تولیدات دامی
دوره ۱۸ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۵
صفحه‌های ۱۸۱-۱۷۳

تأثیر نانوذرات روی بر کیفیت اسپرم و بازده آبستنی در گاو

پریسا یزدان‌شناس[۱]، رعنا جهان‌بین[۱]، عبدالله محمدی سنگ‌چشمه*[۲]، مهدی امین‌افشار[۳]، حسین واثقی دودران[۴]
حمید ورناصری[۵]، محمد چمنی[۶]، محمدحسن نظران[۷]

۱. کارشناس ارشد گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران-ایران
۲. استادیار گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت-ایران
۳. استادیار گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران-ایران
۴. دانشجوی دکتری فیزیولوژی دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۵. دکتری تخصصی، شرکت نهاده‌های دامی جاهد، تهران-ایران
۶. دانشیار گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران-ایران
۷. کارشناس، شرکت صدور احرار شرق، تهران-ایران

تاریخ وصول مقاله:۱۳۹۳/۰۹/۰۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۶/۰۱

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر غلظت‌های متفاوت نانوذرات روی، بر شاخص‌های کیفی منی پس از فرایند انجماد-یخ‌گشایی و بازده آبستنی در گاو بود. از چهار گاو نر هلشتاین به‌مدت چهار هفته و هر هفته دو نوبت اسپرم‌گیری شد. نمونه‌های منی پس از اضافه‌کردن مقادیر صفر (شاهد)، 10^{-6}، 10^{-5}، 10^{-4}، 10^{-3}، و 10^{-2} مولار نانوذرات روی به رقیق‌کنندهٔ بایوکسل، منجمد و پس از ۷۲ ساعت یخ‌گشایی شدند. میزان تحرک اسپرم با نرم‌افزار CASA ارزیابی شد. بیشترین و کمترین غلظت‌های روی به‌همراه گروه شاهد برای مطالعهٔ میزان تکه‌تکه‌شدن DNA، میزان مالون‌دی‌آلدئید، میزان فعالیت میتوکندریایی، و بازده آبستنی ارزیابی شدند. تفاوت میزان حرکت کل و حرکت پیش‌روندهٔ اسپرم و میزان تکه‌تکه‌شدن DNA اسپرم‌ها بین تیمارهای آزمایشی معنی‌دار نبود. با این حال، روی در سطوح 10^{-2} و 10^{-6} مولار غلظت مالون دی‌آلدئید منی را در مقایسه با گروه شاهد کاهش و فعالیت میتوکندریایی را افزایش داد. درصد آبستنی با اضافه‌کردن نانوذرات روی تغییری نکرد. نتایج نشان داد که افزودن نانوذرات روی به رقیق‌کنندهٔ اسپرم گاو سبب کاهش میزان تولید مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت میتوکندری می‌شود ولی بر بهبود نرخ آبستنی تأثیری ندارد.

کلیدواژه‌ها: آبستنی، اسپرم گاو، تکه‌تکه‌شدن DNA، فعالیت میتوکندریایی، نانوذرات روی.

* نویسنده مسئول
Email: amohammadis@ut.ac.ir

مقدمه

یکی از مهمترین روش‌های بهبود مدیریت تولیدمثلی دام، استفاده از فناوری تلقیح مصنوعی است، به‌طوری‌که استفاده از این فناوری سبب بهبود ژنتیکی گله می‌شود و در بسیاری از موارد بازده تولیدمثل را نیز افزایش می‌دهد. در تلقیح مصنوعی، پس از اسپرم‌گیری و ارزیابی نمونهٔ منی، اسپرم را می‌توان به دو حالت تازه و منجمد استفاده کرد. در صورت استفاده از اسپرم به حالت منجمد، در جریان فرایند انجمادیخ‌گشایی، تنش‌های فیزیکی و شیمیایی در غشای اسپرم‌ها محتمل است و سبب می‌شود که قدرت باروری اسپرم‌ها کاهش یابد [۲۷].

فرایند انجمادیخ‌گشایی منی، ظرفیت باروری اسپرم‌ها را ازطریق صدمه به جنبایی اسپرم‌ها، کاهش زنده‌مانی اسپرم‌ها، تغییرات در ریخت‌شناسی آنها و آسیب آکروزومی، آسیب به DNA ، و تقریباً تمام اندامک‌های سلولی ازقبیل میتوکندری و هسته را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد [۲]. تنش‌های فیزیکی و شیمیایی در جریان فرایند انجمادیخ‌گشایی با تولید بیش از حد رادیکال‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون فسفولیپیدها در غشای سلول اسپرم همراه است. تولید گونه‌های فعال اکسیژن به‌وسیلهٔ اسپرم فرایندی طبیعی است اما بالاتر از سطح فیزیولوژیک باعث آسیب سلولی اسپرم و درنهایت ناباروری جنس نر می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن به‌عنوان رادیکال آزاد معرفی می‌شوند که از استرس اکسیداتیو ناشی می‌شود و به‌شدت واکنش‌پذیرند و باعث آسیب‌دیدگی سلول‌های اسپرم می‌شوند. سلول‌های اسپرم نیز حاوی غلظت‌های بالای اسیدهای چرب غیراشباعی است که مستعد پراکسیداسیون‌اند و درنهایت کاهش تحرک، باروری، یکپارچگی غشا و تغییرات متابولیکی اسپرم را به‌دنبال خواهند داشت [۷، ۱۴ و ۲۶].

