

Research Paper



Effect of Crocin on Pituitary-Testicle Hormonal Axis in Alloxan-Induced Diabetic Male Rats

Raheleh Rahbarian<sup>1</sup>

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame-Noor University, Tehran, Iran.

Use your device to scan  
and read the article online



**Citation** Rahbarian R. [Effect of Crocin on Pituitary-Testicle Hormonal Axis in Alloxan-Induced Diabetic Male Rats (Persian)]. *Jundishapur Journal of Medical Sciences*. 2023; 22(3): 390-400. 10.22118/JSMJ.2023.377411.3013

[10.22118/JSMJ.2023.377411.3013](https://doi.org/10.22118/JSMJ.2023.377411.3013)

**ABSTRACT**

**Background and Objectives** Diabetes mellitus is a metabolic disease which causes disorders in the reproductive system. Recent studies have revealed that the main components of saffron like crocin and safranal have several physiological effects on different biological systems. Given the role of crocin in the modulation of antioxidant defense system, this study aimed to determine the effect of crocin on pituitary-testicle hormonal axis in alloxan-induced diabetic male rats.

**Subjects and Methods** In this experimental study, 28 Wistar male rats were allocated into 4 equal groups: control, diabetic control, and two diabetic groups treated with crocin at two concentrations. Induction of diabetes in the diabetic control and the diabetic groups treated with crocin was done by an intraperitoneal injection of 240 mg/kg alloxan. Crocin at concentrations of 50 and 100 mg/kg [0.5 ml] was intraperitoneally injected into the two diabetic groups for 25 days. Saline solution [0.5 ml] was injected into the animals in the control and diabetic control groups for 25 days. At the end of the treatment period, serum levels of LH, FSH, estrogen, testosterone and DHT were measured by ELISA. Statistical analysis was carried out using one-way ANOVA and Tukey post hoc test.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

**Results** Compared with the diabetic control group, administration of crocin at concentrations of 50 and 100 mg/kg significantly increased serum levels of LH, FSH, estrogen, and DHT testosterone in a dose-dependent manner [ $p < 0.05$ ].

**Conclusion** The results show that by increasing the activity of pituitary-testicle hormonal axis, crocin improves hormonal disorders in diabetic rats.

**Keywords** Crocin, Diabetes, Pituitary-Testicle, Rats

**Received:** 19 Dec 2022  
**Accepted:** 11 Sep 2023  
**Available Online:** 21 Sep 2023

\* **Corresponding Author:**

**Raheleh Rahbarian**

**Address:** Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame-Noor University, Tehran, Iran.

**Tel:** 09153518157

**E-Mail:** [a\\_rahbarian@pnu.ac.ir](mailto:a_rahbarian@pnu.ac.ir)

### Extended Abstract

#### Introduction

**T**ype 1 diabetes is clinically one of the most common endocrine disruptors. It is a heterogeneous set of metabolic disorders characterized by a chronic increase in blood glucose, which is due to failure in insulin secretion. The cause of this failure in insulin secretion is commonly the dissemination of diffuse islets of Langerhans and selective degeneration of beta-pancreatic cells. Reduced insulin secretion increases glucose in the serum, which leads to severe complications such as nephropathy, retinopathy, neuropathy, cardiovascular disease, and reproductive system disorders. Diabetes has been shown to cause side effects such as oxidative stress and low antioxidant activities, increased lipid peroxidation, and oxidative damage to the DNA. Furthermore, it causes cell death by disrupting the process of oxidative phosphorylation and reducing energy production. Diabetes mellitus is a metabolic disease associated with functional and structural disorders in testicular tissue and plays an important role in the development of hormonal disorders in men. These disorders include reduced testosterone production, loss of accessory glands in reproductive organs, and decreased sexual desire and sexual behaviors. Recent studies have revealed that the main components of saffron like crocin and safranal have several physiological effects on different biological systems. Saffron extract increases the activity of some antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase of the liver tissue in diabetic rats. The aqueous extract of saffron would decrease glucose and fat in blood of diabetic rats. It has been shown that crocin, with its protective and anti-oxidant effect, reduces testicular tissue damage caused by cyclophosphamide injection. Furthermore, crocin and safranal present in the extract of saffron could improve sperm parameters in varicocele rats by removing free radicals. Given the role of crocin in modulation of antioxidant defense system, this study aimed to determine the effect of crocin on pituitary- testicle hormonal axis in alloxan-induced diabetic male rats.

#### Methods

This experimental study included 28 male Wistar rats with a weight range of  $170 \pm 6$  g and a mean age of  $95 \pm 3$  days. The animals were kept at  $24 \pm 3$  °C, relative humidity of  $35 \pm 4$  and 12 hours of darkness. They were placed in standard transparent polycarbonate cages (Razi Rad, Iran), and water was adequately provided in 500 milliliter plastic bottles. The rats were fed a specially designed compressed mushroom diet with standard formula (Danehdaran Toos, Iran). In order to obtain an adaptive environment, the experiments were carried out at least 10 days after the animals were settled. In this study, all surgical procedures and biopsies were performed under complete anesthesia. An attempt was made to use as fewest acceptable samples as possible. Twenty-eight Wistar male rats were allocated into 4 equal groups: control, diabetic control, and two diabetic

groups treated with crocin at two different concentrations. Induction of diabetes in the diabetic control and diabetic groups treated with crocin was done using an intraperitoneal injection of 240 mg/kg alloxan. Crocin at concentrations of 50 and 100 mg/kg [0.5 ml] was intraperitoneally injected into the two diabetic groups for 25 days. Saline solution [0.5 ml] was injected into the animals of the control and diabetic control groups for 25 days. At the end of the treatment period, serum levels of LH, FSH, estrogen, testosterone and DHT were measured by ELISA. Statistical analysis was carried out using one-way ANOVA and Tukey post hoc test.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

#### Results

The results showed that serum levels of LH, FSH, estrogen, testosterone and dihydrotestosterone in the diabetic control group significantly decreased ( $p < 0.05$ ). However, the same serum levels increased significantly in the diabetic group treated with 50 mg / kg crocin concentration, in comparison with the diabetic control group ( $p < 0.05$ ). In addition, serum levels of LH, FSH, estrogen, testosterone and dihydrotestosterone elevated significantly in the diabetic group treated with 100 mg / kg crocin concentration, in comparison with the control and the diabetic control group ( $p < 0.05$ ). A comparison of the two diabetic groups treated with crocin showed that serum levels of LH, FSH, estrogen, testosterone and dihydrotestosterone increased significantly in the diabetic group treated with 50 mg / kg crocin concentration as opposed to the one treated with 100 mg / kg crocin concentration ( $p < 0.05$ ), which indicates the dose-dependent effect of crocin (Table 1).

