Archive of SID

فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام و اکسیدنیتریک در مایع سمینال موش‌های نر نژاد Balb/c تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره

• **عیسی لیالی***: گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ایران، کد پستی: ٤٨١٦٦١٣٤٨٥

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹٦ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹٦

چکیده

با توجه به نقش نانوذرات نقره در القاء تولید رادیکال‌های آزاد، در این مطالعه اثرات سمی نانوذرات نقره بر پارامترهای اسپرم، غلظت نیتریک اکسید (NO) و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام در مایع سمینال موش نر مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه تجربی، ٢٤ موش نر بالغ از نژاد سوری به‌صورت تصادفی به سه گروه تجربی و یک گروه شاهد تقسیم شدند. نانوذرات نقره با غلظت‌های ۰/۰۷ (گروه A)، ۰/۱٤ (گروه B) و ۰/۲۸ (گروه C) میکروگرم در هر روز، به‌ترتیب به گروه‌های اول تا سوم مورد مطالعه و به‌صورت دهانی به‌مدت پنج هفته داده شد. سپس فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام و نیتریک اکسید به‌ترتیب به‌روش‌های FRAP (Ferric reducing antioxidant of power) و کیت NO اندازه‌گیری شد. پارامترهای اسپرمی به‌روش میکروسکوپی مورد آنالیز قرار گرفتند. کاهش معنی‌داری در میانگین کیفیت پارامترهای اسپرمی در گروه‌های تیمار شده با نانوذره، به‌خصوص گروه‌های B و C در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید (p<۰/۰۱). تفاوت معنی‌داری در میانگین غلظت FRAP بین گروه‌های تیمار شده A (۲۹۰/۲۹±۲۸/۱٤)، B (۲۲۵/٤۷±۳۹/۳۲)، C (۲۲۵/٥٤±۲۲/۷۳) و گروه شاهد (۳۰۰/۱۸±۱۹/۰۸) میکرومول بر لیترمشاهده گردید (p<۰/۰۰۱). تفاوت معنی‌داری در میانگین NO نیز مشاهده گردید، به‌طوری‌که گروه C بیش‌ترین میانگین NO را در مقایسه با سایر گروه‌ها داشت. نانوذرات نقره با کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام و افزایش NO سبب کاهش پارامترهای اسپرم می‌گردد که اثرات آن وابسته دوز نیز می‌باشد.

کلمات کلیدی: نانوذرات نقره، پارامترهای اسپرم، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام، نیتریک اکسید، موش‌های نر

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: issalayali@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

نانوذرات نقره به‌خاطر خواص ضدمیکروبی بالای خود کاربردهای گسترده‌ای در علوم پزشکی و بیولوژی پیدا نموده‌اند (Yang و همکاران، ۲۰۰۹). البته در کنار مزایا و کاربردهای گسترده استفاده از نانوذرات، میزان سمیت و اثرات جانبی حاصل از استفاده آن‌ها نیز باید به‌خوبی مورد بررسی قرار گیرد. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که نانوذرات نقره منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و شرایط استرس اکسیداتیو می‌شوند (Hsin و همکاران ۲۰۰۸). کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام یکی از مکانیسم‌های احتمالی اثر نانوذرات محسوب می‌گردد. مجموعه آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی یک مایع بیولوژیکی را ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) می‌نامند که بیان کننده فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آن می‌باشد. از آن‌جایی که آنتی‌اکسیدان‌ها نقش محوری در دفاع سلول‌ها علیه رادیکال‌های آزاد نظیر نیتریک اکسید (NO) دارند، بنابراین احتمال می‌رود که کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام مایع سمینال با کاهش کیفیت سلول‌های اسپرم مرتبط باشد. مطالعات زیادی نشان دادند که استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال‌های آزاد به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل تشدیدکننده آسیب عملکرد و هم‌چنین کاهش کیفیت‌های اسپرمی می‌باشد که ارتباط نزدیکی با ناباروری دارد (Colagar و همکاران، ۲۰۰۷؛ Colagar و همکاران، ۲۰۰۹؛ Colagar و Marzony ۲۰۰۹؛ Jorsaraei و همکاران، ۲۰۱۲؛ Tahmasbpour و همکاران، ۲۰۱۵؛ Layali و همکاران، ۲۰۱۵). اگرچه مطالعات متعددی تاثیر منفی نانو ذرات بر روی ارگان‌های مختلف نشان را دادند، اما تحقیق جامعی در زمینه اثر نانوذرات بر روی کیفیت پارامترهای اسپرمی به‌واسطه کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام صورت نگرفته است. با توجه به نقش احتمالی نانوذرات نقره در تولید و افزایش رادیکال‌های آزاد، حساسیت بیش از حد سلول‌های اسپرم نسبت به اثرات پاتولوژیک رادیکال‌های آزاد و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان سیتوپلاسمی سلول‌های اسپرم، احتمال می‌رود که نانوذرات نقره سبب کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام و در پی آن کاهش کیفیت و توانایی بارورسازی اسپرم گردند. به‌همین منظور در این مطالعه اثر نانوذرات نقره بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام، سطح نیتریک اکسید و کیفیت پارامترهای اسپرم در مدل موشی مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش‌ها

