



BIBAD

Research Journal of Biology Sciences

Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi

E-ISSN: 1308-0261 12(2): 04-06, 2019

N-(2-Merkaptopropionil)-Glisin Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Sperminin Motilitesi Ve Yaşama Süresi Üzerindeki Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Yeliz ÇAKIR SAHİLLİ¹, Filiz KUTLUYER², Mehmet KOCABAŞ³

¹Munzur University, Tunceli Vacation School, Department of Chemistry and Chemical Processing Technologies, Turkey.

²Munzur University, Fisheries Faculty, Tunceli, Turkey.

³Karadeniz Technical University Faculty of Forestry, Department of Wildlife Ecology & Management, Trabzon, Turkey.

*Corresponding Author

E-mail:

Özet

N-(2-Merkaptopropionil)-glisin (MPG), serbest radikal tutucu olması nedeniyle hücre yapısında koruyucu bir role sahiptir. Bu çalışmada, sperm hücreleri, MPG'nin farklı konsantrasyonları [0 mM (Kontrol), 0,25 mM, 0,5 mM ve 1 mM] ile muamele edilmiştir. Sperm hücrelerinin motilitesi ve yaşama süresi belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar 0,25 mM'de motilite yüzdesi (%91,80±6,42) ve süresindeki (29,40±5,86 s) artışların istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir (p<0,05). 1 mM konsantrasyonda sperm hücrelerinde hareketlilik belirlenememiştir. Sonuç olarak, MPG kültür balıkçılığı uygulamalarında ve üreme yönetiminde sperm motilitesinin artırılmasında alternatif olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: N-(2-merkaptopropionil)-glisin, sperm motilitesi, gökkuşluğu alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*.

Evaluation of The Efficacy of N-(2-Mercaptopropionyl)-Glycine on Motility And Longevity of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Spermatozoa

Abstract

N-(2-mercaptopropionyl)-glycine (MPG) has protective role in cell structure due to be an oxygen free radical scavenger. Herein, spermatozoa was treated with different concentrations [0 mM (Control), 0.25 mM, 0.5 mM and 1 mM] of MPG. The motility and longevity of spermatozoa were determined. Our results indicated that the increases in motility rate (91.80±6.42%) and duration (29.40±5.86 s) at 0.25 mM were statistically significant (p<0.05). No motile spermatozoa were recorded at 1 mM. Overall, N-(2-mercaptopropionyl)-glycine (MPG) can be used as an alternative sperm motility-enhancement in aquaculture applications and reproduction management.

Keywords: N-(2-mercaptopropionyl)-glycine, sperm motility, rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*.

GİRİŞ

Sperm motilitesi, döllenme ve kuluçka başarısını etkilediğinden, kültür balıkçılığı ve sucul ortamda önemli rol oynamaktadır [1, 2, 3, 4]. Düşük sperm kalitesi, verimliliğin azalmasına neden olduğundan dolayı neslin tükenmesi veya popülasyon kaybı ile ilişkilendirilebilir. MPG indirgeyici ve karmaşık bir tiyoldür. MPG serbest bir merkapt grubu ile birlikte yaygın olarak kullanılan bir antioksidandır. Bazı raporlar, serbest radikallerden hücre zarı hasarını önleyen serbest radikal önleyici olduğunu göstermiştir. MPG, çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [5, 6]. MPG, olası bir antidot olarak diğer sülfidril bileşiklerine göre birçok avantaja sahiptir ve çeşitli karaciğer hastalıkları, nefrotoksisite ve sistin ürolitiyazisi tedavisinde klinik olarak kullanılmaktadır [5, 6, 7]. Bu, koruyucu bir ilaç olarak kullanılmasını büyük ölçüde kolaylaştırır. Şimdiye kadar, MPG klinik kullanımında çok az yan etkiye neden olmuştur. Hayvanlarda ve insanda gerçekleştirilen önceki çalışmaların aksine, balıklarda MPG ilavesinin sperm motilitesini nasıl etkilediği ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, artan MPG konsantrasyonlarının gökkuşluğu alabalığı (*O. mykiss*) sperm motilitesi ve süresi üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

