دوره پانزدهم ـ شماره ۴ ـ زمستان ۱۳۹۸
DOI: 10.22055/ivj.2019.75044.1869

ارزیابی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسمای خون و منی به دنبال تغذیه با نانو سلنیوم در قوچ عربی خوزستان

صادق حسینی[۱*] و مرتضی مموییی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۷

چکیده

سلنیوم یکی از عناصر کم نیاز است که نقش بسیار مهمی را در بدن موجودات زنده بازی می‌کند و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در بدن مطرح است . نقش بیولوژیکی سلنیوم بر اساس تأثیر آن در ساختمان بسیاری از سلنوپروتین‌ها است. هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر افزودن مکمل تغذیه‌ای نانو سلنیوم بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسمای خون و منی قوچ عربی خوزستان بود. در این آزمایش از ۱۲ رأس قوچ نژاد عربی با میانگین وزنی ۳±۷۳ کیلوگرم و سن دو تا چهار سال در سه تیمار با چهار قوچ در هر تیمار مورد استفاده قرار گرفت که شامل گروه شاهد (بدون نانو سلنیوم) و دو گروه آزمایشی بودند که به ترتیب ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم نانوسلنیوم در هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی دریافت کردند. نتایج نشان داد که در تیمار ۰/۴، غلظت سلنیوم خون و منی نسبت به شاهد افزایش یافت که این افزایش فقط در مورد خون معنی‌دار بود. در تیمار ۰/۸، غلظت سلنیوم خون و منی با غلظت آن در تیمار ۰/۴ و گروه شاهد به صورت معنی‌داری بالاتر بود. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خون و منی در تیمار ۰/۴ نسبت به گروه شاهد و در تیمار ۰/۸ نسبت به تیمار ۰/۴ و شاهد به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد. در نهایت این نتیجه حاصل شد که مکمل سازی نانو سلنیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون و منی قوچ‌های عربی می‌شود و از نظر فعالیت این آنزیم تیمار ۰/۸ در خون و منی بهترین نتیجه را نشان داد.

کلمات کلیدی: گلوتاتیون پراکسیداز، نانو سلنیوم، خون، منی، قوچ عربی

مقدمه

سلنیوم به عنوان یک جزء عملکردی و بیولوژیکی برای برخی آنزیم‌ها بوده و برای سیستم ایمنی و تأثیرات ضدسرطانی ضروری است. عملکرد سلنیوم به عنوان یک فعال‌کننده در بسیاری سلنوپروتئین‌ها مانندگلوتاتیون پراکسیداز، فسفولیپید هیدروپراکسید گلوتاتیون پراکسیداز و تیوردوکسین ردوکتاز است (Sadeghian et al. 2012). برخی از سلنوپروتئین‌ها مانند گلوتاتیون پراکسیداز نقش آنزیمی دارند که برای عملکردهای بیولوژیکی اهمیت بالایی دارند (Mala et al. 2009). گزارش شده است که سلنیوم در ساختمان پروتئین‌ها همانند سلنوسیستئین جای می‌گیرد و برای فرآیندهای طبیعی ضروری است. سلنیوم نقش مهمی را در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، تولیدمثل، آندوکرین و سیستم ایمنی بر عهده دارد (Shi et al. 2011). این عنصر در رشد جنینی بسیار ضروری است و در تغذیه‌ی حیوانات نقش مهمی دارد. تا کنون بیش از ۲۰ نوع سلنوآنزیم شناخته شده است که سلنیوم به عنوان بخشی از ساختار این آنزیم‌ها در عملکردهای متابولیک از آسیب‌های اکسیداتیو بافت‌های بدن جلوگیری می‌کند (Neve 2002). سلنیوم کو فاکتور یا فعال‌کننده‌ی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز است که یکی از قوی‌ترین

[۱*] دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
E-mail: s.hoseini957@gmail.com (نویسنده‌ی مسئول)
[۲] استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و جزء ضروری و جدایی‌ناپذیر این آنزیم است. گلوتاتیون پراکسیداز تجزیه‌ی پراکسیدازهای لیپیدی و هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاتالیز می‌کند (Shamberger 1983, Hill et al. 1996). گلوتاتیون پراکسیداز به دلیل نقش محافظتی که در تبادلات غشاء پلاسمایی دارد برای حفظ سلامت سلولی بسیار ضروری است (Wu et al. 1973). عملکرد آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز، شدیداً به وجود سلنیوم در جایگاه فعال آنزیم وابسته است. این آنزیم نیز مانند سوپراکسید دیسموتاز، با ممانعت از پراکسیداسیون لیپید غشای اسپرم و در نهایت، از طریق بهبود حرکت اسپرم بر عملکرد اسپرم تأثیر می‌گذارد. گلوتاتیون پراکسیداز نقش مهمی را در بلوغ اسپرم از زمان تولید تا هنگامی‌که اسپرم ظرفیت باروری می‌یابد بازی می‌کند و عدم وجود آن منجر به کاهش ظرفیت بارورسازی اسپرم می‌گردد (Hall et al. 1998).

