

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra buněčné a vývojové biologie

Studijní program Biologie

Studijní obor Biologie



Eliška Valášková

Vliv diabetes mellitus na reprodukci samců

The effect of diabetes mellitus on male reproduction

Bakalářská práce

Školitelka: doc. RNDr. Jana Pěkníková, CSc.

Praha, 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne

.....

Poděkování:

Děkuji doc. RNDr. Janě Pěknicové, CSc. za cenné rady a připomínky při vypracování bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Pavle Dostálové za odborné konzultace.

Seznam použitých zkratk

AGEs	advanced glycation endproducts	produkty glykace
DNA	deoxyribonucleic acid	deoxyribonukleová kyselina
DM	diabetes mellitus	diabetes mellitus
GLUT4	glucose transporter type 4	glukózový transportér typu 4
HLA	human leukocyte antigen	lidský leukocytární antigen
HPL	human placental lactogen	lidský placentární laktogen
ID	insulin deficiency	inzulinový deficit
IDDM	insulin-dependent diabetes mellitus	inzulin-dependentní diabetes mellitus
IR	insulin resistance	inzulinová rezistence
LADA	latent autoimmune diabetes of adults	latentní autoimunitní diabetes dospělých
mitDNA	mitochondrial deoxyribonucleic acid	mitochondriální deoxyribonukleová kyselina
nDNA	nuclear deoxyribonucleic acid	jaderná deoxyribonukleová kyselina
RAGE	receptor for advanced glycation endproducts	receptory produktů glykace
SBZ	sabeluzol	sabeluzol
STZ	streptozotocin	streptozotocin
V79	chinese hamster fibroblast cell line	buněčná linie fibroblastů čínských křečků
WHO	World health organization	Světová zdravotnická organizace
XOD	xanthine oxidase	xantinoxidáza

Abstrakt

Zvyšující se neplodnost je považována za vážný problém lidské reprodukce. Mužský faktor je příčinou neplodnosti u více než 60% problémových párů. Díky snižování kvality spermatu, ke kterému v poslední době dochází, lze předpokládat, že toto číslo bude narůstat. Jedním z možných rizikových faktorů je diabetes mellitus (DM). V důsledku nedostatečných a často rozporuplných analýz kvality spermií, byl DM jako rizikový faktor při vyhodnocování mužské fertility opomíjen. Využití nových molekulárních metod ukázalo patologické působení diabetes mellitus na funkci spermií a spermatogenezi.

Klíčová slova

Diabetes mellitus (DM), spermatogeneze, kvalita spermií, samčí plodnost/neplodnost, reprodukce

Abstract

Increasing infertility is considered a serious problem of human reproduction. Male factor infertility is the cause of more than 60% of problem pairs and sperm quality by reducing the number will grow. One of the possible risk factors is diabetes mellitus (DM). As a result of insufficient and often conflicting analyzes of sperm quality, the DM as a risk factor in the evaluation of male fertility neglected. The use of new molecular techniques revealed pathological effects diabetes mellitus on sperm function and spermatogenesis.

Keywords

Diabetes mellitus (DM), spermatogenesis, sperm quality, male fertility/infertility, reproduction

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Inzulin a jeho funkce	2
3 Diabetes mellitus	3
3.1 Diabetes mellitus 1. typu	3
3.2 Diabetes mellitus 2. typu	3
3.3 Gestační diabetes.....	4
4 Studium vlivů diabetes mellitus na samčí reprodukční parametry savců	6
4.1 Umělé navození diabetes mellitus.....	6
4.1.1 Streptozotocin.....	6
4.1.2 Alloxan	7
4.1.3 Vacor	7
4.2 Studie vlivů DM na různé fyziologické parametry	7
4.2.1 Parametry spermií a spermatogeneze	7
4.2.2 Testes a epididymis	8
4.2.3 Erektce a ejakulace	8
4.2.4 Poškození DNA a apoptóza v buňkách testes po působení DM	9
5 Léčba vlivu diabetes mellitus na reprodukci	11
5.1 Léčba inzulinem	11
5.2 Využití asistované reprodukce	11
6 Závěr.....	13
7 Seznam literatury.....	15
8 Seznam ilustrací	22

1 Úvod

Závažným problémem v lidské populaci je nárůst neplodnosti. Nedávná studie prokázala, že více jak 15% evropské populace má problémy v oblasti reprodukce (World health organization (WHO), 2010). Z toho mužský faktor zaujímá více jak 60%.

Celá řada faktorů ovlivňuje mužskou plodnost (životní prostředí, nemoci a jiné). I diabetes mellitus, jehož nárůst představuje významný zdravotní problém, je považován jako jeden z potenciálních faktorů ovlivňujících reprodukci. Toto onemocnění postihuje 347 miliónů lidí po celém světě (Danaei et al., 2011). WHO předpokládá, že diabetes bude sedmou nejčastější příčinou úmrtí v roce 2030 (WHO, 2011).

V České republice se tímto onemocněním v roce 2010 léčilo více než 800 tisíc osob. Počet registrovaných diabetiků narůstá zhruba o 20 tisíc osob v porovnání s rokem předchozím. Při pohledu do minulosti je z předložených dat patrné, že od roku 1980 počet nemocných cukrovkou narostl 2,5krát. Podle odhadů provedených na základě statistických údajů Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR, není daleko doba, kdy tímto onemocněním bude postižen každý desátý občan České republiky (Diabetická asociace České republiky [online]). Vzhledem k tomu, že rodiče odkládají narození prvních potomků do stále vyššího věku, bude DM postihovat stále více mužů v reprodukčním věku.

Diabetes mellitus ovlivňuje, díky dlouhodobé expozici zvýšené koncentrace glukózy, změny ve tkáních, z nichž nejzávažnější jsou cévní komplikace postihující krevní řečiště. Vedle mikroangiopatie (retinopatie, nefropatie, neuropatie) jsou významné především makroangiopatie (ateroskleróza), které ovlivňují úmrtnost diabetických pacientů (Dolger, 1950 podle Fraser et al., 1979). Nové analýzy s pomocí nejnovějších molekulárních metod ukazují, že DM nepříznivě ovlivňuje mužské reprodukční funkce, včetně endokrinní funkce reprodukčních orgánů (Jelodar et al., 2009), erekce a ejakulace (Dinulovic et al., 1990).

