مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۲، بهمن ۱۳۹۴، صفحه ۵۵-۴۸

اثر نانوذرات نقره بر پراکسیداسیون لیپیدی و کیفیت پارامترهای اسپرم در موشهای نر

عیسی لیالی (PhD)[۱*]، عیسی طهماسب پور مرزونی (MSc)[۲]، سید غلامعلی جورسرایی (PhD)[۳]

۱-گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری
۲-مرکز تحقیقات آسیب های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله
۳-مرکز تحقیقات بهداشت باروری و ناباروری فاطمه الزهرا (س)، دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۹۴/۱/۲۶، اصلاح:۹۴/۵/۷، پذیرش:۹۴/۱۰/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به نقش نانوذرات نقره در القاء تولید رادیکال‌های آزاد، احتمال می رود که نانوذرات نقره سبب اثرات پاتولوژیک و استرس اکسیداتیو در مایع سمینال و در پی آن کاهش کیفیت پارامترهای اسپرم گردند لذا در این مطالعه اثرات سمی نانو ذرات نقره بر پارامترهای اسپرم و میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم در مایع سمینال موش نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۴ موش نر بالغ از نژاد سوری به صورت تصادفی به سه گروه تجربی و یک گروه کنترل تقسیم شدند. نانو ذرات نقره با غلظت‌های ۰/۰۷ (گروه A)، ۰/۱۴ (گروه B) و ۰/۲۸ (گروه C) میکروگرم در هر روز، به ترتیب به گروه‌های اول تا سوم به صورت دهانی به مدت پنج هفته داده شد. سپس میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاء اسپرم به روش تیوباربیتوریک اسید و پارامترهای اسپرمی به روش میکروسکوپی مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: کاهش معنی داری در میانگین کیفیت پارامترهای اسپرمی نظیر تعداد و تحرک اسپرم ها در گروههای تیمار شده با نانوذره، به خصوص گروههای B (به ترتیب $۱۰^۶$/ml × ۲/۶±۱۶ و ۱۶/۹۶±۷۷/۶۹٪) و C (به ترتیب $۱۰^۶$/ml × ۲/۱±۱۳/۳۱ و ۱۴/۵۲±۷۲/۷۹٪) در مقای سه با گروه کنترل (به ترتیب $۱۰^۶$/ml × ۳/۴۶±۲۳/۵۷ و ۱۰/۹۷±۸۹/۰۶٪) مشاهده گردید (p<۰/۰۵). تفاوت معنی داری در میانگین غلظت مالون دی آلدئید بین گروههای تیمار شده A (۰/۱±۰/۲۵)، B (۰/۰۲±۰/۳۲)، C (۰/۰۱±۰/۳۵) و گروه کنترل (۰/۰۱±۰/۲۴) مشاهده گردید (p<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی سبب کاهش پارامترهای اسپرم می گردد که اثرات آن وابسته دوز نیز می باشد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، پارامترهای اسپرم، پراکسیداسیون لیپیدی، موش های نر.

مقدمه

نانوذرات نقره یکی از محصولات با ارزش تکنولوژی نانو می باشند که امروزه کاربردهای گسترده ای در علوم مختلف، به ویژه بیولوژی و پزشکی، پیدا نموده اند (۱). نانوذرات نقره دارای خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی و پروتوزوئرها هستند، به طوری که با افزودن مقدار اندکی از این نانوذرات در پوششها می توان سطوح ضد میکروبی ایجاد کرد و آلودگی ها را برطرف نمود (۲). آنها قادرند که به سطح غشاء باکتریها اتصال یافته و سپس وارد سلول باکتری شوند. علت اتصال نانوذرات نقره به غشاء باکتریها به خاطر حضور پروتئینهای حاوی گوگرد می باشد که این امر نه تنها با تغییر در مورفولوژی و نفوذپذیری غشاء و تاثیر در زنجیره تنفسی و تقسیم سلولی، منجر به مرگ سلول می گردد بلکه با وارد شدن به سلول با ترکیبات گوگرد دار و فسفردار داخل سلولی نظیر DNA واکنش داده که نهایتا سبب از بین رفتن باکتری می گردد (۵-۳و۱). نانوذرات نقره بر روی ویروسها نیز موثر بوده و به گروههای SH گلیکوپروتئینهای سطح ویروس متصل شده و مانع از اتصال آنها به سلول میزبان می گردد. در واقع نانوذرات نقره بر روی تمام ویروسهای DNA دار، RNA دار و پوشش دار و بدون پوشش موثر می باشد (۷و۶). همین مسئله سبب گردیده که استفاده از آنها در درمان بیماریهای با منشا میکروبی رو به افزایش باشد. امروزه در کنار مزایا و کاربردهای گسترده استفاده از نانوذرات، میزان سمیت و اثرات جانبی حاصل از استفاده آنها نیز باید به خوبی مورد بررسی و کنترل قرار گیرد. تاکنون اثرات سمی برخی از نانومواد‌ها تا حدودی ثابت شده و همین مسئله استفاده از آنها را تا حدودی محدود کرده است. برای مثال می توان به نانو مواد حاوی کربن و فولرین ها که دارای حلقه های پنج و شش وجهی از کربن هستند، اشاره کرد (۱۰-۸). مطالعات اخیر نشان داده که ساختارهای کربنی گویچه ای یا کروی شکل، حلالیت بالایی در آب دارند که این امر می تواند سبب آسیب های جدی، نظیر اکسیداسیون اسیدهای چرب در بافت مغز ماهیها گردد، که نشانه ای از تخریب بیولوژی می باشد (۱۳-۱۱). نانوله های کربنی تک دیواره ای قادرند با افزایش تشکیل رادیکالهای آزاد سبب کاهش غلظت موثر آنتی اکسیدانها در سلولها شوند، به طوریکه حضور آلودگیهای فلزی در حین تولید این نانولوله های کربنی بر سمیت آنها می افزاید (۱۴و۱۳). از طرفی برخی از مطالعات نشان دادند

