اثرات افزودن سیستئامین و ویتامین E بر برخی از فاکتورهای میکروسکوپیک اسپرم گاومیش بعد از یخ‌گشایی

رحیم بهشتی*[۱]، جمشید قیاسی[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، استادیار گروه علوم درمانگاهی، شبستر، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، استادیار گروه علوم پایه، شبستر، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: beheshti@iaushab.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۲/۸/۱۲ پذیرش نهایی: ۹۳/۴/۳)

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی تاثیر ویتامین E و سیستئامین بر کیفیت اسپرم پس از یخ‌زدایی در گاومیش انجام گردید. برای این منظور تعداد ۲۰ انزال از چهار رأس گاومیش نر جمع‌آوری شد. نمونه‌های منی با کیفیت عالی و داشتن بیش از ۷۰ درصد اسپرماتوزویید با تحرک رو به جلو در دمای ۳۷ درجه سلسیوس با رقیق‌کننده‌های تجاری بایوکسل رقیق و پس از مرحله خنک شدن در دمای چهار درجه سلسیوس ظرف مدت دو ساعت و اعمال زمان تعادل، متعاقب افزودن ۰/۷۵، ۱/۵، ۲ و ۵ میلی‌مول ویتامین E و ۷/۵، ۱۲/۵، ۱۵ و ۲۰ میلی‌مول سیستئامین به ازای هر ۹۰ میلی‌لیتر رقیق کننده، در پایت‌های ۰/۵ میلی‌لیتری فرانسوی بسته‌بندی شد و با اعمال زمان انجماد مشخص قبل از ورود به ازت مایع، منجمد و داخل ظروف حاوی ازت مایع نگه‌داری شدند. پس از ۷۲ ساعت، یخ‌گشایی نمونه پایوت‌های منجمد مورد نظر در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٤٠ ثانیه صورت گرفت. میزان تحرک و برخی فراسنجه‌های کیفی نمونه‌های مورد نظر پس از یخ‌گشایی با استفاده از سیستم ارزیابی کامپیوتری الگوی تحرک اسپرم مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان دادند، افزودن ۲۰ میلی‌مول سیستئامین و ۱/۵ میلی‌مول ویتامین E به رقیق کننده تجاری بایوکسل باعث افزایش میزان تحرک و برخی فراسنجه‌های کیفی اسپرم گاومیش پس از یخ‌زدایی شد ($p<۰/۰۵$).

نشریه آسیب‌شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۱۳۹۲، دوره۷، شماره ٤، پیاپی ۲۸، صفحات ۲۷٦-۲٦۸

کلیدواژه‌ها: انجماد منی، گاومیش، ویتامین E، سیستئامین.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

گاومیش اهلی، *بوبالوس بوبالیس*، یک گونه متمایز در خانواده بوویدا است. جمعیت گاومیش به طور پیوسته افزایش می‌یابد و بیش از ۱۷۰ میلیون رأس تخمین زده می‌شود (FAO, 2004). طبق آماری که کمیته آمار جهاد سازندگی گزارش کرده است، تعداد کل گاومیش‌های ایران در سال ۱۳۸۸ حدود ٤٧٥ هزار رأس برآورد شده است (منافی آذر، ۱۳۸۹). پتانسیل تولید حیوانات اهلی با اصلاح ژنتیکی و با استفاده از یکی از شیوه‌های مدرن اصلاح نژاد و برای مثال تلقیح می‌تواند افزایش یابد. البته کیفیت منی منجمد- یخ‌زدایی شده یکی از فاکتورهای مهم تاثیرگذار روی احتمال لقاح تخم است (Saacke, 1984). مشکلات مربوط به استحصال منی با کیفیت از گاومیش‌های نر با امتیاز تولیدمثلی بالا به همراه چندین عامل دیگر، گسترش تلقیح مصنوعی را محدود می‌کند. به خاطر قابلیت انجماد و باروری ناچیز اسپرماتوزوآی گاومیش وقتی که با اسپرماتوزوآی گاو مقایسه می‌شود، کاربرد تلقیح مصنوعی با منی منجمد- یخ‌گشایی شده در مقیاس محدودی گزارش شده است (Andrabi *et al.*, 2008; Kumaresan *et al.*, 2005; Senatore *et al.*, 2004; Ahmad *et al.*, 2003). اولین بچه گاومیشی که به صورت مصنوعی تلقیح شده بود، در انستیتو کشاورزی الله‌آباد در هند، در سال ۱۹٤۳ متولد شد. در پستانداران، پلاسمای منی حاوی یک تعداد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و پاک کننده‌های رادیکال‌های آزاد شبیه ویتامین E، C، هیپوتائورین، تائورین و آلبومین می‌باشد (Lewis *et al.*, 1997; Zini *et al.*, 2002).

