ORIGINAL ARTICLE

Effect of Omega-3 on Ovarian Tissue and Blastocyst Formation on Diabetic Rats In Vitro

Maryam Shahi[1],
Vahid Nejati[2],
Gholamreza Najafi[3]

[1] MSc Student in Embryology and Histology, Urmia University, Urmia, Iran
[2] Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Anatomy and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

(Received July 23, 2016 ; Accepted October 10, 2016)

Abstract

Background and purpose: Diabetes is one of the major factors that affects fertility and ovulation and can disrupt the formation of fetus. Omega-3 polyunsaturated fatty acids might be able to improve the quality of the embryo in maturation of oocytes. The aim of this study was to investigate the effects of omega-3 on ovarian tissue and the development of blastocysts in diabetic rats.

Materials and methods: In this study, 32 adult female rats were divided into 4 groups (n= 8 per group) including controls, diabetic, diabetic+ Omega-3 (300mg/kg /day), and diabetic+ Omega-3 (600mg/kg/day). Diabetes was induced by intraperitoneal injections of Streptozotocin (50 mg/kg). Omega-3 was administered by gavage for 45 days. Then PMSG (IU, IP25) was injected and 54 hours later HCG (IU, IP25) was injected. Afterwards, the ovarian samples were used in vitro fertilization.

Results: Compared with the control group, diabetes significantly reduced the percentage of healthy follicles, percentage of zygote, two cell embryos, blastocysts, and hatching embryos ($P<0.05$). Data analysis revealed that administration of omega-3 fatty acids in diabetic rats increased the percentage of healthy follicles and parameters associated with fertilization and embryo development in vitro compared with the diabetic group that did not receive omega-3 ($P< 0.05$).

Conclusion: Due to the harmful effects of diabetes on pregnancy, omega-3 fatty acids has the ability to inhibit the adverse effects of diabetes on the ovaries, thereby increasing the chances of fertility.

Keywords: diabetes, ovary, oocyte, omega-3, in vitro fertilization

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26 (145): 176-185 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۵ بهمن سال ۱۳۹۵ (۱۸۵-۱۷۶)

بررسی اثر امگا -۳ برروی بافت تخمدان وتشکیل بلاستوسیت در موش‌های دیابتی در لقاح آزمایشگاهی

مریم شاهی[۱]
وحید نجاتی[۲]
غلامرضا نجفی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: دیابت یکی از عوامل تعیین‌کننده در باروری است که می‌تواند باعث ایجاد اختلال درتخمک‌گذاری وتشکیل جنین گردد. ممکن است اسیدچرب غیر اشباع امگا-۳ بتواند میزان بلوغ آزمایشگاهی تخمک وکیفیت تشکیل جنین را بهبود بخشد. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر امگا-۳ بر بافت تخمدان و تکوین بلاستوسیست‌های موش‌های دیابتی در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها: دراین مطالعه تجربی، ۳۲ رت ماده بالغ به ۴ گروه ۸ تایی، کنترل سالم، دیابتی، دیابتی به همراه ۳۰۰ mg/kg/day و دیابتی به همراه ۶۰۰ mg/kg/day تقسیم شدند. دیابت باتزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۵۰ mg/kg) القا شد و رت‌ها ۴۵ روز امگا -۳ گاواژشدند. سپس هورمون PMSG (۲۵IU,IP) تزریق شد و بعد از ۵۴ ساعت هورمون HCG (۲۵IU,IP) تزریق شد و نمونه های تخمدان جهت لقاح داخل آزمایشگاهی استفاده شد.

یافته‌ها: دیابت به شکل معنی‌داری باعث کاهش میانگین درصد فولیکول های سالم، درصد زیگوت، جنین های دوسلولی، بلاستوسیست‌ها و جنین‌های هچینگ شده درمقایسه باگروه کنترل گردیده است ($p <$ ۰/۰۵). باآنالیزداده‌ها مشخص شد که تجویزاسیدهای چرب امگا -۳ برروی موش‌های دیابتی، درصد فولیکول‌های سالم و پارامترهای مرتبط با لقاح و ورشد جنین را در شرایط in vitro نسبت به گروه دیابتی افزایش می‌دهد ($p <$ ۰/۰۵).

استنتاج: با توجه به اثرات تخریبی دیابت برتوان باروری، امگا-۳ قابلیت مهار اثرات سوء دیابت را برروی تخمدان دارا بوده موجب افزایش لقاح وتوان باروری می‌شود.

واژه های کلیدی: دیابت، تخمدان، اووسیت، امگا-۳ ، لقاح آزمایشگاهی

مقدمه

در سال ۲۰۱۱، حدود ۷ درصد از جمعیت دنیا مبتلا به دیابت بوده‌اند که ۸۰ درصد از این افراد در کشورهای در حال توسعه زندگی می‌کنند، تخمین زده می‌شود که تاسال ۲۰۳۰ این حدود ۸/۳ درصد جمعیت دنیا را شامل شوند(۱). دیابت با ایجاد عوارض عروقی کوچک و بزرگ، تقریباً برتمام ارگان‌ها و سیستم‌های بدن تاثیر گذار است(۲)؛ یکی از عوارض مهم دیابت، اختلال در باروری است به طوری که حدود ۹۰ درصد زنان و