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۱/۱۸۰۶۷ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری می باشد.

*مسئول مقاله: دکتر عیسی لیالی
آدرس: ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، گروه بیوشیمی. تلفن: ۳۳۱۷۵۳۶۴-۰۱۱
E-mail: issalayali@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.7.9]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.48]

که ابعاد فیزیکی برخی از نانولوله ها نیز می تواند در ایجاد بیماریهای ریوی و سرطان نقش داشته باشد (۱۷-۱۵). به نظر می رسد که نانوذرات نقره با توجه به نقش ضدمیکروبی و تولید رادیکالهای آزاد منجر به شرایط استرس اکسیداتیو و اثرات پاتولوژیک در انسان شوند (۱۸).

مطالعات زیادی نشان داده اند که استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکالهای آزاد و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان یکی از مهمترین عوامل تشدید کننده آسیب عملکرد و همچنین کاهش کیفیت های اسپرمی می باشد که ارتباط نزدیکی با ناباروری دارد (۲۵-۱۹). اگرچه مطالعات متعددی تاثیر منفی نانوذرات بر روی ارگانهای مختلف را نشان دادند، اما تحقیق جامعی در زمینه اثر نانوذرات بر روی کیفیت پارامترهای اسپرمی به واسطه اکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم 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 آنتی اکسیدان سیتوپلاسمی سلولهای اسپرم، احتمال می رود که نانوذرات نقره سبب اثرات پاتولوژیک و پراکسیداسیون لیپیدی غشاء اسپرم و در پی آن کاهش کیفیت و توانایی بارورسازی اسپرم گردند. به همین منظور در این مطالعه اثر پاتولوژیک نانوذرات نقره بر روی شدت پراکسیداسیون لیپیدی و کیفیت پارامترهای اسپرم در مدل موشی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نوع و جمعیت مورد مطالعه: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ موش نر (نژاد سوررندی) از انستیتوپاستور خریداری و در چهار گروه ۶ تایی شامل سه گروه مطالعه و یک گروه کنترل 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. موش های گروه مطالعه به مدت ۳۵ روز در یک دوره کامل اسپرماتوژنز، هر روز مورد تجویز دهانی نانوذرات نقره از طریق گاواژ قرار گرفتند. گروه های مورد مطالعه اول، دوم و سوم هر روز به ترتیب غلظت های 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 (۲۰nm) به صورت دهانی دریافت کردند. گروه کنترل تنها آب و غذای معمولی دریافت نمودند.

نمونه گیری از اپیدیدیوم: پس از بیهوش کردن موشهای مورد مطالعه، ناحیه شکم آنها با اتانل ۷۰٪ استریل و سپس برش داده شد. پس از باز کردن لایه های چربی ناحیه شکمی به کمک پنس، انتهای بخش اپیدیدیوم توسط قیچی استریل بریده شده و در محیط کشت HamsF10 قرار گرفت. پس از قرار دادن اپیدیدیوم داخل محیط کشت، با فشردن و تکان دادن آرام، سلولهای اسپرم به صورت شناور وارد محیط کشت می شوند. سپس قطعات اضافی اپیدیدیوم از داخل ظرف برداشته شده و این محیط کشت حاوی سوسپانسیون اسپرم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه با فشار CO_2 ۵٪ انکوبه شدند. سپس نمونه ها از انکوبه خارج شده و برای آنالیز پارامترهای اسپرمی مورد مطالعه قرار گرفتند. بعد از انکوباسیون، سوسپانسیون حاوی اسپرم توسط سمپلر برداشته شده و به میکروتیوپ انتقال یافت. نمونه ها سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۱۰۰۰ سانتریفوژ شده و پس از آن مایع رویی برداشته شده و فورا در دمای ۷۰- نگهداری شده تا بعدا برای اندازه گیری MDA مورد بررسی قرار گیرند.