#### Conclusion

Given the antioxidant and hypoglycemic effects of the compounds present in saffron extract, it could be concluded that increased activity of the pituitary-testicular axis after administration of crocin to diabetic rats may be related to the reduced oxidative-stress in the testicular tissue. Crocin also has tissue-protective effects and prevents damage to the structure and function of the kidneys during chronic hyperglycemia. Crocin prevents the development of diabetic nephropathy during chronic hyperglycemia through its antioxidant effects by reducing free radicals and inhibiting the stress-oxidative process. Saffron extract has some compounds that increase the serum level of posterior pituitary gonadotropins, and thus contributes to elevation of serum testosterone levels. Elevated levels of testosterone, LH, and FSH from the posterior pituitary indicates the effect of saffron extract on the activity of the pituitary-testicle axis. Crocin promotes testosterone secretion in rats treated with cyclophosphamide by increasing the activity of antioxidant enzymes in testicular tissue and increasing the activity of the pituitary-testicular axis. Since saffron compounds increase the secretion of posterior pituitary gonadotropins, they increase testicular steroid hormones in rats. Research has shown that saffron extract and its compounds, such as crocin

and safranal, could inhibit inflammatory processes. Therefore, it can be argued that crocin may increase not only the activity of the pituitary-testicle axis but also the serum levels of sex hormones by both decreasing the systemic inflammation associated with diabetes and reducing the inflammation of the testicular tissue. Regarding the role of gonadotropins and testicular steroid hormones in the process of spermatogenesis, it can be stated that the activity of the pituitary-testicle axis increases spermatogenesis in people with type 1 diabetes. According to our results, crocin enhances the serum level of posterior pituitary gonadotropins, and subsequently the serum levels of estrogen and testosterone hormones will increase in diabetic male rats. In conclusion, our results indicated that crocin enhances the activity of pituitary-testicular axis and increases sex hormone levels in diabetic rats. Therefore, crocin could be introduced as a natural substance which reduces the proportion of hormonal disorders in people with type 1 diabetes.

### **Ethical Considerations**

#### **Compliance with ethical guidelines**

ethical code of this research project is IR.NUMS.REC.1395.47.

#### **Funding**

Financial resources were provided by Payam Noor University.

#### **Authors contributions**

The article has one author and was written by the corresponding author.

#### **Conflicts of interest**

No conflicts of interest were reported.

#### **Acknowledgements**

The author of the article thanks Payame Noor University for the financial support.

## مقاله پژوهشی

## اثر کروسین بر هورمون‌های محور هیپوفیز- بیضه در موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با آلوکسان

\*راهله رهباریان<sup>۱</sup> ID

۱. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation: Rahbarian R. [Effect of Crocin on Pituitary-Testicle Hormonal Axis in Alloxan-Induced Diabetic Male Rats (Persian)]. *Jundishapur Journal of Medical Sciences*. 2023; 22(3): 390-400. 10.22118/JSMJ.2023.377411.3013

doi 10.22118/JSMJ.2023.377411.3013

## چکیده



زمینه و هدف: دیابت ملیتوس یک بیماری متابولیک است و سبب اختلال در سیستم تولید مثلی می‌شود. تحقیقات اخیر نشان داده است ترکیبات اصلی زعفران مانند کروسین و سافرانال دارای اثرات فیزیولوژیک بسیاری در بخش‌های مختلف بدن هستند. با توجه به نقش کروسین در تعدیل سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، هدف از این مطالعه تعیین اثر کروسین بر محور هورمونی هیپوفیز- بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند. گروه‌های شاهد، شاهد دیابتی و دو گروه دیابتی تحت تیمار با کروسین. دیابت با یکبار تزریق داخل صفاقی ۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلوکسان القاء شد. کروسین با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۵/۵ میلی‌لیتر) به صورت داخل صفاقی و به مدت ۲۵ روز به دو گروه دیابتی تحت تیمار تزریق شد. به حیوانات گروه‌های شاهد و شاهد دیابتی به مدت ۲۵ روز محلول سالین (۵/۵ میلی‌لیتر) تزریق شد. در پایان دوره تیمار، سطح سرمی LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون توسط روش الایزا اندازه‌گیری شد. تحلیل آماری توسط آزمون‌های One-way ANOVA و تعقیبی Tukey انجام شد.  $p < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه شاهد دیابتی، تجویز کروسین با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت وابسته به دوز، سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون را به طور معنی‌داری افزایش داد ( $p < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد کروسین با افزایش فعالیت محور هورمونی هیپوفیز- بیضه، سبب بهبود اختلالات هورمونی در موش‌های صحرایی دیابتی شود.

کلیدواژه‌ها: دیابت، کروسین، هیپوفیز- بیضه، موش‌های صحرایی

تاریخ دریافت: ۲۸ آبان ۱۴۰۱

تاریخ پذیرش: ۲۰ شهریور ۱۴۰۲

تاریخ انتشار: ۳۰ شهریور ۱۴۰۲

نویسنده مسئول:

راهله رهباریان

نشانی: استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران.

تلفن: ۰۹۱۵۳۵۱۸۱۵۷

رایانامه: [a\\_rahbarian@pnu.ac.ir](mailto:a_rahbarian@pnu.ac.ir)

# جندی شاپور

## مقدمه

لانگرهانس [۱۴] و استفاده از سلول‌های بنیادی [۱۵] مورد توجه محققین می‌باشد. در حال حاضر با در نظر گرفتن عوارض جانبی داروهای صناعی، توجه محققین به سوی استفاده از گیاهان دارویی جلب شده‌است و گیاهانی که بتواند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم اثراتی در جهت کاهش عوارض دیابت داشته‌باشد، همیشه مورد توجه متخصصین بوده‌اند.

