مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۹، شماره ۴/ مهر و آبان ۱۳۹۶/ ۳۴-۲۳

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات نانو ذرات نقره بر برخی شاخص های باروری موش های کوچک آزمایشگاهی نر

محمد سعید حیدرنژاد[1*]، گلی قاسمی[2]، جهانگیر کبوتری کنج[3]

[1]گروه جانورشناسی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [2]گروه فیزیولوژی جانوری، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [3]گروه دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/٤

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017

چکیده:

زمینه و هدف: **در سال‌های اخیر نانو ذرات نقره به‌طور گسترده‌ای در عرصه‌های مختلف به کار برده شده و نگرانی های زیادی برای سلامت انسان و محیط زیست به وجود آورده‌اند که این خود خطر سمیت بالقوه مرتبط با این نانو ذرات را افزایش می دهد. این پژوهش در جهت بررسی اثرات نانو ذرات نقره بر برخی شاخص‌های باروری موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر انجام گرفت.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی، ۳٦ سر موش نر بالغ سالم نژاد Balb/c با میانگین وزنی ۳±۲۸/۵ گرم به‌طور تصادفی در ۳ گروه ۱۲ تایی قرار گرفتند. گروه شاهد فقط از آب استفاده می‌کردند گروه تیمار ۱ نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۲۰ و گروه تیمار ۲ نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۵۰ هر دو با روش خوراکی دریافت می کردند. تحرک، تولید و تعداد اسپرم‌ها با استفاده از روش‌ها و فرمول‌های مربوطه تعیین شد. نتایج به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه‌وتحلیل شد.**

یافته‌ها: **میزان تحرک اسپرم ها در گروه تیمار غلظت ppm ۵۰ نانو ذرات نقره به میزان ۳۷/۵٪ و در گروه تیمار ppm ۲۰ به میزان ۱۹/٦٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. این نانو ذرات در غلظت ppm ۵۰ سبب کاهش معنی داری در تولید اسپرم نسبت به گروه کنترل و گروه غلظت ppm ۲۰ گردید. همچنین تعداد اسپرم اپیدیدیم در گروه تیمار نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۲۰، ۱٤/۷٦٪ و در تیمار ppm ۵۰، ۳٦٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافت.**

نتیجه‌گیری: **استفاده از نانو ذرات نقره می تواند سبب کاهش تولید روزانه اسپرم و میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیمی و درصد تحرک آن در جنس نر شود.**

واژه‌های کلیدی: **نانو ذرات نقره، تولید روزانه اسپرم (DSP)، اپیدیدیم، موش.**

مقدمه:

کاربرد نانو ذرات نقره در زمینه های متفاوت به توانایی این نانو ذرات برای سنتز ذراتی با ترکیبات شیمیایی، شکل و اندازه خاص بستگی دارد (۲،۱). امروزه با افزایش استفاده از نانو ذرات نقره در محصولات مختلف ازجمله محصولات مصرفی و پزشکی، بررسی سمیت نانو ذرات نقره برای امنیت استفاده‌کنندگان از این محصولات لازم و ضروری می باشد (۳). در سال‌های اخیر نانو ذرات نقره به‌طور گسترده‌ای در عرصه‌های مختلف به کار برده شده و نگرانی های زیادی برای سلامت انسان و محیط زیست به وجود آورده‌اند که این خود خطر سمیت بالقوه مرتبط با این نانو ذرات را افزایش می دهد (۵،۴). با وجود فواید نانو ذرات در زمینه های مختلف پزشکی، محصولات مصرفی و محیط زیست، ازآنجایی‌که ساخت و استفاده از نانو ذرات در حال افزایش است، نگرانی هایی در مورد خطرات احتمالی نانو ذرات بر سلامت انسان و محیط زیست وجود دارد با توجه به عبور نانو ذرات از طریق موانع بیولوژیکی و نفوذ به