آنالیز پارامترهای اسپرم: برای بررسی درصد اسپرم هایی با مورفولوژی طبیعی به روش Park و همکاران از رنگ آمیزی پاپانیکولا استفاده گردید (۲۶). جهت بررسی مورفولوژی اسپرم، از هر نمونه یک نمونه لام تهیه و فیکس شده و سپس در یک زمان از رنگ پاپانیکولا برای رنگ آمیزی تمام نمونه ها استفاده می گردد. درصد اسپرم های متحرک به روش محققان دیگر اندازه گیری گردید (۲۹-۲۷). مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه حیوانی را در مرکز Makler chamber قرار داده و پس از گذاشتن درپوش توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی X40 مشاهده و شمارش می شود. در این بررسی تعداد ۱۰۰ سلول مورد شمارش قرار گرفته و از این تعداد درصد تحرک اسپرم بر اساس قوانین WHO مشخص گردید (۳۰).

بررسی قابلیت حیاتی سلولهای اسپرم از روش سیتوپلاسمی و با رنگ آمیزی ائوزین استفاده گردید(۳۲و۳۱)، حدود ۱۰ میکرولیتر نمونه های 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 نمونه ها، یک عدد لامل استریل بر روی لام‌ها قرار گرفته و توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی X40 مشاهده و شمارش گردید. اسپرم های زنده به دلیل سالم بودن غشاء سیتوپلاسمی رنگ ائوزین وارد شده به داخل سلول را حفظ نموده لذا بعد از شستشو همچنان به حالت رنگی مشاهده می شوند در حالیکه اسپرم های مرده به دلیل غشاء آسیب دیده رنگ وارد شده به داخل سلول را مجددا خارج می کنند و بنابراین در زیر میکروسکوپ بدون رنگ قابل مشاهده هستند.

اندازه گیری شدت پراکسیداسیون لیپیدی غشاء اسپرم در مایع سمینال: جهت تخمین شدت پراکسیداتیوی غشاء اسپرم، غلظت مالون دی آلدئید (MDA) در مایع سمینال موشها اندازه گیری گردید. غلظت MDA به روش تیوباربیتوریک اسید (TBAR) و بر اساس مطالعه Tavilani و همکاران اندازه گیری گردید (۳۳).

منحنی استاندارد MDA با استفاده از تتراتوکسی پروپان (خریداری شده از شرکت سیگما، غلظت g/mol ۲۲۰/۳۱) بدست آمد. ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های مورد آزمایش به لوله های اپندورف انتقال گردیده و حدود ۵۰۰ میکرولیتر از محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) به آن اضافه شد. حدود ۱۰ میکرولیتر هیدروکسی تولوئن به محلول فوق اضافه شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته شده و حدود ۴۰۰ میکرولیتر محلول تیوباربیتوریک اسید (TBAR، خریداری شده از شرکت مرک آلمان، غلظت g/mol ۱۴۴/۱۴) به محلول اضافه گردید و به مدت یک ساعت در دمای°C ۹۵ حمام آب جوش درجه نگهداری شد. پس از آن، نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای یخچال نگهداری شده تا سرد شوند. سپس مجددا نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور g ۴۰۰۰ سانتریفوژ شده و در جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مورد بررسی قرار گرفت. نهایتا غلظت MDA با توجه به نمودار استاندارد محاسبه گردید.

روش آماری تجزیه و تحلیل اطلاعات: مقایسه میانگین غلظت کیفیت پارامترهای اسپرمی و غلظت MDA در بین تمام گروهها با استفاده از آزمون

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.7.9]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.48]

آماری ANOVA و تست تعقیبی LSD مورد ارزیابی قرار گرفت و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