زعفران (*Crocus Sativus L.*) گیاهی چند ساله و از خانواده زنبق (Iridaceae) می‌باشد. قسمت مورد استفاده این گیاه، انتهای خامه و کلاله سه شاخه آن است. طعم تلخ زعفران ناشی از وجود ماده‌ای به نام پیکروکروسین (Picrocrocin) است. این ماده طی فرآوری به آلدئیدی معطر به نام سافرانال (Safranal) تبدیل می‌شود. کروسین (Crocetin) گلیکوزیدی متشکل از کاروتنوئیدی به نام کروسیتین (Crocetin) و قند است که رنگ زعفران را ایجاد می‌کند. کروسین، کروسیتین و سافرانال به عنوان جزء بیولوژیکی اصلی و فعال زعفران شناخته می‌شوند [۱۶]. کروسین، کروسیتین و سافرانال دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند و قابلیت از بین بردن رادیکال‌های آزاد را دارند و می‌توانند منجر به کاهش قابل ملاحظه آسیب‌های اکسیداتیو در بافت‌های ایسکمیک شوند [۱۷]. طی تحقیقات انجام شده عصاره زعفران می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کانال از، گلوکوتایون پراکسیداز را در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی افزایش دهد [۱۸]. گزارش شده‌است عصاره آبی زعفران دارای اثر کاهنده قند و چربی در خون موش‌های صحرایی دیابتی می‌باشد [۱۹] مشخص شده‌است کروسین با اثر محافظتی و آنتی‌اکسیدانی خود موجب کاهش آسیب بافت بیضه ناشی از تزریق سیکلوفسفامید می‌شود [۲۰]. همچنین کروسین و سافرانال موجود در عصاره زعفران با حذف رادیکال‌های آزاد می‌توانند در بهبود شاخص‌های اسپرم در موش‌های صحرایی واریکوسل مؤثر باشند [۲۱]. تحقیقات نشان داده‌است کروسین در کاهش عوارض کلیوی نقش حفاظتی دارد و سطوح سرمی گلوکز، اوره و کراتینین را در موش‌های صحرایی دیابتی کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد اثرات ضد دیابتی کروسین ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی آن باشد [۲۲]. همچنین مشخص شده‌است کروسین از طریق مهار استرس اکسیداتیو و کاهش اکسیداسیون لیپیدها در جلوگیری از نفروپاتی دیابتی مؤثر است [۲۳]. تحقیقات نشان داده‌است استفاده از داروی تتناکس رویال حاوی عصاره زعفران سبب افزایش در تعداد جفت گیری و تعداد انزال در موش‌های صحرایی می‌شود. پس از بررسی بافت هیپوفیز پیشین مشخص شده‌است این دارو سبب افزایش معنی‌دار در تعداد سلول‌های تولید کننده هورمون‌های گنادوتروپین می‌شود. همچنین با افزایش معنی‌دار سطح سرمی هورمون تستوسترون سبب افزایش اسپرماتوزن می‌شود [۲۴]. در پژوهش دیگری مشخص شد عصاره هیدرو الکلی زعفران می‌تواند سبب افزایش فعالیت محور هیپوفیز - تخمدان شود و این امر با افزایش ترشح هورمون‌های LH، FSH و استرادیول سبب افزایش تخمک‌گذاری می‌شود [۲۵]. گزارش شده‌است استفاده ۳۰ روزه از عصاره زعفران با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند با افزایش ترشح

دیابت نوع یک از نظر بالینی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون ریز می‌باشد. این بیماری مجموعه‌ای ناهمگن از اختلالات متابولیکی است که مشخصه آن افزایش مزمن قند خون، در نتیجه نارسایی ترشح انسولین می‌باشد و معمولاً بر اثر التهاب منتشر جزایر لانگرهانس و تخریب انتخابی سلول‌های بتا پانکراس ایجاد می‌شود [۱]. افزایش سطح سرمی قند خون ناشی از کاهش ترشح انسولین، منجر به عوارض وخیمی مانند نفروپاتی، رتیئوپاتی، نوروپاتی، بیماری‌های قلبی - عروقی و اختلال در سیستم تولید مثل می‌شود [۲]. مشخص شده‌است دیابت موجب عوارضی از قبیل استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی [۳]، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی [۴] و آسیب اکسیداتیو DNA می‌شود [۵]. همچنین با ایجاد اختلال در فرایند فسفریلاسیون اکسیداتیو و کاهش تولید انرژی، موجب مرگ سلول‌ها می‌شود [۶].

تحقیقات نشان داده‌است دیابت سبب اختلالات عملکردی و ساختاری در بافت بیضه می‌شود. همچنین در بروز اختلالات هورمونی در مردان نقش مهمی دارد. کاهش تولید تستوسترون، تحلیل غدد ضمیمه دستگاه تولید مثل، کاهش میل جنسی و رفتارهای جنسی نامناسب در افراد مبتلا به دیابت گزارش شده‌است [۷]. همچنین دیابت موجب تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در بافت بیضه می‌شود [۸]. تضعیف دفاع آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش محافظت بافت بیضه در برابر آسیب‌های اکسیداتیو، افزایش تجمع رادیکال‌های آزاد و در نهایت موجب آسیب سلول‌های زیبا می‌شود [۸]. مشخص شده‌است دیابت با القاء تغییراتی در ساختار بافتی لوله‌های اسپرم‌ساز و کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی سبب کاهش روند اسپرماتوزن می‌شود [۹]. با بررسی بافت بیضه و عملکرد آن در افراد دیابتی مشخص شده‌است دیابت موجب کاهش وزن بیضه و کاهش میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتید و سلول‌های سرتولی می‌شود. این عوارض ناشی از دیابت با اختلالات تولید مثلی در مردان همراه است [۱۰]. مطالعات بالینی و تجربی نشان داده‌است دیابت با اختلال در فعالیت محور هورمونی هیپوفیز - بیضه موجب کاهش ترشح گنادوتروپین‌ها، تستوسترون و در نهایت موجب اختلال در اسپرماتوزن می‌شود [۱۱]. گزارش شده‌است فقدان انسولین در موش‌های صحرایی دیابتی موجب کاهش ترشح هورمون‌های LH (Luteinizing Hormone) می‌شود [۱۲]. انسولین جهت پایداری گیرنده های LH در سلول‌های لیدیک مورد نیاز است و نیز انسولین تقسیمات سلولی و سوخت و ساز سلول‌های لیدیک را تنظیم می‌کند [۱۲] بنابراین کاهش میزان انسولین می‌تواند منجر به اختلال در فعالیت سلول‌های لیدیک و کاهش سنتز هورمون‌های استروئیدی بیضه شود [۱۲].

با توجه به عوارض متعدد بیماری دیابت، لزوم بررسی راه‌های درمان آن بسیار مهم است. امروزه روش‌های گوناگونی جهت درمان دیابت نوع یک وجود دارد که می‌توان به داروهای صناعی و نیمه صناعی کاهنده قند خون و نیز استفاده از انسولین اشاره نمود [۱۳]. همچنین روش پیوند جزایر

گروه چهارم: موش‌های صحرایی پس از القاء دیابت تجربی به مدت ۲۵ روز ۰/۵ میلی‌لیتر غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی کروسین دریافت کردند.