این تحقیق به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف آنتی‌اکسیدان‌های سیستئامین، ویتامین E روی فراسنجه‌های میکروسکوپی منی در گاومیش‌های ایرانی موجود در ایستگاه تحقیقاتی پرورش و اصلاح نژاد گاومیش شمال غرب کشور (مرکز تحقیقاتی جبل) پس از رفع انجماد منی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مرکز پرورش و اصلاح نژاد گاومیش شمال‌غرب کشور (ایستگاه جبل- ارومیه) واقع در استان آذربایجان‌غربی، شهرستان ارومیه با استفاده از چهار رأس گاومیش نر با میانگین سن (٤/۲±۰/٤) سال از اکوتیپ بومی (آذربایجان) انجام پذیرفت. عمل جمع‌آوری منی با استفاده از مهبل مصنوعی مخصوص گاومیش (مدل گاومیش IMV فرانسه) هفته‌ای دو بار انجام گرفت. بلافاصله پس از جمع‌آوری، کیفیت منی در گسترش ضخیم از لحاظ تراکم و تحرک زیر میکروسکوپ صفحه گرم ارزیابی و ثبت گردید. پس از ارزیابی اولیه، نمونه‌های منی اخذ شده با مقادیر ۰/۷۵، ۱/۵، ۲ و ۵ میلی‌مول ویتامین E و ۷/۵، ۱۲/۵، ۱۵ و ۲۰ میلی‌مول سیستئامین در رقیق‌کننده بایوکسل (BioXell, Cosmo Pharmaceuticals, Italy) رقیق گردیده و بعد از طی یک ساعت سرد شدن، در دمای ۳۷ درجه سلسیوس بن‌ماری و اعمال زمان تعادل به مدت چهار ساعت در دمای چهار درجه سلسیوس یخچال به طور اتوماتیک در پایوت‌های ۰/۵ میلی‌لیتری (با احتساب ۲۰×۱۰^{٦} اسپرماتوزوئید در هر پایوت) بسته‌بندی و در ازت مایع منجمد شدند. پایوت‌های ۰/۵ میلی‌لیتری منی منجمد تهیه شده به

Archive of SID
www.SID.ir

تفکیک برای گروه‌های درمانی مورد آزمایش از ظرف ازت مایع نگه‌داری (۱۹۶- درجه سلسیوس) بیرون آورده شد و در حمام آب گرم در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٤٠ ثانیه، عمل یخ‌زدایی روی آن‌ها انجام گرفت. برای هر نمونه مورد نظر حداقل پنج پایوت استفاده شده و درصد تحرک، درصد اسپرماتوزوییدهای با حرکت پیش‌رونده رو به جلو و شاخص‌هایی نظیر Curvilnear Velocity (VCL)، Straight-line Velocity (VSL)، Average path Velocity (VAP)، Beat–Cross Frequency (BCF)، Amplitude of Lateral Head Displacement (ALH)، Linearity (LIN)، Straightness (STR) و Wobble (WOB) به تفکیک برای نمونه‌های منی رقیق شده مورد نظر به‌وسیله سیستم ارزیابی کامپیوتری الگوی تحرک اسپرم (CASA) -Computer Assisted Sperm Analysis مورد بررسی قرار گرفت. میزان سوپر اکسید دیسموتاز به روش سان و زیمن (۱۹۷۸) با اسپکتروفتومتر (٥٦٠ نانومتر) سنجش شد (Sun and Zigman, 1978). داده‌های به‌دست آمده از این تحقیق با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ١٦) مدل خطی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و جهت مقایسه میانگین بین تیمارهای آزمایش و شاهد از آزمون دانکن استفاده شد. داده‌ها در سطح احتمال ٥ درصد ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار تلقی شده و تمامی نتایج نیز به صورت میانگین ± انحراف استاندارد نشان داده شده است.