***نویسنده مسئول:** شهرکرد- دانشگاه شهرکرد- گروه جانورشناسی- تلفن: ۰۹۱۷۳۰۸۳۸۱۰، E-mail: m_heydarnejad@yahoo.com*

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017

بافت های تولیدمثلی، این امر به‌ویژه در مورد سمیت شناسی سیستم تولیدمثلی لازم است، زیرا این ذرات می توانند بر عملکرد سیستم تولیدمثلی و توانایی زنده ماندن اسپرم و همچنین تکوین جنین تأثیر داشته باشند و هرگونه کاستی در این زمینه می تواند بر باروری و بقای نسل اثرگذار باشد (۷،۶). نانو ذرات می توانند از طریق سلول های اپیتلیوم و غشاهای زبستی عبور و درنتیجه می توانند بر فیزیولوژی هر سلول در بدن جانور تأثیر بگذارند (۹،۸). نانو ذرات علاوه بر عبور از سد خونی مغزی، قادر به عبور از سد خونی بیضه ای (BTB) و توزیع در گنادها هستند و می توانند پس از عبور از سد خونی بیضه ای در بیضه ها رسوب کنند و باعث اثرات مضر بر سلول های اسپرم شوند (۱۴-۱۰). مکانیسم چگونگی نفوذ نانو ذرات به سد خونی بیضه ای ممکن است، در ارتباط با تخریب در سد خونی بیضه ای ناشی از پاسخ التهابی باشد که ممکن است به‌نوبه خود توسط نانو ذرات القا شود (۱۵).

بسیاری از گزارش های اخیر نشان می دهد که بسیاری از نانو ذرات اثر مضر یا حداقل سمی بر روند اسپرماتوژنز دارند (۲۰-۱۶). در مطالعه اثر نانو ذرات نقره بر اسپرم اپیدیدیمی موش صحرایی مشخص شد نانو ذرات نقره ۲۰ نانومتر باعث کاهش تعداد سلول اسپرم اپیدیدیمی، آسیب DNA در سلول های زایا در موش صحرایی در معرض نانو ذرات در مقایسه با گروه کنترل شد. این مشاهدات نشان می دهد که تزریق نانو ذرات نقره حتی ممکن است باعث مرگ سلول اسپرم شود (۲۱). نتایج تحقیقات نشان داده که درمان با استفاده از نانو ذرات نقره مقدار تستوسترون و دی هیدروتستوسترون اندازه‌گیری شده در روز ۷ و ۲۸ پس از تزریق را کاهش داده است، درنتیجه عملکرد طبیعی و ساختار لوله های اسپرم‌ساز را تحت تأثیر قرار می دهد. عمل نانو ذرات نقره در اپیدیدیم، افزایش تولید رادیکال های آزاد و کاهش پتانسیل آنتی اکسیدانی در اپیدیدیم و اسپرم های آن هست (۲۱).

هرچند که مشخص شد که نانو ذرات نقره ممکن است یک عامل خطر برای سلامت انسان و محیط زیست را تشکیل دهند، اثرشان بر سیستم تولیدمثلی، به‌خصوص بر روی عملکرد سیستم تولیدمثلی نر، هنوز هم مبهم است و نیاز به بررسی بیشتر اثر این نانو ذرات بر سیستم تولیدمثلی می باشد (۲۳،۲۲). گزارش شده است که کاهش تعداد اسپرم و نیز کاهش تحرک اسپرم شاخص‌های مهم و معتبری در جهت بیان ناباروری حیوانات آزمایشگاهی نر می‌باشد (۲۴). Sardari و همکاران و Zare و همکاران نشان دادند که حتی مقادیر کمی از نانو ذرات نقره تأثیر سمی بر روی سلول های جنسی داشته و سبب کاهش تحرک اسپرم می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که حداقل محدوده غلظتی که نانو ذرات نقره منجر به تأثیر سمی می‌شوند بین ppm ۱۰تا ppm ۵۰ است (۲۶،۲۵). با توجه به اهمیت تولید اسپرم در بقای نسل و نیز مدارک و شواهد ناکافی و متناقض در رابطه با اثر نانو ذرات نقره بر روی عملکرد سیستم تولیدمثلی نر، این پژوهش در جهت بررسی اثرات نانو ذرات نقره بر برخی شاخص‌های باروری موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر انجام گرفت.

