اثر میرسترین بر پارامترهای اسپرم و سطح سرمی هورمون های جنسی در موش های صحرایی نر تحت استرس بی حرکتی

محمدرضا شهرکی[۱]، حامد فنایی[۲]، طاهره صفری[۱]، نسیم تیرداد[۱]، الهام شهرکی[۳]، علیرضا داشی پور*[۴]، ناصر کیخا[۵و۶]

۱) استاد گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، خدمات بهداشتی در مانی زاهدان، ایران
۲) استادیار مرکز تحقیقات سلامت بارداری، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، خدمات بهداشتی درمانی زاهدان ، ایران
۳) استادیارگروه داخلی، بیمارستان امام علی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، ایران،
۴) استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، خدمات بهداشتی در مانی زاهدان ، ایران
۵) استادیار قارچ شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلولی و مولکولی بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.
۶) مرکز تحقیقات قارچ شناسی و باکتری شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
*نشانی برای مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی زاهدان دانشکده پزشکی گروه علوم صنایع غذایی- صندوق
ایمیل: ar_dashipoor@yahoo.com

دریافت مقاله: آبان چهارصد پذیرش برای چاپ: دی چهارصد

چکیده

سابقه و هدف: از آنجایی که استرس یکی از فاکتورهای مختل کننده دستگاه تولید مثل در مو شهای صحرایی به شمار می آید و مریسترین یک فلاونوئیدی است که جهت بهبود تعدادی ازبیماریها ازجمله نا باروری استفاده می شود، هدف این مطالعه بررسی اثر تجویز مریسترین بر فاکتورهای تولید مپل و هورمونهای جنسی در موشهای صحرایی نر بود.

روش کار: این مطالعه برروی ۵۰ سر موش صحرایی نر که به طور تصادفی به ۵ گروه مساوی کنترل(A)، شم کنترل(B) و آزمایش C,D و E تقسیم شدند(n=10). گروههای آزمایش، روزانه استرس بی حرکتی را به مدت یک ساعت دریک دوره ۶۰ روزه دریافت کردند. گروه C در مدت مطالعه هیچ ماده ای دریافت نکرد، گروه E در ۱۴ روز آخر یک روز درمیان ۲/۵ میلیگرم برکیلوگرم مریسترین محلول درنرمال سالین دریافت کرد. گروه D در این مدت یک روز در میان نرمال سالین را درون صفاقی دریافت نمودند.

یافته ها: سطح سرمی هورمونهای FSH و LH، تستوسترون، وزن بیضه، مجاری اپیدیدیم، دفران، تعداد اسپرم و سرعت حرکت اسپرم در گروههای C و D درمقایسه با گروههای A و B کاهش معنی داری را نشان داد. میزان کمیت های فوق درگروه E در مقایسه با سایر گروههای تست، افزایش معنی داری نشان داد. مورفولوژی اسپرمها در تمام گروههاتفاوت معنی داری را نشان نداد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از بررسی حاضر نشان داد که استرس بی حرکتی موجب کاهش سطح سرمی تستوسترون، هورمونهای گونادوتروپ و پارامترهای جنسی در موشهای صحرایی تحت استرس بی حرکتی می شود و تجویز درون صفاقی مریسترین موجب بهبود این کمیتها می گردد اما بر مورفولوژی اسپرم اثرندارد.

واژگان کلیدی: استرس بی حرکتی، مریسترین، پارامترهای اسپرم، تستوسترون

ناباروری بیماری است که ۸-۱۲٪ از زوجین را تحت تأثیر قرار می دهد(۱). ناباروری به نقص در باردارشدن با وجود رابطه جنسی حفاظت نشده به مدت حداقل یک سال اطلاق می شود (۲). گزارشات نشان می دهد بیش از ۸۰ میلیون نفر در سرتاسر جهان به ناباروری مبتلا هستند. شواهد بدست آمده نشان داده است که در کشورهای توسعه یافته نیز ، دسترسی به درمان های پزشکی ناباروری محدود است و تفاوت هایی برای تشخیص و درمانهای طبی نیز وجود دارد(۳). ناباروری مردان به طور کلی با ناهنجاری های شکلی و عملکردی اسپرم ، از جمله: کاهش تعداد اسپرم، تغییر در پارامترهای کیفیت اسپرم (غلظت ، تحرک ، مورفولوژی) یا هر دو مشخص می‌شود(۴). عوامل زیادی در اسپرماتوژنز (تولید و کاهش کیفیت اسپرم) دخالت دارند. از این دسته، فاکتورهایی مانند استرس، داروها، ، سموم ،آلودگی هوا، مواد غذایی ناکافی، ژنتیک و شیمی درمانی را می توان ذکر کرد (۱). استرس شرایطی است که با مفاهیم و ادراک فرد از آموخته های قبلی و محیط داخلی و خارجی او منطبق و سازگار نیست. استرس با ایجاد احساس ترس و نگرانی، ثبات هموستاز را از بین برده و منجر به پاسخ های اختصاصی و غیر اختصاصی دربدن می شود(۷-۵). از انواع استرس می توان به استرس های فیزیکی(جسمی)، روحی، اجتماعی و استرس هایی که هموستاز متابولیک و سیستم قلبی عروقی را مختل می کنند، همچون تمرینات ورزشی سخت, کاهش قند خون و مانند آن را نام برد (۱۰-۸) . بی حرکتی، تلفیقی از استرس جسمی و روانی می باشد که حرکت و جا به جایی را منحصر به منطقه ای محدود نموده و از این طریق افراد را از گروه جدا می سازد (۱۱) . استرس اکسیداتیو نوعی دیگر استرس از است که از طریق تولید بیش از حد و یا برداشت ناقص مولکول های واکنش پذیر در بدن، سیستم های دفاعی بدن را مختل می‌کند. ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی بدن را تا حدود زیادی در مقابل رادیکال های آزاد مانند گونه های فعال اکسیژن (Reactive Oxygene Species=ROS) محافظت می کند(۱۲, ۱۳). میریسیترین به طور طبیعی متعلق به زیر گروه فلاونول‌ها می‌باشد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نسبت به سایر فلاوونوییدها از خود نشان می‌دهد(۱۴). با توجه به اهمیت آنتی‌اکسیدان ها در اسپرماتوژنز واثر آن در خنثی سازی استرس اکسیداتیو، احتمال تاثیر مثبت این دارو با منشا گیاهی در تولید اسپرم و افزایش توان تولید مثل محتمل است (۱۵).