یافته‌ها

بر اساس جدول ۱ افزودن ویتامین E با سطوح ۱/٥ و ۲ میلی‌مول موجب افزایش غیر معنی‌دار میزان تحرک کلی اسپرماتوزوئیدها نسبت به گروه کنترل گردید (به‌ترتیب ۳۸/٤٤±۹/۷۹ و ۲٦/٤٦±٥/٥۳ در مقابل ۱۷/٥۱±٤/۰٦). درصد اسپرم‌های دارای حرکت پیشرونده در تیمار حاوی ۱/٥ میلی‌مول ویتامین E نسبت به تیمار کنترل بالاتر (به‌ترتیب ۱۱/٥٦±/۷٦ ۳٤ در مقابل ۱۳/۲٥±۳/۹۰) بود ($p<۰/۰۵$). درصد اسپرم‌های تیپ A در تیمار حاوی ۱/٥ میلی‌مول ویتامین E بیشترین و در تیمار حاوی ۲ میلی‌مول ویتامین E کمترین میزان بود ($p<۰/۰۵$).

تیمار حاوی ۱/٥ میلی‌مول ویتامین E از نظر فاکتورهای BCF, VSL, MAD و VAP تفاوت معنی‌دار با تیمار کنترل و دیگر تیمارهای ویتامین E داشت ($p<۰/۰۵$). بیشترین درصد STR, LIN و WOB متعلق به تیمار حاوی ۱/٥ میلی‌مول ویتامین E بود ($p<۰/۰۵$). اثرات افزودن ویتامین E به رقیق کننده بایوکسل در فعالیت آنتی اکسیدانی منی منجمد- یخ‌زدایی شده گاومیش در نمودار ۱ نشان داده شده است.

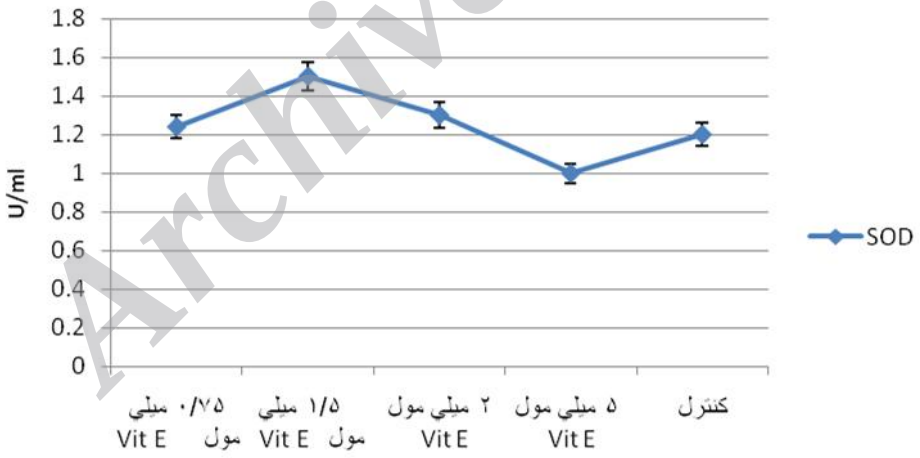
همان‌طور که مشاهده می‌شود پایین‌ترین سطح سوپراکسیددیسموتاز (SOD) متعلق به تیمار حاوی ٥ میلی‌مول (۰/۹±۰/۱٥) و بیشترین سطح SOD متعلق به تیمار حاوی ۱/٥ میلی‌مول ویتامین E (۱/٥±۰/۱۰) بود.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- شاخص‌های کمی نمونه‌های منی منجمد-یخ‌گشایی شده حاوی مقادیر متفاوت ویتامین E (میانگین±انحراف استاندارد)

