اثر سیلی‌مارین بر پراکسیداسیون چربی اسپرم قوچ پس از ذخیره‌سازی در ٤ درجه سانتی‌گراد

پروانه پریسوژ*، محمد روستایی علی‌مهر
گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان
***نویسنده مسئول:** *parvane_parisoujh@yahoo.com*

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر سیلی‌مارین بر اسپرم قوچ ذخیره شده به صورت مایع در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد بود. تعداد ۲۰ انزال در ۵ نوبت از چهار راس قوچ تالشی با استفاده از واژن مصنوعی جمع‌آوری شد. در هر نوبت انزال‌ها تجمیع و با رقیق کننده تریس-فروکتوز رقیق شد. سپس نمونه به ۵ قسمت تقسیم شد و مقدار صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر سیلی‌مارین اضافه شد. نمونه‌ها تا دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سرد و ذخیره شدند. پس از ٤۸ ساعت، میزان غلظت مالون-دی‌آلدهید (MDA)[1] اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدهید به‌ترتیب در شاهد (۰/۰۱٦ ± ۰/٤۰) و تیمارهای ۱۵۰ µg/mL (۰/۰۲۲ ± ۰/۱۷) و ۲۰۰ µg/mL (۰/۰۳۱ ± ۰/۱٦) مشاهده شده‌است (P<۰/۰۵). بنابراین افزودن سیلی مارین به منی قوچ سبب کاهش پراکسیداسیون چربی طی زمان ذخیره سازی در ٤ درجه سانتی گراد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: *آنتی‌اکسیدان، اسپرم قوچ، سیلی‌مارین، مالون‌دی‌آلدهید*

مقدمه

تلاش‌های زیادی برای کاهش صدمات وارد بر اسپرم در طی زمان نگهداری آنها صورت گرفته است که یکی از آن‌ها افزودن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است. عصاره‌ی بذر خارمریم، گیاهی از خانواده‌ی کاسنی، دارای فلاوونوئیدهای متعدد از جمله سیلی‌بین، سیلی‌کریستین، سیلی‌دیانین و ایزوسیلیبین است و این فلاوونوئیدها اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی دارند که مجموعه‌ی این فلاوونوئیدها سیلی‌مارین نامیده می‌شود (گازک و همکاران، ۲۰۰۷). سیلی مارین به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، آنتی لیپید پراکسیداز، آنتی فیبروتیک، ضد قارچی، ضد التهاب، تنظیم ایمنی بدن و اثرات ترمیمی سلول‌های کبد در درمان اختلالات کلیوی، بیماری‌های کبدی، چربی‌خون بالا، التهاب مجرای صفراوی، اختلالات سیستم عصبی، غدد درون‌ریز، سیستم ایمنی، درمان سرطان، دیابت، پوکی استخوان، آب‌مروارید، و سمیّت‌های حاد و مزمن مورد استفاده قرار می‌گیرد (آگاروال و همکاران، ۲۰۰٦). بنابراین هدف از این پژوهش تعیین اثر سیلی‌مارین بر پراکسیداسیون چربی اسپرم قوچ پس از ذخیره سازی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پاییز سال ۱۳۹۱ در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان با استفاده از ٤ رأس قوچ نژاد تالشی انجام شد. نمونه‌های انزالی با استفاده واژن مصنوعی جمع‌آوری شد. نمونه‌گیری به صورت دو بار در هفته و در طول فصل تولیدمثل در پنج نوبت انجام شد. نمونه‌ها به‌صورت حجم به حجم ۱:۱ با بافر تریس-فروکتوز رقیق شد و به‌وسیله فلاسک عایق، حاوی آب ۳۷°c به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه، ارزیابی اولیه بر روی نمونه‌ها انجام شد و نمونه‌های دارای تحرک کم‌تر از ۷۰