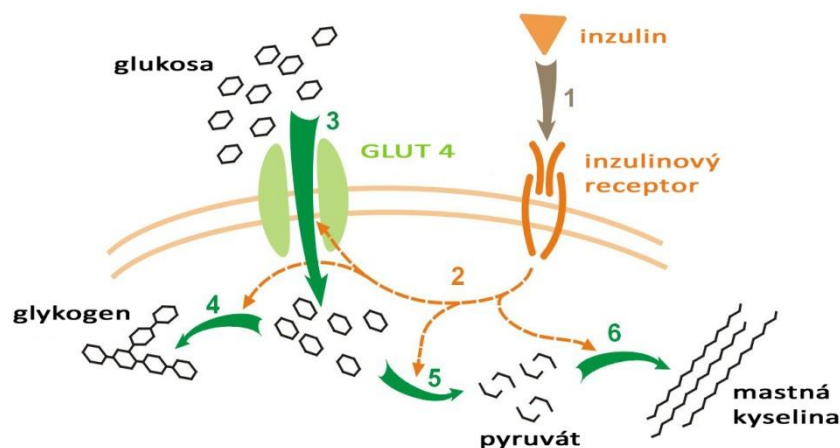
Předpokládá se, že dlouhodobé zvýšení hladiny glukózy v krvi negativně ovlivňuje vývoj a fyziologický stav spermií a ve svých důsledcích i fertilitu. Dokonalé pochopení tohoto problému by vedlo k rozvoji molekulárně-biologických přístupů a ke zlepšení diagnostiky a léčby sterilního manželského páru.

Působení DM je rozsáhlé, cílem této práce je především literární přehled o vlivu diabetes mellitus na reprodukci a reprodukční parametry u samců savců.

2 Inzulin a jeho funkce

Inzulin je hormon důležitý pro snižování hladiny cukru v krvi. První objevitel inzulínu byl kanadán Frederick Banting. V roce 1921 spolu s Charlesem Herbertem Bestem vyizolovali čistý inzulin pro léčbu diabetes mellitus.

Inzulin funguje jako signální molekula, která po vazbě na receptor spouští kaskádu reakcí. Uvolněný inzulin se váže na inzulínový receptor, což vede k otevření glukozového transportéru GLUT4. Skrz tento transportér se glukóza dostává do buňky (po koncentračním spádu), kde je z části spotřebována v energetickém metabolismu (glykolýza) a z části přeměněna na zásobní cukr – glykogen. Vychytáváním glukózy buňkami se snižuje její koncentrace v krvi, čímž je zpětně snižována produkce inzulínu. Inzulin má tedy důležitý vliv na fyziologii glukózy (Levine and Goldstein, 1955 podle Ducluzeau et al., 2002).



Obrázek 1: Systém inzulín-glukagon převzato ze stránek Wikipedia
(<http://cs.wikipedia.org/wiki/Inzulin>)

3 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus tvoří skupinu onemocnění různé etiologie, jejichž společným jmenovatelem je hyperglykemie (zvýšení koncentrace glukózy v krvi nad normu) a v jejím důsledku glykosurie (přítomnost glukózy v moči).

Chronické onemocnění projevující se poruchou metabolismu cukrů se dělí na dva základní typy. Diabetes mellitus 1. typu a diabetes mellitus 2. typu liší se příčinami vzniku. První z nich je autoimunitní choroba, kdy vlastní imunitní systém ničí beta buňky slinivky břišní, které tak nemohou produkovat inzulin. U druhého typu je snížena citlivost tkání k inzulinu (Dorner et al., 1977 podle Tikhonova et al., 1984).

3.1 Diabetes mellitus 1. typu

Označován též jako inzulin-dependentní diabetes mellitus (IDDM). Jak už bylo naznačeno, jeho příčinou je nedostatečná až chybějící endogenní produkce inzulinu v B-buňkách pankreatických ostrůvků, což vede k hyperglykémii (Dorner et al., 1977 podle Tikhonova et al., 1984). Etiologické faktory vedoucí společně k manifestaci DM 1. typu jsou jednak genetické faktory, které se podílejí přibližně jednou třetinou. Dvě třetiny způsobují faktory vnějšího prostředí, environmentální spouštěče, např. některé viry a dietní faktory (Akerblom and Knip, 1998). DM 1 je autoimunitní onemocnění zprostředkované T-lymfocyty (Macciush and Irvine, 1975 podle Volpe 1977). Geneticky daná náchylnost k onemocnění DM 1. typu je významně ovlivněna geny HLA (human leukocyte antigen), které jsou zodpovědné za imunitu (Bertrams et al., 1976).

DM 1. typu při manifestaci a v prvních letech svého trvání má známky svědčící spíše pro DM 2. typu, a proto se s ním tak často zaměňuje. Teprve po několika letech se objeví jednoznačný inzulinový deficit a nutnost inzulinové léčby.

3.2 Diabetes mellitus 2. typu

Diabetes mellitus 2. typu je onemocnění, které je podmíněno nerovnováhou mezi sekrecí a účinkem inzulinu v metabolismu glukózy. To znamená, že slinivka diabetiků 2. typu produkuje nadbytek inzulinu, avšak jejich tělo je na inzulin více či méně rezistentní. Jedná se o sníženou citlivost jaterních a periferních tkání na působení endogenního inzulinu (DeFronzo, 1982).

DM 2. typu je onemocnění s genetickou predispozicí, která je polygenní a na jejíž manifestaci se dále podílejí vlivy vnějšího prostředí (Froguel et al., 1993). Aby nedošlo k hyperglykémii, je nutná současná přítomnost inzulinové rezistence (IR) a inzulinového

deficitu (ID) (Cerasi, 1991). Pokud je dominantním etiologickým činitelem inzulinová rezistence, klasifikuje se DM 2. typu jako subtyp 1A, při převažujícím inzulinovém deficitu jako subtyp 1B. U DM 2. typu je ID z počátku relativní. To znamená, že koncentrace inzulinu jsou normální nebo zvýšené, ale ani tato zvýšená koncentrace nedokáže kompenzovat přítomnou rezistenci a dochází k abnormální glukozové homeostáze. V průběhu let se postupně snižuje vlastní produkce inzulinu a dochází k absolutnímu inzulinovému deficitu. Na prohlubování inzulinové rezistence a poškozování funkce B-buněk pankreatických ostrůvků se podílí i sama chronicky přítomná hyperglykémie (glukotoxicita), v řadě situací provázená i poruchou sekrece inzulinu při zvýšených koncentracích volných mastných kyselin, čili lipotoxicita (Bonadonna and DeFronzo, 1991).

