The effect of L-carnitine on sperm parameters, testicular tissue and sperm DNA damage index in Ross strain old roosters

ABSTRACT

L-carnitine has antioxidant properties and protect the sperm membrane from reactive oxygen substance (ROS). This component reduces the availability of lipids from oxidation. To evaluate the administration of L-carnitine on semen and blood parameters and testicular tissue in aged Ross strain roosters. Forty aged roosters with same weight and age were distributed in four treatments with 10 repetitions in standard cages. The roosters were divided into experimental treatments including control, 100, 250 and 500 mg of L-carnitine per kg of diet. The duration of the experiment was 10 weeks. The length. For habituation to sperm collection used back-abdominal rubbing method. Semen samples were transferred to the laboratory at temperature of 37°C and after initial evaluation, parameters of motility, viability, integrity of sperm plasma membrane and DNA health were evaluated. The serum samples were collected to determine parameters and testicular tissue for histological studies. The rate of motility, viability, membrane integrity and DNA integrity increased in treatments fed with L-carnitine. The maximum integrity was observed in the treatment of 500 mg/kg. The amount of cholesterol and HDL in treatment 4 (500mg) was minimum and maximum respectively, while liver enzyme alanine aminotransferase showed no significant difference in all treatments. The thickness of the germinal layer in seminiferous tubules increased significantly with the addition of 500 and 250 mg of L-carnitine. L-carnitine is able to reduce the effects of oxidative stress in aged roosters. This result can be suggested and used for important breeds that are kept for unusual period.

Keywords: *Blood parameters, DNA damage, L-carnitine, Rooster, Testis tissue*

تاثیر ال کارنیتین روی فراسنجه‌های منی، بافت بیضه و شاخص آسیب DNA اسپرم در خروس-

های مسن سویه راس

چکیده فارسی

کارنیتین با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی قادر است غشاء اسپرم را از صدمات اکسیژن آزاد حفظ کند. این ترکیب دسترسی عوامل اکسایش لیپیدها را کاهش می‌دهد. هدف از این پژوهش ارزیابی افزودن این ترکیب بر فراسنجه‌های منی و خون و بافت بیضه در خروس‌های مسن سویه راس بود. تعداد ۴۰ قطعه خروس راس هم وزن و همسن در چهار تیمار با ۱۰ تکرار در قفس‌های انفرادی توزیع شدند. خروس‌ها در تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین در کیلوگرم جیره تقسیم بندی شدند. طول آزمایش ۱۰ هفته بود. عادت‌دهی به اسپرم‌دهی به روش مالش پشتی شکمی انجام شد. نمونه‌های منی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل و پس از ارزیابی اولیه، فراسنجه‌های تحرک، زنده‌مانی، یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم و سلامت DNA ارزیابی شد. سرم خون جهت تعیین فراسنجه‌های خونی و بافت بیضه برای مطالعات بافتی تهیه شد. نرخ تحرک، زنده‌مانی، یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم و سلامت DNA در تیمارهای تغذیه شده با ال کارنیتین افزایش یافت. حداکثر یکپارچگی در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک مشاهده شد. مقدار کلسترول و لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) در تیمار ۴ بترتیب کمینه و بیشینه شد در حالی که آنزیم کبدی آلانین آمینوترانسفراز در کلیه تیمارها اختلاف معنی داری نشان نداد. ضخامت لایه ژرمینال در لوله‌های اسپرم‌ساز با افزودن ال کارنیتین بمقدار ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم افزایش معنی‌داری ایجاد نمود. ال کارنیتین قادر است اثرات تنش اکسیداتیو را در سنین پیری کاهش دهد و افزودن آن به جیره خوراکی سویه یا نژادهای مهم پیشنهاد می‌شود.

کلیدواژه‌ها: *آسیب DNA، ال–کارنیتین، اسپرم، بافت بیضه، خروس، فراسنج‌های خون*

ویراستاری نشده

مقدمه

سال‌ها است که اثرات ال کارنیتین به عنوان آنتی‌اکسیدان روی فراسنجه‌های تولیدمثلی در انسان و خوک ارزیابی شده است. از طرفی در نمونه منی افراد نابارور، غلظت کارنیتین پائین است به همین دلیل به عنوان نشانگر در مایع اپیدیدیم در تشخیص افراد بارور از غیر بارور استفاده می‌شود(Jouannet *et al.*, 1981). حجم منی در خوک‌هائی که در جیره آنها مقدار ۷۲۰ میلی‌گرم در روز اضافه شد به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود(Baumgartner, 1998). اگرچه اثرات افزودن کارنیتین به جیره روی ترکیب لاشه (Barker & Sell, 1994)، تولید تخم‌مرغ و جوجه‌درآوری (Leibetseder, 1995)، در طیور ارزیابی شد لیکن اثرات این شبه ویتامین روی عملکرد تولید مثلی در مرغان مادر بویژه مسن هنوز ناشناخته است.

رادیکال‌های آزاد روی غشاء پلاسمائی زمانی که غشاء در معرض گونه‌های فعال اکسیژن قرار می‌گیرد اثرات مخربی دارند. دیواره سلول از طریق پراکسیداسیون لیپیدی، شکسته و فعالیت آن کاهش می‌یابد(Halliwell, 1994). پراکسیداسیون لیپیدی زمانی اتفاق می‌افتد که گونه‌های فعال اکسیژن بر سامانه آنتی‌اکسیدانی اسپرم غلبه و یا برتری یابند. سلول‌های بدنی (سماتیک)(Ahmed *et al.*, 2014) با آنزیم‌های سیتوپلاسمی خود از قبیل سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز علیه پراکسیداسیون لیپیدی دفاع نموده در حالیکه سلول اسپرم در زمان اسپرم‌سازی این آنزیم‌ها را آزاد می‌کند بنابراین اسپرم‌ها پس از آزاد سازی از لایه زاینده در لوله‌های اسپرم‌ساز، در ادامه مسیر خود در دستگاه تولید مثلی از نداشتن این آنزیم‌ها رنج می‌برند(Wang *et al.*, 1997). همچنین اسپرم پرندگان در مقایسه با پستانداران غنی از اسیدهای چرب غیراشباع است و در زمان کار در آمایشگاه (حمل و نقل و ذخیره سازی) بشدت آسیب پذیر می‌شود. بنابراین برای بررسی تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی منی بعنوان شاخص بیوشیمیائی است (Alvarez & Storey, 1989).