با توجه به مطالب بالا، هدف این مطالعه تعیین اثر میریسترین بر پارامترهای اسپرم و سطح سرمی هورمون های جنسی(گونادوتروپین ها و تستوسترون) در موش های صحرایی نر تحت استرس بی حرکتی بوده است.

روش کار

این مطالعه‌ی تجربی بر روی ۵۰ سر موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار با وزن ۲۷۰-۲۲۰ گرم که از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان تهیه شده بودند اجرا شد. حیوانات مورد بررسی ۱۰ روز جهت سازگاری در محیط جدید قرار گرفتند و سپس به صورت تصادفی به ۵ گروه ده تایی تقسیم شدند. در تمام مدت بررسی، هر موش دریک قفس جداگانه با دسترسی کامل به آب و غذا نگه‌داری شد. حیوانات مورد بررسی در مدت مطالعه، در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (۷صبح الی ۷شب) که بطور مصنوعی طراحی شده بود قرار گرفتند. دمای محیط ۲ ± ۲۲درجه سانتی گراد به طور مصنوعی توسط دستگاه تهویه تنظیم شده بود (۱۰۲). گروه های مورد مطالعه شامل: گروه کنترل (A) که دست نخورده باقی ماندند (بدون تزریق و استرس بی حرکتی در دوره بررسی). گروه شم کنترل (B): که تحت استرس بی حرکتی قرار نگرفتند وفقط در ۱۴ روز آخر دوره، حلال میریسیترین (نرمال سالین) را به صورت یک روز در میان ، داخل صفاقی دریافت کردند. گروه استرس (C) که هیچ تزریقی روی آنها انجام نشد و در طی دوره ی ۶۰ روزه استرس بی حرکتی روزانه (به مدت ۱ ساعت در داخل ریسترنر)قرار گرفتند. گروه استرس و حلال میریسیترین (D): این گروه علاوه بر اینکه در دوره ۶۰روه، روزانه ۱ ساعت تحت استرس بی حرکتی بودند، در ۱۴ روزآخر دوره، حلال میریسیترین (نرمال سالین) یک روز در میان به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه استرس و میریسیترین (E): این گروه روزانه ۱ ساعت تحت استرس بی حرکتی به مدت ۶۰ روز بودند و در ۱۴ روز آخر دوره، میریسیترین محلول درنرمال سالین را با دوز ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به صورت یک روز در میان دریافت کردند. پس از پایان دوره، حیوانات مورد بررسی ، دوباره وزن شدند و پس از بیهوشی کامل با کتامین و زایلازین درون صفاقی با دوز ۳۵۰ mg/kg عمیقا بیهوش و

پس ازاتمام خون‌گیری شکافی در ناحیه مجرای اینگوئینال دو طرف حیوان ایجاد شد. بیضه ها ، مجاری اپیدیدیم و دفران پس از خروج از محفظه شکم حیوان جدا وپس از جدا شدن چربی اطراف آنها با ترازوی دیجیتال با حساسیت یک هزارم گرم وزن شدند. درآخر نسبت وزن هر یک از اندام های تناسلی به ۱۰۰ گرم وزن بدن حیوان محاسبه شد .پس از این مرحله، هر کدام از اندام های فوق، در یک ظرف درب دار حاوی یک میلی لیتر سرم فیزیولوژی دردمای ۳۷ درجه سانتی گراد (جهت پیشگیری از خشک شدن) قرار گرفتند و با حفظ شرایط به محیط مورد نظر برای انجام مراحل بعدی انتقال یافتند (۲۱).برای القا استرس بی حرکتی موش های صحرایی نر ،گروه های E , D,C به صورت انفرادی روزانه ۱ساعت به مدت ۶۰ روز داخل ریسترنر در (ساعت ۹- ۱۱ صبح) دروضعیت ثابت و بدون تحرک قرار گرفتند (۱۷).