روش بررسی:

موش‌ها از لانه حیوانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد خریداری گردید. حیوانات در شرایط دما و رطوبت استاندارد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در حیوان خانه دانشکده علوم پایه دانشگاه شهرکرد نگهداری شدند. تغذیه حیوانات به‌وسیله بلیت‌های مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت می گرفت. در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش نر بالغ سالم نژاد Balb/c با میانگین وزنی ۳±۲۸/۵ گرم به‌طور تصادفی در ۳ گروه ۱۲ تایی (۱ گروه شاهد و ۲ گروه تیمار) قرار گرفتند.

الف) گروه کنترل: این گروه هیچ ماده‌ای دریافت نمی‌کرد و از آب استفاده می کردند؛ ب) گروه تیمار ۱: این گروه نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۲۰ دریافت می کرد؛ ج) گروه تیمار ۲: این گروه نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۵۰ دریافت می کرد.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017

در هر دو گروه تیمار نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۲۰ و ppm ۵۰ در یک دوره ۴۰ روزه و روزانه یک‌بار در زمان مشخصی به میزان ۱ میلی‌لیتر به روش خوراکی تجویز می گردید. به‌طور متوسط ۴۰ روز (۴۱-۳۹ روز) یک دوره اسپرماتوژنز موش و آزاد شدن اسپرم هست (۲۷).

هر گروه را پس از استریل کردن همه وسایل و محیط کار با ماده بی هوشی که ترکیبی از ۱۰ میلی لیتر کتامین، ۰/۵ میلی لیتر آسپیرومازین، ۲ میلی لیتر دیازپام و کمتر از ۰/۵ میلی‌لیتر زایلازین بود، به مقدار کمتر از ۰/۰۱ میلی‌لیتر به کمک سرنگ انسولین با تزریق عضلانی بی هوش نمودیم. به‌منظور ارزیابی میزان تحرک اسپرم ها، مقداری از انتهای اپیدیدیم بریده شد و پس ازخردکردن به قطعه های ریز توسط قیچی تشریح درون بافر فسفات سالین (PBS) ایزوتونیک در یک پتری دیش قرار گرفت (۲۸). سپس در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه به‌منظور ظرفیت پذیری اسپرم ها و خارج شدن از داخل قطعه های خردشده بافت اپیدیدیم به بافر PBS در انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و CO_2 ۵٪) قرار داده شد. بعد از ورتکس کردن سوسپانسیون اسپرمی ۱۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون بر روی لام گذاشته و در ادامه به کمک میکروسکوپ نوری، اسپرم های دارای حرکت در ۵ میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی ×۴۰ بررسی و میانگین درصد اسپرم های متحرک نسبت به تعداد کل اسپرم های موجود در میدان به‌عنوان درصد حرک ثبت گردید (۳۰،۲۹)، جهت تعیین تعداد اسپرم تولید شده در هر گرم بافت بیضه و بررسی عملکرد سیستم تولیدمثلی، پس از خارج کردن بیضه راست از بدن موش و برداشتن کپسول آن، پارانشیم بیضه توسط ۵ میلی لیتر بافر هموژن کننده حاوی نرمال سالین و ۰/۰۵٪ تریتون X-100 (ساخت شرکت مرک آلمان) و ۰/۲٪ ائوزین Y (برای رنگ‌آمیزی اسپرم ها) به مدت ۴ دقیقه هموژن شد (۳۱،۳۰). تریتون X-100 به‌منظور کاهش مقدار باقیمانده بافت، اضافه شد که ممکن است در طول شمارش در لام نئوبار اختلال ایجاد کند. محلول هموژن شده در دستگاه ورتکس مخلوط شده و ۱۰ میکرولیتر از محلول روی لام نئوبار هموسایتومتر گذاشته شد. سرهای اسپرم مقاوم در مقابل هموژنیزاسیون در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ×۴۰ شمارش شدند (۳۲). $DSP= A \times B \times C \times D / E / F$ (۳۴،۳۳).