برای مقابله با تأثیرات منفی استرس اکسیداتیو و عوامل اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان‌های متفاوتی به رقیق‌کننده‌ها افزوده می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که سبب کنترل، توقف، و خنثی‌سازی مواد واسطهٔ حاصل از فرایند تولید انرژی در زنجیرهٔ انتقال الکترون سلول‌ها (فعالیت هوازی) می‌شوند. در این راستا، آنتی‌اکسیدان‌ها اسپرماتوزوآ را در برابر تولید گونه‌های فعال اکسیژن، آسیب DNA، آسیب غشای پلاسمایی، آسیب میتوکندری، کاهش تحرک و زنده‌مانی، آسیب‌های فرایند انجمادیخ‌گشایی حفاظت می‌کنند و موجب بهبود کیفیت منی و افزایش تحرک، زنده‌مانی، و قدرت باروری اسپرماتوزوآ می‌شوند.

عنصر روی نقش فیزیولوژیکی بسیار مهمی در عملکرد اسپرم و مایع منی دارد. به‌طور کلی، روی نقش مهمی در تکامل بیضه‌ها و عملکرد بهینهٔ فیزیولوژیکی آنها دارد و کاهش سطوح آن باعث کم‌شدن فعالیت گنادها، کاهش حجم بیضه‌ها، ظهور نامناسب صفات جنسی ثانویه، و ضعف لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود [۵ و ۱۲]. این عنصر بر تحرک اسپرم و مورفولوژی سلول‌های آن نقش مهمی داشت، به‌نحوی که کاهش مقدار روی موجب کاهش کیفیت اسپرم و مایع منی می‌شود که باعث کم‌شدن شانس باروری می‌شود [۱۷]. مصرف ناکافی روی می‌تواند بازسازی سازوکار DNA را به خطر بیندازد و سلول اسپرم را بسیار مستعد آسیب اکسیداتیو کند. کمبود روی فعالیت آنزیم تبدیل‌کنندهٔ آنژیوتنسین را مختل می‌کند که به تخلیهٔ تستوسترون و ممانعت از اسپرم‌سازی منتهی می‌شود [۲۲ و ۲۸]. از نانوذرات نقره در زمینهٔ جایگزینی با آنتی‌بیوتیک در رقیق‌کننده‌های اسپرم گاو نیز استفاده شده است [۱].

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر غلظت‌های متفاوت نانوذرات روی، در رقیق‌کنندهٔ منی گاو بر پارامترهای کیفی همچون میزان تحرک اسپرم، تکه‌تکه‌شدن DNA، فعالیت میتوکندری، محتوای مالون دی‌آلدئید اسپرم، و درصد آبستنی گاو پس از تلقیح به دنبال فرایند انجمادیخ‌گشایی است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مرکز نهاده‌های دامی جاهد واقع در محمدشهر کرج انجام شد. از چهار گاو نر هلشتاین به‌مدت چهار هفته و هر هفته دو نوبت اسپرم‌گیری شد و نمونه‌های منی به‌سرعت به آزمایشگاه منتقل و در حمام آب ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ارزیابی کیفی نمونهٔ منی از نظر حجم، درصد جنبایی، و غلظت اسپرم تولیدی هر گاو نمونه‌ها با یکدیگر مخلوط و سپس به شش بخش تقسیم و با استفاده از رقیق‌کنندهٔ بیوکسل دارای غلظت‌های گوناگون نانوذرات روی رقیق شدند. تیمارها به ترتیب حاوی غلظت‌های صفر (گروه شاهد)، 10^{-6}، 10^{-5}، 10^{-4}، 10^{-3}، و 10^{-2} مولار از نانوذرات روی بودند. نانوذرات روی استفاده‌شده در این مطالعه به روش خودچینی (Self-assembing) که یکی از روش‌های ساخت نانو مواد به روش پایین به بالا است، سنتز شدند. این روش بهترین روش تولید مواد در سایز نانو و تولید انبوه است. بیشتر ارزیابی‌های انجام‌شده در مطالعهٔ حاضر، به‌دلیل مشاهده‌نشدن اختلاف معنی‌دار در سایر گروه‌ها، فقط در سه گروه (گروه شاهد، غلظت 10^{-2}، و 10^{-6} مولار) انجام شد.