فاکتور	گروه ویتامین E (میلی مول)				
	کنترل	۰/۷۵	۱/۵	۲	۵
درصد تحرک	۱۷/۵۱±٤/۰٦^{ab}	۱۵/۷۱±۱/۰۹^{ab}	۳۸/٤±۹/۷۹^{a}	۲٦/٤٦±۵/۳۵^{ab}	۷/۷±۱/۰۲^{b}
درصد اسپرم‌ها با تحرک پیش‌رونده	۱۳/۲۵±۳/۹۰^{b}	۱٤/۳±۰/٤۱^{b}	۳٤/۷٦±۱۱/۵٦^{a}	۲۳/٦۵±٤/۸۷^{ab}	۵/۲ ±۱/۱۵^{b}
اسپرم‌های تیپ A	۳/۷۵±۱/۹۷^{b}	۱۰/۷±۲/۰۷^{ab}	۲۱/۱±۸/٤٤^{a}	۹/۵۲±٤/۸۲^{ab}	۱/۸۱±۱/۱٦^{b}
اسپرم‌های تیپ B	۹/۵۱±۲/۵۰^{ab}	٤/۰٤±۲/۱۱^{b}	۱۳/۵ ±۵/۲۲^{a}	۱٤/۱۳±۰/۸٦^{a}	۳/۷۱±۱/۱۱^{b}
اسپرم‌های تیپ C	٤/۲۵±۱/۳۹	۱/۱۹ ±۱/۱۹	۳/٦۷ ±۲/۲۲	۲/۸۱±۰/۷۵	۲/٤٤±۱/۲۳
اسپرم‌های تیپ D	۸۲/٤۸±٤/۰٦^{ab}	۸٤/۲۸ ±۱/۰۹^{ab}	٦۱/۵۵±۹/۷۹^{c}	۷۳/۵٤±۵/۵۳^{bc}	۹۲/۲±۱/۰۲^{a}
VCL (µm/s)	۱۷/۹۸±۱/۱٦^{ab}	۱٤/۸ ±۱/٤۵^{ab}	۲۷/۲ ±۵/۷٤^{a}	۱۸/٤۸±۱/٤٤^{ab}	۱۳/۹±۰/۵۰^{ab}
VSL (µm/s)	٤/۵۸±۱/۲۵^{b}	۵/۵ ±۰/۰٦^{b}	۱٤/٤۲ ±۰/۳۵^{a}	۵/۹۹±۱/۱۵^{b}	۲/۳۱±۱/۱۵^{b}
VAP (µm/s)	۷/۵۸±۱/۳^{b}	۷/۲۱±۰/۳۳^{a}	۱۷/۲٦ ±٤/۷٤^{b}	۸/٤±۱/۱۷^{b}	٤/۵±۰/٤۰^{b}
MAD	۲۲/۳۷±۰/۲٤^{b}	۱۳/۸±٦/۸۷^{b}	۲۷/٦±۳/۰۲^{a}	۲۲/۳۰±۲/٦٦^{b}	۱۵/۸±۱/۱۲^{b}
ALH	۱/۰۹±۰/۰۳^{ab}	۰/۸۱±۰/۰۹^{c}	۱/۲٦±۰/۰۸^{a}	۱/۰۲±۰/۰۷^{bc}	۰/۹±۰/۰۳^{bc}
BCF	۱/٦۹±۰/۰۸^{b}	۱/٤٦±۰/۱٦^{b}	۳/۲۵±۰/۰٦^{a}	۲/۱۳±۰/۵۱^{b}	۱/٤۳±۰/۲٤^{b}
LIN	۱۷/٦۰±۱/۸۸^{bc}	۲۲/۰۹±۱/٦۱^{bc}	۳۷/۰۷±۷/۳۱^{a}	۲۵/۳۸±٤/٤٤^{ab}	۱۱/۰۷±۱/۳۳^{c}
WOB	۳۵/۸٦±۱/۷۹^{b}	٤۰/٤۳±٤/٤٤^{b}	۵۲/۹۲±٤/۰۷^{a}	۳۵/۸٦±۱/۷۹^{b}	۳۰/۰٤±۱/٦۷^{b}
STR	٤۵/۳۲±۱/۳۳^{b}	٤٦/۲۲±۳/۹۰^{b}	٦۳/۵۳±۹/۸۳^{a}	۵۱/۰٦±۲/٤۹^{ab}	۳۵/۳۱±۲/۵۷^{b}

a-c: در هر ردیف اعدادی که دارای حروف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌داری دارند (p<۰/۰۵)



نمودار ۱- اثر سطوح مختلف ویتامین E بر میزان سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در تیمارهای آزمایشی و کنترل

بر اساس جدول ۲ افزودن سیستئامین با سطح ۲۰ میلی‌مول بیشترین (۱۳/۵۵±۳۸/۱٦) و سطح ۷/۵ میلی‌مول سیستئامین به‌همراه گروه کنترل کمترین (۷/۰۵±۱/۸۷) میزان تحرک کلی اسپرماتوزوئیدها را سبب گردید (p<۰/۰۵). بیشترین و کمترین درصد اسپرم‌های دارای حرکت پیشرونده به‌ترتیب در تیمار

Archive of SID
www.SID.ir

حاوی ۲۰ و ۷/۵ میلی‌مول سیستئامین به‌همراه گروه کنترل بود ($p<۰/۰۵$). درصد اسپرم‌های تیپ A در تیمار حاوی ۲۰ میلی‌مول سیستئامین بیشترین و در تیمار حاوی ۷/۵ میلی‌مول سیستئامین کمترین میزان بود ($p<۰/۰۵$).