### ایجاد دیابت تجربی

مدل تجربی دیابت در موش‌های صحرایی به دنبال ۱۶ ساعت ناشتایی با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات (Sigma-Aldrich, Germany) به میزان ۲۴۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن ایجاد شد. همچنین از بافر سیترات (pH=۵/۴) به‌عنوان حلال آلوکسان استفاده شد. تزریق آلوکسان به گروه شاهد دیابتی و دو گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین صورت گرفت. با توجه به این‌که مطالعه روی دیابت مزمن می‌باشد، حدود ۳۰ روز پس از تزریق آلوکسان جهت تأیید القاء دیابت تجربی از ورید دمی خون‌گیری صورت گرفت و قند خون توسط دستگاه گلوکومتر مدل IGM-0002A (EasyGluco, Korea) اندازه‌گیری شد. همچنین قندخون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن و روز صفر آزمایش در نظر گرفته شد [۲۷].

### اندازه‌گیری پارامترهای خونی

در پایان دوره تیمار، موش‌های صحرایی با دی‌اتیل اتر (Merck, Germany) بی‌هوش شدند. سپس پوست ناحیه قفسه‌سینه، جناغ و دنده‌ها برش داده شد و با کنار کشیدن جناغ و دنده‌ها از بطن چپ قلب خون‌گیری انجام شد (خون‌گیری فقط یک‌بار و در پایان مدت ۲۵ روز انجام شد). خون گرفته شده بدون ماده ضد انعقاد درون لوله آزمایش ریخته و به مدت ۱۲ دقیقه در انکوباتور مدل INB400 [Mermert, Germany] در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از وقوع انعقاد، لوله‌ها در دستگاه سانتریفیوژ مدل EBA280 [Hettich, Germany] به مدت ۱۲ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. سپس سرم خون توسط سمپلر جدا و به لوله آزمایش دیگری منتقل و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۷]. سطح سرمی هورمون‌های مورد بررسی توسط روش ELISA، دستگاه الایزایدر مدل 2100 [Stat Fax, USA] و کیت‌های شرکت فاین تست (Finetest, China) سنجش شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به‌دست آمده توسط نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ تحلیل شد. با توجه به این‌که نتایج به‌دست آمده کمی است، توسط آزمون کولموگوروف اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) فرض طبیعی بودن توزیع فراوانی داده‌ها بررسی شد ( $p > 0.05$ ). جهت مقایسه میانگین بین گروه‌های مورد آزمایش از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و جهت مقایسه زوج گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی (tukey) استفاده شد. همچنین نتایج به‌دست آمده به‌همراه محاسبات آماری مربوطه به‌صورت خطای معیار میانگین  $\pm$  میانگین (Mean  $\pm$  SEM) گزارش شد.

کنادوتروپین‌های هیپوفیز پیشین و هورمون‌های استرادیول و پروژسترون سبب افزایش تخمک‌گذاری در موش‌های صحرایی ماده بالغ می‌شود [۲۶]. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی کروسین و نقش آن در کاهش قند خون، هدف از انجام این پژوهش تعیین اثر کروسین بر محور هورمونی هیپوفیز- بیضه در موش‌های صحرایی دیابتی نوع یک می‌باشد.

### روش بررسی

#### حیوانات مورد آزمایش

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی (مداخله‌ای) از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. تعداد ۲۸ سر موش صحرایی با محدوده وزنی  $170 \pm 6$  گرم و سن تقریبی  $95 \pm 3$  روز تهیه شد. حیوانات در دمای  $24 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی  $35 \pm 4$  درصد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی‌کربنات شفاف (رازی راد، ایران) قرار داشتند و آب به مقدار کافی توسط بطری پلاستیکی ۵۰۰ میلی‌لیتر در اختیار آن‌ها قرار داده شد. همچنین از غذای فشرده مخصوص موش با فرمول استاندارد (دانه‌دار ان توس، ایران) تغذیه نمودند. به‌منظور حصول حالت سازش با محیط، آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات به انجام رسید. در این مطالعه کلیه اعمال جراحی و نمونه‌گیری‌ها تحت بی‌هوشی کامل انجام شد. همچنین سعی شده‌است از کمترین تعداد نمونه بر اساس منابع موجود و کارهای مشابه انجام شده قابل قبول استفاده شود [۲۷ و ۳۰].

#### طراحی آزمایش و گروه‌بندی

موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به ۴ گروه (در هر گروه ۷ سر موش صحرایی) شاهد، شاهد دیابتی، دیابتی تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین و دیابتی تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین تقسیم شدند.

گروه اول: موش‌های صحرایی گروه شاهد به مدت ۲۵ روز به‌صورت داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالین به‌عنوان حلال دارو دریافت کردند.

گروه دوم: موش‌های صحرایی گروه شاهد دیابتی پس از القاء دیابت تجربی توسط آلوکسان، جهت تأیید آن خون‌گیری از ورید دمی صورت گرفت و قند خون توسط دستگاه گلوکومتر (EasyGluco, Korea) اندازه‌گیری و قندخون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد. موش‌های گروه شاهد دیابتی، یک هفته پس از القاء دیابت تجربی ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سالین به مدت ۲۵ روز به‌صورت داخل صفاقی به‌عنوان حلال دارو دریافت کردند (مدت آزمایش از روز اول دیابتی شدن موش‌ها تا روز نمونه‌گیری ۳۲ روز به طول انجامید).

گروه سوم: موش‌های صحرایی پس از القاء دیابت تجربی به مدت ۲۵ روز ۰/۵ میلی‌لیتر غلظت ۵۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی کروسین [Sigma-Aldrich, France] دریافت کردند.

# جندی شاپور

افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن و تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین در مقایسه با گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). در مقایسه با گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین، سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن و تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ) که این امر نشان دهنده اثر وابسته به دوز تزریقی کروسین می‌باشد [جدول ۱].

سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ( $p < 0.05$ ).