مولف مسئول: مریم شاهی- ارومیه: دانشگاه ارومیه Email: merilla.shahi@yahoo.com
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد جنین شناسی و بافت شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳. دانشیار، گروه آناتومی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۵/۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۶۹۵/۵/۱۱ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۷/۱۹

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

مردان مبتلا به دیابت از اختلال در عملکرد دستگاه تولید مثل به صورت‌های مختلف رنج می‌برند که از آن جمله می‌توان به کاهش میل جنسی وکاهش باروری اشاره کرد(۳). مطالعات در دو دهه اخیر نشان می‌دهد که، مقاومت به انسولین و هیپرانسولینمی نقش مهمی را در پاتوژنز تخمدان بازی می‌کند به علاوه زنان مبتلا به سندرم‌های تخمدانی در ترشح انسولین از سلول‌های بتا نقص دارند(۴). دیابت ترشح گنادوتروپین‌ها را متوقف کرده و بنابراین تولید مثل را مهار می‌کند. استرس اکسیداتیو که در بیماری‌زایی تخمدان (ناباروری) نقش مؤثری دارد؛ نوعی عدم تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد و دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن است و احتمالاً در افزایش تولید انسولین و آندوژن‌ها در تخمدان و اختلال در تولید فولیکول‌ها دخالت دارد(۶،۵). گونه‌های اکسیژن فعال در مدولاسیون، طیف وسیعی از عملکردهای فیزیولوژیکی باروری از قبیل بلوغ تخمک، استروئیدوژنز تخمدان، تخمک‌گذاری، لانه‌گزینی، تشکیل بلاستوسیت و عملکرد جسم زرد شرکت دارند(۷) دیابت باعث کاهش سطح هورمون اکسیداز درمایع فولیکولی یا افزایش غلظت بالای رادیکال سوپراکسیداز[1] می‌شود که تخریب فولیکولی را به همراه دارد(۸).

این در حالی است که اسیدهای چرب امگا-۳ یک اثر آنتی‌کوآگولان دارند و از نظر کالری نسبتاً بالا هستند. اردوگان پیشنهاد می‌کند که اسیدهای چرب امگا-۳ می‌توانند، سطح کاتالاز را در پراکسی زوم‌ها و سیتوپلاسم افزایش و بنابراین، موجب بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی شوند(۹). تجویز آنتی اکسیدان‌ها نه تنها می‌تواند باعث بهبود پارامترهای کیفی وکمی تخمک شود، بلکه می‌تواند به‌طور چشم‌گیری مانع ازآسیب DNA تخمک نیز گردد(۱۰). مکانسیم اثر امگا-۳ در مقابل دیابت ، به عنوان آنتی‌اکسیدان، درکاهش تولید ROS و بهبود توانایی تکامل جنین در محیط in vitro تایید شده است(۱۲،۱۱). اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۳ از بهترین آنتی اکسیدان‌هایی هستند که دارای خصوصیات ضدالتهابی، ضد ترومبوزو ضد آریتمی همراه با کاهش فشارخون و غلظت سطح تری گلیسرید خون هستند که می‌توانند با ROS مقابله کنند(۱۴،۱۳) مصرف منظم امگا-۳ فواید متعددی مشتمل بر پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی و التهابی دارد و می‌تواند نقش کلیدی در پیشگیری و کنترل دیابت و مقاومت به انسولین ایفا کند(۱۷-۱۵). مکانیسم دقیق اثر مصرف اسیدهای چرب امگا-۳ هنوز کاملاً روشن نیست ولی در مطالعه کساولو و همکاران مشاهده شد که مصرف یک ماه مکمل امگا-۳، اثرات سودمندی برپروفایل لیپیدی، پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بیماران دیابتی دارد(۱۸). هم‌چنین اسیدهای چرب امگا-۳ سبب افزایش آزادسازی فسفولیپازهای D از غشاء می‌شوند،که منجر به فعال‌سازی خاصیت ضد تکثیر درسلول‌های لنفوئیدی می‌گردد(۱۹). با توجه به اثرات اسیدهای چرب امگا -۳، اهمیت تخمدان در فیزیولوژی بدن و باروری و اثرات سوء دیابت بر باروری، هدف مطالعه حاضر بررسی میزان تاثیر اسیدهای چرب امگا -۳ بر روی بافت تخمدان و لقاح داخل آزمایشگاهی در رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین است.

مواد و روش ها

دراین مطالعه از تعداد ۳۲ موش رت ماده بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۱۷±۱۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات از مرکز نگهداری و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده علوم وتحقیقات دانشگاه ارومیه تهیه شدند ودر تمام طول این مطالعه، حیوانات مذکور در حیوان خانه مجهز به سیستم تهویه با دمای ۲+۲۲ درجه سانتیگراد، رطوبت ۴۵درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. آب و غذا بدون محدودیت در اختیار رت‌ها قرار گرفت. بعد از دوهفته

