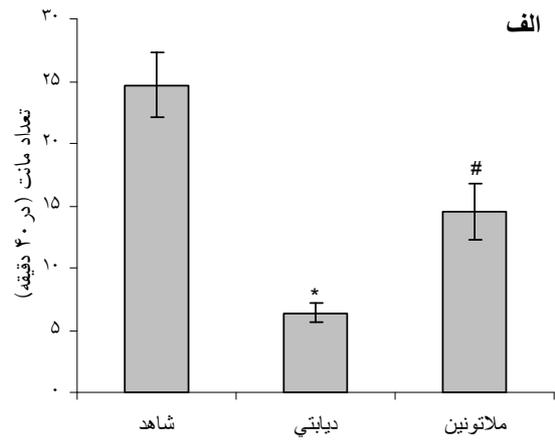
نمودار ۱- مدت زمان سپری شده تا انجام اولین مانیت (الف)، اولین اینترومییشن (ب) و اولین انزال (ج): داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار برای ۱۰ رأس موش صحرایی می‌باشند (* تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد در سطح ۵٪).

مطابق نمودار ۲، میانگین تعداد دفعات مانع (NM)، اینترومیشن (NI) و انزال (NE) در مدت زمان ۴۰ دقیقه، در موش‌های دیابتی به ترتیب برابر با $۶/۴ \pm ۰/۸$ ، $۵/۱ \pm ۰/۷$ و صفر بود که به طور معنی‌دار کمتر از موش‌های شاهد (به ترتیب $۲۴/۷ \pm ۲/۶$ ، $۳۶/۳ \pm ۲/۸$ و $۲/۱ \pm ۰/۴$) بود ($p < ۰/۰۵$). در این مطالعه تجویز ملاتونین به موش‌های دیابتی باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های NM، NI و NE به میزان $۱۴/۵ \pm ۲/۳$ ، $۱۹/۷ \pm ۲/۹$ و $۱/۲ \pm ۰/۳$ در مقایسه با حیوانات دیابتی گردید. اختلاف بین گروه‌های شاهد و ملاتونین، بجز در مورد تعداد دفعات انزال (NE)، در سایر موارد معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$).

تعداد دفعات مانع و اینترومیشن قبل از اولین انزال به ترتیب با nM و nI نشان داده شد و برای محاسبه‌ی شاخص فعالیت جنسی (SAI) به کار رفت. همچنین فاصله‌ی زمانی بین اولین انزال تا اولین اینترومیشن بعدی (PEI) برای هر یک از موش‌ها محاسبه گردید. میانگین مقادیر نمایه‌های مذکور در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. با توجه به اینکه در این آزمایش هیچ یک از موش‌های دیابتی در کل مدت آزمون، قادر به انزال نبوده‌اند، نمایه‌های nM، nI و PEI برای این گروه محاسبه نشد.

در این مطالعه راندمان جفت‌گیری (CE) با استفاده از پارامترهای NM، NI و NE به طور جداگانه برای هر موش محاسبه شد. مقایسه‌ی میانگین مقادیر CE در گروه‌های مورد مطالعه نشان‌دهنده‌ی افزایش معنی‌دار راندمان جفت‌گیری در موش‌های دریافت‌کننده‌ی ملاتونین در مقایسه با گروه دیابتی بود ($p < ۰/۰۵$) (جدول ۲).

مطابق نمودار ۳، تعداد پاسخ‌های رفتاری WDS خودبخودی، به عنوان نمایه‌ی فعالیت گیرنده‌های 5-HT_{2A}، در مدت ۴۰ دقیقه آزمون، در موش‌های دیابتی $۰/۳ \pm ۰/۱۵$ بود که در مقایسه با موش‌های شاهد ($۲/۱ \pm ۰/۲۳$) کاهش معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) را نشان داد. تیمار روزانه‌ی موش‌های مبتلا به دیابت با ملاتونین منجر به افزایش معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) تعداد WDS خودبه‌خودی ($۱/۲ \pm ۰/۳۳$) در مقایسه با حیوانات دیابتی گردید. اختلاف بین گروه‌های ملاتونین و شاهد در تعداد پاسخ‌های WDS معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$).



نمودار ۲- تعداد دفعه‌های مانع (الف)، اینترومیشن (ب) و انزال (ج) در مدت ۴۰ دقیقه آزمون؛ داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار برای ۱۰ رأس موش صحرایی است (* تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد و # تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد و دیابتی در سطح ۵ درصد).