Většina diabetiků 2. typu je obézní a jejich diabetes je jedním z projevů syndromu inzulinové rezistence, neboli metabolický syndrom (Krotkiewski et al., 1985).

Genetická vloha pro onemocnění diabetem 2. typu je silnější komponentou než u diabetu 1. typu a představuje 40-80% celkového rizika onemocnění.

3.3 Gestační diabetes

Dalším typem diabetu je gestační diabetes mellitus, což je glukózová tolerance, která vzniká v průběhu těhotenství. Projevuje se u 2-3% všech těhotných žen. Nejčastěji se manifestuje mezi 24. až 28. týdnem těhotenství, což souvisí s antiinzulárním působením některých hormonů produkovaných placentou, zejména humánního placentárního laktogenu (HPL). Roli při vzniku diabetu hraje i kortizol, jehož plazmatické hladiny jsou u těhotných žen zvýšené (Kuhl, 1998). Hodnoty inzulinu jsou normální, nebo mírně zvýšené. Gestační diabetes je porucha, která se vyznačuje inzulinorezistencí, je tedy podobný DM 2. typu (Kuhl, 1991).

Při studiu vlivů gestačního diabetu na reprodukci jsou patrné změny ve vývoji embrya. O mateřském diabetu je známo, že způsobuje vrozené vady u potomků (Lenz and Maier, 1964 podle Kalter, 2003; Pavlinkova et al., 2009). Například vrozené vady srdeční jsou u myši způsobeny tím, že mění expresi genů zapojených do kardiovaskulárního vývoje (Kumar et al., 2007).

V roce 1995 byl proveden první přímý důkaz genotoxického účinku diabetu *in vivo* (Lee et al., 1995). Zjistilo se, že hlavní roli v malformacích plodu spojených s diabetem mají mutace DNA.

Pokud se orientujeme na mužské potomky diabetických matek, vidíme snížení počtu spermatogonií, Leydigových a Sertoliho buněk (Jelodar et al., 2009). Lze předpokládat, že diabetes matky má významný vliv na vývoj potomků.

4 Studium vlivů diabetes mellitus na samčí reprodukční parametry savců

4.1 Umělé navození diabetes mellitus

Inzulín dependentní diabetes mellitus (1. typ) může být indukován podáním řady chemických substancí, především streptozotocinu, alloxanu a vacoru. Toho se využívá při studii DM na zvířecím modelu.

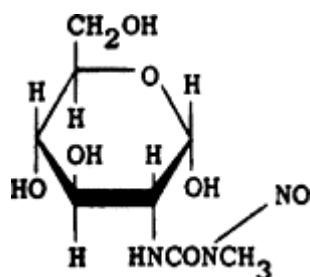
4.1.1 Streptozotocin

Nejpoužívanější látkou, kterou se uměle navozuje diabetes mellitus, je streptozotocin (STZ). STZ je antibiotikum, které produkuje gram-pozitivní bakterie z rodu *Actinobacteria* *Streptomyces achromogenes* (Herr et al., 1967). Obsahuje široké spektrum antibiotické aktivity a v opakovaných subdiabetogenních dávkách vede u geneticky citlivých myší k inzulitidě (zánětu Langerhansových ostrůvků) zřejmě autoimunní geneze (Vavra et al. 1959 podle Bolzan and Bianchi, 2002). Často se používá k vyvolání cukrovky u pokusných zvířat prostřednictvím svých toxických účinků na buňky pankreatu (Rakieten et al., 1963, Junod et al., 1967 podle Bolzan and Bianchi, 2002). Při vysokých dávkách se navozuje DM 1. typu a při nízkých DM 2. typu (Rossini et al., 1977). Myši jsou hodnoceny jako diabetické, pokud se hladina cukru zvýší na 13.9 mmol/L (Pavlinkova et al., 2008, 2009; Bohuslavova et al., 2010).

Streptozotocin je monofunkční derivát sloučeniny, která obsahuje nitroskupiny a močovinu (Lewis and Barbiere, 1959 podle Bolzan and Bianchi, 2002). Působí jako silné alkylační činidlo, které přímo methyloje DNA a může být vysoce genotoxický (Tjalve, 1983). Mimo to je STZ také karcinogenní. Jednorázová dávka vedla u potkanů ke vzniku nádorů v ledvinách (Arison and Feudale, 1967), v játrech a slinivce břišní (Rakieten et al., 1968 podle Bolzan and Bianchi, 2002). V buňkách čínských křečků V79 způsobuje zlomy na DNA (Erickson et al., 1978), dále pak chromozomální aberace, buněčnou smrt a výměnu sesterských chromatid (Capucci et al., 1995). Streptozotocin vede v B-buňkách ke zvýšené tvorbě volných radikálů (Nukatsuka et al., 1988). Tento objev vedl k hlubšímu zkoumání daného problému.

Nové hypotézy naznačují, že STZ se do buněk dostává prostřednictvím glukozového transportéru a působí na mitochondrie. Substrát xantin oxidázy (XOD), hypoxantin, jehož aktivita je v B-buňkách vysoká, katalyzuje oxidaci za vzniku kyseliny močové a produkce kyslíkových radikálů. Tyto radikály beta buňky nejsou schopny efektivně „uklízet“ díky

extrémně nízké aktivitě superoxididismutázy. Hromadí se v nich, což vede k poškození B-buněk (Kawada, 1992).



Obrázek 2: Struktura Streptozotocinu (STZ) popsána Herr et al., 1967

4.1.2 Alloxan

Podobnou látkou způsobující diabetes mellitus je alloxan. Jeho cytotoxický účinek je obdobný jako u streptozotocinu. Avšak oproti streptozotocinu, alloxan velmi efektivně odstraňuje kyslíkové radikály. Proto se zdá, že přímý vliv související s diabetes mellitus mají aniontové radikály (Kawada, 1992).