1. superoxide radical

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

رت‌ها به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه A رت‌های کنترل، گروه B: رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین [1](stz)، گروه C: رت‌های دیابتی شده که ۳۰۰ mg/kg/day امگا-۳ را دریافت نمودند(۳۸) و گروه D: رت‌های دیابتی شده که ۶۰۰ mg/kg/day امگا-۳ را روزانه به صورت خوراکی توسط دستگاه گاواژ دریافت کردند. القای دیابت با تزریق داخل صفاقی (۵۰ mg/kg.b.w) استرپتوزوتوسین، حل شده در بافر سیترات ۰/۰۵ M با ۴/۵PH انجام شد و به رت‌های ناشتای گروه c، مقدار ۱ ml سیترات بافر به همان روش تزریق شد. پس از تزریق، حیوانات به قفس‌های خود برگردانده و آب و غذا به‌صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت. سنجش قند خون برای تشخیص القای دیابت، ۷۲ ساعت پس از تزریق stz، با استفاده از خون سیاهرگ دمی، به کمک کیت گلوکومتر انجام شد. موش‌هایی با قند خون بیش از ۲۲۰ mg/dl به عنوان دیابتی در نظر گرفته(۱۳). هم‌چنین تیمار با محلول امگا -۳ (Omega-3 1000mg: 180 mg EPA و 120 mg DHA، ELG کانادا)، از زمان تشخیص القای دیابت آغاز شد و به مدت ۴۵ روز از طریق گاواژ ادامه یافت.

روش تهیه اسپرم

برای تهیه اسپرم، ابتدا رت‌ها با استفاده از کتامین وزایلازین بیهوش شده سپس توسط جابه‌جایی مهره‌های گردنی آسان کشی شدند. پوست ناحیه شکمی با اتانول ۷۰ درصد استریل گردید. پس از ایجاد برش در ناحیه شکم ، دم اپیدیدیم از بیضه جداشد و بعد از چند برش در آن، به اپندورف استریل حاوی یک میلی لیتر محیط کشت (mR1CEM) منتقل شد، سپس اپندورف‌ها به انکوباتور با CO_2 ۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بعد از گذشت ۶۰ دقیقه، اسپرم‌های شده در محیط کشت، برای لقاح تخمک‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. لازم به یادآوری است که میزان اسپرم گرفته شده جهت استفاده در لقاح (1×10^6mIHF medium) است. روش تخمک‌گذاری و لقاح داخل آزمایشگاهی پس از القای تخمک‌گذاری توسط HCG تخمک‌های به دست آمده از نظر مورفولوژی ارزیابی شدند. ابتدا به هر کدام از رت‌های ماده بالغ، ۲۵ واحد بین المللی گنادوتروپین سرم مادیان آبستن (PMSG) (۵۰۰۰ PMSG (ECG) واحد (IU)، شرکت هیپرااسپانیا) به شکل داخل صفاقی تزریق گردید. ۵۴ ساعت بعداز تزریق PMSG، که غلظت آن به حداکثر رسید و باعث تحریک رشد فولیکول و افزایش اولاسیون شد(۱۹) به هر رت، ۱۵ واحد بین المللی هورمون [2](HCG) (از شرکت organon هلند)، به شکل داخل صفاقی تزریق شد بدین طریق موش‌ها تحریک تخمک گذاری شدند. متعاقب۱۵ساعت، رت‌ها بیهوش شده و شکم آن‌ها در شرایط استریل باز شد(۳۹) و اویداکت به همراه قسمت کوچکی از شاخ رحم به محیط کشت (mR1CEM) انتقال یافت. تخمک‌ها از آمپول اویداکت با استفاده از روش دیسکت کردن توسط سر سوزن انسولینی برداشته شدند. تخمک‌ها پس از شست و شو با محیط (mR1CEM)، به قطرات لقاح ۵۰۰ میکرولیتری در زیر روغن معدنی حاوی محیط کشت (mR1CEM) منتقل شدند. سپس اسپرم‌هایی که مرحله ظرفیت‌یابی را طی نموده بودند، به تعداد یک میلیون به ازای هر میلی‌لیتر محیط کشت به قطرات محیط کشت لقاح افزوده شدند. عمل لقاح حدود ۴تا ۶ ساعت پس ازاضافه کردن اسپرم‌ها با مشاهده دو پیش هسته نر و ماده مورد ارزیابی قرار گرفت. زیگوت‌ها بعد از شست وشو، به محیط کشت تازه منتقل شدند و۲۴ ساعت پس از لقاح، درصد جنین‌های دو سلولی موردارزیابی قرار گرفت. سپس در روزهای ۴تا ۵، درصد بلاستوسیت‌ها و جنین‌های هچینگ شده ارزیابی شد. هم‌چنین جهت بررسی بافت تخمدان، تخمدان چپ رت‌هایی که هورمون‌های PMSG و HCG را دریافت نکرده و در فاز استروس

1. Streptozotocin

2. Human chorionic gonadotropin

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

قرار داشتند جدا شده ودر ظرف فیکساتیو (محلول فرمالین ۱۰ درصد) قرار داده شد. پس از انجام مراحل آبگیری، نمونه‌ها در بلوک‌های پارافینی قالب‌گیری شدند و بااستفاده ازمیکروتوم از تمام مقاطع تخمدان برش‌های سریالی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (مرک- آلمان) به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰، تعداد و نوع فولیکول‌ها و اجسام زرد در برش‌های سریالی شمارش شد. قطر فولیکول‌های گراف سالم و جسم زرد با عدسی مدرج، مورد بررسی قرار گرفتند و جهت تعیین قطر از فرمول زیر استفاده گردید.

