Original Article

تأثیر آنتی اکسیدانی نانو ذرات سلنیوم بر پارامترهای اسپرمی بیضه‌ی موش‌های جوان و مسن

حبیبه غضنفرپور[۱]، ابراهیم طالبی[۲*]، فرنگیس قاسمی[۱]، مرجان حقیقت جهرمی[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه زیست شناسی، جهرم، ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد داراب، گروه علوم دامی، داراب، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۵/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۱۰/۰۴

چکیده

زمینه و هدف: اغلب سلنیوم موجب ساخت سلنوپروتئین‌هایی می‌شود که در ساختمان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به کار می رود و آنتی اکسیدان‌ها نیز جهت حفظ سلامتی سلول‌های در معرض آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو ضروری هستند. سلنیوم با توجه به نقش آنتی اکسیدانی آن یک عنصر ضروری و کمیاب در روند اسپرماتوژنز و خصوصیات مربوط به اسپرم، خصوصا در اواخر سنین باروری می‌باشد. بنابراین در این پژوهش نقش نانو ذرات سلنیوم بر پارامترهای اسپرمی موش‌های جوان و مسن بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: موش‌های نر بالغ (۳-۲ ماهه) و مسن (۱۲-۱۰ ماهه) هر کدام به ۴ گروه ۵ تایی (گروه کنترل، شم[۱] و دو گروه تجربی) تقسیم شدند. موش‌های گروه تجربی به مدت ۳۵ روز، روزانه نانو سلنیوم با دوزهای مختلف ۰/۲ و ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم از وزن بدن به صورت گاواژ دریافت نمودند. پس از این مدت، پارامترهای اسپرمی موش‌های جوان و مسن مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

نتایج: تعداد اسپرماتوزوئید، درصد تحرک و درصد زنده بودن اسپرم خصوصا در موش‌های مسن که دوز ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم نانو ذرات سلنیوم دریافت نمودند، افزایش یافت و تعداد اسپرماتوزوئیدهای مرده و آسیب دیده، کاهش معنی داری نشان داد ($P<0/05$). درصد آسیب‌های سلولی اسپرم موش‌های جوان در گروهی که دوز ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم نانو ذرات سلنیوم دریافت نمودند، افزایش معنی‌داری نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که تجویز نانو ذرات سلنیوم در طول دوره اسپرماتوژنز، پارامترهای اسپرمی را بهبود می‌بخشد.

کلمات کلیدی: استرس اکسیداتیو، پارامترهای اسپرم، نانو سلنیوم، اسپرماتوژنز

مقدمه

مطالعات نشان می‌دهد که افزایش سطح اکسیداتیوی مایع سمینال از طریق مکانیسم‌های مختلف از جمله پراکسیداسیون لیپیدی غشای اسپرم، اختلال در متابولیسم اسپرماتوزوئید و کاهش توانایی بارورسازی آن سهم عمده‌ای در نقص عملکرد اسپرم دارد (۱). افزایش سن به همراه کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، غشای اسپرم را نسبت به آسیب‌های اکسیداتیو حساس می‌کند (۲). کاهش سطح آنتی اکسیدانی پلاسمای سمینال منجر به اختلال در تعادل آنتی اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد شده و بر روی عملکرد اسپرم اثر مخربی دارد. افزایش تولید ROS[۲] (گونه‌های اکسیژن فعال)، ظرفیت آنتی اکسیدانی را کاهش و باعث افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود (۴،۳).

ROSها با ایجاد اختلال در ساختار DNA، منجر به کاهش تحرک اسپرم و عدم اتصال اسپرماتوزوئید به سطح تخمک می‌گردد (۵). بارزترین اثر پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌ها، ایجاد اختلال در نظم و کار غشای سلول‌ها است به طوری که روند انتقال یون‌ها دستخوش تغییر می‌گردد و مختل می‌شود (۶).

*نویسنده مسئول: ابراهیم طالبی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد داراب، گروه علوم دامی، داراب، ایران.
Email: talebi226@iaudarab.ac.ir