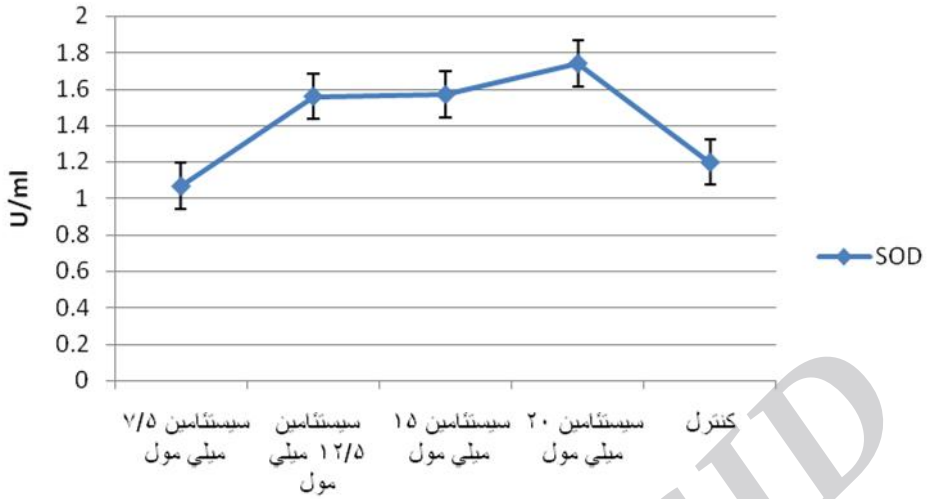
تیمار کنترل و تیمار حاوی ۷/۵ میلی‌مول سیستئامین از نظر فاکتور VSL، VSL، BCF، MAD و VAP تفاوت معنی‌دار با تیمار حاوی ۲۰ میلی‌مول سیستئامین داشت ($p<۰/۰۵$). بیشترین درصد LIN و WOB متعلق به تیمار حاوی ۲۰ میلی‌مول سیستئامین بود ($p<۰/۰۵$). کمترین درصد ALH متعلق به تیمار حاوی ۷/۵ میلی‌مول سیستئامین بود. اثرات افزودن سیستئامین به رقیق کننده در فعالیت آنتی اکسیدانی منی منجمد-یخ‌زدایی شده گاومیش در نمودارهای (۲) نشان داده شده است. تفاوت معنی‌دار سطح SOD در تیمارهای حاوی ۱۲/۵، ۱۵ و ۲۰ میلی‌مول سیستئامین نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲- شاخص‌های کمی نمونه‌های منی منجمد-یخ‌گشایی شده حاوی مقادیر متفاوت سیستئامین (میانگین±انحراف استاندارد)