نوع و جمعیت مورد مطالعه: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ موش نر (نژاد سورندی) از انستیتو پاستور خریداری و در چهار گروه ۶تایی شامل سه گروه مطالعه و یک گروه شاهد قرار گرفتند. سپس از طریق تجویز دهانی نانوذرات نقره توسط گاواژ مورد مطالعه قرار گرفتند. شرایط استاندارد نگه‌داری موش شامل دمای اتاق ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ تا ۶۰٪ با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی ۱۲ بود. موش‌های گروه مطالعه به‌مدت ۳۵ روز در یک دوره کامل اسپرماتوژنز، هر روز مورد تجویز دهانی نانوذرات نقره از طریق گاواژ قرار گرفتند. گروه‌های مورد مطالعه اول، دوم و سوم هر روز به ترتیب غلظت‌های ۰/۰۷ (گروه A)، ۰/۱۴ (گروه B) و ۰/۲۸ (گروه C) میکروگرم از نانوذرات نقره محلول (خریداری شده از شرکت پیشگامان نانومواد ایران، خلوص ۹۹/۹۹٪ و اندازه ۲۰نانومتر) به‌صورت دهانی دریافت کردند. گروه شاهد تنها آب و غذای معمولی دریافت نمودند.

آنالیز پارامترهای اسپرم: برای بررسی درصد اسپرم‌هایی با مورفولوژی طبیعی به‌روش Park و همکاران (۲۰۱۴) از رنگ‌آمیزی پاپانیکولا استفاده گردید. درصد اسپرم‌های متحرک به روش Talebi و همکاران اندازه‌گیری گردید. بررسی قابلیت حیاتی سلول‌های اسپرم نیز از روش سیتوپلاسمی و با رنگ‌آمیزی ائوزین بررسی گردید (Chalah و Brillard ۱۹۹۸؛ Cao و همکاران، ۲۰۱۱). به‌طور خلاصه، حدود ۱۰ میکرولیتر نمونه‌های سمن هر ۴ نمونه مورد تحقیق بر روی یک لام استریل قرار گرفت و حدود ۱۰ میکرولیتر رنگ ائوزین ۵٪ به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن رنگ با نمونه‌ها، یک عدد لامل استریل بر روی لام‌ها قرار گرفته و توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی X40 مشاهده و شمارش گردید. اسپرم‌های زنده به‌دلیل سالم بودن غشاء سیتوپلاسمی رنگ ائوزین وارد شده به‌داخل سلول را حفظ نموده لذا بعد از شستشو هم‌چنان به‌حالت رنگی مشاهده می‌شوند درحالی‌که که اسپرم‌های مرده به‌دلیل غشاء آسیب دیده رنگ وارد شده به‌داخل سلول را مجدداً خارج می‌کنند و بنابراین در زیر میکروسکوپ بدون رنگ قابل مشاهده هستند.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام مایع سمینال: فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های تام مایع سمینال به‌روش Ferric Reducing of Antioxidants Power (FRAP) که اولین‌بار توسط Benize در سال ۱۹۹۶ ابداع گردید، اندازه‌گیری شد (Benzie و Strain ۱۹۹۶). برای این منظور ابتدا نمونه‌های مایع سمینال در دور ۱۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه به‌مدت ۷ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس محلول رویی (مایع سمینال) از رسوب برداشته و نمونه‌ها ۱۰ بار با آب مقطر رقیق شدند (۱۰میکرولیتر نمونه سمینال با ۹۰میکرولیتر آب مقطر ترکیب گردید) و سریعاً برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌ها موردبررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری TAC یا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام ابتدا باید محلول‌های استاندارد و محلول FRAP (شامل بافر استات ۳۰۰ mM با pH=۳/۶، 2) TPTZ 10mM، ۴،۶تری ۲-پیریدیل-s-تری آزین) و ۲۰mM کلرید