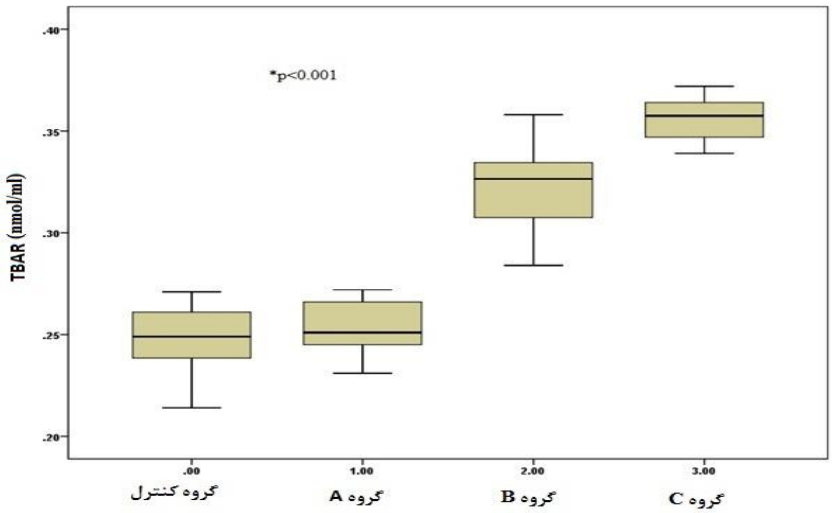
نتیجه حاصل از آنالیز پارامترهای اسپرمی. تفاوت معنی داری در میانگین وزن موش و همچنین وزن بیضه چپ آنها بعد از ۳۵ روز مشاهده نگردید. گروه C داری کمترین میانگین تعداد اسپرم در مقایسه با گروه کنترل و حتی در مقایسه با گروه های A و B بود. ارتباط معنی داری در رابطه با کاهش میانگین تعداد اسپرم بین گروه A با گروه کنترل مشاهده نشد اماکاهش تعداد اسپرم در گروه B در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود (جدول ۱). گروههای B و C به طور معنی داری کمترین درصد اسپرم های زنده را در مقایسه با گروه کنترل داشتند. میانگین درصد اسپرم های متحرک در گروه C به طور معنی داری کمتر از گروه ها بود، از طرفی درصد اسپرم های متحرک در گروه کنترل به طور معنی داری بیشتر از سایر گروهها بوده است. گروه B و C به طور معنی داری دارای بیشترین درصد اسپرم های بی تحرکت در مقایسه با گروه های کنترل و گروه A بودند. تفاوت معنی داری بین گروه های B و C دیده نشد درصد اسپرم های غیرطبیعی در گروههای مورد مطالعه، به ویژه گروههای دریافت کننده دوزهای بالاتر نانوذرات نقره بیشتر بوده است. گروه کنترل، بیشترین میانگین درصد اسپرم های زنده و گروه C کمترین میانگین درصد اسپرم های زنده را به خود اختصاص داده بودند (جدول ۱). نتیجه حاصل از میانگین غلظت TBAR مایع سمینال بین گروه ها به طوری معنی داری متفاوت بود ($p<۰/۰۰۱$).

میانگین غلظت TBAR مایع سمینال از گروه کنترل به گروه C رو به افزایش بوده است، به طوریکه میانگین غلظت TBAR مایع سمینال در گروه C (۰/۳۵±۰/۰۱ nmol/ml) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۲۴±۰/۰۱۶ nmol/ml) و گروه A (۰/۲۵±۰/۰۱ nmol/ml) ($p<۰/۰۰۱$) و گروه B (۰/۳۲±۰/۰۲ nmol/ml) ($p<۰/۰۵$) به طوری معنی داری بیشتر بوده است. میانگین غلظت TBAR مایع سمینال در گروه B نیز در مقایسه با گروه های کنترل و گروه A بیشتر بود ($p<۰/۰۰۱$). تفاوت معنی داری بین گروه A و گروه کنترل از لحاظ مقایسه غلظت TBAR مایع سمینال وجود نداشت (نمودار۱).

جدول ۱. مقایسه آنالیز میانگین پارامترهای اسپرمی در گروه های مختلف

پارامترها / گروه ها	کنترل Mean±SD	A Mean±SD	B Mean±SD	C Mean±SD	p-value
تعداد نمونه ها	۶	۶	۶	۶	-
دوز تجویز نانوذرات نقره (میکروگرم)	۰	۰/۰۷	۰/۱۴	۰/۲۸	-
وزن بدن در انتهای مطالعه (گرم)	۳۸/۱۹±۴/۲۵	۳۵/۱۴±۳/۱۷	۳۶/۷۹±۲/۴۱	۳۴/۳۱±۲/۸۲	۰/۸۵۵
وزن بیضه چپ در انتهای مطالعه (گرم)	۰/۱۲±۰/۰۱	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۰۹±۰/۰۱	۰/۳۳۹
تعداد اسپرم ($\times ۱۰^۶$/ml)	۲۳/۵۷±۳/۴۶	۲۱/۱۵±۳/۰۲*	۱۶ ± ۲/۶*	۱۳/۳۱±۲/۱**	<۰/۰۰۱
درصد اسپرمهای متحرک (درصد)	۸۹/۰۶±۱۰/۹۷	۸۰/۰۶±۹/۸۳	۷۷/۶۹±۱۶/۹۶**	۷۲/۷۹±۱۴/۵۲*	<۰/۰۵
درصد اسپرم های بی تحرکت (درصد)	۱۲/۳±۲/۷۸	۱۹/۴±۵/۱۶	۲۲/۳۱±۳/۲۵*	۲۷/۲۱±۳/۱۲*	<۰/۰۰۱
اسپرم های زنده (درصد)	۶۶/۲۳±۵/۱۳	۵۷±۶/۲۹**	۵۱/۴±۸/۳۲*	۴۷/۶±۷/۵۱*	<۰/۰۱
درصد اسپرم های غیرطبیعی (درصد)	۲۸/۱۷±۴/۴۷	۳۷/۳۳±۱/۲۷	۳۵/۸۳±۴/۴**	۴۱/۶۷±۳/۹*	<۰/۰۰۱

*p<۰/۰۱, **p<۰/۰۵



شکل ۱. مقایسه میانگین غلظت MDA در بین گروههای مختلف مورد مطالعه. گروه A: دریافت کننده غلظت ۰/۰۷ میکروگرم نانوذره نقره، گروه B: دریافت کننده غلظت ۰/۱۴ میکروگرم نانوذره نقره و گروه C: دریافت کننده غلظت ۰/۲۸ میکروگرم نانوذره نقره