فاکتور	گروه سیستئامین (میلی‌مول)				
	کنترل	۷/۵	۱۲/۵	۱۵	۲۰
درصد تحرک	۱۷/۵۱±٤/۰٦^{ab}	۷/۰۵±۱/۸۷^{b}	۲۵/۵٤±۹/۲٦^{ab}	۲۵/۲۱±۱/۸۷^{ab}	۳۸/۱٦±۱۳/۵۵^{a}
درصد اسپرم‌ها با تحرک پیش رونده	۱۳/۲۵±۳/۹۰^{b}	٤/٦۷±۲/۹۹^{b}	۲۳/٤۱±۷/۲۹^{ab}	۲۱/۱٤±۳/۸۲^{ab}	۳۱/۷۰±۲۱/۲۵^{a}
اسپرم‌های تیپ A	۳/۷۵±۱/۹۷^{b}	۰/۸۵±۰/۱۱^{b}	۱۱/۷۸±۲/۱٦^{ab}	۱۱/۹۲±٤/۰۰^{ab}	۱٦/۳٦±٦/۸۹^{a}
اسپرم‌های تیپ B	۹/۵۱±۲/۵۰^{ab}	۳/۷۵ ±۲/۲۲	۱۱/٦۳ ±۵/۱۳	۹/۲۳ ±۲/۱۳	۱۵/۳۱±۵/٤۵
اسپرم‌های تیپ C	٤/۲۵±۱/۳۹	۳/۵۷ ±۱/۷۲	۳/۱۳ ±۲/۰۱	٤/۰٦ ±۲/٤۵	٦/٤۵±۱/۸۱
اسپرم‌های تیپ D	۸۲/٤۸±٤/۰٦^{ab}	۹۳/۰۱±۱/۹۳^{a}	۷۳/٤۵±۹/۲٦^{ab}	۷٤/۷۸±۵/۱۰^{ab}	٦۱/۸۳±۱۳/۵۵^{b}
VCL (µm/s)	۱۷/۹۸±۱/۱٦^{ab}	۱۳/۸۸±۱/٦۸^{b}	۱۹/۱۵±۳/۵٦^{ab}	۲۱/۲۸±۲/۰۰^{ab}	۲٦/٦۰±۵/۵٤^{a}
VSL (µm/s)	٤/۵۸±۱/۲۵^{b}	۲/۱۷±۰/۵۱^{b}	۷/۱۹±۲/۰۱^{ab}	۸/۲۷±۱/۹۲^{ab}	۱۱/۰۲±٤/۰۸^{a}
VAP (µm/s)	۷/۵۸±۱/۳^{b}	٤/٦۲±۰/۰۸^{b}	۱۰/۰٤±۲/۵۲^{ab}	۱۱/۲٦±۱/۸۰^{ab}	۱٤/۷۳±٤/٦۹^{a}
MAD	۲۲/۳۷±۰/۲٤^{b}	۱۷/۷۵±٤/۱۹^{b}	۲۵/۱۸±۵/۳۹^{ab}	۲٦/۳۷±۲/٤۰^{ab}	۳٤/٦۱±۷/۱۹^{a}
ALH	۱/۰۹±۰/۰۳^{ab}	۰/۹۵±۰/۰۷^{b}	۱/۰۷±۰/۱۳^{ab}	۱/۱۷±۰/۰۵^{ab}	۱/۳۲±۰/۱۵^{a}
BCF	۱/٦۹±۰/۰۸^{b}	۱/٤۵±۰/۲۲^{b}	۲/۵۸±۰/۳۲^{ab}	۲/۷۸±۰/٤۲^{ab}	۳/٤٦±۰/۷۷^{a}
LIN	۱۷/٦۰±۱/۸۸^{bc}	۱٤/٤۹±۵/۹۲^{a}	۲٦/۰۸±۳/۹٤^{a}	۲٦/۰۷±۳/۲۷^{ab}	۲۹/۰٦±٦/۰۲^{a}
WOB	۳۵/۸٦±۱/۷۹^{b}	٤۳/۵۹±۳/۷۸^{a}	۳۳/۷٤±٤/۷۷^{ab}	٤٤/۵۳±۱/۷۰^{ab}	٤٦/۸۹±۵/٤٦^{a}
STR	٤۵/۳۲±۱/۳۳^{b}	۵۳/۳۹ ±۵/۲۱^{a}	٤۱/٤۷ ±۷/۸۷^{b}	۵۲/٤۸ ±۳/۲۰^{a}	۵۵/۱۱±٤/۹۵^{a}

a-b: در هر ردیف اعدادی که دارای حروف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$)

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۲- اثر سطوح مختلف سیستئامین بر میزان سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در تیمارهای آزمایشی و کنترل

بحث و نتیجه‌گیری

به‌نظر می‌رسد ویتامین E ترکیب اولیه سیستم آنتی‌اکسیدانی اسپرم بوده و نقش اصلی را در برابر حفاظت اسپرم از رادیکال‌های آزاد و آنزیم‌های تجزیه‌کننده لیپید غشاء اسپرم فراهم می‌کند. در مطالعه بانسال و بیلاسپوری در سال ۲۰۰۹ سه سطح ویتامین E (۱، ۲ و ۲/۵ میلی‌مول) به اسپرم گاو نر اضافه شد و تمامی دزهای ویتامین E سبب افزایش تحرک اسپرم و افزایش ماندگاری آن شده و باعث کاهش لیپید پراکسیداز گردید و غلظت ۲ میلی‌مول ویتامین E بیشترین تاثیر را داشت (Bansal and Bilaspuri, 2009). در مطالعه ما نیز ٤ سطح ویتامین E به اسپرم گاومیش اضافه شد و پس از انجماد در مقایسه با شاهد درصد تحرک و ماندگاری بیشتر بود و بیشترین تاثیر از نظر تحرک و شاخص‌های کمی اسپرم در تحقیق حاضر، در تیمار ۱/۵ میلی‌مول مشاهده گردید که با نتیجه بنسال و بیلاسپوری همخوانی دارد. در بررسی موحدیان و همکاران در سال ۱۳۸۷ در مورد تاثیر ویتامین E بر کیفیت اسپرم منجمد و یخزدایی شده انسانی مشاهده شد که افزودن سطوح ۱ و ۲ میلی‌مولار ویتامین E سبب افزایش درصد تحرک، درصد حرکت پیش‌رونده و افزایش درصد زنده‌مانی اسپرم شد (Movahedin *et al.*, 2008). در مطالعه ما سطح ۵ میلی‌مول ویتامین E در رقیق کننده سبب افت شاخص‌های کیفی نمونه‌های منی مورد بررسی شد که این اختلاف می‌تواند ناشی از تفاوت گونه مورد بررسی با مطالعات ذکر شده باشد. در مطالعه اندرابی و همکاران درسال ۲۰۰۸ در مورد تاثیر ویتامین E در رقیق کننده منی با پایه تریس در زمان‌های صفر و ٦ ساعت پس از یخزدایی و انکوباسیون منی گاومیش، درصد اسپرم‌های با آکروزوم طبیعی پس از انجماد و یخزدایی در مقایسه با گروه شاهد بیش‌تر بود (Andrabi *et al.*, 2008). در مطالعه برینگر و همکاران در سال ۲۰۰۵ رقیق‌کننده منی خوک حاوی ویتامین E در مقایسه با گروه شاهد سبب افزایش درصد تحرک، درصد زنده‌مانی و افزایش درصد تورم آکروزوم در