www.SID.ir

Archive of SID

آهن II به‌ترتیب با نسبت ۱:۱:۱۰ است)، آماده گردد. محلول استاندارد به‌کار رفته شامل محلول $FeSO_4.7H_2O$ ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار بودند. سپس داخل هر لوله آزمایش (بسته به تعداد نمونه‌ها) حدود ۱/۵ میلی‌لیتر محلول FRAP اضافه نموده و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم نگه داشته شد. سپس حدود ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های رقیق شده به لوله آزمایش اضافه شد (رنگ محلول فوراً آبی شد) و مجدداً در حمام آب گرم به‌مدت ۱۰ دقیقه گرم گردید و بعد از این مدت، لوله‌ها از حمام خارج شدند و با صفر کردن دستگاه توسط محلول FRAP، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد و سپس غلظت نمونه‌ها از روی استانداردها محاسبه گردید.

اندازه‌گیری سطح NO مایع سمینال: سطح NO مایع سمینال با استفاده کیت خریداری شده از شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید. غلظت NO به‌صورت میکرومول بر لیتر گزارش شده است.

روش آماری تجزیه و تحلیل اطلاعات: مقایسه میانگین غلظت کیفیت پارامترهای اسپرمی، NO و غلظت FRAP در بین تمام گروه‌ها با استفاده از برنامه ANOVA و بین دو گروه با آزمون تعقیبی LSD مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق *p*-value کم‌تر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار بود.

نتایج

نتیجه حاصل از آنالیز پارامترهای اسپرمی: در این تحقیق، میانگین پارامترهای اسپرمی در کلیه نمونه‌ها آنالیز گردید و سپس با نمونه شاهد مقایسه شد (جدول ۱). گروه مطالعه براساس میزان دوز مصرفی نانوذرات به سه گروه A تا C تقسیم شدند. مقایسه آنالیز میانگین تعداداسپرم‌ها بین گروه‌های‌مختلف، تفاوت معنی‌داری را بین چهار گروه مختلف نشان داد، به‌طوری‌که گروه مطالعه C داری کم‌ترین میانگین تعداد اسپرم در مقایسه با گروه شاهد و حتی در مقایسه با گروه‌های موردمطالعه A و مطالعه B بود(جدول ۱). ارتباط معنی‌داری در رابطه با کاهش میانگین تعداد اسپرم بین گروه‌های مورد مطالعه A با گروه شاهد مشاهده نشد، هرچند کاهش تعداد اسپرم در گروه موردمطالعه B در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار بود(جدول ۱). گروه‌های موردمطالعه B و C به‌طور معنی‌داری کم‌ترین درصد اسپرم‌های زنده را در مقایسه با گروه شاهد داشتند. میانگین درصد اسپرم‌های متحرک در گروه مورد مطالعه C به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سایر گروه‌ها بود، از طرفی درصد اسپرم‌های متحرک در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر گروه‌ها بوده‌است. مقایسه آنالیز میانگین درصداسپرم‌هایی با مورفولوژی غیرطبیعی بین گروه‌های مختلف بین گروه‌های‌مختلف نشان داد که درصد اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه‌های مورد مطالعه، به‌ویژه گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای بالاتر نانوذرات نقره بیش‌تر بوده است. میانگین درصداسپرم‌های‌زنده نیز بین گروه‌های مختلف تفاوت‌معنی‌داری‌را نشان داده است. به‌طوری‌که گروه شاهد، بیش‌ترین میانگین درصد اسپرم‌های زنده و گروه C کم‌ترین میانگین درصد اسپرم‌های زنده را به‌خود اختصاص داده بودند (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه آنالیز میانگین پارامترهای اسپرمی در گروه‌های مختلف