A: میانگین تعداد اسپرم‌های شمارش‌شده در ۴ مربع؛ B: ضریب مربع؛ C: ضریب هموسایتومتر ۱۰۴؛ D: فاکتور رقت (۵ میلی لیتر)؛ E: وزن بیضه (گرم)؛ F: ۴/۸۴ (مدت زمانی که اسپرماتیدهای مرحله ۱۶–۱۴ در چرخه اپیتلیوم لوله های منی ساز موش سوری باقی می مانند) و به عبارتی ۴/۸۴ یک عدد ثابت برای محاسبه تولید اسپرم در هر روز در موش هست (۳۵).

در هر روز نمونه گیری از سلول های اسپرم ناحیه دم اپیدیدیم، جهت تعیین تعداد سلول های اسپرم و بررسی اثر نانو ذرات نقره بر تعداد اسپرم، سلول های اسپرم اپیدیدیم توسط لام نئوبار شمارش شد و تعداد کل آن با استفاده از فرمول های مربوطه محاسبه گردید. به شرح ذیل: ۱- جدا کردن ناحیه دم اپیدیدیم راست بیضه؛ ۲- خرد کردن اپیدیدیم به قطعات ریز توسط قیچی تشریح درون بافر فسفات سالین (PBS) ایزوتونیک در یک پتری دیش؛ ۳- قرار دادن در انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO_2 ۵٪) در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه به‌منظور ظرفیت پذیری اسپرم ها و خارج شدن از داخل قطعات خردشده، بافت اپیدیدیم به بافر PBS؛ ۴- ورتکس کردن مخلوط بافت اپیدیدیم و سوسپانسیون اسپرم به مدت ۱۰ دقیقه تا حل شدن کامل جهت به دست آوردن محلولی با غلظت یکنواخت؛ ۵- قرار دادن در دمای اتاق به مدت ۲ دقیقه به‌منظور ایجاد رسوب؛ ۶- جمع آوری مایع رویی که دارای مجموع اسپرم هاست؛ ۷- رقیق کردن مایع رویی با یک محلول دارای ۵ گرم بی کربنات سدیم ($NaHCo_3$) و ۱ میلی لیتر فرمالین ۳۵٪ و ۲۵ میلی گرم ائوزین ۱٪ جهت فیکس کردن و بهتر دیده شدن اسپرم ها هنگام شمارش؛ ۸- قرار دادن ۱۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده حاوی سلول اسپرم در فضای بین لام نئوبار (عمق ۰/۱ میلی‌متر، ساخت کشور آلمان) و لامل روی آن به مدت ۵ دقیقه تا سلول ها بی حرکت شوند (۳۶)؛ ۹- شمارش سلول های اسپرم به

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017

کمک عدسی ×۴۰ میکروسکوپ نوری و سپس محاسبه تعداد کل اسپرم؛ ۱۰- این شمارش برای هر گروه تیمار شده و همچنین گروه کنترل انجام شد؛ ۱۱- تعیین تعداد کل اسپرم در یک میلی لیتر حجم نمونه با استفاده از فرمول $N= 5\times a \times b \times 10^4$؛ ۱۲- در این فرمول، N: تعداد اسپرم در ۱ میلی‌لیتر حجم نمونه، ۵: عدد ثابت برای به دست آوردن تعداد اسپرم ها درکل مربع بزرگ مرکزی، b: تعداد اسپرم در ۵ مربع کوچک مرکزی، a: تعداد اسپرم شمارش شده و 10^4 (از حاصل تقسیم ۱ میلی متر (10^3 میکرولیتر) بر ۰/۱ میکرومتر حجم مربع بزرگ مرکزی به‌دست‌آمده است) (۲۸).