## یافته‌ها

نتایج حاصل از تحلیل داده‌های مطالعه حاضر نشان داد سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). در مقایسه با گروه شاهد دیابتی، سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در گروه دیابتی تحت تیمار با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین به‌طور معنی‌داری

**جدول ۱.** مقایسه میانگین سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن و تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون به تفکیک گروه [۷ سر موش صحرایی در هر گروه]

گروه	متغیر	LH [mIU/ml]	FSH [mIU/ml]	استروژن [pg/ml]	دی‌هیدروتستوسترون [ml/pg]	تستوسترون [ng/ml]
شاهد		۴/۵۲±۰/۴۲	۳/۶۳±۰/۵۷	۵۳/۸۶±۵/۳۷	۴۶/۷۳±۵/۵۲	۱۱/۵۲±۱/۹۴
شاهد دیابتی		۰/۶۵±۰/۱۴	۰/۳۸±۰/۱۰	۰۳۲/۴۵±۴/۰۸	۰۱۹/۹۴±۱/۲۴	۰۱۷/۵±۰/۲۶
دیابتی تحت تیمار با ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین		۲/۱۸±۰/۲۱	۱/۸۵±۰/۴۱	۰۳۲/۶۳±۳/۲۵	۰۳۰/۵۷±۱/۶۷	۰۴/۵۰±۰/۸۷
دیابتی تحت تیمار با ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین		۰۳۳/۳۳±۰/۶۲	۰۴۳/۸۸±۰/۴۳	۰۴۴/۱۷±۵/۱۱	۰۳۷/۸۵±۱/۸۷	۰۸/۴۳±۲/۰۸
سطح معنی‌داری [آنالیز واریانس یک‌طرفه]		۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱

داده‌ها به‌صورت "خطای معیار میانگین ± میانگین" می‌باشند؛ a:  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه شاهد، b:  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه شاهد دیابتی، c:  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه دیابتی تحت تیمار با ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین

می‌دهد [۳۰].

## بحث

در پژوهش حاضر مشخص شده‌است سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. پژوهشی به بررسی اثر دیابت بر عملکرد دستگاه تناسلی و هورمون‌های محور هیپوفیز-گناد پرداخته‌است و نتایج گویای کاهش بیوستز آندروژن‌های بیضه‌ای متعاقب ایجاد دیابت بوده‌است [۸]. همچنین با توجه به ارتباط مستقیم بین میزان ترشح تستوسترون و فعالیت سلول‌های لیدیگ، عنوان شده‌است دیابت با کاهش ترشح گنادوتروپین‌ها موجب کاهش فعالیت سلول‌های لیدیگ و کاهش سنتر هورمون‌های استروئیدی بیضه می‌شود [۸]. تحقیقات نشان داده‌است سبب ایجاد استرس اکسیداتیو سلولی در غدد هیپوفیز می‌شود و به‌عنوان غده ترشح‌کننده گنادوتروپین‌ها، می‌تواند بر فعالیت محور هیپوفیز-گناد و متعاقباً سطح هورمون‌های جنسی و میزان باروری مؤثر باشد [۳۱]. همچنین گزارش شده‌است دیابت و استرس اکسیداتیو ناشی از آن با تأثیر بر گیرنده‌های LH، FSH موجب اختلال در عملکرد و میزان ترشح این هورمون‌ها می‌شوند [۳۱]. پژوهشی نشان داد دیابت با کاهش فعالیت محور هورمونی هیپوفیز-بیضه و با ایجاد تغییرات ساختاری و عملکردی در بافت بیضه موجب اختلال در فرایند اسپرماتوزن می‌شود [۳۲]. گزارش شده‌است دیابت از طریق کاهش ترشح گنادوتروپین‌ها و ایجاد آسیب در سلول‌های لیدیگ

در این مطالعه، اثر کروسین بر سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد تزریق آلوکسان مونوهیدرات به‌صورت محلول در بافر سیترات به میزان ۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های صحرایی، سبب القاء دیابت نوع یک می‌شود. تحقیقات نشان داده‌است آلوکسان مونوهیدرات به‌دلیل دارا بودن اثرات سایتوتوکسیک موجب تخریب سلول‌های بتا پانکراس و القاء دیابت نوع یک می‌شود [۲۸]. از سوی دیگر تجویز آلوکسان سبب القاء آپوپتوز در سلول‌های بتا پانکراس می‌شود [۲۹]. افزایش میزان رادیکال‌های آزاد در ررون سلولی ناشی از دیابت، موجب افزایش پتانسیل نفوذپذیری غشای میتوکندری‌ها و خروج سیتوکروم C می‌شود که این امر نقش تعیین‌کننده‌ای در راه‌اندازی مسیر آپوپتوز در سلول‌های بتا پانکراس دارد [۲۹] همسو با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر، مشخص شده‌است یک‌بار تزریق ۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های صحرایی موجب القاء دیابت نوع یک می‌شود [۲۷]. همچنین گزارش شده‌است مدل دیابت نوع یک در موش صحرایی با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات به میزان ۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دنبال ۱۶ ساعت ناشتایی ایجاد می‌شود. همچنین عنوان شد استفاده از بافر سیترات به‌عنوان حلال آلوکسان اثرات هیپرگلیسمی آن را افزایش

کروسین از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی، کاهش رادیکال‌های آزاد و مهار فرایند استرس‌اکسیداتیو در بافت کلیه از بروز نفروپاتی دیابتی در طی هیپرگلیسمی مزمن جلوگیری نماید [۳۳].