دو سیستم آنتی‌اکسیدانی در بدن وجود دارد؛ سیستم آنتی‌اکسیدانی پیشگیری‌کننده که متصل به فلزات هستند و از تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[1]) جلوگیری می‌کنند به این ترتیب از شروع واکنش زنجیره‌ای ممانعت می‌شود. در حالی که سیستم آنتی‌اکسیدانی جاروب‌کننده با حذف ROS به وجود آمده از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای پلاسمایی ممانعت می‌کند (Agrawal et al. 2004). سلنیوم ماده‌ای آنتی‌اکسیدانی است که وجود آن برای عملکرد طبیعی بیضه و انجام فرآیند اسپرماتوژنز ضروری است. این ماده به عنوان کو فاکتور آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل گلوتاتیون پراکسیداز بوده و اثرات ویتامین E را تکمیل می‌کند. در پستانداران، ساخت طبیعی اسپرم به جذب کافی سلنیوم توسط بیضه‌ها وابسته است و کمبود متوسط تا شدید آن، با حرکت معیوب اسپرم و تغییرات مورفولوژیکی قطعه‌ی میانی مشخص شده که اغلب منجر به جدایی سر اسپرم از دم آن می‌گردد (Behne et al. 1996).

اخیراً نانو ذرات سلنیوم به دلیل قابلیت دست رسی بالا و کاهش اثرات سمی؛ توجه گسترده‌ای را در مباحث تغذیه‌ی دام به خود جلب نموده است (Zhang et al. 2001). با پیشرفت‌های موجود در علوم نانوتکنولوژی، نانو ذرات سلنیوم و اثرات آن‌ها مورد توجه واقع شده‌اند؛ زیرا ثابت شده است که مواد در ابعاد نانومتری، خصوصیات جدید و متفاوتی را نسبت به زمانی که به صورت توده و اتم ایزوله شده هستند، از خودشان نشان می‌دهند، نظیر فعالیت سطحی، راندمان کاتالیتیکی، توانایی جذب بالا و سمیت کم‌تر (Wang et al. 2007). همچنین می‌توان گفت که اندازه‌ی ذرات نانو، نقش مهمی در فعالیت زیستی آن‌ها دارد. به طور کلی، ذرات کوچک‌تر نانو، فعال‌تر از ذرات بزرگ نانو هستند. به عنوان مثال، نانو ذرات با اندازه‌ی کوچک‌تر اعمال قوی‌تر از قبیل اثر سیتوتوکسیک در سلول‌های اندوتلیال، نسبت به اندازه‌های بزرگ‌تر دارند و از لحاظ دیگر نانو ذرات کوچک‌تر، بیش از اندازه دارای تومورهای قوی می‌باشند که اثر مهاری آن-ها بیش از ذراتی است که دارای اندازه‌ی بزرگ‌تر می-باشند. همان‌طور که اشاره شد عنصر سلنیوم، دارای برخی از خواص بیولوژیکی مؤثر است که وابسته به اندازه بالای ذرات میکرومتر آن است. گزارش شده است که اندازه‌ی نانو سلنیوم در محدوده‌ی ۵-۲۰۰ نانومتر می‌تواند در واکنش‌های اکسیداسیون و اثر مستقیم در مهار رادیکال‌های مختلف آزاد در شرایط آزمایشگاهی از جمله ۱،۱- دی فنیل-۲- دهیدرالاز و آنیون سوپر اکسید داشته باشد. (Pan et al. 2007).

نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که نانو ذرات سلنیوم می‌توانند با تأثیر بر سلنوپروتین ها به عنوان یک آنتی‌اکسیدان با سمیت کم‌تری نسبت به سلنیوم عمل کنند (Zhang et al. 2001, Zhang et al. 2005). نانو سلنیوم باعث افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسما و کبد موش می‌شود که اثر آن برابر با سلنوسیستئین است

1- Reactive oxygen species

(Wang et al. 2007). هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر سطوح مختلف نانو سلنیوم بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون و منی قوچ عربی خوزستان است.