میریسیترین ساخت شرکت دارویی سیگما آلدریچ آمریکا خریداری و با دوز ۲/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم محلول در نرمال سالین رقیق شد. در ۱۴ روزآخر دوره این محلول ۷ بار به صورت یک روز در میان به صورت داخل صفاقی به گروه E تزریق شد (۱۹).سرعت، حرکت و تعداد اسپرم توسط سیستم آنالیزگر(Computer Aided Sperm Analysis=CASA) اندازه گیری شد. سطح سرمی هورمون های تستوسترون،LH و FSH توسط کیت مخصوص رت شرکت Zell Bio آلمان ، با استفاده از روش الایزا اندازه گیری شد. وزن بیضه، مجرای اپیدیدیم و مجرای دفران توسط ترازوی دیجیتال با دقت یک هزارم گرم اندازه گیری شد. جهت بررسی مرفولوژی اسپرماتوزوئیدها از میکروسکوپ نوری استفاده شد (۲۰). مجرای اپیدیدیم راست پس از خروج از محفظه شکم حیوان وزن ودر حجم معینی از سرم فیزیولوژی با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل شد. مجاری اپیدیدیم پس از خرد شدن رقیق سازی شد. با استفاده از سوسپانسیون حاصل ،شمارش اسپرم با استفاده از روش شمارش گلبولهای سفید اندازه گیری شد. این روش برای مجاری اپیدیدیم راست و چپ، مجاری دفران راست وچپ نیز انجام شد. با توجه به روش عملی شمارش اسپرمها، لام مورد نظرزیر میکروسکوپ فاز کنتراست قرار گرفت و تصویر فیلدها توسط یک دوربین ضبط و به کامپیوتر منتقل و توسط نرم افزارآنالیزگر به نام C.A.S.A =Computer Aided Sperm Analysis مطابق دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی، تعداد اسپرم ها شمارش گردید (۲۴-۲۲).تصویر لام هموسیتومتر (نئوبار) حاوی محلول بدست آمده از مجاری اپیدیدیم زیر میکروسکوپ فاز کنتراست توسط یک دوربین ضبط وبه کامپیوتر منتقل و توسط نرم افزارآنالیزگر C.A.S.A مطابق دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی انواع حرکت اسپرم حیوانات مورد بررسی، ازجمله: حرکت رو به جلو(Progressive)، متحرک بودن، حرکت غیر رو به جلو (Non progressive) ، بی حرکتی (Immotile) به صورت درصد و سرعت آنها velocity of curved line(VCL)، velocity of average path(VAP) ، velocity of straight line(VSL) ، beat frequency(BCF) ، laterai amplitude(ALH) بر حسب (µm/s) توسط نرم افزارآنالیزگر C.A.S.A ارزیابی شد (۲۴, ۲۵).مورفولوژی اسپرم و اشکال طبیعی و غیرطبیعی آن شامل اسپرمهایی با دو سر بزرگ، سر کوچک، سر گرد، بدون آکروزوم، سر سنجاقی، دم بلند یا کوتاه، بدون دم و یا دم پیچ خورده و قطره سیتوپلاسمی، در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند (۲۶).اطلاعات به دست آمده با نرم افزار SPSS V ۱۶ و با استفاده از روش های اماری توصیفی و استنباطی تجزیه و تحلیل شدند. در این بررسی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین بین گروه های مختلف در متغییرهای مورد بررسی استفاده شد. در صورت معنی دار بودن میانگین ها از آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین گروه‌های متفاوت از یکدیگر استفاده شد. P< ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری تلقی گردید. در تمام مراحل کار طبق مقررات کار با حیوانات آزمایشگاهی ابلاغی توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و دانشگاه علوم پزشکی زاهدان انجام شد (کد اخلاق: IR. ZAUMS. REC.1396.283).

یافته ها

میانگین تعداد اسپرمها، درصد وزن بیضه به وزن بدن، درصد وزن مجاری اپیدیدیم به وزن بدن و میانگین درصد وزن مجاری دفران به وزن بدن درگروه E در مقایسه با مقادیر این کمیتها در گروههای Cو D افزایش معنی داری را نشان داد. اما نسبت این کمیت ها در مقایسه با گروههای AوB کاهش معنی داری داشت(جدول ۱، P < ۰/۰۰۱). همچنین نتایج بدست آمده از این بررسی نشان داد که سطح سرمی هورمون های تستوسترون، LH و FSH در گروه-های C و D ، در مقایسه با مقدار این کمیتها در گروهای Aو B وEکاهش معنی داری داشت(P < ۰/۰۰۱). لازم به ذکر است که میانگین سطح سرمی هورمون تستوسترون گروه E در مقایسه با مقدار این کمیت درگروههای A و B کاهش معنی داری را نشان داد. مقایسه سطح سرمی هورمون های مورد بررسی در بین دو گروه C و D تقاوت معنی داری را نشان نداد(P=۰/۹). آنالیز اطلاعات در این آزمایشگاهی جدا و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد برای آزمایشات بعدی فریز و نگهداری شد(۱۶).

بررسی نشان داد میانگین حرکت پیشرونده‌ی اسپرم ها در گروه C و D کاهش معنی داری نسبت به مقادیر این کمیت در گروههای A وB داشت$P<0.001$. در صورتی که میانگین سرعت حرکت (VSL) اسپرم ها و حرکت غیر پیشرونده آنها همراه با افزایش میانگین تعداد اسپرم های غیر متحرک این گروهها در مقایسه بامقادیر این کمیت ها در گروههای A, B و گروه E افزایش معنی داری را نشان داد($P < ۰/۰۰۱$).نتایج حاصل از این بررسی براساس آنالیز واریانس و تست توکی نشان میدهد تعداداسپرم، درصد وزن بیضه مجرای اپیدیدیم و مجرای دفران به ۱۰۰ گرم وزن بدن در گروههای C وِD در مقایسه با گروههای A وB کاهش معنی داری دارد. در صورتیکه مقدار این کمیتها در گروه E در مقایسه با گروههایC وِ D افزایش معنی داری را نشان میدهد. نتایج به دست آمده در این مطالعه به صورتmean ± SD بیان شده است(جدول۱ ($P <$ ۰/۰۰۱),

جدول (۱) مقایسه میانگین تعداد اسپرم، درصد وزن بیضه، اپیدیدیم و مجرای دفران به صد گرم وزن بدن در موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار

متغییرها گروهها	تعداد اسپرم (Million/ml)	درصد وزن بیضه به ۱۰۰ گرم وزن بدن	درصدوزن اپیدیدیم به ۱۰۰ گرم وزن بدن	درصد وزن مجرای دفران به ۱۰۰ گرم وزن بدن
کنترل (A)	۴۱/۹۹ ۰±/۶۴	۰/۷۷۵ ۰±/۰۱۴	۰/۴۳۸ ۰±/۰۰۸	۰/۳۴۸ ۰±/۰۰۸
شم کنترل (B)	۴۲/۲۱ ۰±/۵۲	۰/۷۸۸ ۰±/۰۱۶	۰/۴۵۱ ۰±/۰۰۵	۰/۳۴۸ ۰±/۰۰۵
استرس (C)	۱۶/۰۵ ۰±/۳۴	۰/۴۰۵ ۰±/۰۲۵	۰/۲۳۸ ۰±/۰۰۵	۰/۱۴۳ ۰±/۰۰۸
استرس + میریسیترین (D)	۱۵/۹۵ ۰±/۳۵	۰/۴۰۸ ۰±/۰۳۲	۰/۲۵۶ ۰±/۰۰۷	۰/۱۵۲ ۰±/۰۰۶
استرس + میریسیترین (E)	۳۲/۷۷ ۰±/۵۳	۰/۶۰۷ ۰±/۰۲۱	۰/۳۵۷ ۰±/۰۰۷	۰/۲۳۵ ۰±/۰۰۶
p-value	P<0.001			

سطح سرمی هورمونهای تستوسترون، LH و FSHدر گروههای C وِD در مقایسه با گروههای A وB کاهش معنی داری نشان داد، در صورتیکه مقدار این کمیتها در گروه E در مقایسه با گروههایC وِ D افزایش معنی داری را نشان می دهد (جدول۲ ,P<0.001 و نتایج به صورتmean±SD گزارش شد).