پیشینه پژوهش

کارنیتین دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی است که دیواره سیتوپلاسمی را از متابولیت‌های اکسایشی محافظت می‌کند. همچنین این ترکیب دسترسی لیپیدها را برای پراکسیداسیون کاهش می‌دهد. این عمل از طریق فراخوانی آنها به داخل میتوکندری برای بتا اکسیداسیون انجام می‌شود. ویتامین C یا آسکوربیک اسید (AA) (Radwan *et al*) بعنوان یک کوفاکتور در دومرحله هیدروکسیلاسیون در تولید کارنیتین نقش دارد. دو مرحله هیدروکسیلاسیون مرتبط با AA توسط آنزیم ۲ اگزاگلوتارات داکسیژناز کاتالیز می‌شود. عنصر آهن برای فعال شدن اکسیژن ضروری است. بعلاوه کمپلکس آهن– اکسیژن سب غیرفعال شدن آنزیم داکسیژناز می‌شود. برای بازیابی مجدد آنزیم، نیاز به آسکوربیک اسید است به‌گونه‌ای که آهن را احیا نموده و آنزیم را فعال می‌کند و نهایتا در اثرفعالیت آنزیم، تولید کارنیتین راه‌اندازی می‌شود.

آثرات آنتی‌اکسیدانی کارنیتین در پلاسما، کبد و کلیه موش‌های جوان ارزیابی شد. افزودن کارنیتین به جیره موش‌های مسن سبب افزایش ویتامین E و آسکوربیک اسید شد، همچنین با افزودن کارنیتین، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز افزایش یافت به علاوه پراکسیداسیون لیپیدی در موش‌های تیمار با کارنیتین نسبت به گروه شاهد کاهش چشمگیری داشت. افزایش آسکوربیک اسید با افزودن کارنیتین به جیره موش‌ها می‌تواند به دلیل ساخت آن در بافت باشد (Kalaiselvi & Panneerselvam, 1998). تاثیرگنجاندن ال‌کارنیتین به جیره خروس‌های نابالغ با هدف افزایش فعالیت بافت بیضه و در نهایت

ویراستاری نشده

بهبود تولید مثلی توسط محمدی و همکاران مطالعه شد. جنبایی و سلامت غشاء پلاسمائی اسپرم در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم ال‌کارنیتین در کیلوگرم جیره افزایش یافت (Mohammadi et al., 2022) .

با افزایش سن در طیور تخمگذار سیستم آنتی‌اکسیدانی تضعیف و صفات مهم تولید مثلی با افزایش سن تغییر می‌یابد. این صفات شامل کاهش در غلظت اسپرم، تحرک یا جنبائی، هورمون تستوسترون و ظرفیت آنتی اکسیدانی است (Ansari et al., ۲۰۱۸; Ansari et al., ۲۰۱۷). یکی از مهمترین عامل در نرخ جوجه‌درآوری باروری جنس نر است. برای بهبود عملکرد تولیدمثلی در خروس‌های مسن، لیکوپن (Mangiagalli et al., ۲۰۱۰) و زردچوبه (Yan et al., ۲۰۱۷) اثرات منفی پیری را کاهش داد. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی ال‌کارنیتین، به نظر می‌رسد مصرف آن بتواند کیفیت منی را از طریق کاهش اکسیداسیون غشای پلاسمائی اسپرم و افزایش جنبائی بهبود بخشد. هدف مطالعه حاضر، ارزیابی افزودن ال کارنیتین در جیره خوراکی خروس‌های مولد مسن سویه راس، روی فراسنجه‌های منی، خون و بافت بیضه بود و اینکه آیا افزودن ال کارنیتین به جیره می‌تواند بعنوان یک آنتی‌اکسیدان در بهبود آنزیم‌های کبدی در خروس‌های مسن در این سویه عمل کند؟

روش‌شناسی پژوهش

جهت انجام این تحقیق تعداد ۴۰ قطعه خروس سویه راس انتخاب شد. خروس‌ها در برنامه نوری۱۶ ساعت نور و هشت ساعت تاریکی قرار گرفتند. خروس‌ها در چهار تیمار و ۱۰ تقسیم‌بندی شدند. تیمارها شامل گروه شاهد، تیمار دو به مقدار۱۰۰، تیمار سه به مقدار ۲۵۰ و تیمار چهار به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین در کیلوگرم جیره روزانه بودند. دوره پرورش ۱۰هفته درنظر گرفته شد. برای عادت پذیری به اسپرم‌دهی از روش مالش پشتی- شکمی استفاده شد. در این بررسی جهت ارزیابی تحرک مقدار ۱۰ میکرولیتر از نمونه منی هر تیمار به حجم ۱۹۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM[1] افزوده تا رقیق شود. برای ارزیابی حجم ۵ میکرولیتر از منی رقیق شده روی لامل مخصوص ریخته شد. نرخ تحرک (جنبایی) اسپرم‌ها با میکروسکوپ نوری مجهز به سامانه نرم افزار CASA انجام شد. برای بررسی نرخ زنده‌مانی اسپرم‌ها، از رنگ آمیزی ائوزین_نیگروزین استفاده شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر از منی رقیق شده را در میکروتیوپ ریخته و با ۵۰ میکرولیتر محلول ائوزین نیگروزین به آرامی مخلوط و در انکوباتور قرار داده شد. پس از پنج دقیقه نمونه از دستگاه خارج و یک قطره (۵ میکرولیتر) از آن را روی لام ریخته و با آن گسترش تهیه شد. ارزیابی توسط میکروسکوپ نوری انجام شد. در این روش اسپرم‌های مرده بدلیل جذب رنگ، رنگی لیکن اسپرم‌های زنده، رنگ نشده در نمونه گسترش قابل مشاهده است. با این روش نرخ زنده‌مانی تعیین شد. .طبق اصل یکپارچگی غشای اسپرم، اسپرم‌های زنده به دلیل داشتن غشای پلاسمایی سالم و یکپارچه هیچگونه رنگی نمی-پذیرند. به منظور ارزیابی سلامت غشاء اسپرم، تست یکپارچگی غشای اسپرم صورت گرفت. در این روش، اسپرم‌ها با یک مایع هایپواسموتیک واکنش داده، متورم شده و دم آن‌ها گره می‌خورد در حالیکه اسپرم‌هائی که غشاء آنها از یکپارچگی کافی برخوردار نباشند هیچ واکنشی نشان نمی‌دهند. به منظور بررسی نرخ قطعه قطعه شدن اسپرم از کیت SDF استفاده شد. در این آزمایش در یک بستر میکروژلی و تحت تأثیر یک تیمار اسیدی کروماتین و DNA اسپرم دناتوره می‌شود. در مرحله بعد با حذف پروتئین‌های کروماتین، رشته‌های DNA تا حد ممکن در اطراف سر اسپرم پخش و بصورت هاله ای نمایان می‌شوند. عدم تشکیل هاله و رنگ آمیزی سر اسپرم بمنظور اسپرم صدمه دیده محسوب می‌شود. برای ارزیابی فراسنجه های خونی نیز هشت ساعت قبل از کشتار خروس‌ها، خوراک قطع شده و از تمامی آنها خونگیری بعمل آمد. لوله‌های خون پس از ۳۰ دقیقه در سانتریفوژ با دور