پس از افزودن نانوذرات روی به رقیق‌کننده و رقیق‌کردن منی، نمونه‌ها به‌مدت ۲۵-۲۰ دقیقه، در حمام آب گرم ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس آنالیزهای کمّی و کیفی اسپرم با نرم‌افزار CASA انجام شد. نمونه‌ها سپس منجمد و حداقل پس از ۷۲ ساعت یخ‌گشایی شدند. برای فرایند انجماد، نمونه‌های منی گروه‌های آزمایشی در پایوت‌های ۰/۵ میلی‌لیتری پر و بسته‌بندی شدند. دمای پایوت‌ها سپس به چهار تا شش درجهٔ سانتی‌گراد رسانیده شد و پس از گذشت ۳/۵ ساعت، پایوت‌ها به دستگاه انجماد اسپرم منتقل شدند. پس از گذشت ۱۰ دقیقه، با رسیدن دمای پایوت‌ها به ۱۴۰- درجهٔ سانتی‌گراد، نمونه‌ها به ازت مایع با دمای ۱۹۶- درجهٔ سانتی‌گراد انتقال یافتند.

پارامترهای حرکتی اسپرم با نرم‌افزار (Animal Version 12.3 CEROS, Hamilton-Thorne Biosciences, Beverly, MA, USA) در زمان‌های بلافاصله بعد از یخ‌گشایی، یک، و دو ساعت بعد از یخ‌گشایی ارزیابی شد و اطلاعات مربوط به حرکت پیشروندهٔ اسپرم و حرکت کل اسپرم ثبت شد.

ارزیابی تکه‌تکه‌شدن DNA اسپرم با استفاده از معرف رنگی آکریدین اورنج و با فناوری فلوسایتومتری اندازه‌گیری شد. غلظت مالون دی‌آلدئید، به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید در نمونهٔ مایع منی، با استفاده از واکنش اسیدتیوباربیتوریک اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر از منی رقیق‌شده (۲۵۰×10^{6} اسپرم در میلی‌لیتر) با یک میلی‌لیتر اسیدتیوباربیتوریک سرد ۲۰درصد (وزن/حجم) مخلوط شد تا رسوب پروتئین تشکیل شود. پروتئین با سانتریفیوژ (۹۶۰×g به‌مدت ۱۵ دقیقه) رسوب داده شد و سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی با یک میلی‌لیتر اسیدتیوباربیتوریک سرد ۶۷درصد (وزن/حجم) مخلوط و در آب جوش ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. پس از سردشدن، جذب ثبت‌شده توسط دستگاه طیف‌سنج در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت مالون دی‌آلدئید به‌صورت نانومول در میلی‌لیتر تعیین شد [۲۳].

ارزیابی فعالیت میتوکندریایی با استفاده از رنگ رودامین-۱۲۳ و با فناوری فلوسایتومتری اندازه‌گیری شد. بعد از یخ‌گشایی نمونه‌های منی، بخش رقیق‌کنندهٔ اسپرم با انجام سانتریفیوژ حذف شد و پلت تشکیل‌شده (که شامل سلول‌های اسپرم بود) با ۵۰۰ میلی‌لیتر بافر تریس مخلوط شد. سپس ۱۰ میکرولیتر رودامین-۱۲۳ در شرایط تاریکی به هر نمونه اضافه شد و نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. ۱۰ میکرولیتر رنگ پروپیدیم

یدید به نمونه اضافه شد و فعالیت میتوکندریایی نمونه‌های اسپرم به روش فلوسایتومتری ارزیابی شد [۲۳].

به‌منظور همزمان‌سازی گاوها برای فحلی و تلقیح، تمامی حیوانات دو نوبت هورمون PGF2α و به فاصلهٔ ۱۳ روز دریافت کردند. فحل‌یابی و تلقیح گاوها براساس ثبت بروز رفتار فحلی، به‌وسیلهٔ نیروهای مجرب واحد دامپروری انجام شد. تمامی گاوها به روش صبح-عصر تلقیح شدند، به‌صورتی‌که اگر گاوی رفتار فحلی را صبح نشان می‌داد، در عصر همان روز و اگر رفتار فحلی را عصر نشان می‌داد، صبح فردا تلقیح شد. تلقیح گاوها پس از کنترل رحم و ترشحات آن و حصول اطمینان از آمادگی حیوان برای تلقیح بر مبنای پیشنهاد دامپزشک صورت گرفت. تعداد ۲۵، ۲۷، و ۳۰ رأس گاو به ترتیب اسپرم متعلق به گروه تیماری $۱۰^{-۶}$، $۱۰^{-۲}$ مولار و گروه شاهد تلقیح شدند. تشخیص آبستنی گاوها به‌وسیلهٔ دستگاه سونوگرافی و توسط دامپزشک مجرب در روزهای ۳۰ و ۶۰ پس از تلقیح انجام شد.