بنابراین در این مطالعه، تمامی داده ها به‌صورت Means ± Standard Error (SE) نمایش داده شدند. نتایج به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه‌وتحلیل شد و سپس برای مقایسه میانگین های مربوط به گروه کنترل با هر یک از گروه های تیمار و نیز مقایسه میانگین ها بین گروه های تیمار از آزمون LSD استفاده شد. اختلاف معنی‌داری بین گروه ها ($P\leq$۰/۰۵) در نظر گرفته شد. برای رسم نمودار مربوط به تغییرات پارامترهای محاسبه شده در گروه های مختلف تیمار و شاهد از نرم‌افزار صفحه گسترده (Excel) استفاده شد. قبل از هرگونه تست از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده گردید تا از نرمال بودن داده‌ها اطمینان حاصل شود.

یافته‌ها:

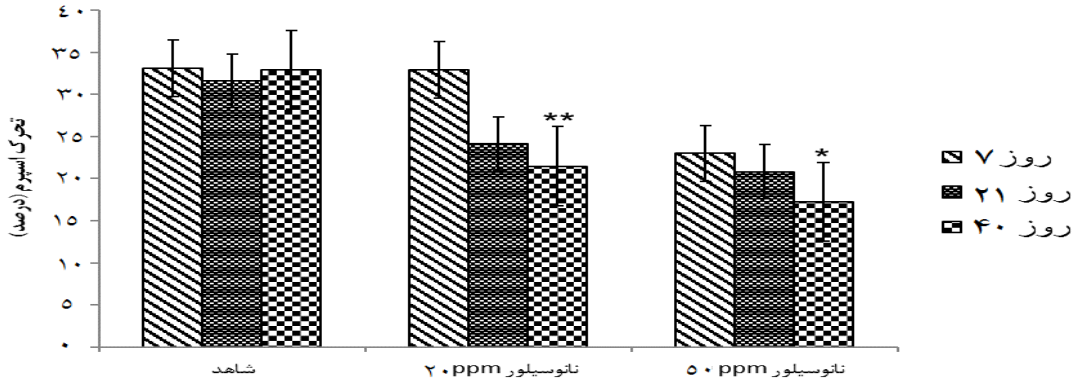
داده های حاصل از شمارش تعداد اسپرم های متحرک در سوسپانسیون اسپرم تهیه شده از اپیدیدیم نشان داد که میزان تحرک اسپرم ها در گروه تیمار غلظت ۵۰ ppm نانو ذرات نقره به میزان ۳۷/۵٪ و در گروه تیمار ۲۰ ppm به میزان دو ۱۹/۶٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. کاهش درصد میزان تحرک اسپرم ها در هر دو گروه تیمار یک و دو (غلظت ۵۰ ppm و ۲۰ نانو ذرات نقره) در روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه شاهد و در تیمار ۲ در روز ۷ نسبت به سایر گروه های درمانی معنی دار می باشد (P=۰/۰۳) (جدول شماره ۱، نمودار شماره ۱)؛ همچنین از مقایسه میانگین تعداد اسپرم های متحرک در بین دو گروه تیمار مشخص شد کاهش میزان درصد تحرک اسپرم ها در گروه تیمار غلظت ۵۰ ppm کمتر بود و این میزان بین دو گروه تیمار معنی دار می باشد (P=۰/۰۰).