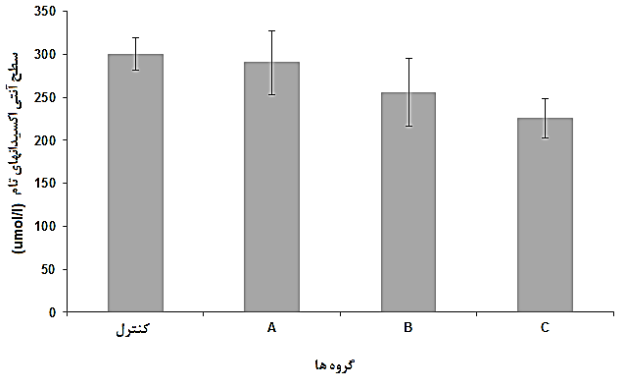
پارامترها	گروه شاهد	گروه مطالعه A	گروه مطالعه B	گروه مطالعه C	*p-value*
تعداد نمونه‌ها	۶	۶	۶	۶	-
دوز تجویز نانوذرات نقره (میکروگرم)	۰	۰/۰۷	۰/۱۴	۰/۲۸	-
تعداد اسپرم ($\times 10^6$/ml)	۲۳/۵۷ ± ۳/۴۶	۲۱/۱۵ ± ۳/۰۲*	۱۶ ± ۲/۶*	۱۳/۳۱ ± ۲/۱**	p<۰/۰۱
درصد اسپرم‌های متحرک (٪)	۸۹/۰۶±۱۰/۹۷	۸۰/۰۶ ± ۹/۸۳	۷۷/۶۹ ± ۱۶/۹۶**	۷۲/۷۹ ± ۱۴/۵۲*	p<۰/۰۵
اسپرم‌های زنده (٪)	۶۶/۲۳ ± ۵/۱۳	۵۷ ± ۶/۲۹**	۵۱/۴ ± ۸/۳۲*	۴۷/۶ ± ۷/۵۱*	p<۰/۰۱
درصد اسپرم‌های غیرطبیعی (٪)	۲۸/۱۷ ± ۴/۴۷	۳۷/۳۳ ± ۱/۲۷	۳۵/۸۳ ± ۴/۴**	۴۱/۶۷ ± ۳/۹*	p<۰/۰۰۱

*p<۰/۰۱؛ **p<۰/۰۵

میانگین غلظت FRAP در نمونه‌های مایع سمینال در شکل ۱ نشان داده شده است. نتیجه حاصل از میانگین غلظت FRAP مایع سمینال بین گروه‌ها به‌طور معنی‌داری متفاوت بود(p=۰/۰۰۲). میانگین غلظت FRAP مایع سمینال از گروه شاهد به گروه C رو به کاهش بوده است به‌طوری‌که میانگین غلظت FRAP مایع سمینال در گروه شاهد (۱۹/۰۸±۳۰۰/۱۸ میکرومول بر لیتر) در مقایسه با گروه B (۳۹/۳۲±۲۲۵/۴۷ میکرومول بر لیتر) و گروه C (۲۲/۷۳±۲۲۵/۵۴ میکرومول بر لیتر) به‌طوری معنی‌داری (به‌ترتیب با p=۰/۰۲ و p<۰/۰۰۱) بیش‌تر بوده است. تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه A از لحاظ مقایسه غلظت FRAP مایع سمینال وجود نداشت.

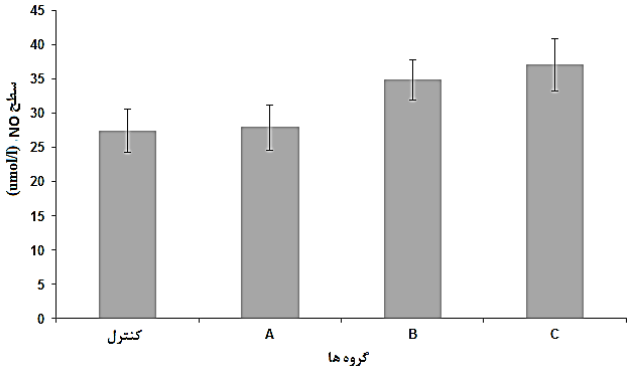
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: مقایسه میانگین غلظت FRAP در بین گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه A: دریافت‌کننده غلظت ۰/۰۷ میکروگرم نانوذره نقره، گروه B: دریافت کننده غلظت ۰/۱۴ میکروگرم نانوذره نقره و گروه C: دریافت‌کننده غلظت ۰/۲۸ میکروگرم نانوذره نقره