4.1.3 Vacor

Další navozující chemická substance je vacor. Vacor je strukturně příbuzný streptozotocinu a alloxanu, které byly použity k vyvolání diabetes mellitus u laboratorních zvířat (Glasgow et al., 1976 podle Miller et al., 1978). Jedná se o rodenticid (krysí jed), který po požití u lidí způsobuje poškození B-buněk a vede ke vzniku diabetes mellitus podobný typu 1 (Wilson et al., 1983).

4.2 Studie vlivů DM na různé fyziologické parametry

Jak už bylo zmíněno, diabetes mellitus ovlivňuje řadu jevů. Patří k nim cévní potíže, jako diabetická nefropatie, retinopatie, neuropatie, makroangiopatie, či diabetická noha. Tato práce se však zaměřuje na ovlivnění reprodukce a reprodukčních orgánů.

4.2.1 Parametry spermií a spermatogeneze

Diabetes mellitus přibývá u mužů v reprodukčním věku. DM indukuje molekulární změny, které mají negativní vliv na spermatogenezi, kvalitu spermií a fyziologické funkce, např. erekci a ejakulaci (Mallidis et al., 2011). Dostupné údaje naznačují, že DM mění konvenční parametry spermatu.

Kromě toho, DM způsobuje histologické poškození nadvarlete, což má negativní vliv na transport spermií. Různé mechanismy mohou vysvětlit poškození spermií pozorované u pacientů s DM. Patří mezi ně endokrinní poruchy, neuropatie a zvýšený oxidační stres (La Vignera et al., 2012).

Při zaměření se na změny v počtu spermií, lze sledovat jejich snížení jak v testes, tak v epididymis u streptozotocinem navozeným diabetických potkanů (Scarano et al., 2006). Stejně tak i koncentrace spermií a motilita v ejakulátu je u diabetických myší jsou významně sníženy oproti kontrolám (Kim and Moley, 2008). U studie diabetických mužů se tento jev nepotvrdil. V porovnání s kontrolní skupinou nevykazovala ovlivněná skupina žádné významné rozdíly v rychlosti pohybu spermií (Niven et al., 1995).

U potomků diabetických matek, pozorujeme u myší snížení počtu spermatogonií, Leydigových a Sertoliho buněk doprovázené snížením průměru semenotvorných kanálků. Mateřská hyperglykémie má tedy negativní vliv na parametry varlat během fetálního života, které pak budou mít vliv i na endokrinní funkce reprodukčních orgánů během puberty (Jelodar et al., 2009).

Velké riziko hrozí u lidí, a to mladistvým diabetikům, u kterých spermiologické nálezy potvrdily významné snížení kvality spermií, a to především u motility a morfologie spermií (Bartak et al., 1975). V jiné publikaci nebyl však u dospívajících diabetiků pozorován snížený počet spermií ani rozdíl v hladině testosteronu v krvi vůči kontrolní skupině (Padron et al., 1984). Naproti tomu byla popsána teratozoospermie, kdy je v ejakulátu méně než 15 % spermií s normální morfologií (Navarro-Casado et al., 2010).

Škála vlivů diabetes mellitus na parametry spermií je rozsáhlá. Objasnění těchto změn by vedlo k pochopení molekulárních mechanismů působení DM na sterilitu savců (včetně mužů) a jejich reprodukci.

4.2.2 Testes a epididymis

Testes jsou hlavním samčím pohlavním orgánem, kde se nejen tvoří pohlavní buňky, ale je to i důležitá endokrinní žláza produkující pohlavní hormony, například testosteron. Byla prováděna řada analýz vlivu DM na testes.

U diabetických potkanů byl pozorován výrazný pokles sérové hladiny a sekrece testosteronu *in vitro* a snížená motilita spermií (Hassan et al., 1993). Bylo publikováno snížení hmotnosti těchto orgánů po působení DM (Seethalakshmi et al., 1987, Hasan et al., 1993).

4.2.3 Erektce a ejakulace

Doprovodným jevem diabetického onemocnění je i sexuální dysfunkce ve všech svých podobách, a to snížená erekce, impotence, nebo ejakulace (Dinulovic et al., 1990).

U diabetických mužů se závažnost erektilní dysfunkce zvyšuje s věkem a trváním diabetu (Kalter-Leibovici et al., 2005). Některé práce se zaměřují na propojení erektilní

dysfunkce s předčasnou ejakulací a snížením libida, čili sexuální touhou (Malavige et al., 2008).

Hodnocení ejakulátu u diabetických mužů prokázalo snížení jeho objemu (Agbaje et al., 2007). V ejakulátu diabetických mužů nacházíme významně vyšší koncentraci spermií s narušeným transmembránovým mitochondriálním potenciálem, reaktivní formy kyslíku a fragmentované DNA ve srovnání se zdravými jedinci (Roessner et al., 2012).

Při pokusech vlivu diabetes mellitus na sexuální funkce u samců potkanů bylo zjištěno hned několik skutečností.

Za zmínku stojí experiment, kdy se porovnávaly 3 skupiny potkanů. Skupina potkanů s navozeným diabetem (STZ), která byla léčena sabeluzolem (SBZ), neléčená skupina s diabetem a kontrolní skupina. SBZ je derivát benzathiozolu, který účinně ochraňuje před mozkovou hypoxií a pomáhá s pamětí a s učením u potkanů (Clincke and Shagal, 1986 podle Tritsmans et al., 1988). Neléčená skupina vykazuje snížení počtu páření, snížení tělesné hmotnosti a u žádného jedince neproběhla ejakulace. Léčená skupiny SBZ naproti tomu vykazuje zlepšení v těchto parametrech (Hassan et al., 1993).

Cílem další studie bylo zhodnotit možnou roli testosteronu na obnově normální ejakulace u diabetických potkanů. Zkoumaní potkani vykazovali snížení hladiny plazmatického testosteronu, dysfunkci ejakulace a nedostatek spermií v ejakulátu. Vzhledem k tomu, že se nepodařilo obnovit tyto parametry doplněním testosteronu, neprokázal se přímý vztah nedostatku testosteronu k dysfunkci ejakulace vyvolané diabetem. (Pontes et al., 2011).