پژوهشی به بررسی تأثیر عصاره زعفران بر سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، تستوسترون و بتاسترادیول در موش‌های سوری ماده مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک پرداخته و مشخص شده‌است عصاره زعفران دارای ترکیباتی می‌باشد که در بهبود کیست‌های تخمدان و اختلالات هورمونی موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مؤثر بوده است [۴۰]. همچنین گزارش شده‌است افزایش هم‌زمان در سطح سرمی هورمون تستوسترون و هورمون‌های LH، FSH از هیپوفیز پیشین نشان دهنده تأثیر عصاره زعفران بر افزایش فعالیت‌محور هیپوفیز-بیضه است [۴۱]. پژوهشی به بررسی اثرات محافظتی کروسین بر هیستومورفومتری بیضه و پارامترهای هورمونی در موش‌های سوری بالغ تحت تیمار با سیکلوفسفامید پرداخت. نتایج نشان داد کروسین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت بیضه و افزایش فعالیت محور هیپوفیز-بیضه موجب افزایش ترشح هورمون تستوسترون در موش‌های سوری تحت تیمار با سیکلوفسفامید می‌شود [۲۰]. در پژوهشی مشخص شده‌است ترکیبات موجود در زعفران با افزایش ترشح گنادوتروپین‌های هیپوفیز پیشین موجب افزایش هورمون‌های استروئیدی بیضه در موش‌های صحرایی می‌شود [۴۱]. تحقیقات نشان داده‌است عصاره زعفران و ترکیبات موجود در آن مانند کروسین و ساfranال می‌توانند موجب مهار روندهای التهابی شوند [۴۱]. بنابراین می‌توان گفت احتمالاً کروسین با کاهش التهاب سیستمیک ناشی از دیابت و کاهش التهاب بافت بیضه موجب افزایش فعالیت محور هیپوفیز-بیضه و افزایش سطح سرمی هورمون‌های جنسی شده‌است [۴۲]. با توجه به نقش گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های استروئیدی بیضه در فرایند اسپرماتوژنز می‌توان گفت افزایش فعالیت محور هیپوفیز-بیضه در افزایش اسپرماتوژنز در افراد مبتلا به دیابت نوع یک مؤثر است. در نهایت پیشنهاد می‌شود اثر کروسین بر سایر جنبه‌های اختلالات باروری در افراد دیابتی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین پیشنهاد می‌شود اثر کروسین بر سایر محورهای هورمونی مانند هیپوفیز-آدرنال، هیپوفیز-تیروئید و هیپوفیز-تخمدان مورد بررسی قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده کروسین موجب افزایش سطح سرمی گنادوتروپین‌های هیپوفیز پیشین می‌شود و به‌دنبال آن سطح سرمی هورمون‌های استروژن، تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون در موش‌های صحرایی نر دیابتی افزایش می‌یابد. در نهایت می‌توان گفت کروسین با افزایش فعالیت محور هیپوفیز-بیضه، میزان ترشح هورمون‌های جنسی را در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش می‌دهد. از این‌رو می‌توان کروسین را به‌عنوان یک

و سرتولی موجب کاهش اسپرماتوژنز می‌شود [۳۳]. محققین نشان داده‌اند بین دیابت و میزان باروری در مردان رابطه مستقیم وجود دارد و تقریباً اکثر افراد دیابتی به‌نوعی از اختلالات ناباروری رنج می‌برند و این امر در اثر کاهش سطح هورمون‌های LH، FSH و متعاقب آن کاهش تستوسترون ایجاد می‌شود و در طولانی مدت با کاهش اسپرماتوژنز و تغییرات منفی در پارامترهای اسپرم همراه است [۳۴]. موافق با نتایج مطالعه حاضر مشخص شده‌است دیابت علاوه بر تأثیر مستقیم بر بافت بیضه می‌تواند با اختلال در ترشح گنادوتروپین‌های هیپوفیز پیشین در بیوستنز و تولید تستوسترون اختلال ایجاد کند [۳۵]. در پژوهشی دیگر مشخص شد اللقاء دیابت تجربی در موش‌های صحرایی سبب کاهش نسبی هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH در موش‌های صحرایی می‌شود که با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر همسو است [۳۶].

در مطالعه حاضر مشخص شده‌است تجویز کروسین با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با نمونه‌های شاهد دیابتی به‌صورت وابسته به دوز موجب افزایش معنی‌دار در سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، استروژن و تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون می‌شود. طبق تحقیقات صورت گرفته به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های دخیل در اثرات هیپوگلیسمیک کروسین، کاهش مقاومت به انسولین است و با تحریک برداشت گلوکز از طریق بافت‌های محیطی و مهار جذب گلوکز روده‌ای موجب کاهش گلوکز خون می‌شود [۳۷]. از سوی دیگر مشخص شده‌است بخش مهمی از عملکرد هیپوگلیسمیک ترکیبات زعفران به‌واسطه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آن باشد [۳۷]. همچنین مشخص شده‌است عصاره زعفران دارای اثر محافظتی در مقابل ازدیاد قند و لیپید خون در موش‌های صحرایی دیابتی است و عنوان شد عصاره زعفران با کاهش سطح سرمی گلوکز و افزایش انسولین موجب کاهش عوارض دیابت در موش‌های صحرایی مدل دیابت تجربی نوع یک می‌شود محققین این اثرات را به خواص آنتی‌اکسیدانی کروسین موجود در عصاره زعفران نسبت دادند [۱۹].

در مطالعه‌ای مشخص شد کروسین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است و از طریق جمع‌آوری و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند [۳۸]. از سوی دیگر گزارش شده‌است کروسین پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می‌دهد و موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کانال از سوپر اکسید دسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز در فولیکول‌های تخمدان موش‌های آزمایشگاهی می‌شود [۳۹]. با توجه به گزارشات موجود مبنی بر اثرات آنتی‌اکسیدانی و هیپوگلیسمیک ترکیبات موجود در عصاره زعفران می‌توان گفت افزایش فعالیت محور هیپوفیز-بیضه پس تجویز کروسین به موش‌های صحرایی دیابتی احتمالاً می‌تواند ناشی از کاهش شرایط استرس‌اکسیداتیو در بافت بیضه باشد. طبق تحقیقات انجام شده کروسین دارای اثرات محافظت بافتی است و از آسیب به ساختار و عملکرد کلیه در طی هیپرگلیسمی مزمن جلوگیری می‌کند. همچنین



فرآورده طبیعی، در کاهش بخشی از اختلالات هورمونی در مبتلایان به دیابت نوع یک معرفی نمود.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

رعایت تمامی حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش برای استفاده انسانی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراعات و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بود و کد اخلاقی این طرح پژوهشی، IR.NUMS.REC.1395.47 می‌باشد.

#### حامی مالی

هزینه اجرای این پژوهش توسط دانشگاه پیام‌نور تأمین شده است.

#### مشارکت نویسندگان

مقاله یک نویسنده دارد و مشارک ایشان ۱۰۰ درصد است.

#### تعارض منافع

موردی از طرف نویسنده بیان نشده است.