مواد و روش کار

این آزمایش در سال ۱۳۹۴ در ایستگاه تحقیقاتی دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام شد. در این آزمایش ۱۲ رأس قوچ نژاد عربی با میانگین وزنی ۳±۷۳ کیلوگرم و سن دو تا چهار سال در سه تیمار با چهار قوچ در هر تیمار مورد استفاده قرار گرفت که شامل: گروه شاهد (بدون نانو سلنیوم) و دو گروه آزمایشی بودند که به ترتیب ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو سلنیوم در ماده‌ی خشک مصرفی دریافت کردند. قوچ‌ها در یک جایگاه مسقف نیمه‌باز با کف بتونی، در نزدیکی جایگاه میش‌ها نگهداری می‌شدند. جایگاه دارای آخور و آبشخور دسته جمعی بوده و آب و غذا در حد اشتها در اختیار دام‌ها قرار داشت. جیره‌ی دام‌ها طبق برنامه‌ی ایستگاه دامپروری بر اساس توصیه انجمن ملی تحقیقات (NRC[1])، متشکل از جو، یونجه، سیلاژ ذرت و باگاس بود. مقادیر آماده شده نانو سلنیوم به صورت روزانه به مدت ۶۳ روز به مصرف دام‌ها رسید. روش اعمال تیمارها بدین صورت بود که مقادیر تعیین شده برای هر گروه با ۱۰۰ گرم جو در ظرف کوچکی مخلوط می‌شد و به صورت جداگانه به هر حیوان خورانده می‌شد (همچنین به منظور یکسان‌سازی شرایط آزمایش به همان مقدار جو بدون نانو سلنیوم به گروه شاهد خورانده می‌شد)، بقیه شرایط یکسان و دام‌ها به صورت گروهی تغذیه می‌شدند و تنها تفاوت در میزان دریافت نانو سلنیوم بود.

نانو سلنیوم از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان مشهد تهیه شد. اندازه ذرات سلنیوم در دامنه‌ی بین ۱۰ تا ۴۵ نانومتر به فرم مایع خاکستری‌رنگ بود و غلظت آن یک گرم سلنیوم در لیتر بود. اندازه‌گیری گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از کیت بیوشیمیایی رانسل ساخت شرکت راندوکس انگلستان با روش پاگلیا و والنتاین صورت گرفت (Paglia and Valentine 1967). سلنیوم با روش جذب اتمی با دستگاه جذب اتمی داری کوره گرافیتی (شیماتزو ۶۶۵۰، مدل ۲۰۰۸ ژاپن) اندازه‌گیری شد.

پس از شروع مکمل‌سازی هر ۲۱ روز یک بار از ورید وداج خون‌گیری به عمل آمد و در دو لوله‌ی آغشته به EDTA ریخته شد. یکی از لوله‌های دارای خون کامل برای اندازه‌گیری فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. غلظت سلنیوم نیز با استفاده از نمونه‌های خون موجود در لوله‌ی دوم پس از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه) و جدا کردن پلاسما، به روش اسپکترومتری جذب اتمی با تولید هیدرید (HG-AAS) پس از هضم فشاری ریز موج (با نیتریک اسید ۶۵ درصد و هیدروژن پراکسید ۳۰ درصد) اندازه‌گیری شد.

همزمان با خون‌گیری، اسپرم‌گیری نیز با استفاده از تحریک الکتریکی با دستگاه الکترواجاکولیتور صورت گرفت. برای اندازه‌گیری غلظت سلنیوم و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در منی، نمونه‌های تهیه شده با دور ۴۰۰۰ به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ و شسته شدند سپس مقداری (۵۰۰ میکرولیتر) اسپرم از هر نمونه سانتریفیوژ شده؛ با محلول بافر فسفات شسته و در سه مرحله‌ی دیگر سانتریفیوژ شدند بعد از آخرین سانتریفیوژ به هر نمونه یک میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر افزوده شد (Wendel 1981). تبدیل گلوتاتیون پراکسیداز در حضور معرف کومن هیدروپراکسیداز به گلوتاتیون کاتالیز شد و گلوتاتیون در حضور گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH اکسید شده و بلافاصله به فرم کاهش یافته تبدیل شد و همزمان با آن

1- National Research Council

NADPH[1] نیز به $NADP^+$ تبدیل شد. کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. داده‌های جمع‌آوری شده از آزمایش، پس از پردازش توسط نرم‌افزار Excel، با نرم‌افزار SAS نسخه‌ی ۸/۲ و با استفاده از رویه‌ی آماری GLM و در قالب طرح کاملاً تصادفی برای مدل ۱ تجزیه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

$$Y_{ij}= \mu +T_i + e_{ij}$$

که Y_{ij}، مقدار هر مشاهده؛ μ، میانگین کل؛ T_i، اثر تیمار و e_{ij}، اثر خطای آزمایشی است