Lze tedy usuzovat, že sexuální chování a funkce pohlavního ústrojí jsou výrazně ovlivněny diabetem vyvolaného pomocí streptozotocinu. Léčba pomocí sabeluzolu by mohla být přínosná při snižování škodlivého vlivu diabetu na sexuální funkce (Hassan et al., 1993).

4.2.4 Poškození DNA a apoptóza v buňkách testes po působení DM

Jedním z dalších vlivů diabetes mellitus je poškození DNA a apoptóza buněk. Srovnání diabetických a nediabetických mužů jasně vykazuje výsledky, kdy diabetikové mají signifikantně častější fragmentaci jaderné DNA (nDNA). U počtu a velikosti delecí mitochondriálních DNA (mitDNA) je tento trend obdobný (Agbaje et al., 2007). Změny v počtu poškození jaderné DNA lze sledovat i u epididymálních spermií myši. U nich také došlo k výraznému zvýšení (O'Neill et al., 2010).

Glykace může sehrát zásadní roli při oxidačním stresu. Díky identifikaci vysoké úrovně produktů glykace (AGES) a jejich receptorů (RAGE), které doprovázely změny v produkci metabolitů u varlat, i změny ve spermatogenezi a genové expresi. Zvýšený oxidační stres poškozuje jadernou a mitochondriální DNA u spermií (Mallidis et al., 2011).

Porucha spermatogeneze a apoptóza zárodečných buněk u 1. typu DM se může týkat autoimunitního poškození (La Vignera et al., 2012).

Vliv diabetes mellitus na DNA a apoptózu buněk je zřejmý. Poškození DNA vede k různé řadě reakcí, které mohou způsobit velké škody jak na buňce, tak i na celém organismu, včetně apoptózy (např. Pavlinkova et al., 2008, 2009).

5 Léčba vlivu diabetes mellitus na reprodukci

Vliv diabetes mellitus na reprodukci je patrný, proto se mnoho studií se zabývá léčbou v této oblasti.

5.1 Léčba inzulinem

Jako jeden z nejčastějších „léků“ se využívá inzulin. Používá se ve standartní léčbě, kdy napomáhá snižovat koncentraci glukózy v krvi.

Používá se i experimentálně, kde se po zavedení sledují změny u jednotlivých reprodukčních orgánů.

Jak už bylo popsáno výše, diabetes mellitus negativně ovlivňuje hmotnost reprodukčních orgánů a motilitu spermií (Hassan et al., 1993; Kim and Moley, 2008). Nasazení léčby inzulinem vykazuje zlepšení v těchto parametrech. Pohyblivost spermií a váha reprodukčních orgánů se dostaly na hladinu kontrolní skupiny. Podobná odezva byla zaznamenána i u spermatogeneze a obnovila se hladina gonadotropinů (Seethalakshmi et al., 1987).

Po zjištění, že diabetes způsobuje regresi prostaty, byl inzulin s úspěchem použit pro léčbu tohoto problému. (Soudamani et al., 2005).

Prokázalo se, že po působení DM inzulin napomáhá zvýšit jak koncentraci spermií k normální hladině, tak pohyblivost spermií (Kim and Moley, 2008).

Léčba inzulinem se tedy zdá být velice prospěšná. Napomáhá k zmírnění negativního vlivu, či dokonce zlepšení funkce reprodukčních orgánů a parametrů spermií. V tomto ohledu je důležité neustálé prohlubování vědomostí o jejich účincích.

5.2 Využití asistované reprodukce

Mnoho párů odkládá narození prvního potomka do vyššího věku, který je spojen s reprodukčními problémy. Příčina neplodnosti může být jak ze strany muže, tak i ženy. V mnoha případech je pro ně jedinou šancí právě asistované reprodukce.

Asistovaná reprodukce je metoda, při které dochází k manipulaci se zárodečnými buňkami nebo s embryi, včetně jejich uchovávání, a to za účelem léčby neplodnosti ženy nebo muže. O významu v tomto oboru svědčí skutečnost, že v roce 2010 byla udělena Nobelova cena za vývoj metody oplodnění ve zkumavce (*in vitro* fertilizaci). Nobelova cena za fyziologii a medicínu byla přidělena britskému fyziologovi Robertu G. Edwardsovi, zakladateli metody asistované reprodukce.

Významná byla studie, kde se porovnávaly vlastnosti spermatu a fragmentace jaderné DNA u spermií diabetických a nediabetických mužů podstupujících asistovanou reprodukci a ovlivnění těhotenství. Diabetes u mužů výrazně snížil procento implantace blastocyst do dělohy, otěhotnění a nárůst potratů u žen proti nediabetickým mužům podstupující asistovanou reprodukci (Raju et al., 2012).

Vyšší procento poškození DNA u spermií vzniklé v důsledku oxidačního stresu, které vidíme u pacientů s diabetem, může být zodpovědné za špatný embryonální vývoj a průběh těhotenství u těchto jedinců.

Kryokonzervace spermií je metoda důležitá pro uchování spermií a jejich využití v asistované reprodukci. Nebyl popsán rozdíl v kvalitě spermií a hodnotách spermogramu před a po kryokonzervaci u pacientů a zdravých dárců. Kryokonzervace může být nabídnuta pacientům před plným rozvojem chorob ovlivňující reprodukci (Ranganathan et al., 2002).

I ejakulační problémy mohou zasahovat do plodnosti mužů, kteří mají DM. S využitím kombinované léčby rektální sondy elektro-ejakulace a umělých reprodukčních technik lze tuto nevýhodu optimalizovat (Denil et al., 1996).

V asistované reprodukci je používána celá řada metod včetně intra- cytoplasmatické injekce spermií do vajíčka (metoda ICSI), tato metoda může vést k úspěšnému oplodnění při použití spermatu od mužů s DM (Hovatta et al., 1996).

Výzkum léčby neplodných páru je v popředí zájmu reprodukčních biologů, nové, šetrnější techniky dávají naději pro páry, které nemohou otěhotnět, ať již z kterýchkoli důvodů.