آزمایش‌ها در پنج تکرار اجرا و داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS و رویهٔ مدل‌های خطی عمومی برای مدل ۱ تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی مقایسه شدند:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \qquad (۱)$$

در این رابطه: Y_{ij} مقدار صفت وابسته نمونه j ام در تیمار iام، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار، و e_{ij} تأثیرات باقیمانده هستند.

نتایج و بحث

تغییرات پارامترهای حرکتی اسپرم تحت‌تأثیر غلظت‌های گوناگون (صفر، $۱۰^{-۲}$، $۱۰^{-۳}$، $۱۰^{-۴}$، $۱۰^{-۵}$، و $۱۰^{-۶}$ مولار) نانوذرات روی پس از یخ‌گشایی در جدول ۱ آورده شده است. با بررسی حرکت پیشروندهٔ اسپرم و حرکت کل اسپرم مشخص شد که نانوذرات روی نتوانسته است پارامترهای حرکتی را در مقایسه با گروه شاهد بهبود بخشد. همچنین اثر زمان نیز در این ارتباط معنی‌دار نبود.

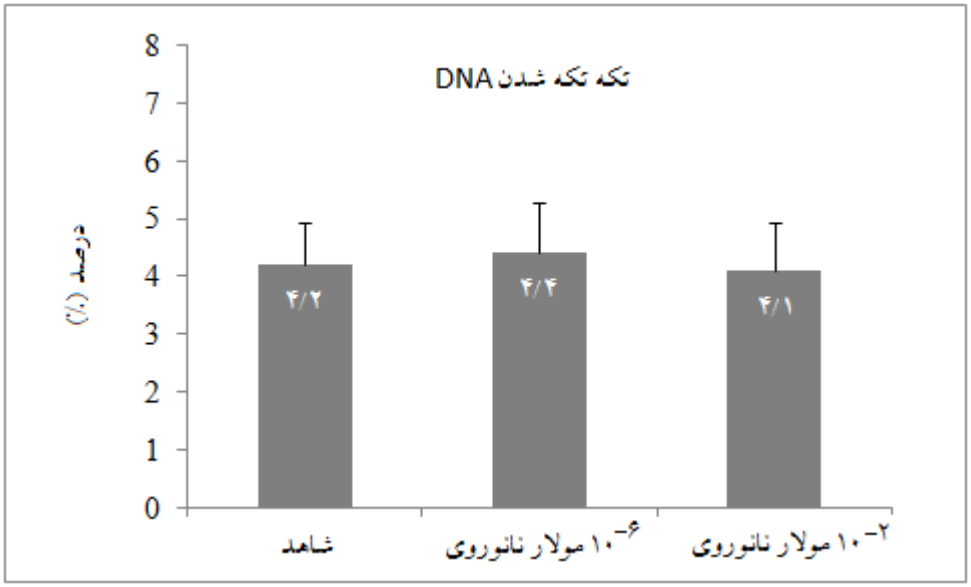
جدول ۱. اثر اضافه‌کردن سطوح گوناگون نانوذرات روی به رقیق‌کنندهٔ بایوکسل بر ویژگی‌های حرکتی اسپرم گاو پس از فرایند انجم‌اد-یخ‌گشایی

تیمار	صفات بررسی‌شده	
	حرکت پیشرونده (٪)	حرکت کل (٪)
شاهد	۳۵/۹ ± ۵/۵	۴۸/۷ ± ۸/۳
$۱۰^{-۶}$ مولار نانوروی	۳۵/۱ ± ۶/۱	۵۴/۲ ± ۵/۳
$۱۰^{-۵}$ مولار نانوروی	۴۵/۷ ± ۶/۸	۵۳/۳ ± ۷/۵
$۱۰^{-۴}$ مولار نانوروی	۴۲/۴ ± ۴/۲	۵۸/۷ ± ۷/۹
$۱۰^{-۳}$ مولار نانوروی	۳۶/۸ ± ۶/۲	۶۵/۴ ± ۹/۳
$۱۰^{-۲}$ مولار نانوروی	۳۹/۹ ± ۳/۷	۵۴/۱ ± ۶/۷
اثر تیمار	Ns	ns
اثر زمان	Ns	ns
اثر تیمار×زمان	Ns	ns