شکل ۲: مقایسه میانگین غلظت NO در بین گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه A: دریافت‌کننده غلظت ۰/۰۷ میکروگرم نانوذره نقره، گروه B: دریافت‌کننده غلظت ۰/۱۴ میکروگرم نانوذره نقره و گروه C: دریافت‌کننده غلظت ۰/۲۸ میکروگرم نانوذره نقره

میانگین غلظت NO در نمونه‌های مایع سمینال در شکل ۲ نشان داده شده است. نتیجه حاصل از میانگین غلظت NO مایع سمینال بین گروه‌ها به‌طور معنی‌داری متفاوت بود($p=۰/۰۰۱$).میانگین غلظت NO مایع سمینال از گروه شاهد به گروه C رو به افزایش بوده است به‌طوری‌که میانگین غلظت آن در گروه شاهد (۳/۳۸±۲۷/۴۳ میکرو مول بر لیتر) در مقایسه با گروه B (۲/۹۱±۳۴/۸۸ میکرومول بر لیتر) و گروه C (۳/۸۱±۳۷/۱۲ میکرومول بر لیتر) به‌طور معنی‌داری (به ترتیب با $p=۰/۰۰۴$ و $p<۰/۰۰۱$) کم‌تر بوده است. تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه A از لحاظ مقایسه غلظت NO مایع سمینال وجود نداشت.

بحث

در این تحقیق اثر پاتولوژیک نانوذرات نقره بر روی فعالیت آنتی‌کسیدان‌های تام در مایع سمینال، غلظت NO و هم‌چنین کیفیت پارامترهای اسپرمی ازجمله تعداد، حرکت و مورفولوژی اسپرم مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز حاصل از کیفیت اسپرم در تحقیق اخیر نشان داد که موش‌های دریافت‌کننده نانوذرات نقره در مقایسه با گروه شاهد به‌طور چشمگیری دارای کیفیت اسپرم پائین‌تری بودند. به‌طوری‌که با افزایش دوزهای بیش‌تر نانوذرات نقره، کیفیت پارامترهای اسپرم، به‌ویژه درصد مورفولوژی طبیعی، تعداد اسپرم‌های زنده و درصد اسپرم‌های متحرکت کم‌تر شد. از طرفی گروه‌های دریافت‌کننده غلظت بالاتر نانوذرات نقره(گروه‌های B و C)به‌طور معنی‌داری دارای بیش‌ترین غلظت NO و کم‌ترین غلظت فعالیت آنتی‌کسیدان‌های تام بوده که دال بر افزایش سطح استرس اکسیداتیو در موش‌های این گروه بوده است. بنابراین، نانوذرات نقره نه تنها بر روی کیفیت پارامترهای اسپرم اثرات مخرب‌داشت‌بلکه‌این اثرات وابسته به دوز بوده و با افزایش دوز مصرفی این‌اثرات پاتولوژیک شدیدتر می‌شد. به‌نظرمی‌رسد یکی از مکانیسم‌های اثر نانوذرات‌نقره برروی‌کاهش کیفیت‌اسپرم،تشدیداسترس اکسیداتیو، به‌ویژه کاهش شدید فعالیت آنتی‌کسیدان‌های تام و افزایش سطح NO باشد. لذا با توجه به نتایج تحقیق اخیر، نانوذرات نقره یکی از عوامل تشدیدکننده اثرات اکسیداتیوی در مایع سمینال محسوب می‌شود که با کاهش فعالیت آنتی‌کسیدان‌های تام و پارامترهای اسپرمی همراه می‌باشد. بنابراین اثرات اکسیداتیوی نانوذرات نقره و اثرات پاتولوژیک آن بر روی بدن، به‌ویژه بر روی کیفیت اسپرم و توانایی باروری مردان باید مورد توجه و بررسی بیش‌تر قرار گیرد. تاکنون مطالعات متعددی اثرات سمی نانوذرات نقره را نشان دادند. برای مثال، تحقیقات اخیر نشان‌داد که نانوذرات نقره در دوزهای بالا (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) منجر به مهار فرآیند لختگی توسط پلاکت‌ها در خون و در نتیجه افزایش زمان خونریزی می‌گردد. علاوه بر این، تعداد سلول‌های خونی ازجمله‌تعداد‌سلول‌های‌سفیدوقرمز،غلظت‌هموگلوبین، تعداد نوتروفیل و لنفوسیت به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های شاهد تغییر کرده است (De Jong و همکاران، ۲۰۱۳؛ Drescher و همکاران، ۲۰۱۳؛ Barkhordari و همکاران، ۲۰۱۴؛ Chen و همکاران، ۲۰۱۵؛ Taylor و همکاران، ۲۰۱۵). مطالعات محدودی نیز اثر نانوذرات به‌ویژه نانو ذرات نقره بر روی توانایی باروری و عملکرد اسپرم را مورد بررسی قرار دادند که قابل مقایسه با نتایج این تحقیق می‌باشند. برای مثال، اخیراً در یک مطالعه‌ای مشخص شده که نانوذرات نقره رشد سلول‌های زایای اسپرم و هم‌چنین واکنش آکروزمی اسپرم را متوقف می‌کنند (Gromadzka-Ostrowska و همکاران، ۲۰۱۲؛ Miresmaeili و همکاران، ۲۰۱۳؛ Mathias و همکاران، ۲۰۱۳). اثر نانوذرات تیتانیوم اکسید (TiO_2) بر روی توانایی باروری موش‌های نشان داد که این نانوذرات