نتایج

مکمل نانو ذرات سلنیوم منجر به افزایش غلظت سلنیوم خون و مایع منی در تیمارها گردید (جدول ۱). داده‌های به دست آمده از غلظت سلنیوم در پلاسمای خون قوچ‌ها نشان داد که با افزودن نانو ذرات سلنیوم در جیره، غلظت سلنیوم خون افزایش یافت. در تیمار ۰/۴ غلظت سلنیوم خون نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). در تیمار ۰/۸ تغییرات بسیار بالاتر بود و غلظت سلنیوم با غلظت آن در تیمار ۰/۴ از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان داد و نسبت به گروه شاهد به طور قابل توجهی بالاتر بود (P<۰/۰۵). تغییرات سطح سلنیوم در مایع منی تقریباً همسو با تغییرات آن در سطح خون بود به گونه‌ای که در مایع منی نیز سطح سلنیوم در تیمار ۰/۴ نسبت به شاهد افزایش یافت اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ولی در تیمار ۰/۸ به صورت قابل توجهی نسبت به شاهد و تیمار ۰/۴ افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵).

جدول ۱: میانگین ± خطای استاندارد (یا انحراف معیار) غلظت سلنیوم (میکروگرم بر لیتر) در پلاسمای خون و مایع منی به دنبال تأثیر سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم در جیره در قوچ عربی

	غلظت سلنیوم خون	غلظت سلنیوم منی
شاهد	۱۳۴/۴۶±۳/۸^c	۶۹/۱۹±۴/۵^b
۰/۴	۱۶۵/۰۷±۲/۸^b	۷۱/۰۹±۹^b
۰/۸	۲۲۰/۱۸±۲/۲^a	۹۵/۲۰±۳/۳^a
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۷۳

حروف مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).

بررسی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نیز تحت تأثیر مکمل سازی نانو ذرات سلنیوم تغییرات قابل توجهی را نشان داد (جدول ۲). نتایج درج شده در این جدول نشان می‌دهد که غلظت و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خون و منی در تیمارها نسبت به شاهد افزایش یافت. به عبارتی غلظت و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در تیمار ۰/۴ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد همچنین در تیمار ۰/۸ نیز نسبت به تیمار ۰/۴ و شاهد به طور قابل‌توجهی افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵).

جدول ۲: : میانگین ± خطای استاندارد (یا انحراف معیار) سطوح مختلف نانو ذرات سلنیوم در جیره بر میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بر لیتر) پلاسمای خون و مایع منی قوچ عربی

	گلوتاتیون پراکسیداز خون	گلوتاتیون پراکسیداز منی
شاهد	۳۹۵۹/۲±۸۵^c	۱۰۶/۱۲±۷/۸^c
۰/۴	۴۴۲۲/۳±۲۰۷^b	۱۲۲/۰۹±۴^b
۰/۸	۵۱۹۰/۸±۱۶۴^a	۱۵۳/۵۷±۸/۷^a
سطح احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳۱

حروف مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه است (P<۰/۰۵).

1- Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

بحث

برای برخی از عناصر، ارزش غذایی یک منبع تأمین‌کننده، وابسته به میزان جذب آن از دستگاه گوارش است، اما این مسئله در مورد سلنیوم تنها نیمی از داستان است. سلنیوم معدنی تحت عنوان سلنیت می‌تواند به صورت غیرفعال جذب گردد در حالی که سلنات به صورت جذب فعال در مسیرهایی به همراه مولیبدن و سولفات (SO_4) جذب شود و حتی ممکن است اثر منفی در جذب این عناصر ایجاد کند. در مقابل سلنومتیونین و سلنوسیستئین از مسیرهای جذب سیستئین و متیونین از عضلات روده‌ی باریک به صورت مولکول‌های دست نخورده جذب می‌شوند (Vendeland et al. 1992). نانو ذرات سلنیوم که شکلی کروی دارند به دلیل سطح جذب بالاتر به مقدار بیش‌تر نسبت به اشکال سلنیوم آلی و معدنی در دستگاه گوارش جذب می‌شوند. مشخص شده است که غلظت سلنیوم در خون نشان‌گر بسیار مناسبی برای وضعیت سلنیوم در بدن حیوانات است به این صورت که بعد از افزودن سلنیوم به جیره، غلظت آن در خون به سرعت بالا می‌رود (Cristaldi et al. 2005, Kim et al. 2001).