جدول ۱- مقایسه‌ی شاخص‌های رفتاری PEI، nM و nI در گروه‌های آزمایشی

شاخص	شاهد	دیابتی	دیابتی دریافت‌کننده ملاتونین
وقفه بین اولین انزال تا اولین اینترومیشن بعدی (PEI) (ثانیه)	۸۰۵/۲±۱۴۸/۴*	غیرقابل اندازه‌گیری	۱۲۵۳/۴±۲۴۵/۲
تعداد مانع قبل از اولین انزال (nM)	۸/۴±۱/۱	غیرقابل اندازه‌گیری	۵/۰±۱/۱
تعداد اینترومیشن قبل از اولین انزال (nI)	۱۲/۹±۱/۶	غیرقابل اندازه‌گیری	۷/۷±۱/۸

* داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند.

جدول ۲- مقایسه‌ی شاخص‌های رفتاری CE و SAI در گروه‌های آزمایشی

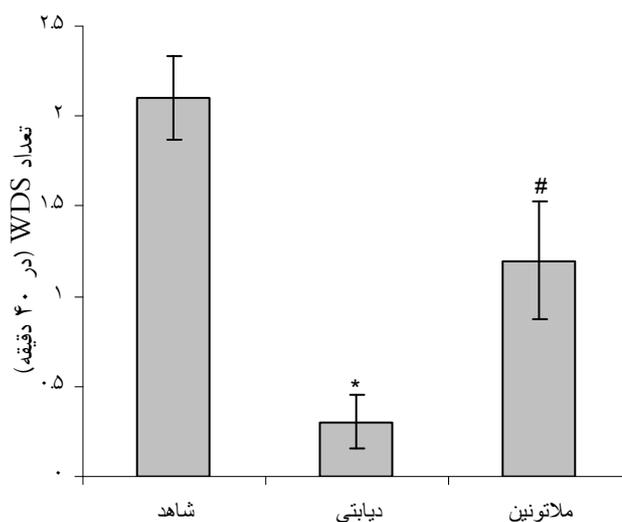
شاخص	شاهد	دیابتی	دیابتی دریافت‌کننده ملاتونین
بازده جفت‌گیری (CE)	*۶۱/۲±۱/۳	†۴۳/۸±۲/۱	۵۹/۳±۰/۴
شاخص فعالیت جنسی (SAI)	۷/۶۹±۰/۵۹	†۱/۹۲±۰/۰۶	۶/۲۰±۰/۹۰

* داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند. † P کمتر از ۰/۰۵ در مقایسه با گروه شاهد.

بحث

در این مطالعه اثرات تعدیل‌کننده ملاتونین بر اختلال‌های جنسی ناشی از دیابت در موش‌های صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که تجویز ملاتونین به موش‌های نر مبتلا به دیابت، احتمالاً با تعدیل فعالیت گیرنده‌های ۵ - هیدروکسی تریپتامینریک مرکزی، آستانه‌ی تحریک جنسی را کاهش و راندمان جفت‌گیری را افزایش داد و در مجموع، فعالیت جنسی موش‌های نر دیابتی را بهبود بخشید.

پیش از این گزارش‌های فراوانی در رابطه با اثرات درمانی هورمون ملاتونین در بیماری دیابت ارایه گردیده است.^{۱۹،۲۰} از طرفی تأثیر افزایشی هورمون ملاتونین بر عملکرد مقاربتی موش صحرایی نر سالم نشان داده شده است.^{۱۸} در مطالعه‌ای مشاهده شد که نقص در تولید و ترشح هورمون ملاتونین، منجر به بروز اختلال‌های جنسی در مردان گردید که با تجویز ملاتونین، این اختلال‌ها به طور کامل برطرف شد.^{۲۴} علاوه بر این میل جنسی در افراد مبتلا به عارضه‌ی بی‌خوابی که تحت درمان با ملاتونین قرار گرفتند، به تدریج افزایش یافت.^{۲۵} با وجود این یافته‌ها، هنوز تأثیر ملاتونین بر عملکرد جنسی تغییر یافته ناشی از دیابت مورد ارزیابی قرار نگرفته است.



نمودار ۳- تعداد دفعه‌های پاسخ رفتاری spontaneous wet-dog shakes (WDS خود به خودی) در مدت ۴۰ دقیقه آزمون؛ داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار برای ۱۰ رأس موش صحرایی است (* تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد و # تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد و دیابتی در سطح ۵ درصد).