6 Závěr

Starší studie založené na rutinní analýze spermií jsou rozdílné v popisování efektu diabetes mellitus na fertilitu mužů a vedly k ignorování DM jako rizikového faktoru pro reprodukci mužů. V důsledku toho jsou znalosti vlivu DM na fyziologii a funkčnost spermií ve vztahu k úspěšné fertilizaci s použitím různých metod asistované reprodukce neúplné.

V této práci jsou shrnuty současné poznatky o vlivu diabetes mellitus na reprodukci samců. Pro experimenty lze diabetes mellitus uměle vyvolat chemickými látkami, jako je vacor, alloxan či nejpoužívanější streptozotocin. Všechny tyto látky nenávratně poškozují B-buňky slinivky břišní, které tak nemohou produkovat inzulin, který snižuje hladinu glukózy v krvi.

Z předložené práce vyplývá, že DM má vliv na různé fyziologické parametry. Především na parametry spermií, kde negativně ovlivňuje koncentraci spermií v ejakulátu, morfologii a také motilitu spermií. Avšak ovlivnění rychlosti spermií se nepotvrdilo u mužské populace. Byla navržena léčba pomocí sabeluzolu, který napomáhá k zlepšení negativního ovlivnění diabetes mellitus na sexuální dysfunkce, a to erekci a ejakulaci.

Významný problém byl popsán u poškození DNA a apoptózy buněk. U diabetických mužů byl pozorován rozdíl v počtu fragmentací jaderné DNA oproti nediabetickým, tento jev byl popsán i u počtu delecí mitochondriální DNA. Poškození jaderné a mitochondriální DNA způsobuje oxidační stres v buňkách.

Velmi podstatné je vnímat i diabetes matky. Různé studie proběhly i u potomků diabetických matek, kde došlo k snížení počtu spermatogonií, Leydigových a Sertoliho buněk.

V důsledku těchto výrazných změn je důležitým aspektem léčba pomocí inzulinu a využití asistované reprodukce. Inzulinu se osvědčil jako látka k zmírnění škodlivých účinků diabetes mellitus na reprodukční orgány. Zlepšení bylo sledováno u spermatogeneze a parametrů spermií, a to motility a koncentrace, kdy se hodnoty dostaly na hladinu kontrolní skupiny. Další prospěšná metoda je asistovaná reprodukce, která zahrnuje řadu technik, které řeší neplodnost. Výzkum v tomto odvětví se stále prohlubuje a nasnadě je navrhnutí nových diagnostických postupů pro výběr vhodné metody asistované reprodukce.

Zjištění vlivu diabetes mellitus na savčí organismus a pochopení molekulárních mechanismů jeho účinku by vedlo ke snížení negativního vlivu tohoto onemocnění na fyziologickou funkci organismů, včetně reprodukce.

7 Seznam literatury

Agbaje, I. M., Rogers, D. A., McVicar, C. M., McClure, N., Atkinson, A. B., Mallidis, C. & Lewis, S. E. (2007). Insulin dependant diabetes mellitus: implications for male reproductive function. *Human Reproduction* 22, 1871-1877.

Akerblom, H. K. & Knip, M. (1998). Putative environmental factors in Type 1 diabetes. *Diabetes-Metabolism Reviews* 14, 31-67.

Arison, R. N. & Feudale, E. L. (1967). Induction of renal tumour by streptozotocin in rats. *Nature* 214, 1254-1255.

Bartak, V., Josifko, M. & Horackova, M. (1975). Juvenile diabetes and human sperm quality. *International Journal of Fertility* 20, 30-32.

Bertrams, J., Jansen, F. K., Gruneklee, D., Reis, H. E., Drost, H., Beyer, J., Gries, F. A. & Kuwert, E. (1976). HLA antigens and immunoresponsiveness to insulin in insulin-dependent diabetes-mellitus. *Tissue Antigens* 8, 13-19.

Bohuslavova, R., Kolar, F., Kuthanova, L., Neckar, J., Tichopad, A. & Pavlinkova, G. (2010). Gene expression profiling of gender differences in HIF1-dependent adaptive cardiac responses to chronic hypoxia. *J. Appl Physiol.*, 109, 1195-1202.

Bolzan, A. D. & Bianchi, M. S. (2002). Genotoxicity of streptozotocin. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research* 512, 121-134.

Bonadonna, R.C., & DeFronzo, R.A. (1991). Glucose-metabolism in obesity and type-2 diabetes. *Diabetes & Metabolism* 17, 112-135.

Capucci, M. S., Hoffmann, M. E., Zdzienicka, M. Z. & Natarajan, A. T. (1995). Streptozotocin-induced chromosomal-aberrations, sces and mutations in cho-9 parental cells and in em-c-11 mutant-cell line. *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 326, 227-234.

Cerasi, E. (1991). Insulin resistance, insulin deficiency, and non-insulin-dependent diabetes-mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 14, S37-S46.

Clincke, G. & Sahgal, A. (1986). R-58-735, a novel antihypoxic drug improves memory in rats. *Drug Development Research* 8, 381-385. *

Danaei, G., Finucane, M. M., Lu, Y., Singh, G. M., Cowan, M. J., Paciorek, C. J., Lin, J. K., Farzadfar, F., Khang, Y. H., Stevens, G. A., Rao, M., Ali, M. K., Riley, L. M., Robinson, C. A. & Ezzati, M. (2011). National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet* 378, 31-40.

DeFronzo, R. A., Simonson, D., & Ferrannini, E. (1982). Hepatic and peripheral insulin resistance - a common feature of type-2 (non-insulin-dependent) and type-1 (insulin-dependent) diabetes-mellitus. *Diabetologia* 23, 313-319.

Denil, J., Kuczyk, M. A., Schultheiss, D., Jibrilm, S., K pker, W., Fischer, R., Jonas, U., Schl sser, H. W. & Diedrich, K. (1996). Use of assisted reproductive techniques for treatment of ejaculatory disorders. *Andrologia* 28, 43-51.

Diabetická asociace  esk  republiky (DA R). Data o diabetu v  R [online]. Vystaveno 2010 [cit. 2013-04-27]. Dostupn  z : <http://www.diabetickaasociace.cz/co-je-diabetes/data-o-diabetu-v-cr>

Dinulovic, D. & Radonjic, G. (1990). Diabetes-mellitus male-infertility. *Archives of andrology* 25, 277-293.