[1] - Testifier
[2] - Reactive Oxygen Species

عنصر ضروری و کمیاب سلنیوم که تا حد زیادی از طریق نان، غلات، حبوبات، ماهی، مرغ و گوشت تأمین می‌شود، در بسیاری از عملکردهای متابولیکی بدن نقش اساسی دارد و در تحقیقات مختلف، نقش سلنیوم در پیشگیری از بسیاری از بیماری‌ها نشان داده شده است. سلنیوم جزء کلیدی تعدادی از سلنو پروتئین‌های کاربردی است و در عملکردهای طبیعی بدن دخالت دارد (۷). مهم‌ترین کاربرد شناخته شده‌ی این عنصر، نقش آن در ساختمان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از قبیل گلوتاتیون پراکسیداز است که عملکرد آن‌ها حذف رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد (۸). مطالعات اخیر در مورد بررسی عوامل ناباروری نشان می‌دهند که استرس اکسیداتیو عامل عمده ناباروری مردان است (۲). غشای اسپرم به دلیل دارا بودن مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع، مستعد پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد (۵،۹). بررسی نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد، افزایش سن جوندگان، تغییرات دژنراتیوی در بافت بیضه و کاهش کیفیت اسپرم را به دنبال دارد (۱۳-۱۰). در مطالعه‌ای که بر روی خوکچه‌ها انجام شد کمبود طولانی مدت سلنیوم در جیره غذایی خوکچه‌های هندی، باعث کاهش غلظت و تحرک اسپرم و بروز قطرات سیتوپلاسمی در اسپرم شد (۱۴). با افزایش سن، در سلول‌های ژرمینال بافت بیضه واکوئل‌هایی ایجاد می‌شود که این تغییرات موجب کاهش باروری می‌گردد (۲). در تحقیقات نشان داده شده که سلنیوم منجر به بهبود عملکرد تولید مثلی موجوداتی نظیر موش، خوکچه و گوسفند می‌گردد (۱۵). بین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و تراکم اسپرم ارتباط مثبت و معنی‌داری وجود دارد و با افزایش فعالیت این آنزیم درصد اسپرماتوزوئیدهای با مورفولوژی طبیعی و درصد اسپرم‌های زنده در کل نمونه افزایش می‌یابد (۱۶). بنابراین سلنیوم به عنوان آنتی اکسیدانی است که وجود آن برای عملکرد طبیعی و انجام فرایند اسپرماتوژنز ضروری می‌باشد. این ماده به عنوان کوفاکتور آنزیم-های آنتی اکسیدانی، منجر به کاهش رادیکال‌های آزاد و افزایش باروری می‌گردد (۱۷). سلنیوم یک عنصر ضروری برای باروری است، زیرا استرس اکسیداتیو علت عمده اختلال در اسپرم است. میزان سلنیوم موجود در بافت بیضه، محتوای آنتی اکسیدانی مایع منی و فعالیت ATP آزی را افزایش می‌دهد (۱۸). نانو ذرات سلنیوم به دلیل قابلیت دسترسی بالا و کاهش اثرات سمی، توجه گسترده‌ای را به خود جلب نموده است (۱۹). نتایج نشان می‌دهند که نانو ذرات سلنیوم می‌توانند به عنوان یک آنتی اکسیدان با کاهش خطر سمیت، عمل کنند (۱۹،۲۰). مطالعات تأثیر مثبت تجویز مقدار مناسب سلنیوم را بر پارامترهای اسپرمی نشان می-دهند. طبق تحقیقات Agarwal و همکاران تجویز میزان مناسب آنتی اکسیدان‌ها می‌تواند تحرک و مورفولوژی و درصد اسپرم‌های زنده را افزایش دهد (۲۲ و ۲۱). Karben و همکاران گزارش نمودند که افزایش محتوای سلنیوم در موجوداتی که با کمبود این عنصر مواجه هستند به بهبود باروری کمک می‌کند (۲۳). مطالعات Macpherson و همکاران نشان دهنده بهبود تحرک اسپرم در مردان ناباروری است که میزان مناسب سلنیوم دریافت کرده‌اند (۲۴). Kidd و همکاران نیز در تحقیقات خود نشان دادند که کاهش کیفیت مایع منی در نتیجه کاهش میزان آنتی اکسیدان‌ها، موجب کاهش تحرک اسپرم می‌شود (۲۵). از طرف دیگر، مقدار زیاد سلنیوم نیز اثرات نامطلوبی بر کیفیت اسپرم می-گذارد. Kaur و همکاران گزارش نمودند که دریافت میزان ppm ۸ سلنیوم که حدود ۴ برابر بیشتر از میزان مورد نیاز است به مدت ۶ هفته باعث کاهش وزن بیضه و افزایش مورفولوژی غیر طبیعی اسپرم می‌شود (۲۶). Hensen و همکاران نیز با افزودن مقادیر زیاد سلنیوم در تغذیه انسان کاهش تحرک اسپرم را مشاهده کردند (۲۷). طبق گزارشات متعدد به نظر می‌رسد که بررسی پارامترهای مربوط به اسپرم برای ارزیابی اثر سن بر کیفیت مایع منی مفید باشد. عواملی چون دوز مصرفی دارو، نحوه دریافت و مدت زمان استفاده از دارو و حتی شرایط فیزیولوژیکی، جنس و سن حیوان نیز بر نتیجه تاثیر دارد و استفاده از دوز یا دوره درمان نامناسب باعث بروز اثرات معکوس آنتی اکسیدان‌ها می‌شود. با توجه به نقش سلنیوم بر باروری، خصوصا در موجوداتی که در اواخر سنین اسپرماتوژنز به سر می‌برند، این تحقیق با استفاده از دو سطح ۰/۲mg/kg و ۰/۴mg/kgوزن بدن بر پارامترهای اسپرمی موش-های جوان و مسن و با هدف مقایسه تأثیر نانو ذرات سلنیوم برکیفیت مایع سمینال و پارامترهای اسپرمی انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط آزمایش: در این تحقیق از ۴۰ سر موش نر نژاد ویستار در دو گروه سنی جوان و مسن به ترتیب با وزن

تقریبی ۲۰۰ و ۴۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها از دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز تهیه و پس از انتقال به مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب، به مدت دو هفته به منظور سازگاری با شرایط جدید نگهداری شدند و پس از این مدت، آزمایشات آغاز شد. نگه داری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت انجام گرفت. حیوانات در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد با رعایت دوره‌ی نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی همراه با استفاده از آب آشامیدنی مناسب و غذای فشرده نگهداری شدند.