---

۱ - Dulbecco's Modified Eagle Medium

۳۰۰۰ با ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد، سپس سرم آنها جدا و در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز،کراتینین، کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین کل، ALP، ALT، AST، LDL، HDL بود. برای بررسی فراسنجه‌های بافت بیضه، پس از ذبح خروس‌ها، ابتدا بیضه‌ها از محوطه شکمی خارج و به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت۰/۱گرم وزن‌کشی شدند. ابعاد بیضه شامل طول، عرض و ارتفاع بود، سپس نمونه‌برداری از قسمت میانی بافت به اندازه ۰/۵ سانتی متر جدا شد. نمونه‌های بیضه جهت جلوگیری از تجزیه توسط آنزیم‌های لیزوزمی، در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت فرمالین تعویض و بافت‌ها تا زمان تهیه مقطع در فرمالین نگهداری شدند. جهت آب‌گیری، ۴۵ دقیقه بافت در آب مقطر، دو ساعت در الکل ۷۰ درجه،۱/۵ساعت در الکل ۸۰ درجه و ۲/۵ساعت در الکل ۹۶ درجه قرار گرفتند. جهت خروج الکل و شفاف سازی، بافت‌ها بمدت ۱/۵ساعت در محلول زایلن یک و ۱/۵ساعت در زایلن دو قرار گرفتند سپس بافت‌های شفاف شده جهت تهیه بلوک در پارافین مایع بمدت ۴-۶ساعت در انکوباتور در ۶۲ درجه سانتیگراد قرارداده شدند. پس از مدت طی شده، نمونه‌ها را با پارافین مایع قالب‌گیری و پس از جامد شدن، مقاطع بافتی توسط میکروتوم تهیه شدند. ابتدا برش‌ها در حمام آب گرم (۴۰ درجه سانتیگراد) قرار گرفته تا چین و چروک لایه‌های برش یافته باز شوند. برش‌ها روی لام و اجازه داده شد تا خشک شوند. برش‌ها توسط هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی و بترتیب در چهار ظرف حاوی الکل‌های ۹۶ ، ۸۰، ۷۰ و۵۰ درجه خلوص هر کدام به مدت یک تا دو دقیقه قرار داده شدند. نمونه‌ها با آب جاری به مدت۲۰-۱۰ دقیقه شستشو داده شدند. برای حذف رنگهای اضافی، لام‌ها سه مرتبه در محلول HCLو الکل ۹۷ درصد خلوص فرو برده شدند. نمونه‌ها با آب جاری به‌مدت یک دقیقه شستشو و سپس در محلول کربنات لیتیم ۱۰ درصد قرار گرفتند. برش‌ها مجددا با آب مقطر شستشو داده شدند. رنگ بعدی ائوزین برای قرمز شدن سیتوپلاسم بود. نمونه‌ها یک تا دو دقیقه در ائوزین قرار گرفت و در نهایت آبگیری کامل با ۴۰ الکل ۶۰،۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد به مدت سه دقیقه انجام شد. از گزیلول به مدت ۵ دقیقه جهت شفاف سازی استفاده شد. با استفاده از میکروسکوپ مجهز به دوربین و نرم افزار Iscapture فراسنجه‌های بیضه از جمله قطر لوله‌های اسپرم ساز، ارتفاع پوشش اپیتلیومی، قطر لومن، با بزرگنمایی ۴۰ و ۱۰ انجام شد. داده‌های آزمایش توسط نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) طرح کامل تصادفی آنالیز و میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

یافته‌های پژوهش

نتایج تأثیر پودر ال- کارنیتین روی فراسنجه‌های حرکتی اسپرم در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که VCL(سرعت اسپرم‌ها در مسیر واقعی طی شده به میکرومتر) و VAP (متوسط سرعت در مسیر منحنی) درتیمار دریافت کننده ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ال-کارنیتین جیره بطور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($P\leq0/05$). بالاترین مقدار VSL (سرعت در مسیر مستقیم) در تیمار ۲ (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و ۳ (۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد مشاهده ($P\leq0/05$). بیشترین درصد حرکت پیش رونده و درجا در تیمارهای دریافت کننده ال-کارنیتین و بیشترین درصد بدون حرکت در تیمار شاهد مشاهده شد($P\leq0/05$) اما بین تیمارهای آزمایشی در نرخ درصد حرکت موجی اسپرم‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بالاترین درصد جنبایی در تیمارهای ۲ و ۳ و کمترین مقدار تحرک در تیمار شاهد مشاهده شد($P\leq0/05$).

ویرایشگری نشده

جدول ۱. تأثیر افزودن سطوح مختلف پودر ال-کارنیتین در جیره بر فراسنجه‌های حرکتی اسپرم خروس های سویه راس