افزودن نانو ذرات سلنیوم به جیره‌ی قوچ‌های عربی باعث افزایش قابل توجهی در غلظت سلنیوم خون و مایع منی انزال شده گردید و این مشابه با نتایج Shi و همکاران در سال ۲۰۱۰ بود که گزارش کردند مکمل نانو ذرات سلنیوم موجب بهبود محتوای سلنیوم می‌شود. آن‌ها اظهار داشتند که افزودن ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم به جیره‌ی بزهای نر بوئر، باعث شد محتوای سلنیوم بافت بیضه و مایع منی، در گروه آزمایشی به صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یابد. در تحقیقات ما نیز افزایش در غلظت سلنیوم مشاهده گردید.

موافق با نتایج ما در تحقیقی توسط Pavlata و همکاران در سال ۲۰۱۱، تأثیر مکمل‌سازی منابع مختلف سلنیوم بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون بزها مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که مکمل‌سازی سلنیوم با منابع مختلف به صورت مشابهی غلظت آن را در تیمارها افزایش داد اما در گروه شاهد در تمام طول آزمایش غلظت سلنیوم تغییر قابل توجهی را در خون بزها نشان نداد.

در تحقیق Shi و همکاران در سال ۲۰۱۱ در آن تأثیر سلنیوم معدنی، آلی و نانو ذرات سلنیوم در بزهای نر را مورد بررسی و آزمایش قرار دادند گزارش کردند که با اضافه کردن سلنیوم از منابع مختلف به جیره‌ی بزها، غلظت سلنیوم در خون بزها تحت تأثیر قرار گرفت و در تیمارها افزایش معنی‌داری را نشان داد. همچنین تأکید کردند که تأثیر نانو ذرات سلنیوم بر غلظت سلنیوم خون در مقایسه با سلنیوم آلی و معدنی بسیار بیش‌تر بود و علت آن را به قابلیت جذب بالاتر نانو ذرات سلنیوم نسبت دادند. Petrujkic و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه‌ای که بر روی چگونگی تأثیر مکمل سلنیوم آلی و معدنی تولید شده در صنعت بر روی غلظت سلنیوم و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون و اسپرم خوک‌های نر وحشی انجام دادند به این نتیجه رسیدند که با افزودن سلنیوم از منابع مختلف غلظت سلنیوم در خون و مایع منی به صورت معنی‌داری در تیمارها نسبت به شاهد افزایش می‌یابد. طبق گزارش آن‌ها بالاترین غلظت سلنیوم خون و مایع منی در پایان مطالعه مربوط به تیمار مکمل‌سازی شده با فرم آلی سلنیوم، غلظت پایین‌تر از آن در مکمل‌سازی شده با سلنیوم معدنی و کم‌ترین مقدار نیز در گروه شاهد اندازه‌گیری شد.

مطالعه‌ی Pavlata و همکاران در سال ۲۰۱۱ که بر روی تأثیر افزودن مکمل‌های آلی و معدنی سلنیوم بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بز انجام دادند به این نتیجه رسیدند که مکمل‌های آلی و معدنی سلنیوم به صورت یکسان باعث افزایش غلظت سلنیوم در خون بزها می‌شود. Panev و همکاران در سال ۲۰۱۳ طی مطالعه‌ای که بر روی تأثیر مکمل سلنیوم آلی ومعدنی در گوسفند

انجام دادند؛ مشاهده کردند متناسب با سلنیوم جیره غلظت سلنیوم در خون گوسفندان به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد این نتیجه مشابه با مشاهدات ما در اضافه کردن نانو ذرات سلنیوم به جیره‌ی قوچ‌ها بود که غلظت سلنیوم در تیمارها نسبت به شاهد به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد.

با توجه به نتایج مربوط به وضعیت افزایش غلظت سلنیوم و غلظت و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در خون و مایع منی می‌توان این‌گونه استنباط کرد که افزودن نانو سلنیوم به جیره‌ی قوچ‌ها باعث بالا رفتن فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود و با افزایش غلظت سلنیوم در خون و منی غلظت و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نیز افزایش می‌یابد ($P<۰/۰۵$). این افزایش در فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز از نظر بیوشیمیایی قابل قبول است زیرا هر چه غلظت یک آنزیم افزایش یابد در صورت وجود سوبسترا و دما و pH مناسب فعالیت آنزیم نیز افزایش پیدا می‌کند (در محیط داخلی بدن شرایط بهینه برای فعالیت آنزیم فراهم است)؛ اما سؤال این است که غلظت آنزیم چگونه تحت تأثیر غلظت سلنیوم قرار می‌گیرد. پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی احتمال آسیب سلولی گسترده‌ای را ایجاد می‌کند مگر آن که توسط عوامل محافظتی مشخصی مانند آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مورد حمایت قرار گیرد. گلوتاتیون پراکسیداز بیضه‌ای به مقدار زیادی در سلول‌های زاینده یافت می‌شود (Zini et al. 1993).