جدول ۲- سطح سرمی هورمونهای تستوسترون LH و FSH در موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار

متغییرها گروهها	تستوسترون (ng/ml)	سطح سرمی LH (ng/ml)	سطح سرمی FSH (ng/ml)
کنترل (A)	۳/۳۱ ۰±/۰۶۴	۲/۹۶ ۰±/۰۳	۵ ۰±/۰۴
شم (B)	۳/۳۰ ۰±/۰۵۵	۲/۹ ۰±/۰۴	۴/۸۵ ۰±/۰۵
استرس (C)	۰/۷۸ ۰±/۰۳۵	۱/۳۳ ۰±/۰۳	۳/۸۷ ۰±/۰۷
استرس (D)	۰/۷۷ ۰±/۰۳۶	۱/۲۵ ۰±/۰۳	۳/۶۴ ۰±/۰۸
استرس (E)	۰±/۰۴۷ ۱/۶۷۷	۲/۲۶ ۰±/۰۵	۴/۵۳ ۰±/۰۶
p-value	P<0.001		

حرکت پیشرونده‌ی اسپرم ها در گروه C و Dدر مقایسه با مقدار این کمیت درگروههای A وB کاهش معنی داری نشان می دهد.در صورتی که سرعت حرکت، حرکت غیر پیشرونده و تعداد اسپرم های غیر متحرک در گروههای C و D در مقایسه بامقادیر این کمیتها در گروههای A ، B و E افزایش معنی داری را نشان داد (جدول۳ ,P<0.001 نتایج به صورتmean±SD گزارش شد).

جدول ۳: مقایسه میانگین تعداد اسپرم غیر نرمال به نرمال، درصد انواع حرکت در موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار

متغییرها / گروهها	در صد اسپرمهای غیر نرمال به نرمال	در صد حرکت پیشرونده اسپرمها	در صد حرکت غیر پیشرونده اسپرمها	در صد اسپرمهای غیر متحرک	سرعت حرکت دورانی اسپرمها	سرعت حرکت مستقیم اسپرمها
کنترل (A)	± ۰/۱ ۰/۱۸	۰±/۵۰۴ ۴۲/۴۵	۰±/۶۰۱ ۳۶/۵۷	۰±/۳۹۳ ۲۰/۹۰	۰±/۳۹۳ ۲۵۰/۹۰	۷۲/۱۰ ۰±/۴۵
شم (B)	± ۰/۱ ۰/۱۸	۰±/۴۵۹ ۴۲/۴۶	۰±/۶۲۹ ۳۶/۸۲	۰±/۴۸۲ ۲۱/۷۵	۰±/۳۵ ۲۶۶/۸۰	۷۰/۳۰ ۰±/۵۳
استرس (C)	± ۰/۱ ۰/۱۹	۰±/۷۸۴ ۱۶/۴۵	۱±/۵۳ ۵۱/۷۹	۱±/۵۵ ۳۲/۰۴	۰±/۴ ۱۸۰/۴۰	۴۲/۱۰ ۰±/۲۳
استرس (D)	± ۰/۱	۰±/۵۱۲	۰±/۹۸۴	۰±/۸۹۱	۰±/۴۸	۴۴/۶۰ ۰±/۳۷

	۰/۱۹	۱۵/۹۹	۵۱/۴۷	۳۲/۵۴	۱۷۶/۸۰	
استرس (E)	± ۰/۱ ۰/۱۷	۰±/۵۰۴ ۳۲/۶۴	۰±/۷۳۹ ۴۱/۸۴	۰±/۵۰۵ ۲۶/۲۵	۰±/۴۴ ۲۱۹/۹۲	۵۹/۹۰ ۰±/۴۸
p-value	(P<0.001					