در بررسی حاضر مشاهده شد که فعالیت جنسی در بیماری دیابت به میزان چشمگیری کاهش یافت. ابتدا به دیابت منجر به تأخیر در آغاز فعالیت جنسی حیوان‌های نر در مواجهه با حیوان ماده گردید. در مطالعه‌های آزمایشگاهی فاصله‌ی زمانی تا شروع فعالیت مقاربتی، به سطح آستانه‌ی تحریک جنسی^{۲۶} تغییر می‌شود. همچنین تعداد دفعات مانع، اینترومیشن، و انزال در حیوان‌های مبتلا به دیابت به شدت کاهش یافت. محاسبه‌ی شاخص فعالیت جنسی در این گروه، کاهش رفتار تولید مثلی در مبتلایان به دیابت را تأیید نمود. مطالعه‌های متعددی به اختلال رفتار تولیدمثلی در بیماری دیابت اشاره دارد.^{۲۷،۲۸} در مطالعه‌ی فلورز و همکاران، اختلال‌های جنسی در هامستر پانکریکتومی شده، در فاصله‌ی کوتاهی از جراحی مشاهده شد.^{۲۹} حسن و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که رفتار جفت‌گیری و مسیر فیزیولوژیک تولید مثل، هفت هفته پس از القای دیابت در موش صحرایی نر به شدت تغییر یافت.^{۳۰} یافته‌های مطالعه‌ی اسکارانو و همکاران نیز نشان داد که دیابت قندی در مدت کوتاهی به اختلال‌های تولید مثلی در موشهای صحرایی نر می‌انجامد؛ در این مطالعه ۵۰٪ از موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت هیچ عکس‌العمل مقاربتی را در طول مدت آزمون از خود نشان ندادند و سایر حیوانات دیابتی دیرتر از حیوانات شاهد، فعالیت جنسی خود را آغاز کردند.^{۳۱}

در بررسی حاضر نشان داده شد که تزریق ملاتونین به حیوانات مبتلا به دیابت منجر به کاهش آستانه‌ی تحریک جنسی و افزایش تعداد دفعات مانع، اینترومیشن و انزال می‌شود. غلظت فارماکولوژیک این هورمون، رفتار تولیدمثلی را در موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت تسهیل نمود. محققان اثر حفاظتی ملاتونین علیه برخی اختلال‌های رفتاری ناشی از دیابت را در مدل‌های حیوانی نشان داده‌اند^{۳۲} اما در مورد تأثیر ملاتونین بر رفتار تولید مثلی مبتلایان به دیابت مطالعه‌ای انجام نشده است. با این وجود گزارش‌هایی در خصوص تأثیرگذاری این هورمون بر رفتار جنسی، در شرایط فیزیولوژیکی مختلف ارائه شده است. در مطالعه‌ی پروتو نشان داده شد که تیمار طولانی‌مدت موش‌های صحرایی نر سالم با ملاتونین فعالیت جنسی این حیوانات را افزایش داد.^{۳۸} در مطالعه‌ای مشاهده شد که ملاتونین به میزان قابل توجهی اثر زیان‌آور استرس مزمن بر رفتار

جنسی موش صحرایی نر را کاهش داد.^{۳۳} گورزالکا و همکاران نشان دادند که تجویز حاد ملاتونین، عملکرد مهاری کورتیکوسترون را بر رفتار جنسی موش‌های صحرایی نر تعدیل می‌نماید. در آن مطالعه سرکوب رفتار جنسی با تحریک گیرنده‌های 5-HT_{2A} مرکزی و افزایش پاسخ رفتاری WDS همراه بود. پس از تزریق ملاتونین، تعداد پاسخ‌های WDS کاهش و رفتار جنسی افزایش یافت.^{۳۴}

رفتار WDS یکی از اجزای سندرم رفتاری سروتونین می‌باشد که به طور عمده با فعالیت گیرنده‌های 5-HT_{2A} القا می‌شود.^{۳۵} مطالعه‌ها نشان داده‌اند که مقادیر سروتونین خارج سلولی به دنبال تحریک جنسی و هنگام فعالیت مقاربتی، در نواحی متعدد مغز افزایش می‌یابد.^{۳۶} این نوروترنسمیتر با اتصال به رسپتورهای 5-HT_{2A} در نواحی خاصی از مغز (که تاکنون به طور دقیق شناخته نشده است)، رفتار WDS خودبه‌خودی را القاء می‌نماید.^{۳۷،۳۸}