در سال‌های اخیر نشان داده شده که کمبود سلنیوم بیان ژن گلوتاتیون پراکسیداز وابسته به سلنیوم را کاهش می‌دهد (Muller and Pallauf 2002) و از این رو بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اثر می‌گذارد. بنابراین کاهش سطوح گلوتاتیون پراکسیداز در شرایط کمبود سلنیوم، سلول‌های زاینده را در معرض استرس اکسیداتیو قرار می‌دهد. پس می‌توان گفت که سلنیوم با تأثیر بر هسته سلول‌ها موجب افزایش بیان ژن تولیدکننده‌ی گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود. یک احتمال دیگر این است که افزایش غلظت سلنیوم و کم شدن غلظت گلوتاتیون پراکسیداز باعث تحریک بدن به سمت تولید بیش‌تر آنزیم می‌شود.

در بررسی تأثیر مکمل‌سازی سدیم سلنات، سلنیوم تخمیری و نانو ذرات سلنیوم در جیره‌ی بزها، این نتیجه حاصل شد که اضافه کردن مکمل سلنیوم به جیره‌ی بزها باعث تحریک فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و بالا رفتن محتوای آنتی‌اکسیدانی شد که در میان تیمارها مکمل نانو ذرات سلنیوم بیش‌ترین تأثیر را اعمال کرد (Shi et al. 2011). موافق با تحقیقات ما Petrujkic و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که مکمل‌سازی سلنیوم در فرم‌های آلی و معدنی در خوک‌های نر باعث افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود، بیش‌ترین تفاوت نسبت به گروه شاهد در تیمار مربوط به مکمل سلنیوم آلی بود که به طور قابل توجهی نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد.

در پژوهش انجام شده توسط Panev و همکاران در سال ۲۰۱۳ که بر روی تأثیر مکمل‌های آلی و معدنی سلنیوم در گوسفندان انجام دادند گزارش کردند که تحت تأثیر تیمارها غلظت و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون و مایع شکمبه به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. همچنین آن‌ها همبستگی مثبت و معنی‌داری میان غلظت سلنیوم و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در خون گزارش کردند که در این رابطه Pavlata و همکاران در سال ۲۰۱۱ در بز و Pavlata و همکاران در سال ۲۰۱۲ در گوسفند همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت سلنیوم و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در خون گزارش کردند.

همچنین Pavlata و همکاران در سال ۲۰۱۱ در توجیه افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، اظهار داشتند که فعالیت بالاتر آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با مکمل آلی سلنیوم در واقع به این دلیل است که سلنیوم آلی (سلنومتیونین) به سرعت در ساختمان پروتئین‌ها قرار

گرفته و باعث افزایش فعالیت آنزیم می‌گردد در ادامه غلظت سلنیوم در خون برای ترکیب شدن با پروتئین‌هایی از قبیل گلوتاتیون پراکسیداز کاهش می‌یابد که با اضافه کردن سلنیوم به جیره فعالیت آنزیم افزایش پیدا می‌کند. با توجه به این که قابلیت دسترسی و سطح جذب نانو ذرات سلنیوم نسبت به اشکال آلی و معدنی سلنیوم بسیار بالاتر است و همچنین خطرات سمیت آن کم‌تر است، پس مکمل‌سازی نانو ذرات سلنیوم می‌تواند نتایج بهتری را داشته باشد که مطابق با نتایج آزمایش‌های ما است.

نتایج مشابهی که نشان‌دهنده‌ی افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز تحت تأثیر مکمل سلنیوم در بز می‌باشد توسط Misurova و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش گردیده است. در بررسی تزریق سلنیوم در گاوهای شیری و اثر آن بر غلظت سلنیوم و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و کیفیت مایع سمینال، توسط Bartle و همکاران ۱۹۸۰ این نتیجه حاصل شد که تزریق سلنیوم باعث افزایش غلظت و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون و مایع سمینال شد. Lasota و همکاران در سال ۲۰۰۴ نتایجی مخالف با نتایج تحقیق ما گزارش کردند، در بررسی وضعیت غلظت سلنیوم و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون و مایع منی خوک‌ها در دوره‌های سنی متفاوت برای تلقیح مصنوعی، اعلام کردند که همبستگی مستقیمی میان غلظت سلنیوم و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسمای خون و مایع منی و همچنین کیفیت منی خوک‌های بالغ مشاهده نگردید و در ادامه اظهار کردند که وضعیت سلنیوم و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در خون و منی هیچ همبستگی‌ای باهم ندارند.