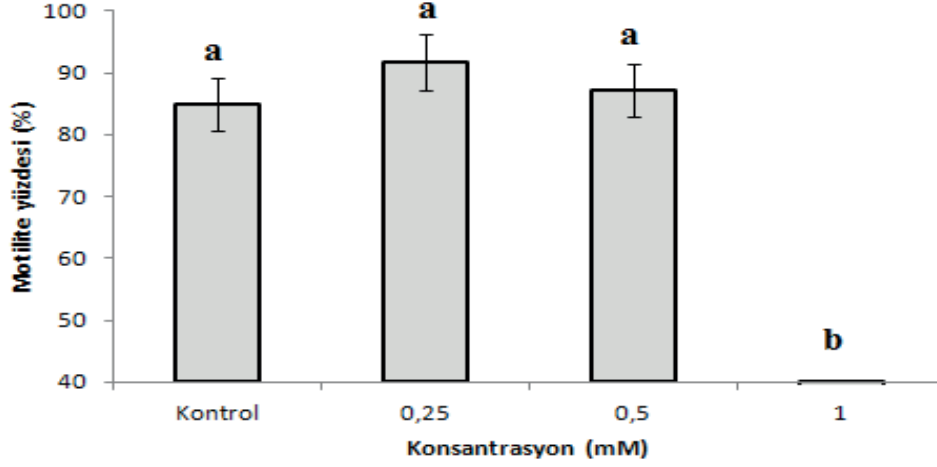
MATERYAL VE METOT

Olgun erkek gökkuşluğu alabalıkları (2-3 yaş) Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi'nden (Trabzon) elde edilmiştir. Balıklar 2-fenoksietanol (0.6 ml L⁻¹) kullanılarak anestezi edildikten sonra abdominal masaj ile sağım yapılmış ve sperm örnekleri 50 ml'lik tüplere toplanmıştır. Sperm toplanmasında, örnekler idrar, kan, su karışmamasına ve fekal kontaminasyon olmamasına dikkat edilmiştir. Aktivasyon solusyonuna (NaCl, 52 mM), 0 mM (Kontrol), 1 mM, 2 mM, 4 mM ve 8 mM konsantrasyonlarda MPG ilave edilmiş ve sperm hücrelerinin motilitesi ve yaşama süresi değerlendirilmiştir. Sperm motilitesi, dijital kamera bağlı (Basler A312fc, Microptic S.L., Barcelona, Spain) 100X büyütülmüş faz kontrast mikroskop (Nikon CI, Tokyo, Japonya) ile Sperm Class Analyser (SCA) programı kullanılarak bilgisayar destekli sperm analizi yapılmıştır. Sperm motilite süresi kronometre ile belirlenmiştir. Denemeler için normal pH, hacim ve motilite>%80 olan sperm örnekleri seçilmiş ve bir havuz oluşturmuştur. Sonuçlar, ortalama±standart sapma (S.D.) olarak sunulmuştur. Verilerin karşılaştırılmasında, tek yönlü ANOVA ile Duncan testi kullanılmıştır. Tüm analizler için anlamlılık düzeyi P<0,05 olarak kabul edilmiştir. Verilerin istatistiki analizinde SPSS 14.0 for Windows (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) kullanılmıştır.

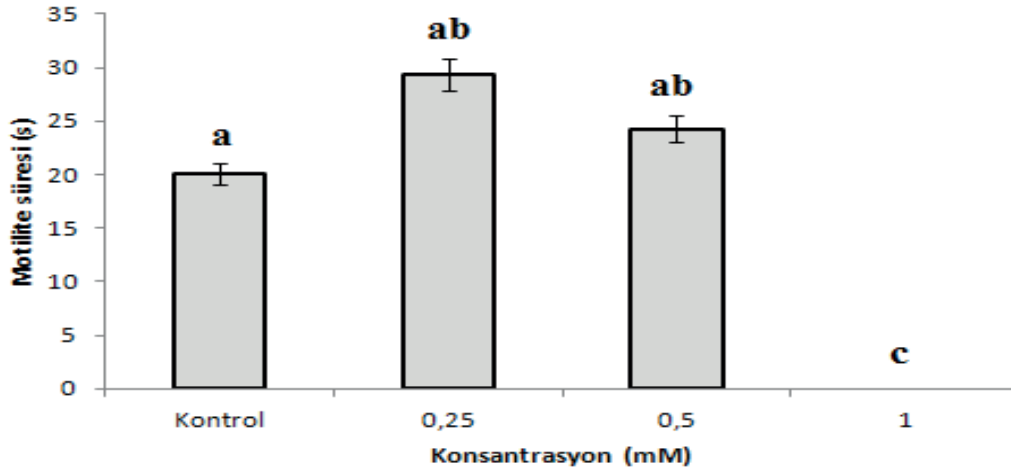
BULGULAR

Taze sperm ile MPG uygulanan spermin motilite yüzdesi ve süreleri Şekil 1 ve 2'de sunulmuştur. Taze spermin yüzdesi ve süresi sırasıyla, $85,00 \pm 5,00$ ve $20,00 \pm 1,45$ s olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, MPG ilavesinin motilitede artışa neden olduğu belirlenmiştir

($p < 0,05$). Maksimum artış, 0,25 mM konsantrasyondan elde edilmiştir. Yüksek MPG konsantrasyonları, gökkuşağı alabalığının sperm hücrelerinin motilitesi ve yaşama süresinde düşümlere neden olmuştur ($p < 0,05$). 1 mM konsantrasyonda sperm hücrelerinde motilite belirlenmemiştir.