مطالعه‌ها نشان می‌دهد که فعالیت سیستم سروتونرژیک مغز در مبتلایان به دیابت کاهش می‌یابد.^{۳۶،۳۷} کاهش مقادیر سروتونین در نواحی متعدد مغزی در بیماری دیابت به صورت وابسته به زمان، نشان داده شده است.^{۳۸} بر این اساس، هنگام فعالیت مقاربتی، مقدار سروتونین کمتری در مغز حیوان‌های دیابتی آزاد می‌شود و تعداد WDS خودبخودی کمتری در مقایسه با حیوان‌های شاهد بروز می‌کند. در مطالعه‌ی حاضر تعداد دفعات WDS خودبخودی در حیوان‌های دیابتی به طور معنی‌دار کمتر از حیوانات شاهد بود. اخیراً در مطالعه‌ای، «لی» و همکاران، با بررسی تأثیر هیپرگلیسمی بر عملکرد گیرنده‌های 5-HT_{2A} به کمک آگونیست این گیرنده‌ها (DOI) نشان دادند که ابتدا به دیابت، فعالیت گیرنده‌های 5-HT_{2A} مغزی را به شدت تحت تأثیر قرار داده، پاسخ‌های WDS ناشی از تزریق DOI را به میزان چشمگیری کاهش می‌دهد.^{۳۸} تا کنون سازوکار (مکانیسم) دقیق کاهش پاسخ‌های WDS در بیماری دیابت شناخته نشده است. احتمال می‌رود که این امر ناشی از آسیب اکسیداتیو نرون‌های سروتونرژیک مرکزی و کاهش مقدار سروتونین آزاد شده در مغز مبتلایان به دیابت باشد. کاهش مقادیر سروتونین به دنبال نوروپاتی مرکزی، نقش مهمی را در پاتوفیزیولوژی اختلالات نوروسایکوتریک در بیماران دیابتی ایفا می‌کند.^{۳۹} مکوری نقش نوروپاتی مرکزی را در بروز اختلالات جنسی در موش‌های صحرایی دیابتی به اثبات رسانده است.^{۴۰}

جلوگیری از نوروپاتی مرکزی و افزایش سروتونین مغز، تعداد دفعه‌های WDS را افزایش می‌دهد و فعالیت جنسی را بهبود می‌بخشد. به این ترتیب ملاتونین، در شرایط فیزیولوژیک مختلف، با سازوکارهای متفاوتی بر فعالیت تولید مثلی تأثیر می‌گذارد. بنابراین احتمال دارد که در وضعیت دیابتی، ترکیبی از سازوکارهای عملکرد ملاتونین بر تعداد WDS و رفتار جنسی حیوانات مؤثر باشد. شایان ذکر است که سازوکارهای متعددی در کنترل رفتار جنسی پستانداران دخالت دارد.^{۴۳،۴۴} در این مطالعه تغییرات رفتار جنسی از دیدگاه سیستم سروتونرژیک مورد بررسی قرار گرفت.

به طور خلاصه می‌توان گفت که هیپرگلیسمی مزمن به اختلال‌های رفتار تولیدمثلی منتهی می‌شود و تیمار مبتلایان به دیابت با ملاتونین از میزان این اختلال‌ها می‌کاهد. با توجه به این امر که رفتار WDS هنگام فعالیت مقاربتی، در شرایط دیابتی و نیز پس از دریافت ملاتونین تغییر می‌یابد، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش مزمن قند خون و نیز هورمون ملاتونین هر دو به واسطه‌ی سیستم سروتونرژیک بر رفتار جنسی مؤثر هستند، با این وجود، احتمالاً سازوکارهای دیگری نیز در کنترل رفتار تولید مثلی دخالت دارند. بنابراین انجام مطالعه‌های آزمایشگاهی بیشتر برای بررسی سایر سازوکارهای دخیل در این امر پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری: نویسندگان از سرکار خانم صدیقه مهپور به خاطر همکاری صمیمانه در انجام آزمایش‌ها تشکر و قدردانی می‌نمایند.