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.7.9]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.48]

بحث و نتیجه گیری

آنالیز حاصل از کیفیت اسپرم در این تحقیق نشان داد که موشهای دریافت کننده نانوذرات نقره در مقایسه با گروه کنترل به طور چشم گیری دارای کیفیت اسپرم پائین تری بودند. به طوری که با افزایش دوزهای بیشتر نانوذرات نقره، کیفیت پارامترهای اسپرم، به ویژه درصد مورفولوژی طبیعی، تعداد اسپرم های زنده و درصد اسپرم های متحرکت کمتر شد. از طرفی گروه دریافت کننده غلظت بالاتر نانوذرات نقره (گروه C) به طور معنی داری دارای بیشترین غلظت TBAR بوده که دال بر افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی در موشهای این گروه بوده است. بنابراین، نانوذرات نقره نه تنها بر روی کیفیت پارامترهای اسپرم اثرات مخرب داشت بلکه این اثرات وابسته به دوز بوده و با افزایش دوز مصرفی این اثرات پاتولوژیک شدیدتر شد. به نظر می رسد یکی از مکانیسم های اثر نانوذرات نقره بر روی کاهش کیفیت اسپرم، تشدید استرس اکسیداتیو، به ویژه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم ها و همچنین کاهش غلظت موثر آنتی اکسیدانها می باشد.

لذا با توجه به نتایج این تحقیق، نانوذرات نقره یکی از عوامل تشدید کننده اثرات پراکسیداتیوی در مایع سمینال محسوب می شود که با کاهش سیالیت غشاء اسپرم و پارامترهای اسپرمی همراه می باشد. بنابراین اثرات اکسیداتیوی نانوذرات نقره و اثرات پاتولوژیک آن بر روی بدن، به ویژه بر روی کیفیت اسپرم و توانایی باروری مردان باید مورد توجه و بررسی بیشتر قرار گیرد. تحقیقات اخیر نشان دادند که نانوذرات نقره در دوزهای بالا (۲۰۰ mg/kg) منجر به مهار فرآیند لختگی توسط پلاکتها در خون و در نتیجه افزایش زمان خونریزی می گردد. علاوه بر این، تعداد سلولهای خونی از جمله تعداد سلولهای سفید و قرمز، غلظت هموگلوبین، تعداد نوتروفیل و لنفوسیت به طور معنی داری در مقایسه با گروه های کنترل تغییر کرده است (۳۸-۳۴). مطالعات محدودی نیز اثر نانوذرات به ویژه نانوذرات نقره بر روی توانایی باروری و عملکرد اسپرم را مورد بررسی قرار دادند که قابل مقایسه با نتایج تحقیق ما می باشند. در برخی مطالعات مشخص شده که نانوذرات نقره رشد سلولهای زایای اسپرم و همچنین واکنش آکروزمی اسپرم را متوقف می کنند (۴۱-۳۹).

اثر نانوذرات تیتانیوم اکسید (TiO_2) بر روی توانایی باروری موش ها نشان داد که این نانوذرات با القاء مسیر استرس اکسیداتیو سبب کاهش شدید سلولهای لایدیگ، قابلیت حیاتی اسپرم و همچنین بیان برخی از ژن ها می شوند (۴۲). در یک مطالعه دیگر نتایج تحقیقات دال بر افزایش اکسیداسیون DNA و تغییر مورفولوژی مجاری اسپرم ساز در گروه های مورد مطالعه تیمار شده با نانوذرات نقره بود، هر چند تغییری در تعداد اسپرم های با مورفولوژی غیرطبیعی بین گروه ها مشاهده نشده بود (۴۱). مطالعه Baki و همکاران، نشان داد که تعداد سلولهای لایدیگ در گروه های مورد مطالعه به ویژه گروه های دریافت کننده دوز ۲۰۰mg/kg از نانوذرات نقره به طور معنی داری کاهش یافته بود. از طرفی غلظت هورمون تستوسترون و هورمون LH به ترتیب به طور معنی داری کم و زیاد گردید، هر چند تغییر معنی داری در غلظت FSH مشاهده نشده بود. از طرفی کاهش معنی داری در تعداد، مورفولوژی طبیعی و درصد اسپرم های متحرک مشاهده گردید که با نتایج حاصل از تحقیق ما قابل مقایسه بود (۴۳). بنابراین اثر نانوذرات نقره بر روی کیفیت پارامترهای اسپرمی و قدرت باروری مردان می تواند به عنوان یکی از موضوعات اساسی در نظر گرفته شود چرا که ممکن است به عنوان یک زنگ خطری برای نسل های آینده محسوب گردد. همانطور که در تحقیق ما نیز مشاهده گردید، وضعیت اکسیداتیوی در مایع سمینال نمونه های مورد بررسی یک عامل برای کاهش کیفیت اسپرم محسوب می گردد و با توجه به اینکه نانوذرات نقره احتمالا با مکانیسمهای متعددی سبب افزایش سطح رادیکالهای آزاد می گردد، بنابراین انتظار می رود که درصد اسپرمهایی با DNA جهش یافته نیز در آنها زیاد باشد و این مسئله برای اعمالی نظیر میکرواینجکشن بسیار مهم است، چرا که می تواند یک عاملی برای لقاح مصنوعی ناموفق و حتی آسیب های متعددی در نسل های آینده گردد. اگر چه امروزه با پیشرفت تکنیک های مختلف اکثر مردان نابارور ممکن است که بدون هیچ مشکل خاصی صاحب فرزند شوند اما احتمال اینکه یک اسپرم غیرطبیعی (مثلا اسپرمی که در یک یا چند ژن خاصی دچار جهش شده باشد) به صورت مصنوعی (مثلا از طریق ICSI) در بارورسازی تخمک شرکت نماید، وجود دارد و این مشکل ممکن است که اولا منجر به یک لقاح ناموفق گردد و یا اینکه در نسلهای آینده اثرات خود را نشان دهد و سبب اثرات شدیدی در نوزادان مثل انواع سرطان و یا عدم تکامل طبیعی جنین گردد. بنابراین بررسی و رسیدگی به استفاده از نانوذرات نقره در زمینه های مختلف از اهمیت خاصی برخوردار بوده و به عنوان یکی از فاکتورهای اساسی موثر بر روی توانایی باروری مردان باید به دقت مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه حاصل از این تحقیق نشان داد که نانوذرات نقره سبب کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی در موش می گردد که احتمالا یکی از مکانیسم های دخیل، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی سلولهای اسپرم می باشد که این اثرات سمی نانوذرات نقره وابسته دوز نیز می باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از تمامی کسانی که در انجام فعالیتهای آزمایشگاهی در این تحقیق همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.7.9]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.48]

