

Effet de l'acide chlorogénique sur la peroxydation lipidique et la capacité antioxydante du sperme de verrat

Bárbara Azevedo PEREIRA, Márcio Gilberto ZANGERONIMO, Raimundo Vicente de SOUSA, Mariele Cristina TELES, Manuel Fernando Bobadilla MENDEZ, Luiz Gustavo Pessoa ROCHA

*UFLA, Département de médecine vétérinaire, Lavras, Brésil
rvsousa@dmv.ufla.br*

Effect of chlorogenic acid on lipid peroxidation and antioxidant capacity of cooled boar semen

An experiment was conducted to evaluate the effect of the addition of different levels of chlorogenic acid (CA) on lipid peroxidation and antioxidant capacity of boar semen stored at 15 °C. Three boars were used, whereas were processed four ejaculates from each boar. Twelve ejaculates from three boars were used. The semen was diluted in BTS (Beltsville Thawing Solution), constituting insemination doses of 40 mL with 1.5 billion sperm. After dilution, different concentrations of CA (0, 3000 and 6000 µg/mL) and 200 mg/ml of Vitamin E (positive control) were added, totaling four treatments. Before and after 72 hours of storage at 15 °C, semen samples were incubated at 37°C for 60 minutes. A randomized block design with split-plot in time with four treatments was used. Both CA and vitamin E improved ($P<0.05$) the antioxidant capacity of semen before and after 72 hours of cooling. Before cooling, only the presence of 6000 µg/ml of CA on semen reduced ($P<0.05$) the malondialdehyde (MDA) when compared to the control. With 72 hours of storage, both CA and vitamin E reduced ($P<0.05$) the MDA concentration. It is concluded that the addition of CA on the boar semen increases the antioxidant protection of semen stored until 72 hours at 15°C.

INTRODUCTION

Le sperme refroidi est considéré comme une méthode efficace qui est de plus en plus utilisée pour conserver la semence de verrat. Cependant, cet environnement n'offre des conditions appropriées pour le stockage de sperme que pour une durée courte. Pendant le traitement et le stockage de doses de semence, la peroxydation des lipides membranaires par les formes réactives de l'oxygène peut endommager et réduire l'activité métabolique de la cellule, entraînant une perte de fonction des spermatozoïdes. L'ajout d'antioxydants aux doses de semence dans les périodes précédant le refroidissement peuvent limiter cet effet (Rice-Evans *et al.*, 1996). Les activités antioxydantes de l'acide chlorogénique et de la vitamine E, qui ont été attribuées à leurs propriétés redox, jouent en effet un rôle important dans l'adsorption ou la neutralisation des radicaux libres (Mendez *et al.*, 2012).

Le but de cette étude était d'évaluer l'activité antioxydante de l'acide chlorogénique et de la vitamine E dans le sperme porcin refroidi à 15 °C pendant 72 heures, et l'influence de ces substances sur la peroxydation lipidique.

1. MATERIEL ET METHODES

Douze éjaculats de trois verrats de fertilité prouvée ont été utilisés dans l'expérience selon un modèle expérimental en blocs aléatoires. Après l'évaluation initiale de la motilité, de la viabilité et de la concentration, le sperme est dilué avec du BTS (*Beltsville Thawing Solution*®) pour obtenir des doses de 40 ml avec 1,5 milliard de spermatozoïdes, qui sont stockées à 15 °C. Différentes concentrations d'acide chlorogénique ont été ajoutées aux doses d'insemination pour obtenir des concentrations finales de 0 (contrôle), 3000 et 6000 µg/ml de sperme.

En outre, une dose d'insemination a reçu 200 µg de vitamine E/ml de sperme. Avant le stockage, 10 ml de chaque traitement ont été maintenus dans des tubes dans un bain marie à 37 °C. La même procédure a été effectuée à 72 heures de stockage. Après 60 minutes d'incubation, des échantillons ont été prélevés pour déterminer la concentration de MDA (dialdéhyde malonique) et la capacité antioxydante. La concentration de MDA a été évaluée à l'aide d'un kit de test (QuantiChrom™ Kit test TBARS). Pour la détermination de la capacité antioxydante, un kit ANTIOXYDANT QuantiChrom™ a été utilisé, suivant les instructions du fabricant.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

La concentration de MDA et la capacité antioxydante du sperme différaient en fonction des différents niveaux d'acide chlorogénique et de vitamine E ($P<0,05$). Avant refroidissement, l'addition d'une dose d'acide chlorogénique de 6000 µg/ml réduit la concentration en MDA (Figure 1). Pour les doses stockées pendant 72 heures, l'ajout de l'un des antioxydants réduit la quantité de MDA dans le plasma séminal.