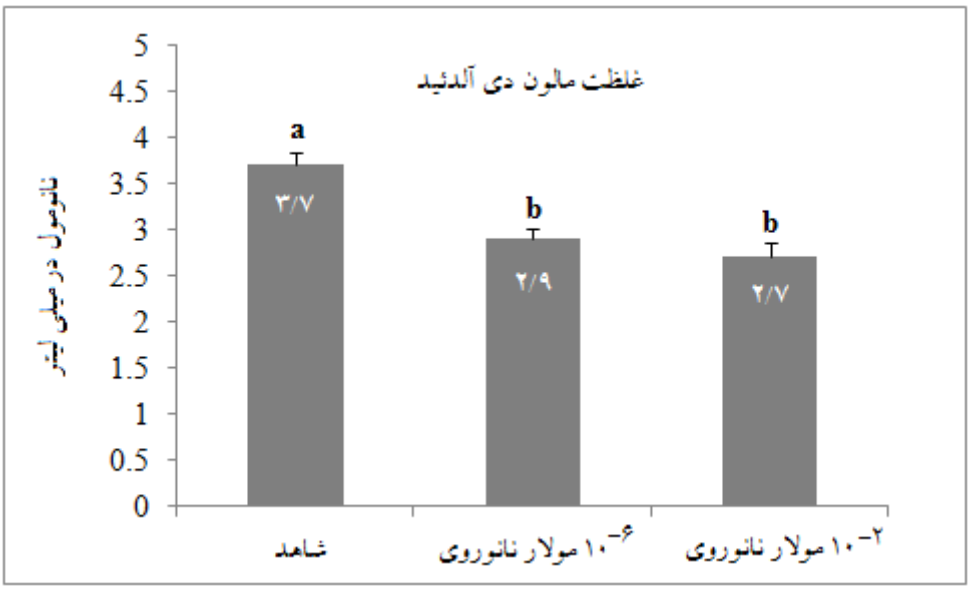
۱. غلظت اسپرم‌ها به‌عنوان عامل کوواریت در مدل قرار داده شد.

ns: غیرمعنی‌دار

تأثیر سطوح (صفر، $۱۰^{-۶}$، و $۱۰^{-۲}$ مولار) نـانوذرات روی بر تکه‌تکه‌شـدن DNA در شـکل ۱ نشـان داده شـده اسـت. افزودن نانوذرات روی در غلظت‌های متفاوت ($۱۰^{-۶}$ و $۱۰^{-۲}$ مولار) در مقایسه با گروه شاهد تأثیری بر میزان تکه‌تکه‌شدن DNA سلول‌های اسپرم نمونه‌هـای منـی نداشـت. محتـوای مالون دی‌آلدئید اسپرم‌هـای گـروه‌هـای $۱۰^{-۶}$ و $۱۰^{-۲}$ مـولار نانوروی از گروه شاهد کمتر بـود ($P \leq ۰/۰۵$)، ولـی تفـاوتی بین دو سطح نانوروی دیده نشد (شکل ۲).

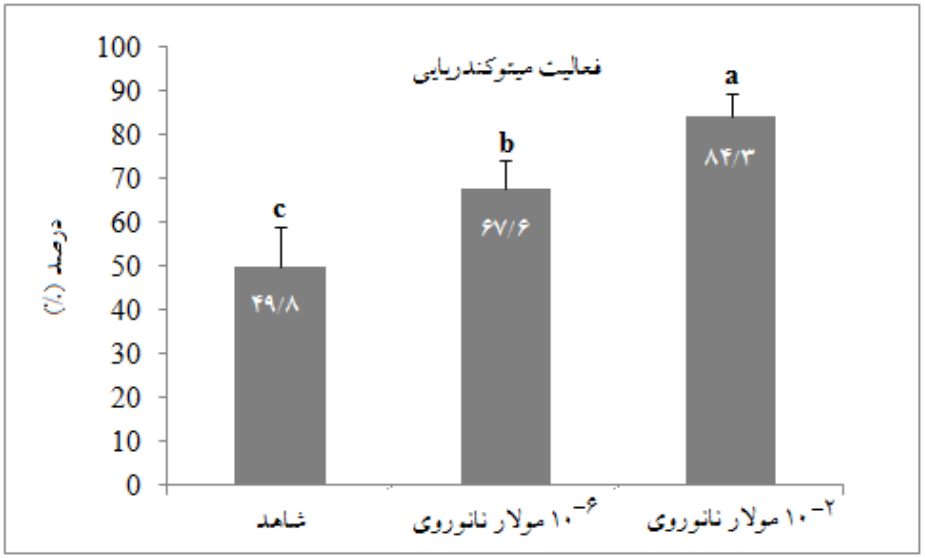


شکل ۱. اثر افزودن سطوح گوناگون نانوذرات روی به رقیق‌کنندهٔ بایوکسل بر تکه‌تکه‌شدن DNA اسپرم گاو پس از فرایند انجماد-یخ‌گشایی (میانگین ± خطای استاندارد از میانگین)