بحث

نتایج حاصل از این بررسی هم سو با برخی از مطالعات(۲۰, ۲۱, ۲۹-۲۷) نشان داد که در موشهای صحرایی دریافت کننده‌ی استرس بی حرکتی سطح سرمی هورمون های LH FSH , و تستوسترون کاهش می‌یابد. شواهد تجربی نشان داده است که استرس بی‌حرکتی باعث افزایش سطح کورتیکوسترون پلاسما می شود و از این طریق موجب کاهش سطح سرمی تستوسترون و LH می شود. مطالعات نشان داده است که استرس مزمن بی‌حرکتی باعث افزایش بیان ژن RFamide-related peptide (RFRP)، افزایش بیان پپتید RFRP و افزایش سطح mRNA RFRP در هیپوتالاموس می‌گردد. این تغییرات نقش موثری در مهار ترشح GnRH کاهش سطح سرمی LH و FSH و کاهش عملکرد hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) می گردد (۲۷). گنادوتروپین ها (LH و FSH) با عمل بر روی بافت بیضه‌ها سبب تحریک ترشح تستوسترون وتولید اسپرماتوزوئید می شوند. به عبارت دقیق تر هورمون LH سلول‌های لایدیگ را تحریک و از این طریق ترشح تستوسترون را تحریک می‌کنند. اما هورمون FSH عمدتا بر سلول های سرتولی بافت بیضه اثرمی کند و به این ترتیب ، اسپرماتوژنز را تنظیم می‌کند. بنابراین کاهش سطح سرمی هورمون FSH و LH می‌تواند منجر به کاهش سطح سرمی تستوسترون از سلول های لایدیگ و کاهش تولید اسپرماتوزوئید از توبولهای اسپرم ساز شود(۳۰). شواهد تجربی نشان داده است که در اثر القای استرس بی حرکتی جریان خون بافت بیضه کاهش می‌یابد و این امر منجر به کاهش سطح سرمی تستوسترون می شود (۳۱). گزارشها نشان داده است که در استرس بی حرکتی مزمن به دنبال مهار عملکرد HPG ، افزایش سطح سرمی کورتیکوسترون پلاسما دیده می شود و این امر ترشح LH و FSH را به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق مهار GnRH سرکوب می‌کند. مطالعات قبلی گزارش کردند در اثر تزریق کورتیکوسترون به مو شهای صحرایی نر بالغ ، کاهش سطح سرمی GnRH mRNA و در نهایت کاهش قابل ملاحظه ترشح GnRH دیده شده است (۳۴-۳۲). یافته های حاصل از این بررسی نشان داد تزریق داخل صفاقی میریسیترین در حیوانات گروه E میانگین سطح سرمی تستوسترون را نسبت به مقدار این کمیت در گروه های دریافت کننده‌ی استرس بدون درمان (C و D) را بطور معنی داری افزایش می دهد. این بخش از مطالعه ما با مطالعه شریعتی و همکاران (۳۵) و اروجان و همکاران (۱۵) هم خوانی دارد. مطالعات نشان می دهد مصرف خوراکی عصاره برگ گیاه Myrtus باعث بالارفتن سطح سرمی تستوسترون می‌گردد و این تاثیر مربوط به فلاوونوئیدی به نام Myricytrin می باشد. در مطالعه ی Ma و همکاران تزریق Myricytrin به صورت داخل صفاقی باعث کاهش سطح سرمی کورتیکوسترون در گروههای تحت استرس بی‌حرکتی شده بود (۳۶). همچنین گزارشات تجربی نشان می دهد میریسیترین ، از طریق مهار فعالیت آروماتازی نیز می تواند موجب افزایش سطح سرمی تستوسترون نسبت به گروه کنترل گردد (۳۵). این بخش از مطالعه Ma و همکاران مطالعه ما را حمایت می کند. مطالعات قبلی نشان داده است فلاوونوئیدها با مهار فعالیت آنزیم آروماتاز بر ترشح تستوسترون موثر می باشند. مهار فعالیت این آنزیم باعث افزایش آندروژن (تستوسترون و دی هیدروتستوسترون) در خون می‌گردد (۳۷). در مطالعه‌ی Jwad و همکاران بر روی موشهای صحرایی ماده، گزارش کردند تجویز خوراکی چای سبز سطح سرمی LH وFSH را به طور چشمگیری در مقایسه با گروه کنترل افزایش می دهد. Jwad و همکاران گزارش کردند که اثر فوق مربوط به ترکیبات فلاوونوئیدی محلول در آب چای سبز به نام Myricitrin و myricetin می باشد. شواهد تجربی نشان می دهد که این ترکیبات از طریق اثر بر محور هیپوتالاموس - هیپوفیز – گنادها، باعث می‌شوند تا بیوسنتز و رهایشLH و FSH در خون افزایش یافته و سطح سرمی این دو هورمون افزایش یابد. چای سبز دارای مواد بیولوژیکی فعالی از قبیل Myricitrin است که بسیاری از انواع اکسیدان‌ها مانند رادیکال‌های آزاد را نابود کرده و مانع از پراکسیداسیون لیپیدها شده و از تخریب سلولی جلوگیری می کند(۳۸, ۳۹). بخش دیگری از نتایج بررسی حاضر نشان داد در گروههای C و D وزن بیضه، وزن مجاری دفران و اپیدیدیم، تعداد اسپرم ها، سرعت و نوع حرکت آن‌ها نسبت به گروه‌های کنترل و شم کاهش معنی داری دارند. اما مقدار این متغییرها در گروه E (دریافت کننده استرس و مریسترین) نسبت به گروه های ه C وD، افزایش معنی‌داری را نشان دادند. مورفولوژی اسپرم ها در گروه های مورد بررسی تفاوت معنی داری را نشان نداد. این بخش از نتایج با مطالعات Hari وهمکاران(۴۰) وNirupama و همکاران

(۱۷) هم خوانی دارد. پژوهش های قبلی بیانگر آن است که تستوسترون با اثر مستقیم بر سلول های سرتولی و ترشح مایع توبولی، نقش موثری در تغذیه سلول های جنسی در حال تقسیم و در نهایت تولید اسپرم دارد. هم چنین به علت نقش موثر و مهم تستوسترون در مراحل اسپرماتوژنز واضح است که با افزایش این هورمون تعداد اسپرم افزایش می یابد. گذشته از آن تستوسترون نقش اساسی در ساختار و عملکرد ارگان های تولید مثلی(بیضه , اپیدیدیم , مجرای دفران)