Pour ce qui est de la capacité antioxydante, la supplémentation avec des doses exogènes d'acide chlorogénique et de vitamine E améliore la résistance aux formes réactives de l'oxygène (ROS) au cours du stockage (Figure 2).

En raison de la grande concentration en acides gras polyinsaturés dans la membrane du sperme porcin, le sperme devient plus sensible au stress oxydatif (Henkel, 2011) et donc à la peroxydation lipidique. La manipulation et le traitement peuvent davantage exposer les spermatozoïdes au stress oxydatif, soulignant la nécessité d'une protection exogène.

Avant le refroidissement, il est possible que les niveaux d'antioxydants intrinsèques soient suffisants pour lutter contre la peroxydation lipidique.

Après 72 heures de conservation à 15°C, la protection antioxydante du plasma séminal n'était plus suffisante pour lutter contre les ROS, et les antioxydants exogènes agissent avec une plus grande efficacité.

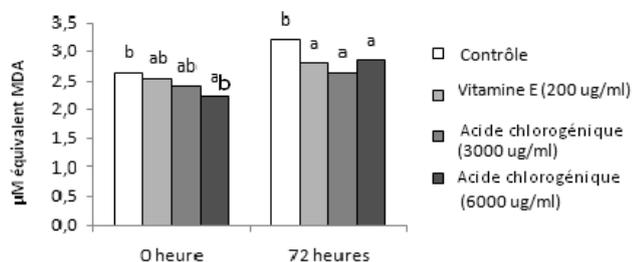


Figure 1 - Concentration de MDA dans le sperme de porc en fonction de l'ajout d'acide chlorogénique ou de vitamine E (n=10). a,b : des lettres différentes indiquent que les moyennes diffèrent entre elles (P<0,05). Coefficient de variation = 12,1% .

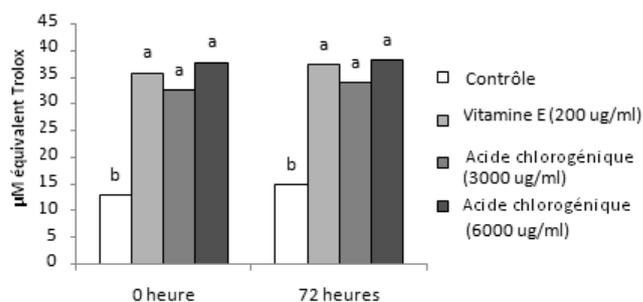


Figure 2 - Variations de capacité antioxydante du sperme de verrat avec différentes concentrations d'acide chlorogénique ou de vitamine E (n=10). Des lettres différentes indiquent que les moyennes diffèrent entre elles (P<0,05). Coefficient de variation = 20,1%.

CONCLUSION

Les résultats obtenus montrent que l'ajout d'acide chlorogénique ou de vitamine E lors du traitement de la semence porcine se traduit par une réduction de la peroxydation lipidique. Ainsi, dans ce contexte, ces deux substances améliorent la qualité de la semence de verrat stockée à 15 °C pendant 72 heures.

REMERCIEMENTS

FAPEMIG, CAPES et CNPq

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Henkel R.R., 2011. Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility. *Asian Journal of Andrology*, 13, 43-52.
- Mendez M.F.B., Zangeronimo M.G., Rocha L.G.P., Faria B.G., Fernandes C.D., Chaves B.R., Murgas L.D.S., Sousa R.V., 2012. Effect of the addition of IGF-I and vitamin E to stored boar semen. *Animal*, 7, 793-798.
- Rice-Evans C.A., Miller N. J., Paganga G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20, 933-939.