Dolger, H. (1950). Vascular complications of diabetes mellitus. *Bulletin of the New York Academy of Medicine* 26, 779-785. *

Dorner, M., Pinget, M., & Brogard, J. M. (1977). Essential labile diabetes. *Munchener Medizinische Wochenschrift* 119, 671-674. *

Ducluzeau, P. H., Fletcher, L. M., Vidal, H., Laville, M. & Tavar , J. M. (2002). Molecular mechanisms of insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes. *Diabetes & Metabolism* 28, 85-92.

Erickson, L. C., Bradley, M. O. & Kohn, K. W. (1978). Measurements of dna damage in chinese-hamster cells treated with equitoxic and equimutagenic doses of nitrosoureas. *Cancer research* 38, 3379-3384.

- Fraser, D. M., Campbell, I. W., Ewing, D. J., and Clarke, B. F. (1979). Mononeuropathy in diabetes-mellitus. *Diabetes* 28, 96-101.
- Froguel, P., Velho, G., Passa, P. & Cohen, D. (1993). Genetic-determinants of type-2 diabetes-mellitus - lessons learned from family studies. *Diabetes & Metabolism* 19, 1-10.
- Glasgow, J. L., Bonar, J. R., Tucker, T. S. & Hoskins, B. (1976). Diabetes induced by vacor rat killer. *Diabetes* 25, 365-365. *
- Hassan, A. A., Hassouna, M. M., Taketo, T., Gagnon, C. & Elhilali, M. M. (1993). The effect of diabetes on sexual-behavior and reproductive-tract function in male-rats. *Journal of Urology* 149, 148-154.
- Herr, R. R., Jahnke, H. K. & Argoudel, A. D. (1967). Structure of streptozotocin. *Journal of the American Chemical Society* 89, 4808-4809.
- Hovatta, O. Reima, I., Foudila, T., Butzow, T., Johansson K. & von Smitten, K. (1996). Vas deferens aspiration and intracytoplasmic injection of frozen-thawed spermatozoa in a case of anejaculation in a diabetic man. *Human Reproduction* 11, 334-335.
- Jelodar, G., Khaksar, Z. & Pourahmadi, M. (2009). Endocrine profile and testicular histomorphometry in adult rat offspring of diabetic mothers. *Journal of Physiological Sciences* 59, 377-382.
- Junod, A., Lambert, A. E., Orci, L., Pictet, R., Gonet, A. E. & Renold, A. E. (1967). Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc Soc Exp Biol Med.*, 126, 201-205. *
- Kalter, H. (2003). Teratology in the 20th century - Environmental causes of congenital malformations in humans and how they were established. *Neurotoxicology and Teratology* 25, 131-282.
- Kalter-Leibovici, O., Wainstein, J., Ziv, A., Harman-Bohem, I., Murad, H. & Raz, I. (2005). Israel Diabetes Research Group (IDRG) Investigators. Clinical, socioeconomic, and lifestyle parameters associated with erectile dysfunction among diabetic men. *Diabetes Care* 28, 1739-1744.

- Kawada, J. (1992). New hypotheses for the mechanisms of streptozotocin and alloxan inducing diabetes-mellitus. *Yakugaku Zasshi-Journal of the Pharmaceutical Society of Japan* 112, 773-791.
- Kim, S. T. & Moley, K. H. (2008). Paternal effect on embryo quality in diabetic mice is related to poor sperm quality and associated with decreased glucose transporter expression. *Reproduction* 136, 313-322.
- Krotkiewski, M., Lonroth, P., Mandroukas, K., Wroblewski, Z., Rebuffescrive, M., Holm, G., Smith, U. & Bjorntorp, P. (1985). The effects of physical-training on insulin-secretion and effectiveness and on glucose-metabolism in obesity and type-2 (non-insulin-dependent) diabetes-mellitus. *Diabetologia* 28, 881-890.
- Kuhl, C. (1991). Insulin-secretion and insulin resistance in pregnancy and gdm – implications for diagnosis and management. *Diabetes* 40, 18-24.
- Kuhl, C. (1998). Etiology and pathogenesis of gestational diabetes. *Diabetes Care* 21, B19-B26.
- Kumar, S. D., Dheen, S. T. & Tay, S. S. W. (2007). Maternal diabetes induces congenital heart defects in mice by altering the expression of genes involved in cardiovascular development. *Cardiovascular Diabetology* 6, 34.
- La Vignera, S., Condorelli, R., Vicari, E., D'Agata, R. & Calogero, A. E. (2012). Diabetes Mellitus and Sperm Parameters. *Journal of Andrology* 33, 145-153.
- Lee, A. T., Plump, A., Desimone, C., Cerami, A. & Bucala, R. (1995). A role for dna mutations in diabetes-associated teratogenesis in transgenic embryos. *Diabetes* 44, 20-24.
- Lenz, W. & Maier, W. (1964). Congenital malformations + maternal diabetes. *Lancet* 2, 1124-1125. *
- Levine, R. & Goldstein, M. S. (1955). On the mechanism of action of insulin. *Recent Progress in Hormone Research* 11, 343-380. *
- Lewis, C. & Barbiers A. R. (1959). Streptozotocin, a new antibiotic. In vitro and in vivo evaluation. *Antibiot Annu* 7, 247-254. *