آماده‌سازی نانو سلنیوم و تیمارهای مورد نیاز: نانو سلنیوم مورد استفاده در این پژوهش بر اساس دستورالعمل زانگ و همکاران (۲۰۰۴) و در اندازه‌های ۲۰۰-۱۵۰ نانومتر تهیه گردید (۲۸). تیمارهای این پژوهش شامل گروه‌های کنترل، شم، ۰/۲mg/kg و ۰/۴ mg/kg از وزن بدن نانوسلنیوم بودند. موش‌های گروه کنترل در طول دوره آزمایش به جز آب و غذای استاندارد، هیچ گونه ماده‌ای دریافت نکردند، اما به موش‌های گروه شم تنها نرمال سالین به صورت خوراکی همراه با غذا داده شد. موش‌های گروه آزمایش اول میزان ۰/۲mg/kg از وزن بدن نانو ذرات سلنیوم و به گروه آزمایش دوم میزان ۰/۴mg/kg از وزن بدن به ازای هر موش نانو ذرات سلنیوم به صورت گاواژ داده شد. پس از تهیه نانوسلنیوم نیاز روزانه موش‌های هر گروه به صورت جداگانه محاسبه گردید. از آنجا که در هر میلی لیتر از سوسپانسیون تهیه شده، میزان ۱۰ میلی گرم نانو ذرات سلنیوم وجود داشت و نیاز روزانه گروه‌های تجربی موش‌های جوان و مسن هرکدام mg/kg ۰/۲ و mg/kg ۰/۴ نانوسلنیوم محاسبه گردید و با توجه به وزن تقریبی اولیه موش‌های جوان و مسن، نیاز روزانه موش‌های جوان در گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب ۰/۰۴ و ۰/۰۸ و موش‌های مسن گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب ۰/۰۸ و ۰/۱۶ میلی گرم نانو ذرات سلنیوم تعیین شد. بنابراین میزان برداشت روزانه از نانوسلنیوم در موش‌های جوان گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۸ میلی لیتر معادل ۴و ۸ میکرولیتر و موش‌های مسن گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب ۰/۰۰۸ و ۰/۰۱۶ میلی لیتر معادل ۸ و ۱۶ میکرولیتر بود که این مقادیر به وسیله سمپلر از سوسپانسیون تهیه شده جدا گردید. به ازای هر موش در هر تیمار روزانه ۰/۵ میلی لیتر نرمال سالین استفاده و پس از جدا کردن مقدار هم حجم نانو سلنیوم از نرمال سالین موجود در لوله آزمایش، آن را به نانو سلنیوم موجود در لوله دیگر اضافه شد و به هر موش میزان ۰/۵ میلی لیتر از این محلول را به صورت گاواژ خورانده شد.

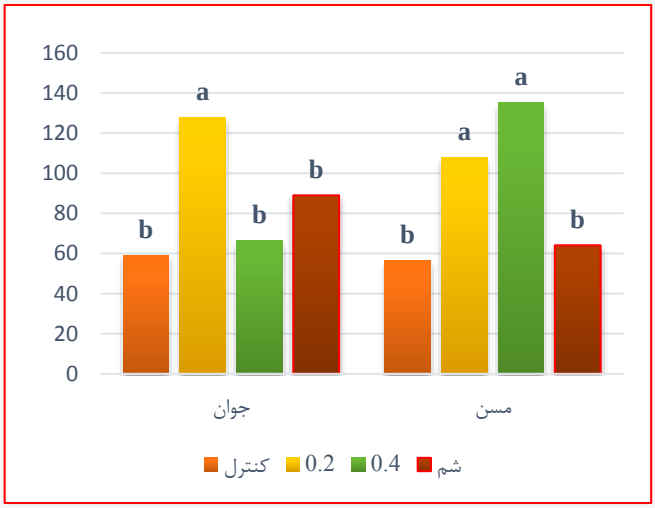
نمونه گیری: آزمایشات به مدت ۵ هفته (۳۵ روز) ادامه یافت و پس از اتمام آزمایش به منظور بررسی پارامترهای اسپرمی، موش‌ها به روش قطع مهره‌های گردن کشته و اپیدیدیم آن‌ها خارج گردید و آنالیز آن طبق دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی انجام گرفت. به منظور بررسی پارامترهای اسپرمی ناحیه انتهایی اپیدیدیم (دم اپیدیدیم) جدا و توسط اسکالپل کاملاً قطعه قطعه شد. قطعات خرد شده در محلول PBS به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور قرار داده شد سپس قطره‌ای از محلول خارج و بر روی لام هموسایتومتر قرار گرفت. اسپرماتوزوئیدها با بزرگنمایی ×۴۰۰ شمارش و در 10^6ضرب شد. به منظور تعیین درصد تحرک، درصد اسپرم‌های متحرک در ۵ میدان میکروسکوپی تخمین زده و میانگین آن‌ها به عنوان درصد تحرک اسپرم ثبت گردید. برای تعیین درصد زنده بودن، درصد اسپرم‌های آسیب دیده و درصد اسپرم‌های مرده و نوع ناهنجاری‌های اسپرماتوزوئید، قطره‌ای از نمونه اپیدیدیم را بر روی لام گذاشته و با یک قطره کوچک از رنگ حیاتی آئوزین B مخلوط و سپس درصد اسپرماتوزوئیدهای زنده با بزرگ نمایی ۴۰۰× محاسبه گردید (۱۶).