Effects of Silver Nanoparticles on Lipid Peroxidation and Quality of Sperm Parameters in Male Rats

E. Layali (PhD)*[1], E. Tahmasbpour (PhD)[2], S.G.A. Jorsaraei (PhD)[3]

1.Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, I.R.Iran

2.Chemical Injuries Research Center, Baqiatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

3.Fatemeh Zahra Infertility and Health Reproductive Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(2); Feb 2016; PP:48-55

Received: Apr 15th 2015, Revised: Jul 29th 2015, Accepted: Jan 6th 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Considering the role of silver nanoparticles in inducing the production of free radicals, these compounds may lead to pathological effects and oxidative stress in the seminal fluid, resulting in the reduced quality of sperm parameters. Therefore, in this study, we aimed to assess the toxic effects of silver nanoparticles on sperm parameters and lipid peroxidation of sperm membranes in male rats.

METHODS: This experimental study was conducted on 24 Syrian adult male rats, which were randomly divided into one control and three study groups. The rats in the study groups were orally administered silver nanoparticles at concentrations of 0.07 µg (group A), 0.14 µg (group B), and 0.28 µg (group C), respectively per day for a period of five weeks. Then, lipid peroxidation of sperm membranes was analyzed, using thiobarbituric acid assay. Additionally, microscopic examinations were performed to evaluate sperm parameters.

FINDINGS: Based on the findings, the mean quality of sperm parameters such as sperm count and motility significantly declined in the study groups, particularly group B (77.69±16.96%; 16±2.6×10^6/ml) and group C (72.79±14.52%; 13.31±2.1×10^6/ml), compared to the control group (89.06±10.97; 23.57±3.46×10^6/ml) ($p<0.05$). Also, in terms of malondialdehyde concentration, a significant difference was reported among group A (0.25±0.01), group B (0.32±0.02), group C (0.35±0.01), and the control group (0.24±0.01) ($p<0.001$).

CONCLUSION: The results of the present study confirmed that silver nanoparticles through enhancing lipid peroxidation could reduce the quality of sperm parameters in a dose-dependent manner.

KEY WORDS: *Silver Nanoparticles, Sperm Parameters, Lipid Peroxidation, Male Rats.*

.

Please cite this article as follows:

Layali E, Tahmasbpour E, Jorsaraei SGA. Effects of Silver Nanoparticles on Lipid Peroxidation and Quality of Sperm Parameters in Male Rats. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(2):48-55.

***Corresponding Author: E. Layali (PhD)**

Address: Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, I.R.Iran.

Tel: +98 11 33175364

E-mail: issalayali@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.7.9]

[DOI: 10.22088/jbums.18.2.48]

References

1.Wang Z, Xia T, Liu S. Mechanisms of nanosilver-induced toxicological effects: more attention should be paid to its sublethal effects. Nanoscale. 2015;7(17):7470-81.

2.Yang HL, Lin JC, Huang C. Application of nanosilver surface modification to RO membrane and spacer for mitigating biofouling in seawater desalination. Water Res. 2009;43(15):3777-86.