۲/ (کم‌ترین قطر + بیشترین قطر) = قطر فولیکول

قطر <۷۰ میکرومتر: فولیکول مقدماتی اولیه

قطر ۱۱۰-۷۰ میکرومتر: فولیکول های پیش آنترال اولیه

قطر ۲۰۰-۱۱۰ میکرومتر: فولیکول های آنترال اولیه

قطر >۲۰۰ میکرومتر: فولیکول‌های آنترال بزرگ(۱۰)

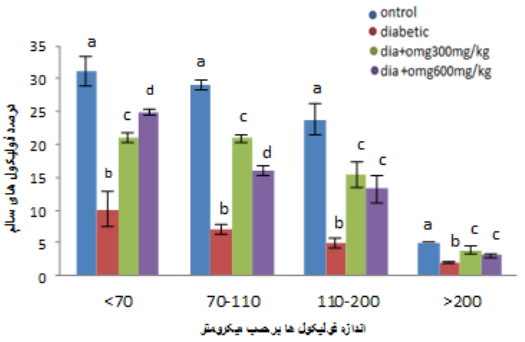
روش آماری

در این تحقیق ازنرم افزار آماری SPSS16 استفاده شد. داده‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه وتست Benferroni مورد تحلیل و تجزیه قرار گرفتند. داده‌های مربوط به بافت تخمدان بااستفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه (ANOVA) وتست تعقیبی توکی مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفتند. قبل از انجام آزمون آنالیز واریانس، نرمال بودن داده‌های بدست آمده با استفاده از آزمون کولموگراف– اسمیرنوف بررسی شد. هم‌چنین اختلاف میانگین داده‌ها در سطح ($p<۰/۰۵$) معنی‌داردرنظر گرفته شد.

یافته ها

اثر امگا -۳ بر میزان فولیکول های سالم بافت تخمدان در رت های دیابتی شده با STZ

براساس نتایج به دست آمده درصد فولیکول‌های مقدماتی واولیه (<۷۰) و فولیکول‌های پیش آنترال اولیه (۱۱۰-۷۰) و فولیکول‌های آنترال اولیه (۲۰۰-۱۱۰) و فولیکول‌های آنترال بزرگ (>۲۰۰) در گروه دیابتی، نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری کاهش یافته است ($p<۰/۰۵$). درگروه دیابتی که امگا -۳ را با مقدار ۳۰۰mg/kg دریافت کردند درصد فولیکول‌های مقدماتی و اولیه و فولیکول‌های پیش آنترال و آنترال اولیه و بزرگ نسبت به گروه دیابتی به طور معنی‌داری افزایش یافته است ($p<۰/۰۵$). در گروه دیابتی که مقدار ۶۰۰ mg/kg امگا -۳ را دریافت کردند درصد فولیکول‌های مقدماتی واولیه نسبت به گروه امگا-۳۰۰ افزایش معنی‌داری داشته و به مقدارگروه کنترل نزدیک می‌باشد ($p<۰/۰۵$). فولیکول پیش آنترال اولیه در گروه ۶۰۰ نسبت به ۳۰۰ کاهش معنی‌دار دارد؛ ولی نسبت به گروه دیابتی افزایش معنی‌دار دارد ($p<۰/۰۵$). در حالی‌که فولیکول آنترال اولیه و آنترال بزرگ در امگا ۶۰۰ نسبت به امگا ۳۰۰ کاهش یافته ولی این کاهش معنی‌دار نیست ($p>۰/۰۵$) (تصویر شماره ۱).



نمودار شماره ۱: درصد فولیکول های سالم در بافت تخمدانی رت‌های دیابتی شده با STZ

اثرامگا -۳ بر میزان لقاح و تشکیل بلاستوسیت‌ها دررت‌های دیابتی شده با STZ

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که در گروه دیابتی، درصد لقاح، تشکیل جنین‌های دو سلولی و بلاستوسیت کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل از خود نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$). هم‌چنین درصد جنین‌های هچینگ شده[1] نیز در مقایسه با گروه کنترل کاهش

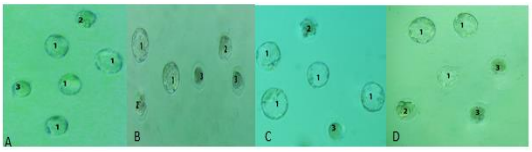
1. Hatching(به فرایند پاره شدن و خروج جنین از زوناپلوسیدا اطلاق می شود)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

جدول شماره۱: مقایسه میانگین پارامترهای درصد زیگوت، درصد جنین‌های دوسلولی، درصد بلاستوسیت و جنین‌های هچ شده در گروه‌های مورد مطالعه رت ماده بالغ. حروف لاتین غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار مابین گروه‌ها می‌باشد(p۰/۰۵>). داده‌ها برحسبMean±SD نشان داده شده‌اند