روش تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از ۵ موش به ازای هر تیمار انجام گرفت. نتایج حاصل از آزمایشات مختلف پارامترهای اسپرمی به صورت میانگین ± انحراف استاندارد ($\mu \pm SE$) نشان داده شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ پس از کنترل نرمالیتی، تجزیه‌ی واریانس گردیدند و برای مقایسه درصد پارامترهای اسپرم در موش‌های جوان و مسن از آزمون χ^2 و پیرسون استفاده شد ($P<0/05$).

نتایج

تعداد اسپرم‌های موش‌های جوان که روزانه میزان ۰/۲mg/kg نانوسلنیوم دریافت کردند با بقیه گروه‌ها تفاوت معنی دار نشان داد ($P<0/05$) و در گروه مسن نیز تعداد اسپرماتوزوئید

موش‌هایی که مقادیر ۰/۲mg/kg و ۰/۴mg/kg نانوسلنیوم دریافت نمودند با گروه‌های کنترل و شم تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).



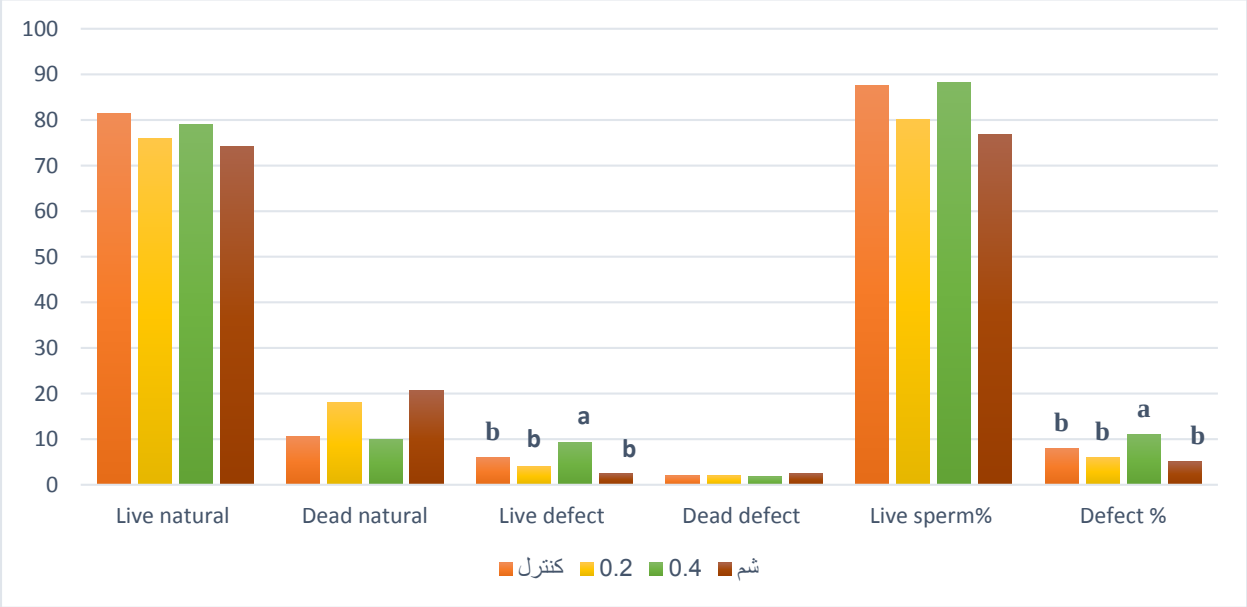
نمودار ۱: اثر تیمارهای مختلف بر تعداد اسپرماتوزوئیدهای موش‌های جوان و مسن

در گروه‌های آزمایشی موش‌های جوان تعداد اسپرم‌های زنده آسیب دیده و درصد اسپرم‌های آسیب دیده با استفاده از تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). در این گروه سنی با استفاده از سطح ۰/۴mg/Kg نانوسلنیوم، تعداد اسپرم‌های زنده آسیب دیده و درصد اسپرماتوزوئیدها افزایش یافت (نمودار ۲).

تعداد اسپرم‌های زنده در موش‌های مسن که میزان ۰/۲mg/kg و ۰/۴mg/kg نانوسلنیوم دریافت کردند تغییرات معنی‌داری با گروه کنترل و شم نشان داد (P<۰/۰۵) که این افزایش در گروه آزمون ۰/۴mg/kg بیشتر بود. همچنین در گروه‌های آزمون تعداد اسپرم‌های مرده طبیعی کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل و شم داشت که این کاهش در گروه ۰/۴mg/kg بیشتر از گروه ۰/۲mg/kg بود. تعداد اسپرم‌های آسیب دیده نیز در گروه‌های مورد آزمون کاهش معنی داری با گروه‌های کنترل و شم نشان داد (نمودار ۳). درصد اسپرم‌های زنده در دو گروه آزمون افزایش معنی‌داری یافت که در این میان در گروه مورد آزمون ۰/۴mg/kg افزایش بیشتری مشاهده گردید (نمودار ۳). درصد اسپرم‌های متحرک گروه سنی مسن در گروه آزمون ۰/۲mg/Kg و ۰/۴ mg/kg. افزایش معنی داری را در سطح ۵ درصد نسبت به گروه‌های کنترل و شم نشان داد (نمودار ۴).