دارد. کاهش این هورمون منطقی است که سبب کاهش وزن اندام های تناسلی (بیضه , اپیدیدیم , مجرای دفران)شده است (۴۱) مطالعات تجربی مشخص نموده است که بین سطح سرمی آندروژن‌ها ی خون ، وزن بیضه ها، اپیدیدیم، مجرای دفران، وزیکول سمینال و پروستات ارتباط معنی-داری وجود دارد(۴۲). یافته های تجربی نشان می دهدکاهش در جرم و حجم و وزن بیضه زمانی اتفاق می‌افتد که سلول‌های سرتولی در مواجهه با استرس بی‌حرکتی دچار آپپتوز (مرگ سلولی) شوند (۴۰). افزایش کمیتهای اندازه گیری شده در گروه E را اینگونه می توان توجیه کرد که ترشح تستوسترون از سلولهای لیدیگ بیضه در پاسخ به تحریک LH ترشح شده از غده هیپوفیز است. در گروه E احتمالا مریسترین از طریق تاثیر غیرمستقیم یا مستقیم بر هیپوفیز، موجب افزایش ترشح LH شده و از این طریق توانسته است منجر به افزایش سطح سرمی هورمون تستوسترون شده باشد. افزایش ترشح هورمون تستوسترون نیز افزایش و بهبود تمام کمیتها در گروه E را سبب شده باشد. هم چنین گزارشات تجربی نشان می دهد که میریسیترین باتاثیر مستقیم بر بافت بیضه نیز می‌تواند سبب تحریک ترشح تستوسترون شود (۴۳, ۴۴). با توجه به مطالعه ما ، به دنبال استرس بی‌حرکتی ، سطح سرمی تستوسترون کاهش یافته و این امر موجب کاهش وزن غدد و مجاری تناسلی و به دنبال آن کاهش در تعداد اسپرم شده باشد. از آنجایی که غلظت بالای آندروژن ها برای اسپرماتوژنزیس و بلوغ اسپرماتوزوآی اپیدیدیم ضروری هستند، کاهش آندروژن‌ها می‌تواند سبب کاهش اسپرماتوژنزیس و در نتیجه کاهش تعداد اسپرم‌ها باشد. هم چنین می توان عنوان کرد که کاهش ترشح تستوسترون از سلول های لایدیگ تحت استرس بی‌حرکتی باعث کاهش تعداد اسپرم ها شده است (۴۰) . اسپرماتوژنز یک فرآیند پیچیده بین عناصر ساختاری بیضه و سیستم هورمونی می-باشد که هورمون FSH محرک آن است. تستوسترون علاوه بر رشد بافت های هدف، تولید اسپرم را نیزتحریک می‌کند بنابراین کاهش سطح سرمی هورمون‌های LH ، FSH و تستوسترون موجب کاهش تعداد اسپرم می شود(۲۱, ۴۵) . نتایج حاصل از بررسی حاضر نشان داد مورفولوژی اسپرمها در گروههای مورد بررسی تغییر نکرد. Priya و همکاران گزارش کردند، که هیچ گونه ناهنجاری مورفولوژیک اسپرماتوزوئید در گروه های تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل و شم مشاهده نشده است (۴۶). نتایج حاصل از این بررسی نشان داد انواع سرعت حرکت اسپرم (VCL , VAP, VSL ALH) در گروه‌های C وD در مقایسه با گروه کنترل(A) وشم (B)کاهش معنی داری یافته بود. این بخش از نتایج با مطالعه Yoshida و همکاران (۴۷) هم خوانی دارد. کاهش درصد اسپرم‌های متحرک و کاهش سرعت حرکت آن‌ها احتمالا به این علت است که دراثر القای استرس بی‌حرکتی، استرس اکسیداتیو و ROS ایجاد شده و با تولید H2O2 در اسپرم و انتشار آن از عرض غشای اسپرماتوزوئیدها ممکن است آنزیم های لازم جهت حرکت آنها تخریب شده باشد و در نتیجه حرکت اسپرم کاهش یافته باشد(۴۸, ۴۹). شواهد تجربی نشان می دهد استرس بی‌حرکتی مزمن موجب کاهش درصد اسپرم‌های با حرکت پیشرونده اپیدیدیمی در موشهای صحرایی می-شود(۵۰). از طرف دیگر کاهش حرکت اسپرمها را در بررسی حاضررا اینگونه می توان توجیه کرد که پروتئین‌های اپیدیدیمی از قبیل کلاسترین و α۵ ردوکتاز در حرکت اسپرم نقش دارندو سنتزآنها توسط آندروژن‌ها تنظیم می شوند. به عبارت ساده تر، کاهش سطح سرمی تستوسترون و آندروژنها در بررسی حاضربا کاهش پروتئنهای فوق احتمالا موجب کاهش حرکت اسپرم شده است (۵۱). نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تزریق داخل صفاقی میریسیترین درحیوانات گروه E بدون تاثیر بر مورفولوژی اسپرم باعث افزایش معنی داری در وزن بیضه، وزن مجرای دفران، وزن اپیدیدیم و تعداد اسپرم ها در مقایسه با گروه های C و D شده بود. اسپرماتوزوئیدها در طی روند بلوغ درمجرای اپیدیدیم قدرت تحرک پیدا می کنند،که این امر بستگی به حضور آندروژن‌های بیضه‌ای(تستوسترون) دارد . با کاهش سطح سرمی تستوسترون در این مطالعه، کاهش قدرت تحرک و سرعت حرکت اسپرم‌ها نیز در موشهای صحرایی تحت استرس بی‌حرکتی در مقایسه با گروه کنترل و شم مشاهده شد(۵۲). گزارشات تجربی نشان می دهد که Myricytrin خاصیت آنتی اکسیدانی دارد و تجویز آن مقدار استروژن ها را افزایش می دهد. استروژن ها قادر به تحریک افزایش ظرفیت تولید اسپرم و متعاقب آن تغییر بیوشیمیایی اسپرم می شوند و سرعت متابولیسم اسپرم و مصرف انرژی را در اسپرم افزایش می‌دهد (۵۳) . گزارشات

تجربی نشان داده است Myricytrin واکنش آکروزومی را در انسان افزایش می‌دهد و از طریق مکانیسم سیگنالینگ استروژن ها اثر خود را اعمال و حرکت و قابلیت زیستن اسپرم را در انسان افزایش می دهد.تجویزMyricytrin با دوز nM ۱۰۰ اثرات چشمگیری بر فعالیت انزیم های اسپرم دارد. مطالعات گذشته نشان داده است در نتیجه استفاده از انتی اکسیدان ها میزان اسپرم های متحرک افزایش می‌یابد (۵۴, ۵۵). لذا افزایش میزان تحرک اسپرم به دنبال تزریق

میریسیترین در این مطالعه را می‌توان به خصوصیات آنتی اکسیدانی میریسیترین هم نسبت داد.

نتیجه گیری:

این بررسی نشان داد استرس بی حرکتی مزمن در موش های صحرایی نر بالغ هورمون های LHو FSHوتستوسترون سرم وهمچنین تعداد اسپرم و سرعت و نوع حرکت اسپرم و وزن بیضه و اپیدیدیم و مجرای دفران را کاهش می دهد اما بر مورفولوژی اسپرم بی تاثیر می باشد.تزریق داخل صفاقی میریسیترین در موش های صحرایی نر بالغ هورمون های LH، FSH و تستوسترون سرم و همچنین تعداد اسپرم، سرعت و نوع حرکت اسپرم و وزن بیضه و اپیدیدیم و مجرای دفران را افزایش می دهد ولی بر مورفولوژی اسپرم بی تاثیر بود.