فرا سنجه‌ها	T1	T2	T3	T4	SEM	P-Value
VCL (میکرومتر بر ثانیه)	۲۰/۸۱ ^{b}	۳۹/۳^{a}	۳۲/۵۵^{ab}	۲۵/۷۵^{b}	۲/۳۷	۰/۰۵
VAP(میکرومتر بر ثانیه)	۱۱/۳۳^{c}	۱۴/۵۲^{a}	۱۳/۰۷^{ab}	۱۰/۰۲^{bc}	۰/۹۵	۰/۰۴
VSL(میکرومتر بر ثانیه)	۶/۶۶^{b}	۱۴/۵۲^{a}	۱۳/۰۷^{a}	۱۰/۰۲^{ab}	۰/۹۶	۰/۰۵
حرکت پیش‌رونده (درصد) (A)	۱۰/۰۱^{b}	۲۱/۳۵^{a}	۱۷/۵۸^{a}	۱۵/۲۵^{ab}	۱/۲۵۷	۰/۰۱
حرکت موجی (درصد) (B)	۲۰/۱۸	۱۹/۳۱	۲۱/۱۹	۱۹/۰۳	۱/۲۲	۰/۴
حرکت درجا (درصد) (C)	۱۰/۴۵^{b}	۱۸/۳۳^{a}	۱۹/۶۸^{a}	۱۴/۷۴^{ab}	۱/۳۶	۰/۰۳
بدون حرکت (درصد) (D)	۵۸/۳۳^{a}	۳۹/۳۹^{b}	۳۹/۰۵^{b}	۵۰/۲۲^{ab}	۲/۸۹	۰/۰۵
ALH	۱/۰۵^{b}	۱/۸۵^{a}	۱/۷۵^{a}	۱/۳۱^{ab}	۰/۱۱	۰/۰۲
BCF	۱/۱۸^{b}	۱/۵۸^{ab}	۱/۹۳^{a}	۱/۳۸^{ab}	۰/۱۱۵	۰/۰۴
MAD	۲۰/۶^{b}	۳۸/۱^{a}	۳۹^{a}	۲۵/۸^{ab}	۲/۳	۰/۰۱
SN	۲۴/۹۹^{b}	۳۷/۰۲^{a}	۳۷/۲۳^{a}	۳۱/۴۶^{ab}	۱/۸۷	۰/۰۴
Lin	۱۴/۱۳^{b}	۲۲/۰۳^{a}	۲۱/۳^{a}	۱۹/۱^{ab}	۱/۱۸	۰/۰۵
WOB	۲۱/۱۳^{b}	۳۱/۶۵^{a}	۳۲/۱۸^{a}	۲۷/۶۱^{ab}	۴/۴۹	۰/۰۱
جنبایی (درصد)	۴۰/۶۴^{b}	۵۸/۸۲^{a}	۶۰/۰۵^{a}	۴۸/۷۴^{ab}	۲/۸۵	۰/۰۰۱

T1(گروه شاهد)، T2(تیمار حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین بر کیلوگرم خوراک)، T3(تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین بر کیلوگرم خوراک)، T4(تیمار حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین بر کیلوگرم خوراک). (A) درصد اسپرم های سریع و پیشرونده (حرکت مستقیم). Straight Movement% ، (B) درصد اسپرم‌هاییا حرکت موجی .Wave shape% ، (C) درصد اسپرم‌ها با حرکت درجا. Move in place % ،(D) در صد اسپرم‌های غیر متحرک. Immotile% ، (LI) درصد معیار خطی بودن حرکت%(VSL/VCL))Linear index ،(WOB) نرخ حرکات تند و زیگزاکی اسپرم حول مسیر میانگین Wobble ،(VCL) سرعت واقعی اسپرم ها در مسیر واقعی(میکرومتر بر ثانیه) Velocity of curved line.µm/s ،(VAP) میانگین سرعت در مسیر منحنی (میکرومتر بر ثانیه)Velocity of average path µm/s، (VSL) سرعت حرکت مستقیم اسپرم‌ها (میکرومتر بر ثانیه) Velocity of straight line µm/s ، (ALH) درصد دامنه نوسانات حرکت اسپرم‌هاLateral amplitude، (BCF) فرکانس نوسانات اسپرم‌ها (تعداد frequency Beat Cross) ، (MAD) متوسط زاویه چرخش Mean angular displacement، SEM: میانگین خطای استاندارد Standard Error Mean.

حروف کوچک غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌داربین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵).

Small letter in rows shows significant different between experimental treatment (P<0.05).

نتایج مربوط به زنده‌مانی، یکپارچگی غشاء پلاسمایی اسپرم و قطعه‌قطعه شدن DNA در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد که در تیمارهای ۲ و ۴ درصد زنده‌مانی بالاتری نسبت به شاهد مشاهده شد (P≤0/05). کمترین درصد زنده‌مانی در تیمار شاهد بود. درتیمار ۴ بالاترین درصد یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم مشاهده شد(P≤0/05) و بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نرخ آسیب (قطعه قطعه شدن) DNA در تیمارهای ۲ و ۳ بطور معنی‌داری کاهش یافت(P≤0/05) .

آشنایی نشده

جدول ۲. تأثیر سطوح مختلف پودر ال-کارنیتین در جیره بر نرخ زنده مانی، یکپارچگی غشای پلاسمایی و قطعه قطعه شدن DNA اسپرم خروس های سویه راس

فراسنجه‌ها	T1	T2	T3	T4	SEM	P-value
زنده‌مانی (درصد)	۵۱/۹۹^{b}	۸۶/۶۰^{a}	۶۶/۳۲^{b}	۸۴/۸۸^{a}	۱/۹	۰/۰۰۱
یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم (درصد)	۲۶/۲۶^{b}	۳۱/۳۳^{b}	۳۳/۳۷^{b}	۴۸/۸۶^{a}	۲/۰۱	۰/۰۴
آسیب (قطعه‌قطعه‌شدن)DNA (درصد)	۴۰/۵۴^{a}	۱۴/۹۵^{b}	۱۳/۰۴^{b}	۳۷/۲۶^{a}	۲	۰/۰۵

حروف کوچک غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌داربین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵).

میانگین خطای استاندارد: Standard Error Mean (Salama et al.)

Small letter in rows shows significant different between experimental treatment (P<0.05).

نتایج مربوط به پودر ال-کارنیتین بر فراسنجه های خونی در جدول ۳ نشان داده شده است. غلظت گلوکز خون در تیمارهای ۳ و ۴ روند کاهشی داشت (P≤0/05) و غلظت کلسترول و تری گلیسرید در تیمارهای ۳ و ۴ کمتر از تیمار ۱ و ۲ بود (P≤0/05). مقدار LDL درتیمارهای ۳ و ۴ کاهش معنی‌داری با سایر تیمارها داشت(P≤0/05). بین تیمارهای آزمایشی غلظت AST و ALP در تیمار ۴ کمترین و بیشترین مقدار مربوط به تیمار شاهد بود(P≤0/05). اختلاف معنی‌داری از نظر مقدارکراتینین، پروتئین کل، HDL و ALT بین کلیه تیمارها مشاهده نشد.