Archive of SID
www.SID.ir

محیط هایپواسموتیک شده و بهترین نتیجه در غلظت ۲ میلی‌مول به دست آمد (Breinger *et al*., 2005). نتایج مطالعه برزینسکا و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان داد که آلفاتوکوفرول باعث تحرک و افزایش زنده‌مانی اسپرم خوک شد. علاوه بر این اثرات این ماده نسبت به غلظت آن متفاوت است به‌طوری که غلظت‌های بالای آلفاتوکوفرول اثرات اکسیداتیو ولی غلظت‌های پائین آن اثرات آنتی‌اکسیداتیو دارد (Brezeinska *et al*., 1995). نتایج تحقیق حاضر با نتیجه مطالعه برزینسکا و همکاران در سال ۱۹۹۵ در خصوص اثر سمی سطوح بالای ویتامین E همخوانی دارد.

بر اساس گزارشات، افزودن اسیدهای آمینه انتخابی (گلوتامین، گلایسین، آلانین و سیستئن) به رقیق‌کننده (تریس، سیترات، فروکتوز و گلیسرول) منی گاومیش قبل از انجماد، باعث بهبود فراسنجه‌های کیفیت منی گاومیش بعد از رفع انجماد شده است (El-Sheshtawy *et al*., 2008). ترکیبات تیولی با وزن ملکولی کم مانند سیستئامین و بتا-مرکاپتواتانول سبب تحریک جذب سیستین توسط سلول‌های پستانداران شده، منجر به افزایش تولید داخل سلولی گلوتاتیون می‌شود. در مطالعه چیفچی و همکاران در سال ۲۰۰۹ ملاحظه شد، ان-استیل سیستئین (NAC) اثر مثبتی بر پارامترهای منی مانند حجم، تحرک و ویسکوزیته داشت (Ciftci *et al*., 2009). همچنین NAC سبب کاهش انواع اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) در پلاسما و کاهش ویسکوزیته منی شد (Ciftci *et al*., 2009). ادا و همکاران در سال ۱۹۹۷ اسپرم انسان را با NAC در دمای اتاق مجاور نموده و ملاحظه کردند که این عمل سبب بهبود تحرک و کاهش ROS منی گردید (Oeda *et al*., 1997). افزودن سیستئامین، تائورین، تره‌هالوز و هیالورونان به رقیق کننده قبل از انجماد، باعث افزایش تحرک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسپرم گوسفند شد (Bucak *et al*., 2007). افزودن آنتی‌اکسیدان‌هایی از قبیل تائورین، هیپوتائورین، گلوتانین، گلوتانین اکسیده، سیستئین، آلبومین سرم گاوی، تره‌هالوز و هیالورونان به رقیق کننده قبل از انجماد باعث تاثیر مثبت بر درصد تحرک اسپرم، مورفولوژی اسپرم، درصد قابلیت زنده-مانی اسپرم و محافظت فراسنجه‌های منی پس از رفع انجماد می‌گردد (Uysal *et al*., 2007).

این مطالعه نشان داد که الحاق ترکیباتی مانند ویتامین E و سیستئامین با سطوح مناسب به رقیق کننده قبل از فرآیند انجماد منی گاومیش، تاثیر مناسبی در بهبود شاخص‌های ارزیابی منی منجمد نظیر میزان درصد تحرک و برخی فراسنجه‌های کیفی اسپرماتوزوییدها دارد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر از طرح پژوهشی شماره ۵۱۹۵۵۹۰۰۳۰۱۰۰۱ با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر استخراج شده است. بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر تشکر و قدردانی می‌گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