متغیرها	کنترل	دیابتی	دیابتی+امگا-۳۰۰	دیابتی+امگا-۶۰۰	سطح معنی داری
درصد زیگوت	۸۸/۰۲ ± ۰/۸۵	۶۹/۹۰ ±۱/۷۵	۷۴/۹۱ ±۲/۵۰	۷۸/۳۱ ±۱/۱۷	۰/۰۳
درصدجنین های دوسلولی	۹۱/۶۱ ±۳/۳۸	۶۵/۴۷ ±۱/۱۹	۷۵/۸۹ ±۵/۶۰	۷۵/۹۸ ±۱/۷۹	۰/۰۲۱
درصدبلاستوسیست ها	۷۳/۰۱ ±۰/۵۱	۳۸/۰۹ ±۴/۷۶	۵۸/۳۳ ±۸/۳۳	۶۰/۲۷ ±۱/۰۲	۰/۰۳۰
درصدجنینهای هچینگ شده	۵۶/۴۷ ±۳/۵۲	۲۶/۷۸ ±۱/۷۸	۳۷/۷۹ ±۰/۲۹	۴۱/۰۹ ±۴/۰۶	۰/۰۰۸

معنی‌داری داشته است. این در حالی است که در گروه‌های دیابتی که اسیدهای چرب امگا -۳ را با مقدار 300 mg/kg دریافت کردند میزان تشکیل زیگوت و جنین‌های دوسلولی و تشکیل بلاستوسیت‌ها و جنین‌های هچینگ در رت‌ها افزایش معنی‌داری دارد (p <۰/۰۵). ولی در میزان درصد لقاح، تشکیل جنین‌های دو سلولی و بلاستوسیت هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین میزان مصرف mg/kg ۳۰۰ امگا -۳ و مصرف ۶۰۰ mg/kg امگا-۳ مشاهده نشد (p >۰/۰۵) (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: (A) گروه کنترل، (B) گروه دیابتی، (C) گروه امگا-۳ (۳۰۰ mg/kg) به همراه دیابت، (D) گروه امگا-۳ (۶۰۰ mg/kg) به همراه دیابت.

(۱) جنین در مرحله بلاستوسیت،

(۲) جنین متوقف شده،

(۳)تخمک بارور نشده.

بحث

کاهش باروری در جنس ماده مبتلا به دیابت، ناشی از اختلال در هیستوپاتولوژی تخمدان است که به صورت اختلال در محور هیپوتالاموس– هیپوفیز– تخمدان، اختلال در ترشح هورمون‌ها، اختلال در رشد فولیکولی، افزایش تحلیل فولیکولی، تحلیل جسم زرد، عدم بلوغ اووسیت، کاهش یا عدم تخمک‌گذاری و تغییر زمان استروس گزارش شده است(۳). در نتیجه بالا بودن قند خون در دیابت، میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بدن افزایش می‌یابد و گلیکوزیله شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث کاهش فعالیت آن‌ها می‌شود(۲۰) از سوی دیگر افزایش قندخون روی هیپوتالاموس– هیپوفیز– تخمدان نیز اثر گذاشته و مسیر طبیعی آن را برهم می‌زند(۲۱). در مطالعات مختلف از استرپتوزوتوسین جهت القاء دیابت تجربی وافزایش قند خون در حیوانات آزمایشگاهی از جمله موش صحرایی استفاده شده است. استرپتوزوتوسین با القاء استرس اکسیداتیو باعث تخریب سلول‌های بتای پانکراس و در نتیجه، افزایش قند خون می‌شود(۲۲) به‌طوری‌که در مطالعه حاضر نیز تجویز stz باعث افزایش قند خون در رت‌ها گردیده و رت‌ها به دیابت نوع اول مبتلا شدند. بالا بودن قند خون میزان تولید رادیکال های آزاد را افزایش می‌دهد. استرس اکسیداتیو از طریق تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، عاملی بنیادی در پیشرفت مشکلاتی چون مقاومت به انسولین، اختلال عملکرد سلول‌های بتا، نقص در تعادل گلوگز و دیابت ملیتوس می‌باشد(۲۳) هم‌چنین تغییرات دژنراتیو اووسیت در فولیکول‌های تخمدانی رت‌های دیابتی و مهار مراحل بلوغ آن می‌تواند به کاهش ارتباطات تغذیه‌ای اووسیت در اثر تغییر در ضخامت و ماهیت پرده شفاف و نیز دیگر اثرات سوء ناشی از دیابت مانند افزایش میزان رادیکال‌های آزاد منجر شود(۲۶-۲۴). علاوه براین گزارش شده است ROS می‌تواند سبب ایجاد اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها، آسیب‌های DNA و RNA و پروتیئن‌ها شود که از آمیزش اسپرم و اووسیت در جریان لقاح جلوگیری می‌کند(۲۷). تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن از دلایل مهم پایین بودن درصد تولید