www.SID.ir

Archive of SID

با القاء مسیر استرس اکسیداتیو سبب کاهش شدید سلول‌های لایدیگ، قابلیت حیاتی اسپرم و هم‌چنین بیان برخی از ژن‌ها می‌شوند (Komatsu و همکاران، ۲۰۰۸). در یک مطالعه دیگر اثر نانوذرات نقره بر روی اکسیداسیون DNA و پارامترهای اسپرمی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج این تحقیقات دال بر افزایش اکسیداسیون DNA و تغییر مورفولوژی مجاری اسپرم‌ساز در گروه‌های مورد مطالعه تیمار شده با نانوذرات نقره بود، هر چند تغییری در تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی بین گروه‌ها مشاهده نشده بود (Gromadzka-Ostrowska و همکاران، ۲۰۱۲). در مطالعه‌ای دیگر توسط Baki و همکاران (۲۰۱۴)، اثر نانو ذرات نقره بر روی تعداد سلول‌های اسپرم، تعداد سلول‌های لایدیگ و سطح هورمون‌های جنسی تستوسترون، LH و FSH مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد که تعداد سلول‌های لایدیگ در گروه‌های مورد مطالعه به‌ویژه گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نانوذرات نقره به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود. از طرفی غلظت هورمون تستوسترون و هورمون LH به‌ترتیب به‌طور معنی‌داری کم و زیاد گردید، هر چند تغییر معنی‌داری در غلظت FSH مشاهده نشده بود. از طرفی کاهش معنی‌داری در تعداد، مورفولوژی طبیعی و درصد اسپرم‌های متحرک مشاهده گردید که با نتایج حاصل از تحقیق اخیر قابل مقایسه بود. بنابراین اثر نانوذرات نقره بر روی کیفیت پارامترهای اسپرمی و قدرت باروری مردان می‌تواند به‌عنوان یکی از موضوعات اساسی درنظر گرفته شود چرا که ممکن است به‌عنوان یک زنگ خطری برای نسل‌های آینده محسوب گردد. همان‌طورکه در این تحقیق نیز مشاهده گردید، کاهش فعالیت آنتی‌کسیدان‌های تام در مایع سمینال نمونه‌های مورد بررسی یک عامل برای افزایش کاهش کیفیت اسپرم محسوب می‌گردد و با توجه به این‌که نانوذرات نقره احتمالاً با مکانیسم‌های متعددی سبب افزایش سطح رادیکال‌های آزاد می‌گردد، بنابراین انتظار می‌رود که درصد اسپرم‌هایی با DNA جهش یافته نیز در آن‌ها زیاد باشد و این مسئله برای اعمالی نظیر میکرواینجکشن بسیار مهم است، چراکه می‌تواند یک عاملی برای لقاح مصنوعی ناموفق و حتی آسیب‌های متعددی در نسل‌های آینده گردد.