در بررسی حاضر تزریق روزانه ملاتونین، تعداد دفعات WDS را در حیوانات دیابتی افزایش داد. پیش از این گزارشی در این خصوص ارائه نشده است. احتمالاً ملاتونین با ماهیت آنتی‌اکسیدانی خود از آسیب نرون‌های سروتونرژیک مرکزی در موش‌های صحرایی دیابتی جلوگیری می‌نماید. بدین ترتیب در زمان فعالیت جنسی، مقدار سروتونین آزاد شده در مغز حیوان‌های درمان شده، بیشتر از مغز حیوان‌های دیابتی می‌شود؛ بنابراین گیرنده‌های 5-HT_{2A} به تعداد بیشتری فعال می‌شود و رفتار WDS افزایش می‌یابد. تأثیر ماهیت آنتی‌اکسیدانی ملاتونین در جلوگیری از دژنراسیون و کاهش آسیب نرون‌های سروتونرژیک، تحت شرایط اکسیداتیو نشان داده شده است.^{۴۱} بنابراین اختلاف معنی‌دار در تعداد WDS بین گروه‌های ملاتونین و دیابتی می‌تواند ناشی از ماهیت آنتی‌اکسیدانی این هورمون در موش‌های صحرایی دیابتی باشد. بر اساس مطالعه‌های قبلی توان آنتی‌اکسیدانی ملاتونین به حدی است که می‌تواند فعالیت سیستم سروتونرژیک را در شرایط اکسیداتیو، نزدیک به حد طبیعی (شاهد) حفظ نماید؛^{۴۱} بنابراین تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های ملاتونین و شاهد ناشی از ضعف آنتی‌اکسیدانی ملاتونین نیست. این اختلاف نشان‌دهنده‌ی دخالت احتمالی سازوکارهای غیرآنتی‌اکسیدانی ملاتونین در تنظیم فعالیت سیستم سروتونرژیک مرکزی در موش‌های دیابتی است. ملاتونین در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی، با آنتاگونیسم کردن گیرنده‌های 5-HT_{2A}، تعداد دفعه‌های WDS را کاهش و فعالیت جنسی را افزایش می‌دهد؛^{۱۸،۴۴} در حالی که در شرایط اکسیداتیو ناشی از دیابت، ملاتونین اساساً با

References

- World Health Organization/Monthly Newsletter of the PAHO/WHO Chronic Disease Program. Chronic Disease Prevention and Control in the Americas. Pan American: WHO, 2008. Available From: URL: <http://www.paho.org/English/AD/DPC/NC/dia-wdd-2008.htm> (Diabetes: PAHO urges fight against obesity and malnutrition in the Americas)
- Van Tilburg MA, McCaskill CC, Lane JD, Edwards CL, Bethel A, Feinglos MN, et al. Depressed mood is a factor in glycemic control in type 1 diabetes. *Psychosom Med* 2001; 63: 551-5.
- Fernández-Collazo EL, Foglia VG. Sexual behavior of the male diabetic rat. *Physiol Behav* 1970; 5: 1451-4.
- Hakim LS, Goldstein I. Diabetic sexual dysfunction.. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996; 25: 379-400.
- Robinson AM, Ryder RE. Impotence in diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 1997; 8: 98-101.
- Motofei IG, Rowland DL. Neurophysiology of the ejaculatory process: developing perspectives. *BJU Int* 2005; 96: 1333-8.
- Gorzalka BB, Mendelson SD, Watson NV. Serotonin receptor subtypes and sexual behavior. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 600: 435-46.
- Chen CC. Effect of the duration of streptozotocin-induced diabetes on turnover of central biogenic amines in mice. *Neuroendocrinology* 1992; 56: 629-32.
- Wei E, Sigel S, Loh H, Way EL. Thyrotrophin-releasing hormone and shaking behavior in rat. *Nature* 1975; 253: 739-40.
- Foreman MM, Hall JL, Love RL. The role of 5-HT₂ receptor in the regulation of sexual performance in male rats. *Life Sci* 1989; 45: 1263-70.
- Watson NV, Gorzalka BB. Concurrent wet dog shaking and inhibition of male rat copulation after ventromedial brainstem injection of the 5-HT₂ agonist DOI. *Neurosci Lett* 1992; 141: 25-9.
- Bedard P, Pycock CJ. Wet-dog shake behavior in the rat: a possible quantitative model of central 5-