در نهایت، این نتیجه حاصل شد که مکمل‌سازی نانو سلنیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسمای خون و منی قوچ‌های عربی می‌شود و در رابطه با فعالیت این آنزیم تیمار ۰/۸ بهترین نتیجه را نشان داد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب و با حمایت‌های دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه رامین خوزستان انجام شد. بدین وسیله از گروه علوم دامی دانشگاه رامین تشکر می‌کنم.

منابع

Agarwal, A.; Nallella, K.P.; Allamaneni, S.R. and Said, T.M. (2004). Role of antioxidant in treatment of male infertility: an overview of the literature. Reproductive BioMedicine Online, 8: 616-27.

Behne, D.; Weiler, H. and Kyriakopoulos, A. (1996). Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats. Journal of Reproduction and Fertility, 106(2): 291-297.

Bartle, J.L.; Senger, P.L. and Hillers, J.K. (1980). Influence of injected selenium in dairy bulls on blood and semen selenium, glutathione peroxidase and seminal quality. Biology of Reproduction, 23(5): 1007-1013.

Cristaldi, L.A.; McDowell, L.R.; Buergelt, C.D.; Davis, P.A.; Wilkinson, N.S. and Martin, F.G. (2005). Tolerance of inorganic selenium in wether sheep. Small Ruminant Research, 56(1): 205-213.

Hall, L.; Williams, K.; Perry, A.C.; Frayne, J. and Jury, J.A. (1998). The majority of human glutathione peroxidase type 5 (GPX5) transcripts are incorrectly spliced: implications for the role of GPX5 in the male reproductive tract. Biochemical Journal, 333(1): 5-9.

Hill, K.E.; Xia, Y.; Akesson, B.; Boeglin, M.E. and Burk, R.F. (1996). Selenoprotein P concentration in plasma is an index of selenium status in selenium-deficient and selenium-supplemented Chinese subjects. The Journal of Nutrition, 126(1): 138.

Kim, Y.Y. and Mahan, D.C. (2001). Effects of high dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite on macro and micro mineral metabolism in grower-finisher swine. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 14(2): 243-249.

Lasota, B.; Błaszczyk, B.; Seremak, B. and Udała, J. (2004). Selenium Status and GSH-Px Activity in Semen and Blood of Boars at Different Ages Used for Artificial Insemination. Reproduction in Domestic Animals, 39(5): 309-314.

Mala, S.; Kovaru, F.; Misurova, L.; Pavlata, L.; Dvorak, R. and Ciz, M. (2009). Influence of selenium on innate immune response in kids. Folia Microbiologica, 54(6): 545-548.

Misurova, L.; Pavlata, L.; Pechova, A. and Dvorak, R. (2009). Effect of a long-term peroral supplementation with sodium selenite and selenium lactate-protein complex on selenium status in goats and their kids. Veterinarni Medicina, 54(7): 324-332.

Müller, A.S. and Pallauf, J. (2002). Down-regulation of GPx1 mRNA and the loss of GPx1 activity causes cellular damage in the liver of selenium-deficient rabbits. Journal of animal Physiology and Animal Nutrition, 86(9-10): 273-287.

National Research Council (1985). Nutrient Requirements of Sheep. 6th Ed. National Academy Press, Washington, USA.

Neve, J. (2002). Selenium as a 'nutraceutical': how to conciliate physiological and supra-nutritional effects for an essential trace element. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 5(6): 659-663.

Paglia, D.E. and Valentine, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Translational Research, 70(1): 158-169.

Pan, C.; Huang, K.; Zhao, Y.; Qin, S.; Chen, F. and Hu, Q. (2007). Effect of selenium source and level in hen's diet on tissue selenium deposition and egg selenium concentrations. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(3): 1027-1032.

Panev, A.; Hauptmanova, K.; Pavlata, L.; Pechova, A.; Filipek, J. and Dvorak, R. (2013). Effect of supplementation of various selenium forms and doses on selected parameters of ruminal fluid and blood in sheep. Czech Journal of Animal Science, 58: 37-46.

Pavlata, L.; Mišurová, L.; Pechová, A. and Dvořák, R. (2012). Comparison of organic and inorganic forms of selenium in the mother and kid relationship in goats. Czech Journal of Animal Science, 57(8): 361-369.