3.Xie W, Vu K, Yang G, Tawfiq K, Chen G. Escherichia coli growth and transport in the presence of nanosilver under variable growth conditions. Environ Technol. 2014;35(18):2306-13.

4.Wasowicz W, Cieslak M, Palus J, Stanczyk M, Dziubaltowska E, Stepnik M, et al. Evaluation of biological effects of nanomaterials. Part I. Cyto- and genotoxicity of nanosilver composites applied in textile technologies. Int J Occupa Med Env Health. 2011;24(4):348-58.

5.Yazdimamaghani M, Vashaee D, Assefa S, Walker KJ, Madihally SV, Kohler GA, et al. Hybrid macroporous gelatin/bioactive-glass/nanosilver scaffolds with controlled degradation behavior and antimicrobial activity for bone tissue engineering. J Biomed Nanotechnol. 2014;10(6):911-31.

6.Seth D, Choudhury SR, Pradhan S, Gupta S, Palit D, Das S, et al. Nature-inspired novel drug design paradigm using nanosilver: efficacy on multi-drug-resistant clinical isolates of tuberculosis. Curr Microbiol. 2011;62(3):715-26.

7.El Khoury E, Abiad M, Kassaify ZG, Patra D. Green synthesis of curcumin conjugated nanosilver for the applications in nucleic acid sensing and anti-bacterial activity. Colloids Surf B Biointerfaces. 2015;127:274-80.

8.Kumarathasan P, Breznan D, Das D, Salam MA, Siddiqui Y, MacKinnon-Roy C, et al. Cytotoxicity of carbon nanotube variants: a comparative in vitro exposure study with A549 epithelial and J774 macrophage cells. Nanotoxicol. 2015;9(2):148-61.

9.Khalid P, Hussain MA, Rekha PD, Arun AB. Carbon nanotube-reinforced hydroxyapatite composite and their interaction with human osteoblast in vitro. Hum Exp Toxicol. 2015;34(5):548-56.

10.Su J, Cao L, Li L, Wei J, Li G, Yuan Y. Highly sensitive methane catalytic combustion micro-sensor based on mesoporous structure and nano-catalyst. Nanoscale. 2013;5(20):9720-5.

11.Tsukahara T, Haniu H. Cellular cytotoxic response induced by highly purified multi-wall carbon nanotube in human lung cells. Mol Cell Biochem. 2011;352(1):57-63.

12.Shvedova AA, Pietroiusti A, Fadeel B, Kagan VE. Mechanisms of carbon nanotube-induced toxicity: focus on oxidative stress. Toxicol App Pharmacol. 2012;261(2):121-33.

13.Liu Z, Liu Y, Peng D. Carboxylation of multiwalled carbon nanotube attenuated the cytotoxicity by limiting the oxidative stress initiated cell membrane integrity damage, cell cycle arrestment, and death receptor mediated apoptotic pathway. J Biomed Mat Res Part A. 2015;103(8):2770-7.

14.Liu Y, Song W, Li W, Gaku I. In vitro cytotoxicity and oxidative damage effects of multi-wall carbon nanotube on RAW264.7 macrophages. Wei Sheng Yan Jiu. 2008;37(3):281-4.

15.Hilton GM, Taylor AJ, McClure CD, Parsons GN, Bonner JC, Bereman MS. Toxicoproteomic analysis of pulmonary carbon nanotube exposure using LC-MS/MS. Toxicology. 2015;329:80-7.

16.Dymacek J, Snyder-Talkington BN, Porter DW, Mercer RR, Wolfarth MG, Castranova V, et al. mRNA and miRNA regulatory networks reflective of multi-walled carbon nanotube-induced lung inflammatory and fibrotic pathologies in mice.Toxicol Sci. 2015;144(1):51-64.

17.Mitchell MJ, Castellanos CA, King MR. Surfactant functionalization induces robust, differential adhesion of tumor cells and blood cells to charged nanotube-coated biomaterials under flow. Biomaterials. 2015;56:179-86.

18.Hsin YH, Chen CF, Huang S, Shih TS, Lai PS, Chueh PJ. The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS- and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells. Toxicol Lett. 2008;179(3):130-9.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.7.9]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.48]

19.Layali I, Tahmasbpour E, Joulaei M, Jorsaraei SG, Farzanegi P. Total antioxidant capacity and lipid peroxidation in semen of patient with hyperviscosity. Cell J. 2015;16(4):554-9.

20.Tahmasbpour E, Balasubramanian D, Agarwal A. A multi-faceted approach to understanding male infertility: gene mutations, molecular defects and assisted reproductive techniques (ART). J Assist Reprod Gen. 2014;31(9):1115-37.

21.Colagar AH, Marzony ET. Ascorbic Acid in human seminal plasma: determination and its relationship to sperm quality. J Clin Biochem Nutr. 2009;45(2):144-9.

22.Colagar AH, Marzony ET, Chaichi MJ. Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. Nut Res. 2009;29(2):82-8.

23.Colagar AH, Jorsaraee GA, Marzony ET. Cigarette smoking and the risk of male infertility. Pak J Biol Sci. 2007;10(21):3870-4.