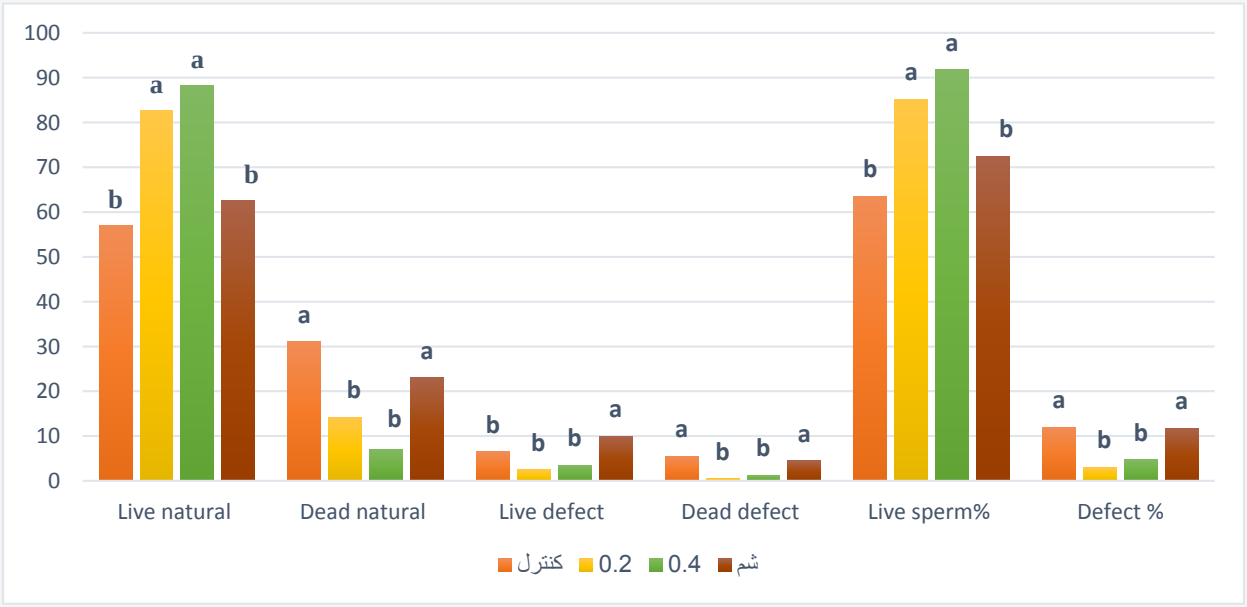
بحث و نتیجه گیری

در مطالعات مختلف اثر مکمل سلنیوم به فرم آلی و غیرآلی بر پارامترهای کمی اسپرم مورد بررسی قرار گرفته است. اندازه-گیری پارامترهای بیوشیمیایی مایع منی و پارامترهای مربوط به اسپرم هر کدام به تنهایی می‌تواند نشانگر کیفیت مایع منی در موجودات مختلف باشد. در این تحقیق از پارامترهای مربوط به اسپرم به عنوان شاخصی برای بهبود کیفیت مایع منی استفاده شده است. تا به امروز از نمک‌های معدنی غیرآلی مانند سلنیت سدیم و یا سلنات و اشکالی دیگر مانند مخمر غنی شده با سلنیوم و یا سلنومتیونین به صورت تجاری استفاده شده است. در این تحقیق از نانوذرات سلنیوم برای بررسی تأثیر این عنصر بر باروری استفاده شد. افزایش تعداد اسپرماتوزوئید (نمودار ۱) و همچنین ارزیابی درصد اسپرم‌های زنده و آسیب دیده (نمودار ۳) در گروه موش‌های مسن و افزایش آن نسبت به گروه کنترل نشان دهنده کاهش آسیب سلولی و پروکسیداسیون غشای اسپرم به طور معنی‌دار (p<۰/۰۵) است. پژوهش‌های مختلف ارتباط معنی‌دار بین سلنیوم با غلظت اسپرم و میزان سلنیوم پلاسمای مایع منی در بیماران مبتلا به ناباروری نشان داد (۳۰،۲۹). سلنوپروتئین‌ها باعث پاک‌سازی مایع سمینال از انواع ROS شده و غشای اسپرم را از آسیب‌های وارده محافظت می‌کند. کاهش آسیب‌های سلولی باعث افزایش درصد اسپرم‌های زنده و کاهش درصد اسپرم‌های مرده و آسیب دیده می‌شود که این نتایج با یافته‌های حاصل از آزمایشات محمدی و همکاران در استفاده از سلنیت سدیم و افزایش درصد اسپرم‌های زنده و بهبود مورفولوژی آن‌ها مطابقت دارد (۱۶). غشای پلاسمایی اسپرم برای نگه داشتن اندامک‌ها و اجزای داخل سلولی، آن را احاطه کرده است و با ویژگی‌های نیمه تراوایی خود گرادیان شیمیایی یون‌ها و دیگر اجزای محلول را حفظ می‌کند. اگر غشای پلاسمایی اسپرم آسیب ببیند باید اسپرم را مرده در نظر گرفت و در داخل بدن قادر به باروری نیست (۳۱). در آزمایشاتی که بر روی خوکچه‌های نر تغذیه شده با سلنیوم در سنین مختلف انجام شده است، مشخص شد که سلنیوم در خوکچه‌هایی که در اواخر سنین باروری به سر می‌برند باعث بهبود



نمودار۲: اثر تیمارهای مختلف بر برخی پارامترهای اسپرم موش های جوان

Live natural: تعداد اسپرم‌های زنده طبیعی Dead natural: تعداد اسپرم‌های مرده طبیعی Live defect: تعداد اسپرم‌های زنده معیوب Dead defect: تعداد اسپرم-های مرده معیوب Live Sperm%: درصد اسپرم‌های زنده Defect %: درصد اسپرم‌های معیوب