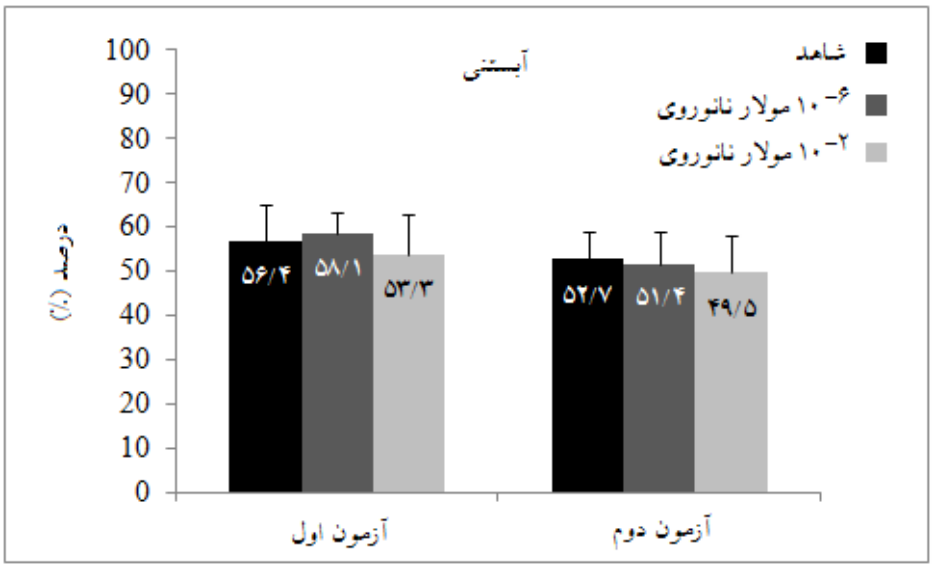


شکل ۲. اثر افزودن سطوح گوناگون نانوذرات روی به رقیق‌کنندهٔ بایوکسل بر محتوای مالون دی‌آلدئید اسپرم گاو پس از فرایند انجماد-یخ‌گشایی (میانگین ± خطای استاندارد از میانگین)

فعالیت میتوکندریایی اسپرم نیز تحت‌تأثیر گروه‌های متفاوت نانوذرات روی قرار گرفت (شکل ۳)، به‌طوری‌که اسپرم‌های گروه‌های $۱۰^{-۶}$ و $۱۰^{-۲}$ مولار نانوروی در مقایسه با گروه شاهد، فعالیت میتوکندریایی بیشتری داشتند ($P \leq ۰/۰۵$). همچنین فعالیت میتوکندریایی اسپرم‌های دریافت‌کنندهٔ سطح $۱۰^{-۲}$ مولار نانوروی بیشتر از اسپرم‌های $۱۰^{-۶}$ مولار نانوروی بود ($P \leq ۰/۰۵$). درصد آبستنی پس از آزمون اول (روز ۳۰ پس از تلقیح) و آزمون دوم (روز ۶۰ پس از تلقیح) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (شکل ۴).



شکل ۳. اثر افزودن سطوح گوناگون نانوذرات روی به رقیق‌کنندهٔ بایوکسل بر فعالیت میتوکندریایی اسپرم گاو پس از فرایند انجماد-یخ‌گشایی (میانگین ± خطای استاندارد از میانگین)



شکل ۴. اثر افزودن سطوح گوناگون نانوذرات روی به رقیق‌کنندهٔ بایوکسل بر درصد آبستنی گاو پس از تلقیح مصنوعی (میانگین ± خطای استاندارد)

در این آزمایش، افزودن سطوح متفاوت نانوذرات روی به رقیق‌کنندهٔ بایوکسل بر پارامترهای حرکتی اسپرم گاو پس از فرایند انجمادیخ‌گشایی بر قطعه‌قطعه‌شدن DNA اثری نداشت. نتایج حاضر با یافته‌های دیگر تحقیقات بر روی سبب بهبود تحرک اسپرم [۸، ۱۰، ۱۳، ۱۵، و ۱۶] و حفاظت از یکپارچگی DNA در مقابل آسیب‌های انجمادی اسپرم، در تناقض است [۱۹ و ۲۰]. البته در این زمینه، مطالعه‌های ضد و نقیض دیگری نیز وجود دارد. برای مثال، استفاده از تورین در اسپرم سگ سبب کاهش قطعه‌قطعه‌شدن DNA نمی‌شود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد [۱۸]. برخی از مطالعات این فرضیه را حمایت می‌کنند که کاهش در غلظت روی می‌تواند اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها را سبب شود، درنتیجه روی نقش مهمی در مهار گونه‌های فعال اکسیژن دارد [۴، ۱۲ و ۲۲].

غلظت مالون دی‌آلدئید شاخصی از سلامت غشای اسپرم است که باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده نانوذرات روی موجب کاهش میزان تولید مالون دی‌آلدئید در نمونه‌ها (غلظت‌های $۱۰^{-۲}$ و $۱۰^{-۶}$ مولار) به نسبت گروه شاهد شد. مالون دی‌آلدئید محصول نهایی لیپید پراکسیداسیون است، کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید در تیمارهای دارای نانوذرات روی در مقایسه با گروه شاهد اثر مهاری نانوذرات روی بر فرایند لیپید پراکسیداسیون است.