نتیجه حاصل از تحقیق اخیر نشان داد که نانوذرات نقره سبب کاهش فعالیت آنتی‌کسیدان‌های تام و افزایش سطح NO در مایع سمینال می‌گردد که احتمالاً یکی از مکانیسم‌های دخیل در کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی در موش می‌باشد که این اثرات سمی نانو ذرات نقره وابسته دوز نیز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی عزیزانی که در انجام فعالیت‌های آزمایشگاهی کمک زیادی نمودند تشکر و قدردانی می‌شود. این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی از دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری می‌باشد.

منابع

۱. **Baki, M.E.; Miresmaili, S.M.; Pourentezari, M.; Amraii, E.; Yousefi, V.; Spenani, H.R.; Talebi, A.R.; Anvari, M.; Fazilati, M.; Fallah, A.A. and Mangoli, E., 2014.** Effects of silver nano particles on sperm parameters, number of Leydig cells and sex hormones in rats. Iran J Reprod Med. Vol. 12, No. 2, pp: 139-144.

۲. **Barkhordari, A.; Barzegar, S.; Hekmatimoghaddam, H.; Jebali, A.; Rahimi Moghadam, S. and Khanjani, N., 2014.** The toxic effects of silver nanoparticles on blood mononuclear cells. Int J Occup Environ Med. Vol. 5, No. 3, pp: 164-168.

۳. **Benzie, I.F. and Strain, J.J., 1996.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Anal Biochem. Vol. 239, No. 1, pp: 70-76.

۴. **Cao, X.W.; Lin, K.; Li, C.Y. and Yuan, C.W., 2011.** A review of WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen (5th edition). Zhonghua Nan Ke Xue. Vol. 17, No. 12, pp: 1059-1063.

۵. **Chalah, T. and Brillard, J.P., 1998.** Comparison of assessment of fowl sperm viability by eosin-nigrosin and dual fluorescence (SYBR-14/PI). Theriogenology. Vol. 50, No. 3, pp: 487-493.

۶. **Chen, L.Q.; Fang, L.; Ling, J.; Ding, C.Z.; Kang, B. and Huang, C.Z., 2015.** Nanotoxicity of silver nanoparticles to red blood cells: size dependent adsorption, uptake, and hemolytic activity. Chem Res Toxicol. Vol. 28, No. 3, pp: 501-509.

۷. **Colagar, A.H.; Jorsaraee, G.A. and Marzony, E.T., 2007.** Cigarette smoking and the risk of male infertility. Pak J Biol Sci. Vol. 10, No. 21, pp: 3870-3874.

۸. **Colagar, A.H. and Marzony, E.T., 2009.** Ascorbic Acid in human seminal plasma: determination and its relationship to sperm quality. J Clin Biochem Nutr. Vol. 45, No. 2, pp: 144-149.

۹. **Colagar, A.H.; Marzony, E.T. and Chaichi, M.J., 2009.** Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. Nutr Res. Vol. 29, No. 2, pp: 82-88.

۱۰. **De Jong, W.H.; Van Der Ven, T.; Sleijffers, A.; Park, M.V.; Jansen, E.H.; Van Loveren, H. and Vandebriel, R.J., 2013.** Systemic and immunotoxicity of silver nanoparticles in an intravenous 28 days repeated dose toxicity study in rats. Biomaterials. Vol. 34, No. 33, pp: 8333-8343.

۱۱. **Drescher, D.; Buchner T.; McNaughton, T. and Kneipp, J., 2013.** SERS reveals the specific interaction of silver and gold nanoparticles with hemoglobin and red blood cell components. Phys Chem Chem Phys. Vol. 15, No. 15, pp: 5364-5373.