جدول ۳. تاثیر پودر ال‌کارنیتین بر فراسنجه‌های خون در خروس‌های مسن سویه راس

فراسنجه‌ها	T1	T2	T3	T4	SEM	P-Value
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۹۳/۷^{a}	۱۷۵/۳^{ab}	۱۶۲/۶^{bc}	۱۵۲/۵^{c}	۵/۸	۰/۰۰۳
کراتینین(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۱۸	۰/۱۷	۰/۰۲	۰/۳
کلسترول(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۲۲/۸^{a}	۱۱۸/۲^{ab}	۱۱۱^{bc}	۱۰۶/۹^{c}	۳/۲	۰/۰۱
تری گلیسرید(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۰۵/۴^{a}	۹۱/۳^{ab}	۸۲/۷^{b}	۷۴/۹^{b}	۵/۸	۰/۰۱
HDL(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۴۹/۳	۵۰/۹	۵۲/۸	۵۴	۲/۳	۰/۵
LDL(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۳۲/۳^{a}	۲۸/۷^{ab}	۲۳^{bc}	۲۱^{c}	۱/۹	۰/۰۰۲
پروتئین کل(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۴/۹	۴/۸	۵/۷	۵/۱	۰/۳	۰/۳
آسپارتات آمینوترانسفراز AST(IU/Lit)	۴۰۸^{a}	۳۶۴^{b}	۳۴۸^{bc}	۳۲۲^{c}	۱۲/۷	۰/۰۰۱
آلانین‌آمینوترانسفراز ALT(IU/Lit)	۹/۱	۸/۶	۷/۸	۸	۰/۹	۰/۸
آلکالین‌فسفاتاز ALP(IU/Lit)	۱۵۳۰^{a}	۱۳۲۷^{ab}	۱۱۶۴^{bc}	۱۰۴۹^{c}	۷۳/۸	۰/۰۰۱

حروف کوچک غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌داربین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵).

میانگین خطای استاندارد: Standard Error Mean (Salama et al.)

Small letter in rows shows significant different between experimental treatment (P<0.05).

نتایج تأثیر ال- کارنیتین جیره بر فراسنجه‌های بافت بیضه در جدول۴ است. ال-کارنیتین روی قطر لوله‌های اسپرم‌ساز تاثیری نداشت اما ضخامت لایه ژرمینال درتیمار های ۲، ۳ و ۴ روند افزایشی و در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت به‌طوری که کمترین ضخامت مربوط به تیمار شاهد بود(P≤0/05). قطر لومن درتیمارهای ۲ ، ۳ و ۴ روند کاهشی داشت به‌گونه‌ای که تیمار شاهد بیشترین مقدار را نسبت به سایر تیمارها داشت (P≤0/05).

ویراستاری نشده

جدول ٤. تأثیر سطوح مختلف پودر ال–کارنیتین در جیره روی فراسنجه‌های بافت بیضه خروس‌های مسن سویه راس

فراسنجه‌ها	T1	T2	T3	T4	SEM	P-Value
قطر لوله اسپرم ساز (میکرومتر)	۲۰۳/۲	۱۹۷/۵	۲۰۶/۳	۲۰۱/۷	۳/۷	۰/۴
ضخامت لایه ژرمینال (میکرومتر)	۶۵/۵^{b}	۶۹/۵^{ab}	۷۰/۵^{a}	۷۲/۳^{a}	۱/۵	۰/۰۵
قطر لومن (میکرومتر)	۸۴/۷^{a}	۷۳/۸^{b}	۷۴/۶^{b}	۶۹/۲^{b}	۳	۰/۰۱

حروف کوچک غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌داربین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵).

میانگین خطای استاندارد: Standard Error Mean (Salama et al.)

Small letter in rows shows significant different between experimental treatment (P<0.05).

بحث

در این تحقیق، سطوح مختلف ال کارنیتین روی فراسنجه‌های منی، بافت و خون خروس‌های مسن راس بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد مقادیر ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم ال–کارنیتین در کیلوگرم خوراک خروس‌های مسن، بالای ۷۰ هفته سبب شد تا نرخ جنبائی اسپرم به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و ۵۰۰ میلی‌گرم ال–کارنیتین درکیلوگرم خوراک افزایش یابد. در مطالعه محمدی و همکاران، استفاده از ۲۵۰ میلی‌گرم ال–کارنیتین در کیلوگرم خوراک سبب افزایش هورمون تستوسترون گردید(Mohammadi, Sharifi, Sharafi, Mohammadi- Sangcheshmeh, *et al.*, 2021). تستوسترون بطور مستقیم روی اسپرماتوژنز تاثیر دارد و استفاده از این هورمون سبب تحریک فرآیند اسپرماتوژنز در موش سوری شد(Gholami Neda *et al.*, 2016). ترشح این هورمون در بیضه از سلول‌های لیدیگ، باعث تمایز مجرای ولف در طول دوران جنینی و تنظیم ترشح LH توسط محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز و اسپرماتوژنز می‌گردد. استفاده از ال کارنیتین در موش صحرائی سبب افزایش هورمون LH و تستوسترون شد(Rezaei *et al.*, 2018). با توجه به نتایج بالا و طول مدت زمان کوتاه اسپرماتوژنز (۱۳–۱۵ روز) در پرندگان (Neuman *et al.*, 2002) به نظر می‌رسد استفاده از ال کارنیتین در این آزمایش سبب شد تا از طریق افزایش این هورمون، فرآیند اسپرماتوژنز فعال و ضخامت لایه زاینده (ژرمینال) در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم افزایش یابد. افزودن ۱ و ۲ میلی مول ال کارنیتین در منی خروس موجب افزایش تحرک کل و تحرک پیشرونده اسپرم پس از یخ‌گشائی گردید(Fattah *et al.*, 2017) که با نتایج این آزمایش همخوانی داشت. استفاده از ال کارنیتین بمقدار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره خروس، در دو آزمایش (سن ۶۲–۵۸ و سن ۳۷–۳۲ هفته) سبب حفظ غشاء پلاسمائی اسپرم و بموجب آن افزایش طول عمر اسپرم گردید(Neuman *et al.*, 2002). در این آزمایش استفاده از ال کارنیتین (۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) سبب افزایش یکپارچگی غشاء اسپرم (۴۸٪) شد (جدول ۲). همچنین در تمام تیمارهای آزمایشی استفاده از ال کارنیتین (۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک) سبب افزایش حرکات پیشرونده اسپرم شد که با نتایج فتاح و همکاران همخوانی داشت(Fattah *et al.*, 2017) در این آزمایش ال–کارنیتین نه تنها سبب کاهش نرخ آسیب (قطعه قطعه شدن) DNA اسپرم گردید بلکه مقادیر ۱۰۰ و۲۵۰ میلی گرم سبب کاهش نرخ اسپرم‌های فاقد تحرک نیز گردید.