نمودار ۳: اثر تیمارهای مختلف بر برخی پارامترهای اسپرم موش‌های مسن

Live natural: تعداد اسپرم‌های زنده طبیعی Dead natural: تعداد اسپرم‌های مرده طبیعی Live defect: تعداد اسپرم‌های زنده معیوب Dead defect: تعداد اسپرم‌های مرده معیوب Live Sperm%: درصد اسپرم‌های زنده% Defect: درصد اسپرم‌های معیوب

کیفیت مایع منی می‌شود و ذخایر اسپرماتوزوا را افزایش می‌دهد (۳۲). در پژوهش‌های مختلفی که پارامترهای بیوشیمیایی مایع سمینال را مورد بررسی قرار می‌دهد ارتباط مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پر اکسیداز پلاسمای سمینال و تراکم اسپرم‌ها در نمونه را نشان می‌دهد که منجر به افزایش تراکم اسپرم می‌گردد (۳۳). مریم عیدی و همکاران نشان دادند که در مردان نابارور الیگو اسپرمی و آزو اسپرمی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پروکسیداز کاهش یافت (۳۴). همچنین با افزایش سن عملکرد اپیدیدیم دچار تغییر می‌شود. از آنجا که اپیدیدیم نقش مهمی در بلوغ اسپرم دارد و اسپرم با عبور از آن توانایی تحرک را کسب می‌کند، تغییر عملکرد آن می‌تواند بر تحرک اسپرم تاثیر منفی بگذارد (۲۱). البته فاکتوری که بیشترین تأثیر را بر تحرک اسپرم می‌گذارد، میتوکندری‌های موجود در قطعه میانی است که به اسپرم توان تحرک می‌دهد. پروکسیداسیون لیپیدی به همراه کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پروکسیداز باعث شکنندگی کپسول میتوکندری و تغییر یافتگی قطعه‌ی میانی اسپرم و کاهش تحرک آن‌ها می‌شود (۳۵). سلنیوم که برای سیستم آنتی اکسیدانی داخل سلول به عنوان کوفاکتور آنزیم گلوتاتیون پروکسیداز عمل می‌کند برای ایجاد انرژی جهت حرکت اسپرم ضروری می‌باشد (۱۷). همچنین کمبود این عنصر در موش‌های صحرایی باعث تغییر شکل غیر طبیعی دم‌های اسپرماتوزوئید و بی حرکت شدن آن‌ها می‌گردد (۳۶). با توجه به نمودار ۴ افزایش معنی داری در تحرک اسپرم موش‌های مسنی که دوز ۰/۴ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن نانوسلنیوم دریافت کرده‌اند نسبت به گروه کنترل دیده می‌شود که این افزایش با موش‌های کنترل جوان نیز قابل مقایسه است. نتایج حاصل از این تحقیق با آزمایشات اسکات و همکاران مطابقت دارد. این محقق نشان داد که تغذیه مردان کم بارور با ۱۰۰ میلی گرم سلنیوم به مدت ۳ ماه تحرک اسپرم این افراد را افزایش داد (۳۷) . شی و همکاران گزارش نمودند که افزایش کیفیت مایع منی به همراه افزایش فعالیت گلوتاتیون پروکسیداز در خوکچه‌های نر ۴۲ ماهه‌ای که به مدت ۱۲ هفته از جیره مخلوط شده با نانوسلنیوم تغذیه کرده‌اند باعث افزایش تحرک اسپرم و حفاظت سیستم غشایی سلول گردید (۳۸). مطالعه آگاروال و همکاران نشان داد که تجویز خوراکی سلنیوم به مدت ۳ ماه تحرک اسپرم را بهبود می‌بخشد (۳۹). همچنین جرویس و روبایر نشان دادند که استرس اکسیداتیو با فرایند پیری در موش‌ها ارتباط دارد و این موضوع مهم‌ترین علت کاهش کیفیت اسپرم در موش‌های مسن می‌باشد (۴۰). میزان بالای سلنیوم در موش‌هایی که دوز بالا دریافت می‌کنند، باعث ایجاد واکوئل‌های زیادی در بافت بیضه شده که این مطلب نشان می‌دهد که دریافت مقدار زیاد سلنیوم سمی است و باعث افزایش آسیب به بافت بیضه و سلول‌های اسپرماتوزوئید می‌شود. در این موارد سلنیوم خود با تولید ROS باعث افزایش آسیب‌های وارده می‌گردد (۴۰). این مطلب در تحقیق حاضر در مورد موش‌های جوانی که دوز ۰/۴ mg/kg نانوسلنیوم دریافت کرده‌اند کاملاً مشهود می‌باشد. خرازی و همکاران گزارش نمودند که اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدان‌های اسپرم و تعیین میزان سلنیوم پلاسمای منی، ابزار مفیدی برای تعیین پتانسیل باروری اسپرم نمی‌باشد (۴۱). در برخی تحقیقات نیز به عدم ارتباط بین میزان سلنیوم پلاسمای سمینال با کیفیت اسپرم اشاره شده است. بهن و همکاران نشان دادند که میزان Se موجود در پلاسمای منی تا حدود زیادی به ترشحات پروستاتیک وابسته است. از طرف دیگر میزان این ترشحات، تحت تأثیر عوامل مختلفی تغییر می‌کند؛ لذا اندازه‌گیری Se پلاسمای منی ممکن است ابزار مناسبی برای بررسی رابطه بین این عناصر با پارامترهای کیفی اسپرم و باروری مردان نباشد (۴۲). نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که افزایش سن به همراه کاهش کیفیت مایع منی می‌تواند باعث کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی شود و استفاده از دوز مناسب نانوسلنیوم می‌تواند این پارامترها را بهبود بخشد.