#### تشکر و قدردانی

از تمام اساتید محترمی که در انجام این پژوهش مرا یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

### References

- [1] Alzaman N, Ali A. Obesity and diabetes mellitus in the Arab world. *Journal of Taibah University Medical Sciences*. 2016 Aug 1;11(4):301-9. [[10.1016/j.jtumed.2016.03.009](https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2016.03.009)] [[Link](#)]
- [2] Seyfaddini R. Ti: Cognitive function in diabetes mellitus patients. *American Journal of Applied Sciences*. 2006 Jan 1;3(1):1682-4. [[Link](#)]
- [3] Santilli F, Lapenna D, La Barba S, Davi G. Oxidative stress-related mechanisms affecting response to aspirin in diabetes mellitus. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015 Mar 1;80:101-10. [[10.1016/j.freeradbiomed.2014.12.010](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.12.010)] [[PMID](#)]
- [4] Cohen G, Riahi Y, Sunda V, Deplano S, Chatgililoglu C, Ferreri C, Kaiser N, Sasson S. Signaling properties of 4-hydroxyalkenals formed by lipid peroxidation in diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*. 2013 Dec 1;65:978-87. [[10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.163](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.163)] [[PMID](#)]
- [5] Merezek A, Markiewicz L, Sliwinska A, Kosmowski M, Kasznicki J, Drzewoski J, Majsterek I. Analysis of oxidative DNA damage and its repair in Polish patients with diabetes mellitus type 2: Role in pathogenesis of diabetic neuropathy. *Advances in medical sciences*. 2015 Sep 1;60(2):220-30. [[10.1016/j.advms.2015.04.001](https://doi.org/10.1016/j.advms.2015.04.001)] [[PMID](#)]
- [6] Rains JL, Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011 Mar 1;50(5):567-75. [[10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006)] [[PMID](#)]
- [7] Sexton WJ, Jarow JP. Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. *Urology*. 1997 Apr 1;49(4):508-13. [[10.1016/s0090-4295\(96\)00573-0](https://doi.org/10.1016/s0090-4295(96)00573-0)] [[PMID](#)]
- [8] Gaunay G, Nagler HM, Stember DS. Reproductive sequelae of diabetes in male patients. *Endocrinology and Metabolism Clinics*. 2013 Dec 1;42(4):899-914. [[10.1016/j.ecl.2013.07.003](https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.07.003)] [[PMID](#)]
- [9] Himabindu B, Madhu P, Reddy PS. Diabetes and alcohol: Double jeopardy with regard to oxidative toxicity and sexual dysfunction in adult male Wistar rats. *Reproductive Toxicology*. 2015 Jan 1;51:57-63. [[10.1016/j.reprotox.2014.12.010](https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.12.010)] [[PMID](#)]
- [10] Mallidis C, Agbaje I, O'Neill J, McClure N. The influence of type 1 diabetes mellitus on spermatogenic gene expression. *Fertility and sterility*. 2009 Dec 1;92(6):2085-7. [[10.1016/j.fertnstert.2009.06.006](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.06.006)] [[PMID](#)]
- [11] Rato L, Alves MG, Duarte AI, Santos MS, Moreira PI, Cavaco JE, Oliveira PF. Testosterone deficiency induced by progressive stages of diabetes mellitus impairs glucose metabolism and favors glycogenesis in mature rat Sertoli cells. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2015 Sep 1;66:1-0. [[10.1016/j.bioce.2015.07.001](https://doi.org/10.1016/j.bioce.2015.07.001)] [[PMID](#)]
- [12] Chandrashekar V, Steger RW, Bartke A, Fadden CT, Kienast SG. Influence of diabetes on the gonadotropin response to the negative feedback effect of testosterone and hypothalamic neurotransmitter turnover in adult male rats. *Neuroendocrinology*. 1991 Apr 4;54(1):30-5. [[10.1159/000125847](https://doi.org/10.1159/000125847)] [[PMID](#)]
- [13] Heydari I, Radi V, Razmjou S, Amiri A. Chronic complications of diabetes mellitus in newly diagnosed patients. *International Journal of Diabetes Mellitus*. 2010 Apr 1;2(1):61-3. [[10.1016/j.ijdm.2009.08.001](https://doi.org/10.1016/j.ijdm.2009.08.001)]
- [14] Cantarovich D, Perrone V. Pancreas transplant as treatment to arrest renal function decline in patients with type 1 diabetes and proteinuria. In *Seminars in Nephrology* 2012 Sep 1 (Vol. 32, No. 5, pp. 432-436). WB Saunders. [[10.1016/j.semnephrol.2012.07.005](https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2012.07.005)] [[PMID](#)]
- [15] Zhao Y, Mazzone T. Human cord blood stem cells and the journey to a cure for type 1 diabetes. *Autoimmunity reviews*. 2010 Dec 1;10(2):103-7. [[10.1016/j.autrev.2010.08.011](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2010.08.011)] [[PMID](#)]
- [16] Srivastava R, Ahmed H, Dixit RK, Saraf SA. Crocus sativus L.: a comprehensive review. *Pharmacognosy reviews*. 2010 Jul;4(8):200. [[10.4103/0973-7847.70919](https://doi.org/10.4103/0973-7847.70919)] [[PMID](#)]
- [17] Vakili A, Eianali MR, Bandegi AR. The protective effects of Saffron against the oxidative damage in a transient model of focal cerebral ischemia in rats. *Tehran University Medical Journal*. 2011 Oct 1;69(7). [[Link](#)]
- [18] Bandegi AR, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Ghadrdooost B. Protective effects of Crocus sativus L. extract and crocin against chronic-stress induced oxidative damage of brain, liver and kidneys in rats. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2014 Dec;4(Suppl 2):493. [[10.5681/apb.2014.073](https://doi.org/10.5681/apb.2014.073)] [[PMID](#)]
- [19] Shirali S, Bathayi SZ, Nakhjavani M, Ashoori MR. Effects of saffron (Crocus sativus L.) aqueous extract on serum biochemical factors in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iranian journal of medicinal and aromatic plants research*. 2012 Jul 22;28(2):293-308. [[Link](#)]
- [20] Bakhtiary Z, Shahrooz R, Ahmadi A, Malekinejad H, Mostafavi M. Study of protective effects of crocin on testicular histomorphometry and serological parameters in cyclophosphamide treated adult mice. *Studies in Medical Sciences*. 2014 Sep 10;25(7):663-73. [[Link](#)]
- [21] Amidi F, Ebrahimi S, Abbasi M, Yazdani M, Ghasemi S. Effects of saffron extract on sperm parameters in rats with experimentally induced varicocele. *J Qazvin Univ Med Sci*. 2014 Dec 10;18(5):4-11. [[Link](#)]
- [22] Samadi H, Javadi S, Asri S. Evaluation of the effects of crocin on the serum levels of glucose, insulin, urea, creatinine and  $\beta_2m$  in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Studies in Medical Sciences*. 2015 Dec 10;26(9):802-12. [[Link](#)]
- [23] Yari beygi H, Mohammadi MT. Protective effect of crocin on kidney performance in chronic uncontrolled hyperglycemia-induced nephropathy in rat. *Journal of Zanjan University of Medical Sciences and Health Services*. 2017;25(109):36-49. [[Link](#)]
- [24] Gopumadhavan S, Mohamed R, Venkataranganna MV, Kulkarni KS, Mitra SK. Assessment of 'Tentex royal' for sexual activity in an experimental model. *Indian J Clin Pract*. 2003; 13(10):23-6. [] [[PMID](#)]
- [25] Mokhtari M, Sharifi E, Daneshi A. Effects of hydro-alcoholic extract of red dried stigmas of Crocus sativus L. flowers (saffron) on the levels of pituitary-ovary hormones and folliculogenesis in rats. [[10.22074/ijfs.2010.45797](https://doi.org/10.22074/ijfs.2010.45797)] [[Link](#)]
- [26] Ai J, Nekooeian AA, Takhshid MA, Mostafazi N, Mehrabani D. Effect of aqueous extract of Crocus sativus L. (saffron) stigma on serum levels of gonadotropins and folliculogenesis in adult rats. *Journal of Applied Animal Research*. 2009 Mar 1;35(1):49. [[10.1080/09712119.2009.9706983](https://doi.org/10.1080/09712119.2009.9706983)] [[link](#)]
- [27] Sadoughi SD, Edalatmanesh MA, Rahbarian R. The Effect of Curcumin on Pituitary-Gonadal Axis, DNA Oxidative Damage