ویرایش اولیه

آهن آزاد بهمراه ROS (گونه‌های فعال اکسیژن) در خون قادر است تنش اکسیداتیو ایجاد کند. از آنجائی‌که کارنیتین خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته، از طریق کاهش آهن آزاد قادر است از تنش اکسیداتیو جلوگیری کند. این کار از طریق شلات آهن توسط کارنیتین صورت گرفته و بنابراین، دسترسی آهن را از اکسایش مواد کاهش می‌دهد. از طرفی جهت تولید انرژی، کارنیتین سبب انتقال لیپیدها به میتوکندری می‌گردد و از این طریق با کاهش دسترسی لیپیدها به عوامل ROS پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد (Kalaiselvi & Panneerselvam, 1998). در این آزمایش با توجه به افزایش رادیکال‌های آزاد بدلیل فرآیند پیری، استفاده از ال‌کارنیتین در جیره خروس‌ها سبب شد آنزیم‌های شاخص آسیب کبدی، آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلکالین-فسفاتاز (ALP) را به طور معنی‌داری کاهش یابد. بعلاوه مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم ال‌کارنیتین در کیلوگرم خوراک خروس در مدت ۱۲ هفته به طور قابل توجهی غلظت ALP و AST را کاهش داد. ال‌کارنیتین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیضه را در خروس فعال نمود(Elokil *et al.*, 2021). نتایج این آزمایش نشان داد ال‌کارنیتین با ویژگی آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش آسیب کبدی و تنش اکسیداتیو در خروس‌های مسن سویه راس نسبت به گروه شاهد گردید. ال‌کارنیتین بجز ویژگی آنتی‌اکسیدانی، خاصیت آنتی آپوپتوتیک دارد (Radwan *et al.*, 2012) و استفاده از آن به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره خوراکی قادر بود صدمات بافت بیضه موش‌صحرائی ناشی از سمیت سیس پلاتین را برطرف نماید(Bushra *et al.*, 2022). با توجه به نتایج سلولی و بافتی که ال‌کارنیتین ایجاد می‌کند، این ترکیب قادر است فعالیت و ساختار بیضه را به طور قابل ملاحظه‌ای بهینه سازد. این نتایج در موش و موش‌صحرائی به گونه‌ای بود که استفاده از آن کیفیت و کمیت اسپرم را افزایش داد(Ahmed *et al.*, 2014; Kanter *et al.*, 2010) . با القای آرترواسکروزیس بیضه در موش، ال‌کارنیتین اثرات حفاظتی ایجاد کرد (Salama *et al.*, 2015). در آزمایش برشا و همکاران، استفاده از ال‌کارنیتین ضخامت لایه زاینده و قطر لوله‌های لوله‌های اسپرم‌ساز موش صحرائی به طور معنی‌داری کاهش داد(Bushra *et al.*, 2022) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. بعلاوه در تحقیق محمدی و همکاران ۲۰۲۱ استفاده از ال‌کارنیتین بمقدار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره خوراکی سبب افزایش لایه ژرمینال و قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در خروس شد(Mohammadi, Sharifi, Sharafi, & Mohammadi-Sangcheshmeh, 2021) به نظر می‌رسد اثرات حفاظتی، آنتی-آپوپتوتیک و انرژی‌زائی در بدن بدلیل استفاده ال‌کارنیتین در خروس‌های مسن موجب شد تا ضخامت لایه زاینده (ژرمینال) لوله-های اسپرم ساز افزایش یابد.

در این آزمایش ال‌کارنیتین غلظت HDL و LDL را در خروس‌ها بترتیب افزایش و کاهش داد که با نتایج تحقیق محمدی و همکاران در خروس‌های جوان با مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک، مطابقت دارد(Mohammadi, Sharifi, Sharafi, & Mohammadi-Sangcheshmeh, 2021). ال‌کارنیتین در متابولیسم لیپیدها دخالت دارد و سبب افزایش HDL و کاهش کلسترول و LDL می‌شود. از آنجائی که HDL نقش مهمی در فرایند ساخت استروئیدها دارد (Monfared & Sterility, 2013) احتمالا با تقویت در تولید استروئیدهای تولیدمثلی در بیضه از طریق افزایش HDL، می‌توان تغییرات ساختاری بافت بیضه (افزایش قطر لوله‌های اسپرم ساز و ضخامت لایه ژرمینال) را توجیه نمود. بعلاوه آنزیم کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز در بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب نقش دارد بگونه‌ای که اسیدهای چرب بلند زنجیر برای ورود به میتوکندری باید به کارنیتین متصل شوند. در زمان ورود اسیدهای چرب به میتوکندری، کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز، کارنیتین را جدا کرده و اسیدهای چرب را برای اکسیداسیون آماده می‌کنند. ال‌کارنیتین قادر است فعالیت آنزیم را افزایش دهد (Lien & Horng, 2001). در این تحقیق، غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول در خروس‌های مسن که از جیره حاوی ال‌کارنیتین تغذیه شدند، کاهش یافت. به نظر می‌رسد کاهش این دو فراسنجه در اثر افزایش فعالیت آنزیم کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز باشد.

ویرایش نشده

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

مطالعه حاضر نشان داد که ال‌کارنیتین در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره خوراک می‌تواند ویژگی‌های تولیدمثلی (بافت بیضه و ویژگی‌های حرکتی اسپرم) را در خروس‌های مسن بهبود دهد. تحقیقات بیشتری در خصوص بررسی هورمونی، بیان ژن و یا بررسی تولید پروتئین در این خصوص توصیه می‌شود.

" هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد. "

منابع

غلامی نداز حیاتی رودباری نسیم; پریور کاظم; حجتی ویدا (۱۳۹۵). تاثیر هورمونهای تستوسترون و PMSG بر کشت اندام بیضه موشهای نر نابالغ نژادNMRI ، *فصلنامه علمی ـ پژوهشی زیست شناسی جانوری*، ۸(۳)، ۷۴-۶۷.

References

Uncategorized References

Ahmed, M. M., Ibrahim, Z. S., Alkafafy, M., & El-Shazly, S. A. J. A. h. (۲۰۱۴). L-carnitine protects against testicular dysfunction caused by gamma irradiation in mice. *Acta histochemica*, ۱۱۶(۶), ۱۰۵۵-۱۰۴۶.

Alvarez, J. G., & Storey, B. T. J. G. r. (.(۱۹۸۹Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. *Gamete research*, ۲۳(۱), ۹۰-۷۷.

Ansari, M., Zhandi, M., Kohram, H., Zaghari, M., Sadeghi, M., Gholami, M., . . . Development. (۲۰۱۸). D-Aspartate amends reproductive performance of aged roosters by changing gene expression and testicular histology. ۳۰(۷), ۱۰۴۸-۱۰۳۸.