نانوسلنیوم باعث بهبود پارامترهای مربوط به اسپرم خصوصا در موش‌های مسن گردید که عملکرد باروری را در این گروه سنی افزایش داد. بهبود پارامترها بستگی به میزان و مدت زمان مصرف این عنصر دارد. با توجه به یافته‌های این تحقیق استفاده از نانوسلنیوم به مقدار ۴mg/kg/. در طول دوره اسپرماتوژنز می‌تواند باعث بهبود پارامترهای اسپرم شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از دکتر غلامعلی کجوری دانشیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده

دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، دکتر غلامعباس آریش و مهندس ابراهیم ابوالفتحی به ترتیب سرپرست و معاونت اداری و مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب و دکتر حسین کارگر به عمل می آورند.

References

1. Armstrong JS, Rajasekaran M, Chamulitrat W, Gatti P, Hellstrom WJ, Sikka SC. Characterization of reactive oxygen species induced effects on human spermatozoa movement and energy metabolism. Free Rad Biol Med. 1999;26(7-8):869–80.
2. Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobex AJ. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. Fertil Steril. 2001;75(2):237-248.
3. Aitken RJ, Clarkson JS. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. The Walpole Lecture J Reprod Fertil. 1987;83(4):459–69.
4. Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Greene RE, Marnett LJ. Malondialdehyde, A product of lipid peroxidation, is mutagenic in Human cells. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc. 2003;419(1):1-41.
5. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. Urol. 1996;48(6):835- 50.
6. Ernster L. Lipid peroxidation in biological membranes: mechanisms and implications, in: Active oxygen, lipid peroxides and antioxidants. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press; 1993,1-38.
7. Rayman MP. The importance of selenium to human health. Lancet. 2000;356(15):233–234.
8. Behne D, Hofer T, Von Berswardt- Wallrabe R, Elger W. Selenium in the testis of the rat: studies on its regulation and its importance for the organism. J Nutr. 1982;102(11):1682-1687.
9. Angulo C, Rauch MC, Droppelmann A, Reyes AM, Slebe JC, Concha II, et al. Hexose transporter expression and function in mammalian spermatozoa: Cellular localization and transport of hexoses and vitamin C. Journal of Cellular Biochemistry. 1998;71(2):189-203.
10. Homonnai ZT, Fainman N, David MP, Paz G. Semen quality and sex hormone pattern of 29 middle aged men. J Androl. 1982;14(2):164-170.
11. Dondero F, Mazzilli F, Giovenco P, Lenzi A, Cerasaro M. Fertility in older men. J Endocrinal Invest. 1985;8(2):87-91.
12. Centola GM, Eberly S. Seasonal variations and age-related changes in human sperm count, motility, motion parameters, morphology, and white blood cell concentration. Fertil Steril1.1999;72(2):803-808.
13. Haidl G, Jung A, Schill WB. Aging and sperm function. Hum Reprod.1996;11(3):558-560.
14. Liu CH, Chen YM, Zhang JZ, Huang MY, Su Q, Lu ZH, et al. Preliminary studies on influence of selenium deficiency to the developments of genital organs and spermatogenesis of infancy boars. Acta vet Zootech. 1982;13(8):73-77.
15. Combs GF Jr, Combs SB. The role of selenium in nutrition. San Diego: Academic Press; 1986, PP.123-142.
16. Mohammadi SH, Movahedin M, Mowla SJ. Antioxidant effects of selenium on sperm parameters and testicular structure in young and aged mice. J Reprod Infertile. 2008;9(3):229-237.
17. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Seleno protein metabolism and function: evidence for more than one function for seleno protein P. J Nutr. 2003;133(5):151-178.
18. Marin-Guzman J, Mahan DC, Chung YK, Pate JL, Pope WF. Effects of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality and subsequent fertilization rates in mature gilts. J Anim Sci. 1997;75(11):2994-3003.
19. Zhang, J, Gao X, Zhang L, Bao Y. Biological effects of a nano red elemental selenium. Bio Factors. 2001;15(1):27–38.
20. Zhang JS, Wang H, Yan X, Zhang LD. Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and Selenite in mice. Life Sci. 2004;75(2):447–459.
21. Agarwal A, Gupta S, Sharma R. Oxidative stress and its implications in female infertility - a clinician's perspective. Reprod Biomed Online. 2005;11(4):641-650.
22. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. Reprod Biol Endocrinol. 2006;3(12):28-35.
23. Carbone DJ, Shah A, Thomas AJ, Agarwal A. Partial obstruction not antisperm antibodies, causing infertility after vasovasostomy. J Urol. 1998;159(3):827-830.
24. MacPherson A, Scott R, Yates R. The effect of selenium supplementation in subfertile males. In Trace Elements in Man and Animals (TEMA8). Anke M, Meissner D, Mills CF (Editors). Media Touristik, Gersdorf. 1993;19(6):566-70.

25. Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobex AJ. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. Fertil Steril. 2001;75(2):237-248.
26. Kaur R, Parshad VR. Effects of dietary selenium on differentiation, morphology and functions of spermatozoa of the house rat. Rattus rattus, L. Mutation Res. 1994;309(1):29-35.
27. Hansen JC, Deguchi Y. Selenium and fertility in animals and man. Acta Vet Scand. 1996;37(1):19-30.
28. Zhang SY, Zhang J, Wang HY, Chen HY. Synthesis of selenium nanoparticles in the presence of polysaccharides. Science Direct. 2004;58(8):2590-2594
29. Krsnjavi H, Grgurevie BA, Beker D, Romic Z, Krsnjavi A. Selenium and fertility in men. Trace Elem Med. 1992;9(2):107-108.
30. Oldereid NB, Thomassen Y, Purvis K. Selenium in human male reproductive organs. Hum Reprod. 1998;13(8):2172-76.26.
31. Fonseca P. Physiology of peroxidation processes in mammalian sperm (dissertation). Utrecht University; 2006.
32. Marin-Guzman J, Mahan DC, Chung YK, Pate JL, Pope WF. Effects of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts. J Anim Sci. 1997;75(11):2994-3003.
33. Mohammadi S, Movahedin M, Mowla SJ. The effect of selenium on changes in sperm antioxidant capacity in old and adult rats. Scientific Journal of Kurdistan. 2009;14(1):84-91.
34. Eidi M, Pouyan O, Eidi A, Dadgar M, Shahmohammadi P, Saeedi H. Effect of seminal plasma selenium on semen parameters. Medical Sciences Journal of Islamic Azad University, 2007;17(2):81-86.
35. Olson GE, Winfrey VP, Hill KE, Burk RF. Sequential development of flagellar defects in spermatids and epididymal spermatozoa of selenium-deficient rats. Reprod. 2004;127(3):335-342.
36. Arthur JR. New metabolic roles for Selenium. Proc Nutr Soc. 1994;53(3):615-624.
37. Scott R, MacPherson A, Yates RW, Hussain B, Dixon J. The effect of oral selenium supplementation on human sperm motility. Br J Urol. 1998;82(1):76-80.
38.Shi LG, Yang RJ, Yue WB, Xun WJ, Zang CX, Ren YS. Effect of elemental nano selenium on semen quality, glutathione proxidase activity and testis ultra structure in male boar goats. Anim Reprod Sci. 2010;118(2-4):248-254.
39. Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SR, Said TM. Role of antioxidant in treatment of male infertility: an overview of the literature. Reprod. Biomed Online. 2004;8(6):616-627.
40. Jervis KM, Robaire B. The effects of long-term vitamin E treatment on gene expression and oxidative stress damage in the aging brown Norway rat epididymis. Biol Reprod. 2004;71(4):1088-95.
41. Kharazi H, Vaisi Raigani A, Etesami B, Khazaei M, Kiani A, Rafiee Alavi E, et al . Comparison of anti-oxidant enzymes activity and levels of zinc and selenium in sperm and seminal plasma between fertile and idiopathic infertile men. Behbood Journal. 2011;14(4):316-327.
42. Behne D, Gessner H, Wolters G, Brotherton J. Selenium, rubidium and zinc in human semen and semen fractions. Int J Androl. 1988;11(5):415-23.
42. Morita T, Perrella MA, Lee ME, Kourembanas S. Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of cGMP. Proc Natl Acad Sci USA. 1995;92(8):1475–1479.
43. Fu WJ, Haynes TE, Kohli R, Hu J, Shi W, Spencer TE, et al. Dietary l-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. J Nutr. 2005;135(4):714–721.

Original Article

The Effect of Selenium Nanoparticles Antioxidant on The Sperm Parameters of Mature and Adult Rats

Ghazanfarpoor H[1], Talebi E[2*], Ghasemi F[1], Haghighat Jahromi M[2]

1- Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Fars, Iran
2- Darab Branch, Islamic Azad University, Darab, Fars, Iran

Received: 11 Aug 2013 Accepted: 04 Jan 2014

Abstract

***Background & Objective*:** Selenium is often caused selenoproteins, which is using in the construction of antioxidant enzymes that are necessary for the health of those cells which are subjected to oxidative stress-induced. Due to its antioxidant properties, selenium is an essential and rare element for spermatogenesis and sperm characteristics, especially in the late reproductive age. Therefore, in this study, the role of selenium nanoparticles was investigated on semen parameters in young and adult rats.

Materials & Methods: Mature male Wistar rats (2-3 months old) and the adult ones (10-12 months), are divided into 4 groups where 5 animals per each group are put (control, testifier and experimental groups). The experimental rats received Selenium Nano particles through stomach tube for 35 days, each day different doses of 0.2 and 0.4 mg/kg of their body weight. . After this period, the semen parameters in both mature and adult rat were compared.

Results: The spermatozoa count, sperm motility and viability, increased particularly in adult rats which used 0.04 mg/kg body weight nano selenium and the number of dead and damaged Spermatozoa are significantly reduced ($p<0.05$). The Percentage of sperm cell injury increased significantly in young rats in the group that received a dose of 0.04 mg of selenium nanoparticles.

Conclusions: These findings suggest that administration of Nano-Selenium improves the sperm parameters during the spermatogenesis.

***Keywords*:** **Oxidative stress, Sperm parameter, Nano Selenium, Spermatogenesis**

* **Corresponding Author: Talebi Ebrahim,** Darab Branch, Islamic Azad University, Darab, Fars, Iran.
Email: talebi226@iaudarab.ac.ir