در این مطالعه، نانوذرات روی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در هر دو سطح استفاده‌شده سبب افزایش فعالیت میتوکندریایی اسپرم گاو بعد از فرایند انجمادذوب در مقایسه با گروه کنترل شد. میتوکندری دربرگیرندهٔ مسیرهایی برای تولید انرژی است و به‌نظر می‌رسد که حساس‌ترین بخش ساختار اسپرم نسبت به نگهداری در دماهای پایین باشد. انواع اکسیژن‌های فعال می‌توانند تغییراتی را در عملکرد میتوکندری ایجاد کنند که نتیجهٔ آن در تحرک اسپرم بروز می‌کند[۶]. انواع اکسیژن‌های واکنش‌پذیر توانایی لازم را برای جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های مؤثر در فرایندهای فسفوریلاسیون اکسیداتیو، گلیکولیز یا دیگر مسیرهای تولیدکنندهٔ ATP برای سلول اسپرم دارند. استفاده از مواد آنتی‌اکسیدانی می‌تواند سبب خنثی‌شدن اثر اکسیژن‌های فعال بر این آنزیم‌ها شود و درنتیجه از کاهش تحرک اسپرم جلوگیری کند [۳].

از آنجاکه اثر نانوذرات روی بر اسپرم گاو تاکنون بررسی نشده است و این اولین مطالعه‌ای است که به ارزیابی اثر نانوذرات روی بر شاخص‌های کیفیت اسپرم گاو بعد از فرایند انجمادیخ‌گشایی می‌پردازد که این امر مقایسهٔ نتایج موجود را با یافته‌های قبلی دشوار می‌سازد. بنابراین مقایسهٔ این نتایج با نتایج پیشین دشوار است. با وجود این، بررسی تأثیر عوامل دیگری که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند مانند رزماری نشان داد که این عامل توانسته است فعالیت میتوکندری در اسپرم را افزایش دهد و موجب کاهش تولید مالون دی‌آلدئید شود [۲۹].

در موش با استفاده از تکنیک AMG تشخیص داده شده است که روی در میتوکندری اسپرم انباشته می‌شود [۲۵]. روی به میتوکندری پروستات و کبد به‌شکل روی‌سیترات و Zn-MT وارد می‌شود [۹]. به علاوه، نوع غشایی روی ناقل پروتئین ZNT-1، در میتوکندری اسپرم موش بیان می‌شود [۱۱]. میتوکندری ممکن است جایگاهی برای سیستم جابه‌جایی روی باشد و روی به‌تنهایی ممکن است در عملکرد میتوکندریایی سلول‌های جنسی نقش داشته باشد [۲۴].

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن نانوذرات روی به رقیق‌کنندهٔ اسپرم گاو، تولید مالون دی‌آلدئید را کاهش و فعالیت میتوکندریایی اسپرم را افزایش می‌دهد ولی اثری بر راندمان آبستنی در شرایط درون‌تنی، پس از انتقال اسپرم ندارد. با این حال، برای اثبات تأثیرات مفید استفاده از نانوذرات روی در رقیق‌کنندهٔ اسپرم گاو نیاز به مطالعهٔ بیشتر در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی احساس می‌شود.

منابع

۱. رودباری ن، امیری‌نیا س، پریور ک و علیان ر (۱۳۹۲) جایگزینی آنتی‌بیوتیک با نانوذرات نقره در رقیق‌کننده‌های اسپرم گاو. تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی – مولکولی. ۱۰(۳): ۶۵-۶۰.

2. Alvarez JG and Storey BT (1992) Evidence for increased lipid peroxidative damage and loss of superoxide dismutase activity as a mode of sublethal cryodamage to human sperm during cryopreservation. International Journal of Andrology. 13(3): 232-41.

3. Baumber J, Ball BA, Gravance CG, Medina V and Davies MCG (2000) The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential and membrane lipid peroxidation. International Journal of Andrology. 21(6): 895-902.

4. Bagchi D, Vuchetich PJ, Bagchi M, Tran MX, Krohn RL and Ray SD (1998) Protective effects of zinc salts on TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation, glutathione depletion, DNA damage and peritoneal macrophage activation in mice. General Pharmacology. 30(1): 43-50.

5. Bedwal RD and Bahuguna A (1994) Zinc, copper and selenium in reproduction. Experientia. 50(15): 626-40.

6. Breininger VE, Beorlegui NB, Oflaherti CM and Beconi MT (2005) Alpha tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen. Theriogenology. 63(8): 2126-35.

7. Chatterjee S and Gagnon C (2001) Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing, and thawing. Molecular Reproduction and Development. 59(4): 451-8.