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین درصد تحرک اسپرم اپیدیدیم در تیمارهای مختلف نانو نقره در زمان های مختلف نمونه‌گیری

گروه های تحت مطالعه	زمان نمونه‌گیری	تحرک اسپرم اپیدیدیم (درصد)
شاهد	روز ۷	۳۳/۱۲±۱/۶
	روز ۲۱	۳۱/۶۳±۱/۸
	روز ٤٠	۳۲/۹۳±۲/۶
نانو نقره ۲۰ ppm	روز ۷	❋۳۲/۹۳±۲/۳
	روز ۲۱	۲٤/۱۱±۱/۶
	روز ٤٠	۲۱/٤۸±۱/۷
نانو نقره ۵۰ ppm	روز ۷	۲۲/۹۹±۱/۳
	روز ۲۱	۲۰/۸۲±۱/۲
	روز ٤٠	❋۱۷/۲۳±۱/۳

مقادیر به‌صورت (SE ± Mean) بیان شده است؛ در هر ستون میانگین هایی که دارای تفاوت معنی دار آماری دارند و با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵٪ تفاوت دارند، با ستاره (❋) مشخص شده‌اند.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017



نمودار شماره ۱: نشان‌دهنده اثرات متقابل زمان و تیمار نانو نقره بر میزان تحرک اسپرم اپیدیدیم در دو غلظت متفاوت از نانو ذرات نقره

**: کاهش معنی دار میزان تحرک اسپرم اپیدیدیم در تیمار نانو ذرات نقره با دوز ppm ۵۰ در روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه شاهد و نیز نسبت به روز ۷ در این گروه درمانی (P<۰/۰۵) بر اساس آزمون LSD؛ **: کاهش معنی دار میزان تحرک اسپرم اپیدیدیم در تیمار نانو ذرات نقره با دوز ppm ۲۰ در روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه شاهد و نیز نسبت به روز ۷ در این گروه درمانی (P<۰/۰۵) بر اساس آزمون LSD.*

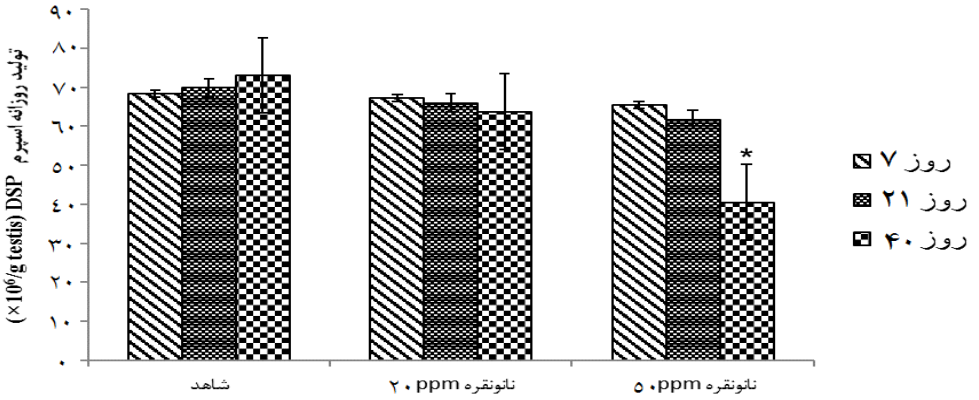
بررسی اثر نانو ذرات نقره بر میزان تولید روزانه اسپرم در هر گرم بافت بیضه مشخص شد که میزان تولید روزانه اسپرم بیضه در گروه تیمار با غلظت ppm ۵۰ ۲۰/۶۸٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. نتایج نشان داد که این نانو ذرات در غلظت ppm ۵۰ سبب کاهش معنی داری در تولید روزانه اسپرم (DSP) در روز ۴۰ نسبت به گروه کنترل و گروه غلظت ppm ۲۰ و نیز نسبت به‌روز ۷ در هر دو گروه تیمار و گروه شاهد شده است (P=۰/۰۳) (جدول شماره ۲) (نمودار شماره ۲). علاوه بر آن، نتایج نشان داد که در غلظت ppm ۲۰ تولید روزانه اسپرم به میزان ۷٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است؛ ولی این میزان کاهش ازلحاظ آماری معنی دار نبود (P=۰/۲۵). همچنین کاهش معنی دار میزان تولید روزانه اسپرم در روز ۴۰ نسبت به‌روزهای ۷ و ۲۱ از مدت‌زمان دوره آزمایش مشاهده شد.