[1] Malondialdehyde = MDA

درصد و غلظت کم‌تر از $۲/۵ \times ۱۰^{۹}$ حذف شدند. نمونه‌ها تجمیع شدند و با رقیق کننده تریس- فروکتوز حاوی ۱۵ درصد زرده تخم مرغ تا غلظت اسپرم $۱/۶ \times ۱۰^{۹}$ رقیق شدند. مقدار mg ۴۰۰ سیلی‌مارین (تهیه شده از شرکت سیگما، ساخت کشور آمریکا) در mL ۱ حلال DMSO[2] حل شد و با افزودن رقیق‌کننده تریس-فروکتوز-زرده تخم مرغ (۱۵٪) غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و μg/mL ۴۰۰ سیلی‌مارین تهیه شد. منی رقیق شده به ۵ قسمت مساوی تقسیم شد و به هر قسمت تریس-فروکتوز-زرده تخم مرغ (۱۵٪) حاوی صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و μg/mL ۴۰۰ سیلی‌مارین به‌صورت ۱:۱ (حجم/حجم) اضافه شد. غلظت نهایی اسپرم به $۱۰^{۶} \times ۸۰۰$ و غلظت سیلی‌مارین به صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و μg/mL ۲۰۰ رسید. نمونه ها با سرعت ۰/۲۵°C در دقیقه تا °C ۴ سرد شدند و ۴۸ ساعت پس از ذخیره سازی میزان پراکسیداسیون لیپیدی (میکرومول در ۱۰×۱۰^{۶}) با روش سلیمان و همکاران (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه‌ی GLM بررسی شد (P<۰/۰۵).

نتایج وبحث

نتایج نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین غلظت MDA به‌ترتیب در شاهد و تیمارهای ۱۵۰ یا ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر سیلی-مارین وجود داشت (جدول ۱، P<۰/۰۵). خاصیّت آنتی‌اکسیدانی سیلی‌مارین در شرایط آزمایشگاهی بر بافت‌های حیوانات مختلف به اثبات رسیده‌است (راسکوویک و همکاران، ۲۰۱۱). اثر مهاری سیلی‌مارین بر تولید MDA بر میکروزوم‌های پوستی و چندین مورد دیگر نیز گزارش شده‌است (راماسامی و آگاروال، ۲۰۰۸). سیلی‌مارین سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسیددیسموتاز[3] ، کاتالاز[4] ، گلوتاتیون پراکسیداز[5]، گلوتاتیون ردوکتاز[6] و گلوتاتیون ترنسفراز[7] و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در گلبول قرمز می‌شود (کیروتیگا و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین به نظر می‌رسد افزودن ۱۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر سیلی‌مارین به منی قوچ سبب کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها می‌شود.

منابع

Agarwal R, Agarwal CH , Chikaw H, Rana P. 2006. Anticancer potential of silymarin: From Bench to Bed side (Review). Anticancer Research, 26: 4457-4498.

Gazak R, Walterova D, Kren V. 2007. Silibin and silymarin, new and emergining applications in medicine. Current Medicinal Chemistry, 14: 315-324.

Kiruthiga P.V, Shafreen R.B, Pandian S.K, Devi K.P. 2007. Silymarin protection against major reactive oxygen species released by environmental toxins: exogenous H2O2 exposure in erythrocytes. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol, 100: 414-419.

Ramasamy K, Agarwal R. 2008. Multitargeted therapy of cancer by silymarin (Mini-review). Cancer Letters, 269: 352–362.

Rašković A, Stilinović N, Kolaroviæ J, Vasoviæ V, Vukmiroviæ S, Mikov M. 2011. The Protective Effects of Silymarin against Doxorubicin-Induced Cadiotoxicity and Hepatotoxicity in Rats. Molecules, 16: 8601-8613.

[2] Dimethylsulfoxide
[3] superoxide dismutase
[4] catalase
[5] glutathione peroxidase
[6] glutathione reductase
[7] Glutathione transferase

Suleiman SA, Ali ME, Zaki MS, Malik EMEA, Nast MA. 1996. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. Journal of Andrology, 17: 530–537.

جدول۱: اثر تیمار بر میزان تولید MDA (مالون‌دی‌آلدهید) منی قوچ بعد از ٤٨ ساعت ذخیره سازی (Means ± SE)

سیلی‌مارین (میکروگرم در میلی-لیتر)	غلظت MDA (میکرومول در $۱۰^{٦}$×۱۰)
۰	۰/٤۰ ± ۰/۰۱٦[a]
۵۰	۰/۲۷ ± ۰/۰۲۲[b]
۱۰۰	۰/۲٦ ± ۰/۰۱٤[b]
۱۵۰	۰/۱۷ ± ۰/۰۲۲[c]
۲۰۰	۰/۱٦ ± ۰/۰۳۱[c]

[a-c]حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).