8. Chia SE, Onq CN, Chua LH, Ho LM and Tay SK (2000) Comparison of zinc conce ntration in blood and seminal plasma and various sperm parameters between fertile and infertile men. Journal of Andrology. 21(1): 53-7.

9. Costello LC, Guan Z, Franklin RB and Feng P (2004) Metallothionein can function as a chaperone for zinc uptake transport into prostate and liver mitochondria. Journal of Inorganic Biochemistry. 98(4): 664-666.

10. Edorh AP, Tachev K, Hadou T, Gbeassor M, Sanni A, Creppy EE, Le Faou A and Rihn Bh (2003) Magnesium content in seminal fluid as an indicator of chronic prostatitis. Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France). 49: 419-23.

11. Elgazar V and Razanov V (2005) Zinc-regulating proteins, ZnT-1, and Metallothionein I/II are present in different cell populations in the mouse testis. Histochemistry and Cytochemistry. 53(7): 905-912.

12. Endre L, Beck F and Parsad A (1999) The role of zinc in human health. Trace Elements in Experimental Medicine. 3(11): 333-375.

13. Fuse H, Kazama T, Ohta S and Fujiuchi Y (1999) Relationship between zinc concentrations in seminal plasma and various sperm parameters. International Urology and Nephrology. 31(3): 401-8.

14. Lasso JL, Noiles EE, Alvarez JG and Storey BT (1994) Mechanism of superoxide dismutase loss from human sperm cells during cryopreservation. Journal of Andrology. 15(3): 255-65.

15. Hadwan MH, Almashhedy LA and Alsalman ARS (2012) Overal zinc supplementation restore high molecular weight seminal zinc binding protein to normal value in Iraqi infertile men. BMC Urology. 12: 32.

16. Mankad M, Sathawara NG, Doshi H, Saiyed HN and Kumar S (2006) Seminal plasma zinc concentration and α-glucosidase activity with respect to semen quality. Biological Trace Element Research. 110(2): 97-106.

17. Marmar JL, Katz S, Praiss DE and DeBenedictis TJ (1975) Semen zinc levels in infertile and post vasectomy patients and patients with prostatitis. Fertility and Sterility. 26(11): 1057-63.

18. Martins-Bessa A, Rocha A and Mayenco-Aguirre A (2009) Effects of taurine and hypotaurine supplementation and ionophore concentrations on post-thaw acrosome reaction of dog spermatozoa. Therioqenology. 71(2): 248-53.

19. Ménézo YJ, Hazout A, Panteix G, Robert F, Rollet J, Cohen-Bacrie P, Chapuis F, Clément P and Benkhalifa M (2007) Antioxidants to reduce sperm DNA fragmentation :an unexpected adverse effect. Reproductive BioMedicine Online. 14(4): 418-21.

20. Bucaka MN, Sarıozkanb S, Tuncera PB and Sakinc F (2010) The effect of antioxidants on post-thawed Angora goat (Capra hircus ancryrensis) sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities. Small Ruminant Research. 89(1): 24-30.

21. Powell SR (2000) The antioxidant properties of zinc. Nutrition. 130(5): 1447S-1454S.

22. Oteiza PI, Olin KL, Fraga CG and Keen CL (1995) Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. Journal of Nutrition. 125(4): 823-9.

23. Salmani H, Nabi MM, Vaseghi-Dodaran H, Rahman MB, Mohammadi-Sangcheshmeh A, Shakeri M, Towhidi A, Zare-Shahneh A and Zhandi M (2013) Effect of glutathione in soybean lecithin-based semen extender on goat semen quality after freeze–thawing. Small Ruminant Research. 112(1-3): 123-127.

24. Sonoko Y, Chiemi M, Kazuya K, Fritzie T, Tetsuro A, Shinsuke T and Takeshi M (2009) Zinc is an essential trace elemnt for spermatogenesis. Proceeding of the National Academy of Science. 106(26): 10589-10864.

25. Stoltenberg M, Sørensen MB, Danscher G, Juhl S, Andreasen A and Ernst E (1997) Autometallographic demonstration of zinc ion in rat sperm cell. Molecular Human Reproduction. 3(9): 763-767.

26. Wang Y, Sharma RK and Agarwal A (1997) Effect of cryopreservation and sperm concentration on lipid peroxidation in human semen. Urology. 50(3): 409-13.

27. Watson PF (2000) The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. Animal Reproduction Science. 60(1): 481-492.

28. Zago MP and Oteiza PI (2001) The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. Free Radical Biology and Medicine. 31(2): 266-74.

29. Zanganeh Z, Zhandi M, Zare-Shahneha A, Najafi A, Nabi MM, and Mohammadi-Sangcheshmeh A (2003) Does rosemary aqueous extract improve buck semencryopreservation?. Small Ruminant Research. 114(1): 120-125.