- and Antioxidant Enzymes Activity of Testicular Tissue in Male Diabetic Rats. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*. 2017 Dec 10;7(4):511-20. [[Link](#)]
- [28] Santos GJ, Oliveira CA, Boschero AC, Rezende LF. CNTF protects MIN6 cells against apoptosis induced by Alloxan and IL-1 $\beta$  through downregulation of the AMPK pathway. *Cellular signalling*. 2011 Oct 1;23(10):1669-76. [[10.1016/j.cellsig.2011.06.001](#)] [[PMID](#)]
- [29] Oryan A, Hashemnia M, Hamidi AR, Mohammadalipour A. Effects of hydro-ethanol extract of *Citrullus colocynthis* on blood glucose levels and pathology of organs in alloxan-induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of tropical disease*. 2014 Apr 1;4(2):125-30. [[link](#)]
- [30] Sadoughi D. Effect of curcumin and low frequency electromagnetic field on the hormones of pituitary-gonad axis in male diabetic rats. *Internal Medicine Today*. 2017 Jan 10;23(1):27-33. [[10.18869/acadpub.hms.23.1.27](#)] [[Link](#)]
- [31] Tirabassi G, Chelli FM, Ciommi M, Lenzi A, Balercia G. Influence of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation on the metabolic profile of patients affected by diabetes mellitus-associated late onset hypogonadism. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2016 Jan 1;26(1):53-9. [[10.1016/j.numecd.2015.10.006](#)] [[PMID](#)]
- [32] Hasanzadeh S, Sadrkahnloo RA, Farshid M. An investigation of ultrastructural changes in cells of seminiferous tubules of testes and alterations in gonadotropic-gonadal hormones of adult male experimentally induced diabetic rats. *Studies in Medical Sciences*. 2011 Jul 10;22(3):239-48. [[Link](#)]
- [33] Shayakhmetova GM, Bondarenko LB, Matvienko AV, Kovalenko VM. Correlation between spermatogenesis disorders and rat testes CYP2E1 mRNA contents under experimental alcoholism or type I diabetes. *Advances in medical sciences*. 2014 Sep 1;59(2):183-9. [[10.1016/j.advms.2014.03.004](#)] [[PMID](#)]
- [34] Chandrashekar V, Bartke A. The impact of altered insulin-like growth factor-I secretion on the neuroendocrine and testicular functions. *Minerva ginecologica*. 2005 Feb 1;57(1):87-97. [[PMID](#)]
- [35] Schoeller EL, Albanna G, Frolova AI, Moley KH. Insulin rescues impaired spermatogenesis via the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in Akita diabetic mice and restores male fertility. *Diabetes*. 2012 Jul 1;61(7):1869-78. [[10.2337/db11-1527](#)] [[PMID](#)]
- [36] Jahangiri M, Vaezi G, Hojati V. The Effect of Alcoholic Extract of Kudzu Root on the Sex Hormones of Streptozotocin-induced Diabetic Male Rats. *Journal of Animal Biology*. 2016 Jul 22;8(4):13-25. [[Link](#)] [[PMID](#)]
- [37] Xi L, Qian Z, Xu G, Zheng S, Sun S, Wen N, Sheng L, Shi Y, Zhang Y. Beneficial impact of crocetin, a carotenoid from saffron, on insulin sensitivity in fructose-fed rats. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2007 Jan 1;18(1):64-72. [[10.1016/j.jnutbio.2006.03.010](#)] [[PMID](#)]
- [38] Sapanidou V, Taitzoglou I, Tsakmakidis I, Kourtzelis I, Fletouris D, Theodoridis A, Zervos I, Tsantarliotou M. Antioxidant effect of crocin on bovine sperm quality and in vitro fertilization. *Theriogenology*. 2015 Nov 1;84(8):1273-82. [[10.1016/j.theriogenology.2015.07.005](#)] [[PMID](#)]
- [39] Maleki EM, Eimani H, Bigdeli MR, Ebrahimi B, Shahverdi AH, Narenji AG, Abedi R. A comparative study of saffron aqueous extract and its active ingredient, crocin on the in vitro maturation, in vitro fertilization, and in vitro culture of mouse oocytes. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2014 Mar 1;53(1):21-5. [[10.1016/j.tjog.2012.11.004](#)] [[PMID](#)]
- [40] Sadoughi S. Effects of crocin on ovarian follicle and serum sex hormone in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in rat model. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2017 Jul 10;17(2):198-210. [[Link](#)]
- [41] ABEER AA, NESREN MA, EL-SAWY SA, EL-SAKA MH. The effect of crocin on endocrine functions of the testes before and after testicular damage in rats. *The Medical Journal of Cairo University*. 2018 Mar 1;86(March):375-82. [[Link](#)]
- [42] Gül M, Kayhan Kuştepe E, Erdemli ME, Altınöz E, Gözükarı Bağ HG, Gül S, Göktürk N. Protective effects of crocin on acrylamide-induced testis damage. *Andrologia*. 2021 Oct;53(9):e14176. [[10.1111/and.14176](#)] [[PMID](#)]