Ansari, M., Zhandi, M., Kohram, H., Zaghari, M., Sadeghi, M., & Sharafi, M. J. T. (۲۰۱۷). Improvement of post-thawed sperm quality and fertility of Arian rooster by oral administration of d-aspartic acid. ۹۲, ۷۴-۶۹.

Barker, D. L., & Sell, J. L. (۱۹۹۴). Dietary carnitine did not influence performance and carcass composition of broiler chickens and young turkeys fed low-or high-fat diets. *Journal Poultry Science*, ۷۳(۲), ۲۸۷-۲۸۱.

Baumgartner, M. J. I. P. T. (۱۹۹۸). Boars react positively to L-carnitine supplements. *Int Pig Top*, ۱۳, ۳۲.

Bushra, R. R., Bastwrous, A. E. J. E. A. J. o. B. S., D. Histology, & Histochemistry. (۲۰۲۲). Possible Protective Role of L-carnitine against Cisplatin-induced Testicular Changes in Adult Male Albino Rats: A Histological and Morphometric Study. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, D. Histology & Histochemistry*, ۱۴(۹۴-۸۱ ,۱).

Elokil, A., Abouzaid, M., Magdy, M., Xiao, T., Liu, H., Xu, R., & Li, S. J. D. A. E. (۲۰۲۱). Testicular transcriptome analysis under the dietary inclusion of l-carnitine reveals potential key genes associated with oxidative defense and the semen quality factor in aging roosters. *Domestic Animal Endocrinology*, ۷۴, ۱۰۶۵۷۳.

Fattah, A., Sharafi, M., Masoudi, R., Shahverdi, A., Esmaeili, V., & Najafi, A. (۲۰۱۷). l-Carnitine in rooster semen cryopreservation: Flow cytometric, biochemical and motion findings for frozen-thawed sperm. *Cryobiology*, ۷۴, ۱۵۳-۱۴۸. https://doi.org/https://doi.org/۱۰,۱۰۱۶/j.cryobiol.۲۰۱۶,۱۰,۰۰۹

ویراستاری نشده

Gao, S., Heng, N., Liu, F., Guo, Y., Chen, Y., Wang, L., . . . Biotechnology. (۲۰۲۱). Natural astaxanthin enhanced antioxidant capacity and improved semen quality through the MAPK/Nrf ۲pathway in aging layer breeder roosters. ۱۲(۱), ۱-۱۵.

Gholami Neda, Hayati Nasim, Parivar kazem, & Vida, H. (۲۰۱۶). Effect of Testosteroneand PMSG Hormones on Organ Culture of Immature Testis of NMRI Mice %J Journal of Animal Biology. *Journal of animal biology*, ۸(۳), ۷۴-۶۷. https://ascij.damghan.iau.ir/article_۵۳۰۶۹۴_۶۲b۵۹۹c۷۹۰۷۸۰۶a۵e۱۸۷a۸f۰۴۱f۶۱e۶۴.pdf

Halliwell, B. J. T. l. (۱۹۹۴). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The lancet*, ۳۴۴(۸۹۲۴), ۷۲۱-۷۲۴.

Jouannet, P., Soufir, J., Ducot, B., Spira, A., Soumah, A., & Marson, J. J. A. E. (۱۹۸۱). Semen characteristics and fertility. *Ann. Endocrinology*, ۴۲, ۴۱۶-۴۲۲.

Kalaiselvi, T., & Panneerselvam, C. J. T. J. o .N. B. (۱۹۹۸). Effect of L-carnitine on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, ۹(۱۰), ۵۷۵-۵۸۱.

Kanter, M., Topcu-Tarladacalisir, Y., & Parlar, S. J. J. o. m. h. (۲۰۱۰). Antiapoptotic effect of L-carnitine on testicular irradiation in rats. *Journal of molecular histology*, ۴۱, ۱۲۱-۱۲۸.

Leibetseder, J. J. A. f. T. (۱۹۹۵). Effects of L-carnitine in poultry. *Archiv fur Tierernahrung*, ۴۸(۲-۱), ۹۷-۱۰۸.

Lien, T., & Horng, Y. J. B. P. S. (.(۲۰۰۱The effect of supplementary dietary L-carnitine on the growth performance, serum components, carcase traits and enzyme activities in relation to fatty acid β-oxidation of broiler chickens. *British Poultry Science*, ۴۲(۱), ۹۲-۹۵.

Mangiagalli, M., Martino ,P., Smajlovic, T., Guidobono Cavalchini, L., & Marelli, S. J. B. p. s. (۲۰۱۰). Effect of lycopene on semen quality, fertility and native immunity of broiler breeder. ۵۱(۱), ۱۵۲-۱۵۷.

Mohammadi, V., Sharifi, S. D., Sharafi, M., Mohammadi- Sangcheshmeh, A ,.Shahverdi, A., & Alizadeh, A. (۲۰۲۱). Manipulation of fatty acid profiles in roosters' testes, alteration in sexual hormones, improvements in testicular histology characteristics and elevation sperm quality factor by L-carnitine. *Theriogenology*, ۱۶۱, ۸-۱۵. https://doi.org/https://doi.org/۱۰,۱۰۱۶/j.theriogenology.۲۰۲۰,۱۰,۰۰۵

Mohammadi, V., Sharifi, S. D., Sharafi, M., & Mohammadi-Sangcheshmeh, A. J. H. (۲۰۲۱). Effects of dietary L-carnitine on puberty indices in the young breeder rooster. *Heliyon*, ۷(.(۴

Mohammadi, V., Sharifi, S. D., Sharafi, M., & Mohammadi Sangcheshmeh, A. J. I. J. o. A. S. R. (۲۰۲۲). The effect of Dietary L-carnitine on Semen Quality Parameters and Gonadosomatic and Hepatosomatic Indexes in Broiler Breeder. ۱۴(۴), ۵۸۳-۵۹۲.

Monfared ,A. L. J. I. J. o. F., & Sterility. (۲۰۱۳). Correlation of Serum Lipid P rofile with Histological and Seminal Parameters of Testis in The Goat. *International Journal of Fertility & Sterility*, ۷(۲), ۱۲۲.

Neuman, S. L., Lin, T. L., & Heste, P. Y. (۲۰۰۲). The effect of dietary carnitine on semen traits of white Leghorn roosters۱. *Poultry Science*, ۸۱(۴), ۴۹۵-۵۰۳. https://doi.org/https://doi.org/۱۰,۱۰۹۳/ps/۸۱,۴,۴۹۵

Radwan, R. R., Shaban, E. A., Kenawy, S. A., & Salem, H. A. J. B. o. F. o. P., Cairo University. (۲۰۱۲). Protection by low-dose γ radiation on doxorubicin-induced nephropathy in rats pretreated with curcumin, green tea, garlic or l-carnitine. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, ۵۰(۲), ۱۳۳-۱۴۰.