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

جنین در شرایط آزمایشگاهی بیان شده است. سطح پایین ROS[1] نقش سودمندی را در IVF[2] بازی می‌کند. به نظر می‌رسد که در شرایط آزمایشگاهی جنین‌های پستانداران، میزان تولید این رادیکال‌های آزاد بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی جنین‌ها می‌باشد(۲۸) مطالعه حاضر نشان می‌دهد که دیابت القا شده در رت‌ها، تعداد فولیکول‌های آغازین، فولیکول‌های اولیه، ثانویه و ثالثیه را کاهش داده است که، نشان‌دهنده آترزی فولیکولی است؛ از طرفی کاهش تعداد فولیکول‌های سالم باعث کاهش لقاح و تعداد اووسیت‌های تشکیل یافته در لقاح داخل آزمایشگاهی شده است. در مطالعات مشابهی که اثر دیابت را بر ساختار بافت‌شناسی تخمدان بررسی کرده‌اند، نتایج متنوعی در رابطه با اثر دیابت بر فولیکول‌های تخمدانی گزارش شده است. از جمله گریس و همکاران نشان دادند که در تخمدان‌های هامسترهای دیابتی در فاز لوتئال، جمعیت فولیکول‌ها کاهش یافته و تعداد فولیکول‌های آترزی افزایش یافته و همه هامسترها فاقد سیکل تولیدمثلی بودند(۲۹). هم‌چنین حسینی‌فر و همکاران نیز گزارش کردند که القاء دیابت با stz در موش صحرایی باعث کاهش فولیکول‌های آغازین، اولیه، ثانویه، ثالثیه و افزایش فولیکول‌های آترزی می‌شود(۳۰). دیوید و همکاران بیان کرده اند که درصد کل فولیکول‌های موجود در تخمدان هامستر دیابتی کاهش یافته و تعداد فولیکول‌های اولیه و ثانویه در گروه دیابتی در مقایسه با کنترل کاهش یافته بود. هم‌چنین آن‌ها گزارش کردند در رابطه با فولیکول‌های ثالثیه در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و درصد فولیکول‌های آترزی در تخمدان‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته بود و چنین نتیجه‌گیری کردند که هیپرگلیسمی در هامسترهای چینی، باعث سرکوب شدید فولیکول‌های طبیعی می‌شود که نتیجه آن اختلال در کارایی وعملکرد دستگاه تولید مثل هامستر است(۳۱) به‌طوری‌که یافته‌های پژوهش حاضر نیز با یافته‌های قبلی هم‌خوانی داشته و تعداد فولیکول‌های تخمدانی اعم از فولیکول‌های اولیه، ثانویه و ثالثیه در گروه دیابتی نیز کاهش یافته است. اما از آن‌جایی‌که اسید چرب امگا -۳ می‌تواند، سطح کاتالاز را در پراکسی زوم‌ها و سیتوپلاسم افزایش دهد، موجب بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود(۹). مطالعه حاضر نشان داد که اسید چرب امگا -۳ سبب بهبودی قابل توجهی در وضعیت بافت تخمدانی دیابت می‌شود به طوری که میانگین درصد فولیکول‌های سالم در گروه‌هایی که امگا -۳ را دریافت کرده‌اند نسبت به گروه دیابتی شاهد افزایش یافته و درنتیجه میزان لقاح وتشکیل بلاستوسیت‌ها نیزافزایش می‌یابد. نتایج مطالعه حاضر همسو با نتایج برخی از مطالعات انسانی و حیوانی می‌باشد که کاهش اثرات بیماری دیابت و مقاومت انسولینی به دنبال مصرف اسیدهای چرب امگا -۳ را گزارش کرده‌اند. اریتسلند و همکاران نشان دادند مکمل یاری با اسیدهای چرب امگا -۳ با دوز ۳/۴ گرم EPA,DHA درروزبه مدت ۶ ماه باعث کاهش معنی‌دار در سطح انسولین در بیماران دچارهیپرتری گلیسیریدمی خفیف شد(۳۲). نتایج مطالعه بزرگی که توسط رامل و همکاران بر روی ۳۴۰ زن و مرد چاق از کشورهای ایرلند، اسپانیا و ایسلند انجام شد نشان داد که، ۸ هفته مکمل یاری با ۳ گرم روغن ماهی درروز (۱/۳ گرم اسیدچرب امگا -۳ در روز) به همراه یک رژیم کم کالری سبب کاهش معنی‌دار در سطح انسولین در بیماران دیابتی می‌شود(۳۳). بررسی‌های آزمایشگاهی صورت گرفته در مطالعات قبلی نشان داد که افزودنی‌های غذایی باخاصیت آنتی‌اکسیدانی مانند اسیدهای چرب امگا -۳، موجب افزایش کیفیت لقاح و بهبود نتایج(IVM) می‌شود(۳۴) و تکوین بلاستوسیت‌ها را در جنین موش بهبود می‌بخشد(۳۵). ولی مطالعاتی که نقش اسیدهای چرب امگا-۳ را بر بافت تخمدانی بررسی کند یافت نشد لذا مکانسیم آن هنوز به‌خوبی شناخته نشده است. از طرفی دیگر چندین مکانیسم در توجیه اثرات اسیدهای چرب امگا -۳ بر بهبود بیماری دیابت