۱۲. **Tahmasbpour Marzony, E.; Jorsaraei, S.G.A.; Pouramir, M. and Colagar, A.H., 2012.** Seminal Plasma Antioxidant Capacity in Human Semen with Hyperviscosity. Babol University of Medical Science Journal. Vol. 14, No. 16, pp: 39-44

www.SID.ir

Archive of SID

۱۳. **Gromadzka-Ostrowska, J.; Dziendzikowska, K.; Lankoff, A.; Dobrzynska, M.; Instanes, C.; Brunborg, G.; Gajowik, A.; Radzikowska, J.; Wojewodzka, M. and Kruszewski, M., 2012.** Silver nanoparticles effects on epididymal sperm in rats. Toxicol Lett. Vol. 214, No. 3, pp: 251-258.

۱۴. **Hsin, Y.H.; Chen, C.F.; Huang, S.; Shih, T.S.; Lai, P.S. and Chueh, P.J., 2008.** The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS- and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells. Toxicol Lett. Vol. 179, No. 3, pp: 130-139.

۱۵. **Kermani-Alghoraishi, M.; Anvari, M.; Talebi, A.R.; Amini-Rad, O.; Ghahramani, R. and Miresmaili, S.M., 2010.** The effects of acrylamide on sperm parameters and membrane integrity of epididymal spermatozoa in mice. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. Vol. 153, No. 1, pp: 52-55.

۱۶. **Komatsu, T.; Tabata, M.; Kubo-Irie, M.; Shimizu, T.; Suzuki, K.; Nihei, Y. and Takeda, K., 2008.** The effects of nanoparticles on mouse testis Leydig cells in vitro. Toxicol In Vitro. Vol. 22, No. 8, pp: 1825-1831.

۱۷. **Layali, I.; Tahmasbpour, E.; Joulaei, M.; Jorsaraei S.G. and Farzanegi, P., 2015**. Total antioxidant capacity and lipid peroxidation in semen of patient with hyperviscosity. Cell J. Vol. 16, No. 4, pp: 554-559.

۱۸. **Mangoli, E.; Talebi, A.R.; Anvari, M. and Pourentezari, M., 2013.** Effects of experimentally-induced diabetes on sperm parameters and chromatin quality in mice. Iran J Reprod Med. Vol. 11, No. 1, pp: 53-60.

۱۹. **Mathias, F.T.; Romano, R.M.; Kizys, M.M.; Kasamatsu, T.; Giannocco, G.; Chiamolera, M.I.; Dias-da-Silva, M.R. and Romano, M.A., 2015.** Daily exposure to silver nanoparticles during prepubertal development decreases adult sperm and reproductive parameters. Nanotoxicology. Vol. 9, pp: 64-70.

۲۰. **Miresmaeili, S.M.; Halvaei, I.; Fesahat, F.; Fallah, A.; Nikonahad, N. and Taherinejad, M., 2013.** Evaluating the role of silver nanoparticles on acrosomal reaction and spermatogenic cells in rat. Iran J Reprod Med. Vol. 11, No. 5, pp: 423-430.

۲۱. **Park, Y.S.; Park, S.; Ko, D.S.; Park, D.W.; Seo, J.T. and Yang, K.M., 2014.** Observation of sperm-head vacuoles and sperm morphology under light microscope. Clin Exp Reprod Med. Vol. 41, No. 3, pp: 132-136.

۲۲. **Tahmasbpour, E.; Balasubramanian, D. and Agarwal, A., 2014.** A multi-faceted approach to understanding male infertility: gene mutations, molecular defects and assisted reproductive techniques (ART). J Assist Reprod Genet. Vol. 31, No. 9, pp: 1115-1137.

۲۳. **Talebi, A.R.; Khalili, M.A.; Vahidi, S.; Ghasemzadeh, J. and Tabibnejad, N., 2013.** Sperm chromatin condensation, DNA integrity, and apoptosis in men with spinal cord injury. J Spinal Cord Med. Vol. 36, No. 2, pp: 140-146.

۲۴. **Taylor, U.; Tiedemann, D.; Rehbock, C.; Kues, W.A.; Barcikowski, S. and Rath, D., 2015.** Influence of gold, silver and gold-silver alloy nanoparticles on germ cell function and embryo development. Beilstein J Nanotechnol. Vol. 6, pp: 651-664.

۲۵. **Yang, H.L.; Lin, J.C. and Huang, C., 2009.** Application of nanosilver surface modification to RO membrane and spacer for mitigating biofouling in seawater desalination. Water Res. Vol. 43, No. 15, pp: 3777-3786.

www.SID.ir