Şekil 1. N-(2-merkaptopropionil)-glisin (MPG) ilavesinin gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) sperminin motilite yüzdesi üzerindeki etkisi. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).



Şekil 2. N-(2-merkaptopropionil)-glisin (MPG) ilavesinin gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) sperminin motilite süresi üzerindeki etkisi. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada, aktivasyon solusyonuna MPG ilavesi, *O. mykiss*'in sperm hücrelerinin hareketliliğini ve yaşama oranını arttırmıştır. Sperm hücrelerinin hareketliliği, mitokondriyal aktivite için önemli olan süksinat dehidrojenaz enzimi ile ATP üretiminden etkilenir ve oksidasyon süksinatın fumarat içerisindeki oksidasyon süksinatının bir sonucu olarak solunum elektron transfer zinciri ve sitrik asit döngüsü sağlar. N-(2-merkaptopropionil)-glisin, serbest tiyol (sülfiril) grubu ile birlikte yaygın olarak kullanılan bir antioksidandır. Bu molekül, diğer sülfhidril (SH) içeren bileşiklerle ortak olarak, sadece süperoksit (O_2^-) ve hidroksil radikal (OH^-) gibi oksijen radikallerini uzaklaştırmaz, aynı zamanda SOD'un oksijen radikallerini uzaklaştırması için kapasitesini artırır; dahası, SH grupları hücre içi glutatyon seviyesini korurlar [8]. MPG ilavesiyle sperm

motilitesindeki artış, MPG'nin antioksidan özelliğinden dolayı hücreyi koruması ile açıklanabilir.

Çalışmada, 1 mM konsantrasyonda sperm hücrelerinde hareketliliğin olmadığı belirlenmiştir. MPG'nin yüksek dozları sperm hücrelerinde motiliteyi inhibe edici özelliğe sahiptirler. Motilitede azalma MPG'nin toksik etkisine bağlı olabilir. Bu durum, yüksek doz MPG hücre yapısının bozulmasına ve sperm hareketliliği için gerekli olan mitokondriyal bozulmaya yol açabileceği gerçeğiyle açıklanabilir. Bunların dışında, aktivasyon solusyonundaki bileşenler, MPG'nin biyoyararlanımını etkileyebilir.

Sonuç olarak, veriler MPG ilavesinin *O. mykiss* türünün sperm motilitesini arttırdığını göstermiştir. MPG, *O. mykiss* sperm hücrelerinin aktif hale geçmesinde alternatif bir teşvik edici ajan olarak etkili bir şekilde kullanılabilir ve bu çalışma, diğer balık türlerinin sperm hücreleri üzerindeki

MPG etkisini değerlendirmede faydalı olacaktır. Potansiyel etkiler ile ilgili olarak MPG takviyelerinin sonraki dölleme kabiliyeti ve embriyonik gelişim üzerindeki etkileri ilgili daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Kutluyer, F. and Kocabas M. 2017. Dose dependent treatment with boric acid induces more changes in the sperm cells of endangered Anatolian trout *Salmo rizeensis*. International Journal of Aquaculture and Fishery, 3(2), 42-45.
- [2] Kocabas, M. and Kutluyer, F. 2017a. *In vitro* effect of zinc: Evaluation of the sperm quality of endangered trout *Salmo coruhensis* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and fertilizing capacity. International Journal of Aquaculture and Fishery, 3(2), 46-50.
- [3] Kocabas, M. and Kutluyer, F. 2017b. Effect of Cobalt on sperm motility in an endangered trout species, *Salmo coruhensis*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 99(6), 690-694.
- [4] Kocabas, M. and Kutluyer, F. 2017c. Dose dependent treatment with boric acid induces more changes in the sperm cells of endangered trout *Salmo coruhensis* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Scientific and Engineering Research, 4(9),475-481.
- [5] Li, X.P., Wen, F. and Yang, W. 2014. The role of tiopronin for the prevention of chemotherapy-related liver toxicity in advanced colorectal cancer patients treated with mFOLFOX7: a prospective analysis. Tumori, 100(4), 446–451.
- [6] Li, J., Qiu, X. and Guo W. 2015. Prospective analysis of tiopronin in prevention of sorafenib and antiviral therapy inducing liver toxicity in advanced hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. Medical Oncology, 32(10), 238.
- [7] Fetoni, A.R., Sergi, B., Ferraresi, A., Paludetti, G. and Troiani, D. 2004. Protective effects of alpha-tocopherol and tiopronin against cisplatin-induced ototoxicity. Acta Oto-Laryngologica, 124, 421–426.
- [8] Qin, F.J., Hu, X.H., Chen, Z., Chen, X. and Shen, Y.M. 2019. Protective effects of tiopronin against oxidative stress in severely burned patients. Drug Design, Development and Therapy, 13, 2827—2832.