تشکر و سپاسگزاری:

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زاهدان برای حمایت مالی از این مطالعه تشکر می شود (۸۴۸۱).

REFERENCE

1.
Amorini AM, Listorti I, Bilotta G, Pallisco R, Saab MW, Mangione R, et al. Antioxidant-Based Therapies in Male Infertility: Do We Have Sufficient Evidence Supporting Their Effectiveness? Antioxidants. 2021;10(2):220.
2. Tajeddin N, Ahadi AM, Javadi G, Ayat H. Investigation of Polymorphisms in the Upstream Sequence of LIF and LIFR Genes in the Infertile Women. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2021;23(1).
3. Zegers F, Hochschild J, Schwarze V, Alam F. Infertility international encyclopedia of public health. USA: Academic Press; 2008.
4. Inhorn MC, Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. Human reproduction update. 2015;21(4):411-26.
5. DS G. Stress, catecholamines, and cardiovascular disease. New York: Oxford University Press. 1995.
6. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. Jama. 1992;267(9):1244-52.
7. Mason JW. A re-evaluation of the concept of 'non-specificity'in stress theory. Principles, Practices, and Positions in Neuropsychiatric Research: Elsevier; 1972. p. 323-33.
8. Pacak K, Palkovits M, Yadid G, Kvetnansky R, Kopin IJ, Goldstein DS. Heterogeneous neurochemical responses to different stressors: a test of Selye's doctrine of nonspecificity. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 1998;275(4):R1247-R55.
9. McLachlan R, Wreford N, O'donnell L, De Kretser D, Robertson D. The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. Journal of endocrinology. 1996;148(1):1-9.
10.Van de Kar LD BM. Forebrain pathways mediating stress-induced hormone secretion. Front Neuroendocrinol 1999 20::1–48.

11. Pacak K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. Endocrine reviews. 2001;22(4):502-48.
12. El Boghdady NA, Badr GA. Evaluation of oxidative stress markers and vascular risk factors in patients with diabetic peripheral neuropathy. Cell biochemistry and function. 2012;30(4):328-34.
13. Ardestani A, Yazdanparast R. Antioxidant and free radical scavenging potential of Achillea santolina extracts. Food chemistry. 2007;104(1):21-9.
14. Ijaz MU, Anwar H, Iqbal S, Ismail H, Ashraf A, Mustafa S, et al. Protective effect of myricetin on nonylphenol-induced testicular toxicity: biochemical, steroidogenic, hormonal, spermatogenic, and histological-based evidences. Environmental Science and Pollution Research. 2021:1-16.
15. Oroojan AA, Ahangarpour A, Paknejad B, Zareian P, Hami Z, Abtahi SR. Effects of Myricitrin and Solid Lipid Nanoparticle-Containing Myricitrin on Reproductive System Disorders Induced by Diabetes in Male Mouse. The world journal of men's health. 2021;39(1):147.

16. SARKAR DK, Yen SS. Hyperprolactinemia decreases the luteinizing hormone-releasing hormone concentration in pituitary portal plasma: A possible role for β-endorphin as a mediator. Endocrinology. 1985;116(5):2080-4.
17. Nirupama M, Devaki M, Nirupama R, Yajurvedi H. Chronic intermittent stress-induced alterations in the spermatogenesis and antioxidant status of the testis are irreversible in albino rat. Journal of physiology and biochemistry. 2013;69(1):59-68.
18. Sun J, Sun G, Cui X, Meng X, Qin M, Sun X. Myricitrin protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by counteracting oxidative stress and inhibiting mitochondrial apoptosis via ERK/P53 pathway. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2016;2016.
19. Huang Q, Gao B, Wang L, Hu Y-Q, Lu W-G, Yang L, et al. Protective effects of myricitrin against osteoporosis via reducing reactive oxygen species and bone-resorbing cytokines. Toxicology and applied pharmacology. 2014;280(3):550-60.
20. Johary H, Hoseini S. The effect of immobilization stress on the HPG Axis (Hypothalamic-Pituitary-Gonad) Hormones and the number of spermatogonia. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2013;3(3):280-4.
21. Sharma V, Boonen J, Spiegeleer BD, Dixit V. Androgenic and spermatogenic activity of alkylamide-rich ethanol solution extract of Anacyclus pyrethrum DC. Phytotherapy Research. 2013;27(1):99-106.
22. Afzalzadeh M, Papahn A, Amirzargar A, Kazemi Varnamkhasti M, Ganjali H, Gharib Mombeni E. Effect Of Vitis Vinifera Leave Hydro-Alcoholic Extract On Reproductive Parameters In Adult Normal Male Rats. J Phys Pharm Adv. 2013;6:159-66.
23. Heidary F, Ahmadi R, Lotfi A, editors. The effects of cigarette or hookah smoking on serum levels of LH, FSH or testosterone in male rats. International Conference on Medical, Biological and Pharmaceutical Sciences; 2012.
24. Jorsaraei SGA, Shibahara H. The in-vitro effects of nicotine, cotinine and leptin on sperm parameters analyzed by CASA system. International Journal of Reproductive BioMedicine. 2008;6(3):157-65.
25. Liu S-W, Li Y, Zou L-L, Guan Y-T, Peng S, Zheng L-X, et al. Chloride channels are involved in sperm motility and are downregulated in spermatozoa from patients with asthenozoospermia. Asian journal of andrology. 2017;19(4):418.
26. Favareto APA, Fernandez CDB, da Silva DAF, Anselmo-Franci JA, Kempinas WDG. Persistent impairment of testicular histology and sperm motility in adult rats treated with cisplatin at peri-puberty. Basic & clinical pharmacology & toxicology. 2011;109(2):85-96.
27. Kirby ED, Geraghty AC, Ubuka T, Bentley GE, Kaufer D. Stress increases putative gonadotropin inhibitory hormone and decreases luteinizing hormone in male rats. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2009;106(27):11324-9.
28. Almeida S, Petenusci S, Anselmo-Franci J, Rosa-e-Silva A, Lamano-Carvalho T. Decreased spermatogenic and androgenic testicular functions in adult rats submitted to immobilization-induced stress from prepuberty. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 1998;31(11):1443-8.
29. Al-Damegh MA. Stress-induced changes in testosterone secretion in male rats: role of oxidative stress and modulation by antioxidants. Open Journal of Animal Sciences. 2014;4(02):70.
30. Hardy MP, Gao H-B, Dong Q, Ge R, Wang Q, Chai WR, et al. Stress hormone and male reproductive function. Cell and tissue research. 2005;322(1):147-53.
31. Kraut A, Barbiro-Michaely E, Mayevsky A. Differential effects of norepinephrine on brain and other less vital organs detected by a multisite multiparametric monitoring system. Medical Science Monitor. 2004;10(7):BR215-BR20.