Pavlata, L.; Misurova, L.; Pechova, A. and Dvorak, R. (2011). The effect of inorganic and organically bound forms of selenium on glutathione peroxidase activity in the blood of goats. Veterinarni Medicina, 56(2): 75-81.

Petrujkić, B.T.; Šefer, D.S.; Jovanović, I.B.; Jovičin, M.; Janković, S.; Jakovljević, G. and Anderson, R.C. (2014). Effects of commercial selenium products on glutathione peroxidase activity and semen quality in stud boars. Animal Feed Science and Technology, 197: 194-205.

SAS Institute. (2001). SAS User's Guide, Version 8.2. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Sadeghian, S.; Kojouri, G.A. and Mohebbi, A. (2012). Nanoparticles of selenium as species with stronger physiological effects in sheep in comparison with sodium selenite. Biological Trace Element Research, 146(3): 302-308.

Shamberger, R.J. (1983). Biological interactions of selenium with other substances. In Biochemistry of selenium. Springer US. Pp: 125-166.

Shi, L.G.; Yang, R.J.; Yue, W.B.; Xun, W.J.; Zhang, C.X.; Ren, Y.S. and Lei, F.L. (2010). Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. Animal Reproduction Science, 118(2): 248-254.

Shi, L.; Xun, W.; Yue, W.; Zhang, C.; Ren, Y.; Shi, L. and Lei, F. (2011). Effect of sodium selenite, Se-yeast and nano-elemental selenium on growth performance, Se concentration and antioxidant status in growing male goats. Small Ruminant Research, 96(1): 49-52.

Vendeland, S.C.; Butler, J.A. and Whanger, P.D. (1992). Intestinal absorption of selenite, selenate, and selenomethionine in the rat. The Journal of Nutritional Biochemistry, 3(7): 359-365.

Wang, H.; Zhang, J. and Yu, H. (2007). Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: comparison with selenomethionine in mice. Free Radical Biology and Medicine, 42(10): 1524-1533.

Wendel, A. (1981). Glutathione peroxidase. Methods Enzymol, 77: 325-333.

Wu, S.H.; Oldfield, J.E.; Whanger, P.D. and Weswig, P.H. (1973). Effect of selenium, vitamin E, and antioxidants on testicular function in rats. Biology of Reproduction, 8(5): 625-629.

Zhang, J.; Wang, H.; Yan, X. and Zhang, L. (2005). Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice. Life sciences, 76(10): 1099-1109.

Zhang, J.S.; Gao, X.Y.; Zhang, L.D. and Bao, Y.P. (2001). Biological effects of a nano red elemental selenium. Biofactors, 15(1): 27-38.

Zini, A.; Lamirande, E. and Gagnon, C. (1993). Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase-and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa. International Journal of Andrology, 16(3): 183-188.

Vol. 15, No. 4, Winter, 2020
DOI: 10.22055/ivj.2019.75044.1869

Assessment of Glutathione peroxidase activity in blood plasma and semen Following Nutrition by Nano-selenium supplementation in Khuzestan Arabian rams

Hosseini, S.[1] and Mamouei, M.[2]

Received: 02.06.2018 Accepted: 16.02.2019

Abstract

Selenium is an essential nutrient that play a very important role in the body and is an antioxidant. The biological role of selenium is based on its effects on the structure of many selenoproteins. This experiment aimed to investigate the effect of nano-selenium nutritional supplementation on blood and semen glutathione peroxidase activity in Khuzestan Arabian rams. In this experiment, twelve Arabian rams with an average weight of 73±3 kg and two to four years old were used. Animals were divided into three groups; the control group (without nano-Selenium) and two experimental groups that received the 0.4 and 0.8 mg nano-selenium per kg dry matter, respectively. The results showed that selenium concentrations in blood and semen increased in treatment 0.4 compared to the control, which was significantly increased in the blood. Blood and semen selenium concentrations in group 0.8 were significantly higher than group 0.4 and control. The blood and semen glutathione peroxidase activity significantly increased in treatment 0.4 compared to control and in treatment 0.8 compared to the control and treatment 0.4. Finally, it was concluded that Nano-selenium supplementation increases the blood and semen glutathione peroxidase activity of Arabian rams and treatment 0.8 showed the best results.

Key words: Glutathione peroxidase, Nano-selenium, Blood, Semen, Arabian ram

1- MSc Graduated of Animal Physiology, Faculty of Animal Science and food industry, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
Corresponding Author: Hossseini, S., Email: s.hoseini957@gmail.com