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین تولید روزانه اسپرم بیضه در تیمارهای مختلف نانو نقره در زمان های مختلف نمونه‌گیری

گروه های تحت مطالعه	زمان نمونه‌گیری	تولید روزانه اسپرم DSP
شاهد	روز ۷	۶۸/۴۵±۶/۵ab
	روز ۲۱	۶۹/۸۲±۹/۲ab
	روز ۴۰	۷۳/۰۲±۷/۶a
نانو نقره ppm ۲۰	روز ۷	۶۷/۱۹±۵/۱۰ab
	روز ۲۱	۶۵/۹۳±۸/۴ab
	روز ۴۰	۶۳/۷۶±۸/۱ab
نانو نقره ppm ۵۰	روز ۷	۶۵/۳۶±۵/۷
	روز ۲۱	۶۱/۷۰±۷/۵
	روز ۴۰	۴۰/۵۲±۶/۱*

مقادیر به‌صورت (SE ± Mean) بیان شده است؛ در هر ستون میانگین هایی که دارای تفاوت معنی دار آماری دارند و با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵٪ تفاوت دارند، با ستاره (*) مشخص شده‌اند.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017



نمودار شماره ۲: اثرات متقابل زمان و تیمار نانو نقره بر تغییرات میزان تولید روزانه اسپرم بیضه در دو غلظت متفاوت از نانو ذرات نقره

**: کاهش معنی دار تولید روزانه اسپرم (DSP) در روز ۴۰ نسبت به گروه شاهد و گروه غلظت ppm ۲۰ و نیز نسبت به‌روز ۷ در هر دو گروه درمانی و گروه شاهد (P<۰/۰۵) بر اساس آزمون LSD*

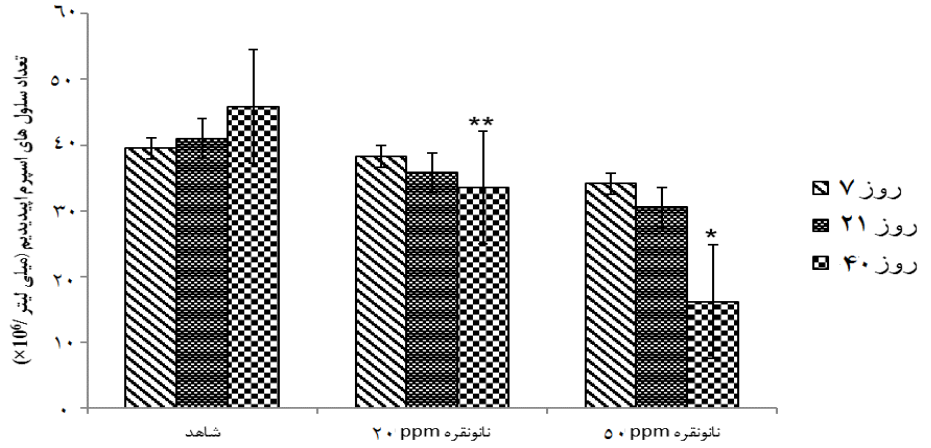
نتایج مقایسه میانگین داده های مربوط به اثرات دوزهای مختلف نانو ذرات نقره بر تعداد کل اسپرم اپیدیدیم با استفاده از آزمون LSD در گروه کنترل با گروه های تحت تیمار که به مدت ۴۰ روز نانو ذرات نقره با دوزهای ppm ۲۰ و ppm ۵۰ را به‌صورت خوراکی دریافت کرده بودند، نشان داده شد که تعداد اسپرم اپیدیدیم در گروه تیمار نانو ذرات نقره با غلظت ppm ۲۰، ۱۴/۷۶٪ و در تیمار ppm ۵۰، ۳۶٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. این نشان می‌دهد که نانو ذرات نقره با دوز ppm ۵۰ سبب کاهش معنی دار تعداد اسپرم اپیدیدیم در روز ۴۰ نسبت به گروه کنترل و نیز نسبت به روز ۷ و ۲۱ شده است (P≤۰/۰۵) (جدول شماره ۳) (نمودار شماره ۳). در این آزمایش کاهش تعداد اسپرم اپیدیدیم در غلظت ppm ۲۰ در روز ۴۰ نسبت به گروه شاهد دیده شد. همچنین از مقایسه میانگین تعداد اسپرم اپیدیدیم در بین گروه های تیمار یک و تیمار دو مشخص شد که کاهش تعداد اسپرم در بین این دو گروه ازلحاظ آماری معنی دار بود (P≤۰/۰۵). علاوه بر آن، کاهش وابسته به زمان تعداد اسپرم اپیدیدیم در روز ۴۰ نسبت به‌روز ۷ و نیز روز ۲۱ مشاهده شده است (P≤۰/۰۵).