- hydroxytryptamine activity. *Neuropharmacology* 1977; 16: 663-70.
13. Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJ, Zisapel N, et al. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol* 2008; 85: 335-53.
 14. Allegra M, Reiter RJ, Tan DX, Gentile C, Tesoriere L, Livrea MA. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J Pineal Res* 2003; 34: 1-10.
 15. Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species *J Pineal Res* 2007; 42: 28-42.
 16. Govitrapong P, Prapapanich V, Ebadi M. Identification of serotonin 5-HT₂ receptors in bovine pineal gland. *J Pineal Res* 1991; 11: 182-7.
 17. Dugovic C, Leysen JE, Wauquier A. Melatonin modulates the sensitivity of 5-hydroxytryptamine-2 receptor-mediated sleep-wakefulness regulation of the rat. *Neurosci Lett* 1989; 104: 320-5.
 18. Brotto LA, Gorzalka BB. Melatonin enhances sexual behavior in the male rat. *Physiol Behav* 2000; 68: 483-6.
 19. Sudnikovich EJ, Maksimchik YZ, Zabrodskaya SV, Kubyshin VL, Lapshina EA, Bryszewska M, et al. Melatonin attenuates metabolic disorders due to streptozotocin-induced diabetes in rats. *Eur J Pharmacol* 2007; 569: 180-7.
 20. Oktem F, Ozguner F, Yilmaz HR, Uz E, Dündar B. Melatonin reduces urinary excretion of N-acetyl-β-D-glucosaminidase, albumin and renal oxidative markers in diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 95-101.
 21. Rodrigues-Alves PS, Lebrun I, Flório JC, Bernardi MM, Spinoso Hde S. Moxidectin interference on sexual behavior, penile erection and hypothalamic GABA levels of male rats. *Res Vet Sci* 2008; 84: 100-6.
 22. Pattij T, de Jong TR, Uitterdijk A, Waldinger MD, Veening JG, Cools AR, et al. Individual differences in male rat ejaculatory behavior: searching for models to study ejaculation disorders. *Eur J Neurosci* 2005; 22: 724-34.
 23. Agmo A, Paredes R, Fernández H. Differential effects of GABA transaminase inhibitor on sexual behavior, locomotion activity, and motor execution in male rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 28: 47-52.
 24. Maurizi CP. Disorder of the pineal gland associated with depression, peptic ulcers, and sexual dysfunction. *South Med J* 1984; 77: 1516-8.
 25. Grugni G, Carani C, Maestroni G, Guzzaloni G, Ardizzi A, Lissoni P, et al. Melatonin levels in psychogenic impotence. *Horm Metab Res* 1994; 26: 440-1.
 26. Agmo A. Sexual motivation—an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behav Brain Res* 1999; 105: 129-50.
 27. Murray FT, Johnson RD, Sciadini M, Katovich MJ, Rountree J, Jewett H. Erectile and copulatory dysfunction in chronically diabetic BB/WOR rats. *Am J Physiol* 1992; 263: E151-E157.
 28. Tong YC, Hung YC, Lin SN, Cheng JT. Dark-cycle video surveillance of sexual performances of normal and diabetic rats. *Urol Int* 1996; 56: 207-10.
 29. Florez-Lozano JA, Menendez-Patterson A, Marin B. Sexual behavior of the pancreatectomized (95%) male hamster (*Mesocricetus auratus*). *Physiol Behav* 1978; 20: 465-8.
 30. Hassan AA, Hassouna MM, Taketo T, Gagnon C, Elhilali MM. The effect of diabetes on sexual behavior and reproductive tract function in male rats. *J Urol* 1993; 149: 148-54.
 31. Scarano WR, Messias AG, Oliva SU, Klinefelter GR, Kempinas WG. Sexual behavior, sperm quantity and quality after short term streptozotocin-induced hyperglycemia in rats. *Int J Androl* 2006; 29: 482-8.
 32. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol* 2006; 537: 106-10.
 33. Brotto LA, Gorzalka BB, LaMarre AK. Melatonin protects against the effects of chronic stress on sexual behaviour in male rats. *Neuroreport* 2001; 12: 3465-9.
 34. Gorzalka BB, Brotto LA, Hong JJ. Corticosterone regulation of 5-HT_{2A} receptor-mediated behaviors: attenuation by melatonin. *Physiol Behav* 1999; 67: 439-42.
 35. Watson NV, Gorzalka BB. Relation of spontaneous wet dog shakes and copulatory behavior in male rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 37: 825-9.
 36. Sandrini M, Vitale G, Vergoni AV, Ottani A, Bertolini A. Streptozotocin-induced diabetes provokes changes in serotonin concentration and on 5-HT_{1A} and 5-HT₂ receptors in the rat brain. *Life Sci* 1997; 60: 1393-7.
 37. Manjarrez G, Herrera R, Leon M, Hernandez-R J. A low brain serotonergic neurotransmission in children with type 1 diabetes detected through the intensity dependence of auditory-evoked potentials. *Diabetes Care* 2006; 29: 73-7.
 38. Li JX, France CP. Food restriction and streptozotocin treatment decrease 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor-mediated behavioral effects in rats. *Behav Pharmacol* 2008; 19: 292-7.
 39. Khanam R, Pillai KK. Effect of chromium picolinate on modified forced swimming test in diabetic rats: involvement of serotonergic pathways and potassium channels. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2006; 98: 155-9.
 40. McVary KT, Rathnau CH, McKenna KE. Sexual dysfunction in the diabetic BB/WOR rat: a role of central neuropathy. *Am J Physiol* 1997; 272: 259-67.
 41. Ueda S, Sakakibara S, Kadowaki T, Naitoh T, Hirata K, Yoshimoto K. Chronic treatment with melatonin attenuates serotonergic degeneration in the striatum and olfactory tubercle of zitter mutant rats. *Neurosci Lett* 2008; 448: 212-6.
 42. Eison AS, Freeman RP, Guss VB, Mullins UL, Wright RN. Melatonin agonists modulate 5-HT_{2A} receptor-mediated neurotransmission: behavioral and biochemical studies in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 273: 304-8.
 43. Steger RW, Amador A, Lam E, Rathert J, Weis J, Smith MS. Streptozotocin-induced deficits in sex behavior and neuroendocrine function in male rats. *Endocrinology* 1989; 124: 1737-43.
 44. El'tseva TV, Adamskaya EI, Peryshkova TA, Babichev VN. Disturbance of neuroendocrine regulation of sexual behavior of male rats with streptozotocin diabetes. *Neurosci Behav Physiol* 1993; 23: 538-44.