- Maccuish, A. C. & Irvine, W. J. (1975). Autoimmunological aspects of diabetes mellitus. *Clinics in Endocrinology and Metabolism* 4, 435-471. *
- Malavige, L. S., Jayaratne, S. D., Kathriarachchi, S. T., Sivayogan, S., Fernando, D. J. & Levy, J. C. (2008). Erectile dysfunction among men with diabetes is strongly associated with premature ejaculation and reduced libido. *Journal of Sexual Medicine* 5, 2125-2134.
- Mallidis, C., Agbaje, I., McClure, N. & Kliesch, S. (2011). The influence of diabetes mellitus on male reproductive function. A poorly investigated aspect of male infertility. *Urologie* 50, 33-37.
- Miller, L. V., Stokes, J. D. & Silpipat, C. (1978). Diabetes mellitus and autonomic dysfunction after vacor rodenticide ingestion. *Diabetes Care* 2, 73-76.
- Navarro-Casado, L., Juncos-Tobarra, M. A., Cháfer-Rudilla, M., de Onzoño, L. Í., Blázquez-Cabrera, J. A. & Miralles-García, J. M. (2010). Effect of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity. Study in rats. *Journal of Andrology* 31, 584-592.
- Niven, M. J., Hitman, G. A. & Badenoch, D. F. (1995). A study of spermatozoal motility in type-1 diabetes-mellitus. *Diabetic Medicine* 12, 921-924.
- Nukatsuka, M., Sakurai, H., Yoshimura, Y., Nishida, M. & Kawada, J. (1988). Enhancement by streptozotocin of o-2- radical generation by the xanthine-oxidase system of pancreatic beta-cells. *Febs Letters* 239, 295-298.
- O'Neill, J., Czerwiec, A., Agbaje, I., Glenn, J., Stitt, A., McClure, N. & Mallidis, C. (2010). Differences in mouse models of diabetes mellitus in studies of male reproduction. *International Journal of Andrology* 33, 709-716.
- Padron, R. S., Dambay, A., Suarez, R. & Mas, J. (1984). Semen analyses in adolescent diabetic-patients. *Acta diabetologica Latina* 21, 115-121.
- Pavlinkova, G., Salbaum, J. M. & Kappen, C. (2008). Wnt signaling in caudal dysgenesis and diabetic embryopathy. *Birth Defects Res A Clin. Mol. Teratol.*, 82, 710-719.
- Pavlinkova, G., Salbaum, J. M. & Kappen, C. (2009). Maternal diabetes alters transcriptional programs in the developing embryo. *BMC Genomics*, 10, 274.

- Pontes, D. A., Fernandes, G. S., Piffer, R. C., Gerardin, D. C., Pereira, O. C. & Kempinas, W. G. (2011). Ejaculatory dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: the role of testosterone. *Pharmacological Reports* 63, 130-138.
- Raju, G. A. R., Jaya Prakash, G., Murali Krishna, K., Madan, K., Siva Narayana, T. & Ravi Krishna, C. H. (2012). Noninsulin-dependent diabetes mellitus: effects on sperm morphological and functional characteristics, nuclear DNA integrity and outcome of assisted reproductive technique. *Andrologia* 44, 490-498.
- Rakieten, N., Rakieten, M. L. & Nadkarni, M. V. (1963). Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep.*, 29, 91-98. *
- Rakieten, N., Gordon, B. S., Cooney, D. A., Davis, R. D. & Schein, P. S. (1968). Renal tumorigenic action of streptozotocin (NSC-85998) in rats. *Cancer Chemother Rep.*, 52, 563-567. *
- Ranganathan, P., Mahran, A. M., Hallak, J. & Agarwal, A. (2002). Sperm cryopreservation for men with nonmalignant, systemic diseases: A descriptive study. *Journal of Andrology* 23, 71-75.
- Roessner, C., Paasch, U., Kratzsch, J., Glander, H. J. & Grunewald, S. (2012). Sperm apoptosis signalling in diabetic men. *Reproductive Biomedicine Online* 25, 292-299.
- Rossini, A. A., Like, A. A., Chick, W. L., Appel, M. C. & Cahill, G. F. (1977). Studies of streptozotocin-induced insulinitis and diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74, 2485-2489.
- Scarano, W. R., Messias, A. G., Oliva, S. U., Klinefelter, G. R. & Kempinas, W. G. (2006). Sexual behaviour, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycaemia in rats. *International Journal of Andrology* 29, 482-488.
- Seethalakshmi, L., Menon, M. & Diamond, D. (1987). The effect of streptozotocin-induced diabetes on the neuroendocrine-male reproductive-tract axis of the adult-rat. *Journal of Urology* 138, 190-194.

Soudamani, S., Yuvaraj, S., Malini, T. & Balasubramanian, K. (2005). Experimental diabetes has adverse effects on the differentiation of ventral prostate during sexual maturation of rats. *Anatomical Record Part a-Discoveries in Molecular Cellular and Evolutionary Biology* 287A, 1281-1289.

Tikhonova, E. P., Levchenko, T. P., Pavlyuchenko, R. V., Lavrova, E. V., Blokhina, Z. N., Mukhina, N. V., & Gryaznova, G. F. (1984). The clinical picture and hormonal metabolic homeostasis in patients with stable and labile insulin-dependent diabetes-mellitus. *Terapevticheskii Arkhiv* 56, 84-86.

Tjalve, H. (1983). Streptozotocin - distribution, metabolism and mechanisms of action. *Upsala Journal of Medical Sciences* 39, 145-157.

Tritsmans, L., Clincke, G. & Amery, W. K. (1988). The effect of sabeluzole (r-58735) on memory retrieval functions. *Psychopharmacology* 94, 527-531.

Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR (ÚZIS ČR). Národní registr asistované reprodukce (NRAR) [online]. 2011 [cit. 2013-04-27]. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/registry-nzis/nrar>

Vavra, J. J., Deboer, C., Dietz A., Hanka, L. J. & Sokolski, W. T. (1959). Streptozotocin, a new antibacterial antibiotic. *Antibiot Annu* 7, 230-235. *

Volpe, R. (1977). Role of autoimmunity in hypo-endocrine and hyper-endocrine function - with special emphasis on autoimmune thyroid disease. *Annals of Internal Medicine* 87, 86-99.

Wilson, G. L. & Gaines, K. L. (1983). Effects of the rodenticide vacor on cultured rat pancreatic beta-cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* 68, 375-379.

World Health Organization (WHO). (2010). Laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th edition, Geneva, Switzerland.

World Health Organization (WHO). (2011). Diabetes: the cost of diabetes (Fact sheet No. 236).

8 Seznam ilustrací

Herr, R. R., Jahnke, H. K. & Argoudel, A. D. (1967). Structure of streptozotocin. Journal of the American Chemical Society 89, 4808-4809.

Wikipedie. Inzulin [online]. [cit. 2013-04-08]. Dostupné z: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9c/Metabolismus_inzulin-glukosa.jpg