Rezaei, N., Mardanshahi, T., Shafaroudi, M. M., Abedian, S., Mohammadi, H., & Zare, Z. J. J. o. e.-b. I. M. (۲۰۱۸). Effects of L-carnitine on the follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, testosterone, and testicular tissue oxidative stress levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of evidence-based Integrative Medicine*, ۲۳, ۲۵۱۵۶۹۰X .۱۸۷۹۶۰۵۳

Salama, A. F., Kasem, S. M., Tousson, E., Elsisy, M. K. J. T., & health, i. (۲۰۱۵). Protective role of L-carnitine and vitamin E on the testis of atherosclerotic rats. *Toxicology and industrial health*, ۳۱(۵), ۴۶۷-۴۷۴.

Wang, Y., Sharma, R., & Agarwal, A. J. U. (۱۹۹۷). Effect of cryopreservation and sperm concentration on lipid peroxidation in human semen. *Urology*, ۵۰(۳), ۴۰۹-۴۱۳.

Yan, W., Kanno, C., Oshima, E., Kuzuma, Y., Kim, S .W., Bai, H., . . . Wakamatsu, J.-i. J. A. r. s. (۲۰۱۷). Enhancement of sperm motility and viability by turmeric by-product dietary supplementation in roosters. ۱۸۵, .۲۰۴-۱۹۵

The effect of L-carnitine on sperm parameters, testicular tissue and sperm DNA damage index in Ross strain old roosters

ورد

ABSTRACT

Introduction: Carnitine has an antioxidant property that protects the sperm membrane from free oxygen damage. In addition, carnitine reduces the availability of reactive oxygen species by transferring lipids to mitochondria for beta-oxidation .With this activity, lipids are consumed for production of ATP. The effects of L-carnitine on the reproductive performance of roosters are not precisely known. The effects of L-carnitine on reproductive parameters in humans and pigs were evaluated. In the semen sample of infertile people, the concentration of carnitine is low. It is used as a marker in the epididymal fluid to distinguish between fertile and non-fertile people. The volume of semen in pigs whose diet was supplemented with 720 mg per day was significantly higher than the control group. Although the effects of administration of carnitine to the diet on carcass composition, egg production and chick hatching were evaluated in poultry, the effects of this vitamin on reproductive performance in layer hens, especially aged layers are still unknown. Free radicals have destructive effects on the plasma membrane, so when the cell membrane exposes to reactive oxygen species through the peroxidation of its lipids, this membrane is broken and its activity decreases. Lipid peroxidation occurs when reactive oxygen species overcome or dominate the sperm's antioxidant system. Somatic cells defend against lipid peroxidation with their cytoplasmic enzymes such as superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase, while sperm cells release these enzymes during spermatogenesis. Therefore, after being released from the spermatozoa, it suffers from the lack of these enzymes in the reproductive system. Compared to mammals, poultry sperm is rich in unsaturated fatty acids and becomes very vulnerable during processing (transportation and storage). Therefore, lipid peroxidation of semen is a biochemical indicator.

The antioxidant effects of carnitine was evaluated in plasma, liver and kidneys of young rats. Adding carnitine to the diet of old rats increased vitamin E and ascorbic acid, as well as glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity. The lipid peroxidation in rats treated with carnitine significantly decreased compared to the control group. The increase of ascorbic acid by administration of carnitine in diet of rats can be due to its biosynthesis in the tissue. With the using of L-carnitine ascorbic acid concentration increased and lipid peroxidation decreased. It is assumed that the semen of old roosters will be of better quality with the consumption of carnitine and will be protected from the oxidation of the sperm membrane. The purpose of the present study is to evaluate the effects of oral L-carnitine on the parameters of semen, blood and testicular tissue in aged Ross roosters.

Materials and methods: In order to carry out this research, 40 cocks were selected. Roosters were placed in a light regime of 16 hours of light and 8 hours of darkness. Roosters were placed in four treatments and ten repetitions. The treatments included the control of other treatments consisted 100, 250 and 500 mg/kg L-carnitine in kg diet. A experimental period was 11 weeks. Back-abdominal rubbing method was used for semen collection. In this study, to evaluate the motility, 10 microliters of each treatment's sperm sample was added to 190 microliters of DMEM culture medium.

Results and Discussion: Sperm motility rate was measured with a CASA system. Eosin-nigrosine staining was used to check sperm viability. Sperm membrane integrity test was performed with the help hypo osmotic solution (Mohammadi, Sharifi, Sharafi, Mohammadi- Sangcheshmeh, et al.). In this experiment, DNA damage was determined by DNA fragmentation kit. In this method DNA sperm was denatured in a micro gel bed under the influence of an acid treatment. In order to evaluate blood parameters, feed was stopped and after than blood samples were collected. serum was separated and stored at -20◦C. The glucose, creatinine, cholesterol, triglyceride, total protein, ALP, ALT, AST, LDL, HDL were analyzed. To study of the testicular tissue, testis samples were taken and fixed in formalin 10%. Data were analyzed by SAS software, complete random design, and the averages were compared by Duncan's multiple range test. The results of this study showed that the sperm motility in diet supplemented 100 and 250 mg of l-carnitine in old roosters increased significantly compared to the control. Also, in all treatments, the use of L-carnitine (100, 250 and 500 mg/kg of feed) increased the progressive motile sperm, which was consistent with the results of Fattah et al. The amount of 100 and 250 mg decreased the rate of dead sperm. The concentration of HDL and LDL increased and decreased respectively, in roosters whose diets were supplemented with L-carnitine. Probably, by production of steroids in the testis through the increase of HDL, the structural changes of the testicular tissue (increasing the diameter of the seminiferous tubules and the thickness of the germinal layer) can be justified. Carnitine palmitoyl transferase enzyme is involved in beta oxidation of fatty acids and L-carnitine is able to increase the activity of the enzyme.

Conclusion: In this research, the concentration of triglyceride and cholesterol decreased in aged roosters that used L-carnitine. It seems that the decreasing is due to the increase in the activity of carnitine palmitoyl transferase enzyme. The present study showed that L-carnitine in concentrations of 250 and 500 mg/kg in diet can improve sexual characteristics (testis tissue and sperm motility characteristics) in aged roosters. in this regard more research on hormone or gene expression or proteins synthesis is recommended.

Keywords: *Blood parameters, DNA damage, L-carnitine, Rooster, Testis tissue*