24.Hosseinzadeh Colagar A, Pouamir M, Tahmasbpour Marzony E, Jorsaraee GA. Relationship between seminal malondialdehyde and sperm parameters quality in the fertile and infertile men. Braz Arch Biol Technol. 2009; 52(6):1387-92.

25.Tahmasbpour Marzony E, Jorsaraei GH, Pouramir M ,Colagar AH. Seminal plasma antioxidant capacity in human semen with hyperviscosity. Babol Univ Med Sci J. 2012;14(16):39-44 .[In Persian]

26.Park YS, Park S, Ko DS, Park DW, Seo JT, Yang KM. Observation of sperm-head vacuoles and sperm morphology under light microscope. Clin Exp Reprod Med. 2014;41(3):132-6.

27.Kermani-Alghoraishi M, Anvari M, Talebi AR, Amini-Rad O, Ghahramani R, Miresmaili SM. The effects of acrylamide on sperm parameters and membrane integrity of epididymal spermatozoa in mice. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2010;153(1):52-5.

28.Talebi AR, Khalili MA, Vahidi S, Ghasemzadeh J, Tabibnejad N. Sperm chromatin condensation, DNA integrity, and apoptosis in men with spinal cord injury. J Spinal Cord Med. 2013;36(2):140-6.

29.Mangoli E, Talebi AR, Anvari M, Pourentezari M. Effects of experimentally-induced diabetes on sperm parameters and chromatin quality in mice. Iran J Reprod Med. 2013;11(1):53-60.

30.Cardona Maya W. World health organization manual for the processing of human semen-2010. Acta Urolog Espanol. 2010;34(7):577-8.

31.Chalah T, Brillard JP. Comparison of assessment of fowl sperm viability by eosin-nigrosin and dual fluorescence (SYBR-14/PI). Theriogenology. 1998;50(3):487-93.

32.Cao XW, Lin K, Li CY, Yuan CW. A review of who laboratory manual for the Examination and Processing of Human Semen (5th edition). Zhonghua nan ke xue. 2011;17(12):1059-63.

33.Tavilani H, Doosti M, Saeidi H. Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of asthenozoospermic and its relationship with semen parameters. Clin Chimica Acta. 2005;356(1-2):199-203

34.Taylor U, Tiedemann D, Rehbock C, Kues WA, Barcikowski S, Rath D. Influence of gold, silver and gold-silver alloy nanoparticles on germ cell function and embryo development. Beilstein J Nanotechnol. 2015;6:651-64.

35.Barkhordari A, Barzegar S, Hekmatimoghaddam H, Jebali A, Rahimi Moghadam S, Khanjani N. The toxic effects of silver nanoparticles on blood mononuclear cells. Int J Occup Envon Med. 2014;5(3):164-8.

36.Chen LQ, Fang L, Ling J, Ding CZ, Kang B, Huang CZ. Nanotoxicity of silver nanoparticles to red blood cells: size dependent adsorption, uptake, and hemolytic activity. Chem Res Toxicol. 2015;28(3):501-9.

37.De Jong WH, Van Der Ven LT, Sleijffers A, Park MV, Jansen EH, Van Loveren H, et al. Systemic and immunotoxicity of silver nanoparticles in an intravenous 28 days repeated dose toxicity study in rats. Biomaterials. 2013; 34(33):8333-43.

38.Drescher D, Buchner T, McNaughton D, Kneipp J. SERS reveals the specific interaction of silver and gold nanoparticles with hemoglobin and red blood cell components. Phys Chem Chem Phys. 2013;15(15):5364-73.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.7.9]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.48]

39.Miresmaeili SM, Halvaei I, Fesahat F, Fallah A, Nikonahad N, Taherinejad M. Evaluating the role of silver nanoparticles on acrosomal reaction and spermatogenic cells in rat. Iran J Reprod Med. 2013;11(5):423-30.

40.Mathias FT, Romano RM, Kizys MM, Kasamatsu T, Giannocco G, Chiamolera MI, et al. Daily exposure to silver nanoparticles during pre pubertal development decreases adult sperm and reproductive parameters. Nanotoxicol. 2015;9(1):64-70.

41.Gromadzka-Ostrowska J, Dziendzikowska K, Lankoff A, Dobrzynska M, Instanes C, Brunborg G, et al. Silver nanoparticles effects on epididymal sperm in rats. Toxicol Lett. 2012;214(3):251-8.

42.Komatsu T, Tabata M, Kubo-Irie M, Shimizu T, Suzuki K, Nihei Y, et al. The effects of nanoparticles on mouse testis Leydig cells in vitro. Toxicol In Vitro. 2008;22(8):1825-31.

43.Baki ME, Miresmaili SM, Pourentezari M, Amraii E, Yousefi V, Spenani HR, et al. Effects of silver nano-particles on sperm parameters, number of Leydig cells and sex hormones in rats. Iran J Reprod Med. 2014;12(2):139-44.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.7.9]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.48]