1. Reactive Oxygen Species
2. in vitro fertilization

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

ذکر شده است. یکی از این مکانیسم‌ها در ارتباط با PPAR می‌باشد که نوعی رسپتور هسته‌ای و یک فاکتور رونویسی فعال شونده با لیگاند است. EPA و DHE به عنوان لیگاندهای طبیعی برای PPAR[1] عمل می‌کنند. مطالعات نشان داده‌اند که فعال‌سازی درPPARȳ با اسیدهای چرب امگا -۳ می‌تواند سبب افزایش کلسیرانس گلوگز از طریق افزایش تعداد گیرنده‌های گلوگز[2] (GLUT4,CLUT1) درماهیچه‌ها وبافت چربی و هم‌چنین باعث افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب شوند(۳۶). افزایش اسیدهای چرب امگا -۳ سبب افزایش سیالیت غشاء در سلول‌های ماهیچه‌ای می‌شود که بهبود عملکرد گیرنده‌های انسولین یا گیرنده گلوگز و اتصال بهتر انسولین به گیرنده را در پی دارد(۳۷). علاوه براین بخشی از اثرات اسیدهای چرب امگا-۳ از طریق فعال سازی آنزیم AMPK[3] اعمال می‌شود. فعال شدن AMPK سبب مهار گلوکونئوژنز در کبد، افزایش برداشت گلوگز توسط ماهیچه‌ها وافزایش مصرف گلوگز در بدن می‌شود و آسیب‌های دیابت بر بافت ها را کاهش می‌دهد(۳۶) مطالعات باروری مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز امگا-۳ به همراه دیابت علاوه بر این‌که تا حدودی ازعوارض دیابت می‌کاهد، بلکه باعث می‌شود که میزان لقاح و متعاقب آن میزان رشد جنینی افزایش یابد. این اطلاعات را نمی‌توان برای لقاح انسان و انتقال جنین در شرایط آزمایشگاهی تعمیم داد اما ممکن است سبب بهبود شرایط ناباروران گردد.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که دیابت آسیب‌های وارده بر بافت تخمدان و فولیکول‌ها را افزایش داده و میزان باروری و لقاح و تولید جنین را کاهش می دهد. ولی مصرف روزانه اسیدچرب امگا-۳ از آسیبهای وارده به بافت تخمدان جلوگیری کرده و باعث جلوگیری از آترزی فولیکول‌های تخمدان می‌شود. هم‌چنین اسیدهای چرب امگا -۳ می‌توانند میزان لقاح و تشکیل بلاستوسیت رادرمحیط in vitro بهبود ببخشند و لقاح و تشکیل بلاستوسیت‌ها را افزایش داده و در نتیجه موجب افزایش توان باروریدهد شوند.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم و دامپزشکی دانشگاه ارومیه و تمام کسانی که در این تحقیق ما را یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

1. Boulton AJ, Vilekyte L, Ragnarson Tennvall G, Apelqvist J. The global burden of diabetic foot discease. Lancet 2005; 366(9498): 1719-1724.
2. Traish AM, Cushman T, Hoyt R, Kim NN. Diabetes attenuates female genital sexual arousal response via disruption of estrogen action. Korean J Urol 2009; 50(3): 211-223.
3. Ballester J, Muñoz MC, Domínguez J, Palomo MJ, Rivera M, Rigau T, et al. Tungstate administration improves the sexual and reproductive function in female rats with streptozotocin-induced diabetes. Hum Reprod 2007; 22(8): 2128-2135.
4. Kofuji K, Aoki A, Tsubaki K, Konishi M, Isobe T, Murata Y. Antioxidant activity of β-Glucan. ISRN Pharm 2012; ۲۰۱۲: 125864.
5. Dickinson PJ, Carrington AL, Frost GS, Boulton AJ. Neurovascular disease, antioxidants and glycation in diabetes. Diabetes Metab Res Rev 2004; 18(4): 260-272.
6. Esfandiari N, Falcone T, Agarwal A, Attaran M, Nelson DR, Sharma RK. Protein supplementation and the incidence of apoptosis

1. Proxisome Proliferator Activated Receptor
2. Glucose Transporter
3. AMP-activated kinase

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

and oxidative stress in mouse embryos. Obstet Gynecol 2005; 105(3): 653-660.