Original Article

Effect of Melatonin on Sexual Behavior in Male Diabetic Rats

Babaei F¹, Heidari R¹, Ilkhanipour M¹, Azizi S²

¹Department of Biology, Faculty of Science, Urumia University; ²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urumia University, I.R.Iran
e-mail: st_f.babaei@urmia.ac.ir

Abstract

Introduction: Several clinical studies indicate deterioration of sexual behavior in diabetic patients. The pathophysiological mechanisms of diabetic sexual impotence remain obscure. In this study the therapeutic effects of melatonin on sexual behavior were investigated through the central serotonergic system in diabetic rats. **Materials and Methods:** In this study, 30 male adult Wistar rats, weighing 200 ± 20 g, were used. Animals were divided into three groups, the controls (C), diabetic (D) and the melatonin-treated diabetic (M) group. Experimental diabetes was induced by intraperitoneal injection of 50 mg/kg streptozotocin. Melatonin was injected (10 mg/kg i. p.) after 3 days of streptozotocin injection for 30 days. At the end of the administration period, the sexual behavior of each male rat to an ovariectomized female rat was assessed for 40 min. Serotonergic type 2 (5-HT_{2A}) receptor activities were investigated through spontaneous WDS behavior, and experimental data were statistically analyzed. **Results:** First mount, first intromission and first ejaculation latencies significantly ($p < 0.05$) increased in diabetic rats as compared to controls. Melatonin treatment significantly ($p < 0.05$) reduced these responses in the M group, compared to the D one. Also the number of mounts, intromissions and ejaculations significantly ($p < 0.05$) decreased in diabetic rats compared to controls. Administration of melatonin significantly ($p < 0.05$) increased these activities in the M group as compared to the D one. Calculation of copulatory efficiency and the sexual activity index of each rat indicate that reproductive activity in diabetic rats was significantly ($p < 0.05$) less than other two groups. The number of WDS responses was significantly ($p < 0.05$) different in all three groups. **Conclusion:** Sexual dysfunction in diabetic animals was accompanied by decreasing of 5-HT_{2A} receptor activities, and melatonin prevented the diabetes-induced sexual impotence by modulating of central serotonergic system activity.

Keywords: Diabetes, Melatonin, Sexual behavior, WDS, 5-HT_{2A}, Serotonergic system