- منافی آذر، ق.، محسن پور آذری، ع. و رزاق زاده، س. (۱۳۸۹). بررسی وضعیت بهداشت و تولید مثل گاومیش در شرایط بومی استان آذربایجان غربی. مجموعه گزارش‌های علمی، مرکز پژوهش‌ها منابع طبیعی و امور دام استان آذربایجان‌غربی، قابل دسترسی در تارنمای: http://www.jkmt.ir/article/m2/455.pdf.
- Ahmad, Z., Anzar, M., Shahab, M., Ahmad, N. and Andrabi, S.M.H. (2003). Sephadex and sephadex ion-exchange filtration improves the quality and freezability of low-grade buffalo semen ejaculates. Theriogenology, 59: 1189-1202.
- Andrabi, S.M.H., Ansari, M.S., Ullah, N. and Afzal, M. (2008). Effect of non-enzymatic antioxidants in extender on post-thaw quality of buffalo (bubalus bubalis) bull spermatozoa. Pakistan Veterinary Journal, 28(4): 159-162.
- Bansal, A.K. and Bilaspuri, G.S. (2009). Antioxidant effect of vitamin E on motility, viability and lipid peroxidation of cattle spermatozoa under oxidative stress. Animal Science Papers and Reports, 27(1): 5-14.
- Breinger, E., Beorlegui, N., Flaherty, C. and Beconi, M. (2005). Alpha-tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar. Theriogenology, 63: 2126-2135.
- Brezezinska, E., Slebodzinski, A., Pietras, B. and Wieczork, G. (1995). Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar seminal plasma. Biological Trace Element Research, 47: 69-74.
- Bucak, M.N., Atessahin, A., Varıslı, O., Yuce, A., Tekin, N. and Akcay, A. (2007). The influence of trehalose, taurine, cysteamine and hyaluronan on ram semen: Microscopic and oxidative stress parameters after the freeze–thawing process. Theriogenology, 67(5): 1060-1067.
- Ciftci, H., Verit, A., Savas, M., Yeni, E. and Erel, O. (2009). Effects of N-acetylcysteine on semen parameters and oxidative/antioxidant status. Urology, 74(1): 73-76.
- Dehghani Ghale-jughi, H. (1991). Study of reproductive glands in non-castrated male buffaloes in west Azerbaijan. DVM thesis, Urmia University, Thesis No. 245.
- El-Sheshtawy, R.I., El-Sisy, G.A. and El-Nattat, W.S. (2008). Use of selected amino acid to improve buffalo bull semen cryopreservation. Global Veterinaria, 2(4): 146-150.
- Food and Agricultural Organization. (2004). FAOSTAT, global livestock production and health atlas. Animal production and health division, Rome, Italy. www.fao.org/ag/aga/glipha/index.jsp.
- Kumaresan, A., Ansari, M.R. and Abhishek, G. (2005). Modulation of post-thaw sperm functions with oviductal proteins in buffaloes. Animal Reproduction Science, 90: 73-84.
- Lewis, S.E.M., Boyle, P.M., Mckinney, K.A., Young I.S. and Thompson, W. (1997). Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. Fertility and Sterility, 67: 142-147.
- Movahedin, M., Bejnurdi, M., Amanpour, S. and Hamid Abadi, H. (2008). Effect of antioxidant on quality of frozen–thawed sperm by vitrification method, Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 63: 27-20.
- Oeda, T., Henkel, R., Ohmori, H. and Schill, W.B. (1997). Scavenging effect of N-acetyl-l-cysteine against reactive oxygen species in human semen: a possible therapeutic modality for male factor infertility. Andrologia, 29: 125-131.
- Saacke, R.G. (1984). Semen quality: importance of and influencing factors (abstract). Paper. Presented in NAAB 10th Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction, pp: 30-36.

Archive of SID

www.SID.ir

- Senatore, E.M., Verberckmoes, S., Pascale, M. and Presicce, GA. (2004). A deep utero-tubal semen deposition in Mediterranean Italian buffaloes using a new artificial insemination device. Reproduction, Fertility and Development, 16: 133.
- Sun, M. and Zigman, S. (1978). Determination of superoxide dismutase in erythrocytes using the method of adrenaline auto oxidation. Analytical Biochemistry, 90: 81-89.
- Uysal, O., Bucak, M.N., Yavas, I. and Varıslı, O. (2007). Effect of various antioxidants on the quality of frozen–thawed bull semen. Journal of Animal and Veterinary Advances, 6(2): 1362-1366.
- Zini, A.M., Fischer, A., Mak, V., Phang, D. and Jarvi, K. (2002). Catalase-like and superoxide dismutase-like activities in human seminal plasma. Urological Research, 30: 321-323.

Archive of SID

www.SID.ir