7. Zhang X, Sharma RK, Agarwal A, Falcone T, Effect of pentoxifylline in reducing oxidative stress-induced embryotoxicity J Assist Reprod Genet 2005; 22(11-12): 415-417.
8. Cassano E, Tosto L, Balestrieri M, Zicarelli L, Abrescia P, Antioxidant defense in the follicular fluid water buffalo. Cell Physiol Biochem 1999; 9(2): 106-116.
9. Singh U, Jialal I. Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol. Ann N Y Acad Sci 2004; 1031: 196-203.
10. Ahmadi E. Evaluation effect Wheat germ oil on reproduction Complication following treatment with carbamazepine in epilepsy male mice with PTZ. Faculty of Science. University of Orumiyeh 2015. (Persian) .
11. Venkateswaran S, Pari L. Effect of Coccinia indica leaves on antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol 2003; 84(2-3): 163-168.
12. Weerakint S, Srisombut C, Bunnag P, Sangtong S, Chuangsoongnoen N, Rojanasakul A. Prevalence of type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Asian women with polycystic ovary syndrome. Int J Gynaecol Obstet 2002; 75(2): 177-184.
13. Rains JL, Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. Free Radic Biol Med 2011; 50(5): 567-575.
14. Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative stress and metabolic syndrome. Life Sci 2009; 84(21-22): 705-712.
15. Rodriguez-Villar C, Perez-H A, Mercade I, Casals E, Ros E. Comparison of a high-carbohydrate and a high-monounsaturated fat, olive oil-rich diet on the usceptibility of LDL to oxidative modification in subjects with Type 2 diabete mellitus. Diabet Med 2004; 21(2): 142-149.
16. Ruder EH, Hartman T, Blumberg J, Goldman M. Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. Hum Reprod Update; 14(4): 345-357.
17. Sakamoto N, Kono S, Wakai K, Fukuda Y, Satomi M, Shimoyama T, et al. Dietary risk factors for inflammatory bowel disease A Multicenter Case Control Study in Japan. Inflamm Bowel Dis 2005; 11(2): 154-163.
18. Sekhon LH, Gupta S, Kim Y, Agarwal A. Female infertility and antioxidants. Curr Womens Health Rev 2010; 6: 84-95.
19. Sinclair AJ, Lunec J. Free radicals, oxidative stress and diabetes mellitus, In: Immunopharmacology of Free Radical Species. Blake D, Winyard PG. London: Academic Press; 1995. p. 183-198.
20. Umrani RD, Paknikar KM. Zinc oxide nanoparticles show antidiabetic activity in streptozotocin-induced types-1 and 2 diabetic rats. Nanomedicine (Lond) 2014; 9(1): 89-104.
21. Arrais RF, Dib SA. The hypothalamus-pituitary-ovary axis and type 1 diabetes mellitus: a mini review. Hum Reprod 2005; 21(2): 327-337.
22. Prasad GL. Biomedical applications of Nanoparticles. Nanostructure Science and Technology 2009: 89-109.
23. Nirmala S, Saroja HR, Vasanthi S, Lalitha G. Hypoglycemic effect of Basella rubra in streptozotocin-induced diabetic albino rats. J Pharmacognosy Phytother 2009; 1(2): 025-030.
24. Tatemoto H, Ootaki K, Shigeta K, Muto N. Enhancement of developmental competence after in vitro fertilization of porcine oocytes by treatment with ascorbic acid 2-O-alphaglucoside during in vitro maturation. Biol Reprod 2001; 65(6): 1800-1806.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

25. Traish AM, Cushman T, Hoyt R, Kim NN. Diabetes attenuates female genital sexual arousal response via disruption of estrogen action. Korean J Urol 2009; 50(3): 211-223.
26. Aitken RJ, Harkiss D, Buckingham D. Relationship between iron-catalysedvlipid peroxidation potential and human sperm function. J Reprod Fertil 1993; 98(1): 257-265.
27. Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y. Oxidative sterss and protection aginst reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surrondings. Hum Reprod Update 2001; 7(2): 179-189.
28. Garris DR, Garris BL. Cytolipotoxicity-induced involution of the female reproductive tract following expression of obese (ob/ob) and diabetes (db/db) genotype mutations: progressive, 30. hyperlipidemic transformation into adipocytic tissues. Reprod Toxicol 2004; 18(1): 81-91.
29. Hosseinifar S, Erfanimajd N, Morovvati H, Najafzadeh H. Aloe Vera gel protects ovarian structure in diabetic rat. AEJTS 2011; 3(3): 197-203.
30. Garris DR, Garris BL. Diabetes (db/db) mutation-induced ovarian involution: progressive hypercytolipidemia. Exp Biol Med 2003; 228(9): 1040-1050.
31. Eritsland J, Seljeflot I, Abdelnoor M, Arnesen H, Torjesen A. Long-term effects of ω-3 fatty acids on serum lipids and glycaemic control. Scand J Clin Lab Invest 1994;54(4):273-280.
32. Ramel A, Martinez JA, Kiely M, Bandarra NM, Thorsdottir I. Effects of weight loss and seafood consumption on inflammation parameters in young, overweight and obese European men and women during 8 weeks of energy restriction. Eur J Clin Nutr 2010; 64(9): 987-993.
33. Wirleitner B, Vanderzwalmen P, Stecher A, Spitzer D, Schuff M, Schwerda D, et al. Dietary supplementation of antioxidants improves semen quality of IVF patients in terms of motility, sperm count, and nuclear vacuolization. Int J Vitam Nutr Res 2012; 82(6): 391-398.
34. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in reproduction. Reprod Biol Endocrinol, 2005. p. 3-28.
35. Fedor D, Kelley D. Prevention of insulin resistance by n-3 polyunsaturated fatty acids. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2009; 12(2): 138-146.
36. Ebbesson SO, Risica PM, Ebbesson LO, Kennish JM, Tejero ME. Omega-3 fatty acids improve glucose tolerance and components of the metabolic syndrome in Alaskan Eskimos: the Alaska Siberia project. Int J Circumpolar Health 2005; 64(4): 396-408.
37. Tabei SM, Fakher S, Djalali M, Javanbakht MH, Zarei M, Derakhshanian H, et al. Effect of vitamind A, E,C and omega-3 fatty acids supplementation on the level of catalase and superoxide dismutase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. Bratisl Lek Listy 2015; 116(2): 115-118.
38. Amerion M, Haidari K. Quantitative assessment of mouse embryo development yielded from in vitro fertilization of ovulated mature oocytes after ovarian stimulation using human menopausal gonadotropin and Estradiol valerate. J Gorgan Uni Med Sci 2013; 15(3): 13-17 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]