32. Tohei A, Akai M, Tomabechi T, Mamada M, Taya K. Adrenal and gonadal function in hypothyroid adult male rats. Journal of endocrinology. 1997;152(1):147-54.
33. TOHEI A, TOMABECHI T, MAMADA M, AKAI M, WATANABE G, TAYA K. Effects of repeated ether stress on the hypothalamic-pituitary-testes axis in adult rats with special reference to inhibin secretion. Journal of veterinary medical science. 1997;59(5):329-34.
34. Gore AC, Attardi B, DeFranco DB. Glucocorticoid repression of the reproductive axis: effects on GnRH and gonadotropin subunit mRNA levels. Molecular and cellular endocrinology. 2006;256(1-2):40-8.
35. Shariati M, Sharifi E, Houshmandi M, Nourafshan A, Ghavami F. ANDROLOGY: P-19: EFFECT OF HYDRO ALCOHOLIC LEAF EXTRACT OF MYRTUS COMMUNIS ON PITUITARY-GONAD HORMONAL AXIS IN ADULT MALE RAT. 2010.
36. Ma Z, Wang G, Cui L, Wang Q. Myricetin attenuates depressant-like behavior in mice subjected to repeated restraint stress. International journal of molecular sciences. 2015;16(12):28377-85.
37. Yang N-Y, Li K, Yang Y-F, Li Y-H. Aromatase inhibitory fatty acid derivatives from the pollen of Brassica campestris L. var. oleifera DC. Journal of Asian natural products research. 2009;11(2):132-7.
38. Jwad SM. The Ethanolic Extract of Green Tea Ameliorates Oxidative Stress Parameters and Female Reproductive Performance Regression Induced by Indomethacin in Pregnant Rats. RESEARCH JOURNAL OF PHARMACEUTICAL BIOLOGICAL AND CHEMICAL SCIENCES. 2017;8(3):549-63.
39. Chung HY, Yokozawa T, Soung DY, Kye IS, No JK, Baek BS. Peroxynitrite-scavenging activity of green tea tannin. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1998;46(11):4484-6.
40. Hari Priya P, Reddy PS. Effect of restraint stress on lead-induced male reproductive toxicity in rats. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology. 2012;317(7):455-65.
41. Ait Hamadouche N. Reproductive toxicity of lead acetate in adult male rats. Am J Sci Res. 2009;3:38-50.
42. Vikas S, Mayank T, Chauhan N, Dixit V. Evaluation of the anabolic, aphrodisiac and reproductive activity of Anacyclus pyrethrum DC in male rats. scientia pharmaceutica. 2009;77(1):97-110.
43. Zabihi E, SE m, Pourmohammad P, A A. The Effect of Hydroalcoholic Extract of Terfezia Boudieri on Sperm Parameters and Testosterone Levels in Rats. Journal Of Ardabil university. 2017;17(2):211-20.
44. Selvage DJ, Lee SY, Parsons LH, Seo DO, Rivier CL. A hypothalamic-testicular neural pathway is influenced by brain catecholamines, but not testicular blood flow. Endocrinology. 2004;145(4):1750-9.
45. Sharma V, Thakur M, Chauhan NS, Dixit VK. Evaluation of the anabolic, aphrodisiac and reproductive activity of Anacyclus pyrethrum DC in male rats. Scientia pharmaceutica. 2008;77(1):97-110.
46. Priya PH, Girish B, Reddy PS. Restraint stress exacerbates alcohol-induced reproductive toxicity in male rats. Alcohol. 2014;48(8):781-6.
47. Yoshida K, Kawano N, Yoshiike M, Yoshida M, Iwamoto T, Morisawa M. Physiological roles of semenogelin I and zinc in sperm motility and semen coagulation on ejaculation in humans. MHR: Basic science of reproductive medicine. 2008;14(3):151-6.

48. Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative stress & male infertility. Indian Journal of Medical Research. 2009;129(4):357.
49. Aitken RJ, Baker MA. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. Molecular and cellular endocrinology. 2006;250(1-2):66-9.
50. Marin MT, Cruz FC, Planeta CS. Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. Physiology & behavior. 2007;90(1):29-35.
51. Cochrane DR, Wang Z, Muramaki M, Gleave ME, Nelson CC. Differential regulation of clusterin and its isoforms by androgens in prostate cells. Journal of Biological Chemistry. 2007;282(4):2278-87.
52. Robaire B, Viger RS. Regulation of epididymal epithelial cell functions. Biology of reproduction. 1995;52(2):226-36.
53. Andò S, Aquila S. Arguments raised by the recent discovery that insulin and leptin are expressed in and secreted by human ejaculated spermatozoa. Molecular and cellular endocrinology. 2005;245(1-2):1-6.
54. Aquila S, Santoro M, De Amicis F, Guido C, Bonofiglio D, Lanzino M, et al. Red wine consumption may affect sperm biology: the effects of different concentrations of the phytoestrogen myricetin on human male gamete function. Molecular reproduction and development. 2013;80(2):155-65.
55. Nagata H, Takekoshi S, Takagi T, Honma T, Watanabe K. Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase. The Tokai journal of experimental and clinical medicine. 1999;24(1):1-11.