جدول شماره ۳: مقایسه میانگین تعداد سلول‌های اسپرم اپیدیدیم در تیمارهای مختلف نانو نقره در زمان های مختلف نمونه‌گیری

گروه های تحت مطالعه	زمان نمونه‌گیری	تعداد سلول های اسپرم اپیدیدیم
شاهد	روز ۷	۳۹/۵۰±۲/۳
	روز ۲۱	٤۱±۱/۷
	روز ٤۰	٤۵/۸۷±۳/۲*
نانو نقره ۲۰ ppm	روز ۷	۳۸/۳۱±۲/۲
	روز ۲۱	۳۵/۸۱±۳/۱
	روز ٤۰	۳۳/۵٦±۲/۸
نانو نقره ۵۰ ppm	روز ۷	۳٤/۱۲±۲/٦
	روز ۲۱	۳۰/۵٦±۲/۱
	روز ٤۰	۱٦/۱۸±۲/۲*

مقادیر به‌صورت (Mean ± SE) بیان شده است؛ در هر ستون میانگین هایی که دارای تفاوت معنی دار آماری دارند و با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵٪ تفاوت دارند، با ستاره (*) مشخص شده‌اند.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017



نمودار شماره ۳: نشان دهنده اثرات متقابل زمان و تیمار نانو نقره بر تعداد اسپرم اپیدیدیم در دو غلظت متفاوت از نانو ذرات نقره

**: کاهش معنی دار تعداد اسپرم اپیدیدیم در تیمار نانو ذرات نقره با دوز ۵۰ ppm در روز ۴۰ نسبت به گروه شاهد و نیز نسبت به روز ۷ و ۲۱ در این گروه (P<۰/۰۵) بر اساس آزمون LSD؛ **: کاهش معنی دار تعداد اسپرم اپیدیدیم در تیمار نانو ذرات نقره با دوز ۲۰ ppm در روز ۴۰ نسبت به گروه شاهد (P<۰/۰۵) بر اساس آزمون LSD.*

بحث:

تحرک اسپرم به‌عنوان یک شاخص مهم برای بیان سمیت بیضوی ناشی از ماده شیمیایی به کار می‌رود (۳۵). نتایج حاصل از این مطالعه بر تحرک اسپرم نشان داد که نانو ذرات نقره با دوزهای ppm ۲۰ و ppm ۵۰ سبب کاهش معنی داری در میزان تحرک اسپرم اپیدیدیم در روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه کنترل و نیز نسبت به روز ۷ در گروه های تیمار شده است (P≤۰/۰۵). به همین ترتیب Moretti و همکاران نشان دادن که نانو ذرات نقره تأثیر قابل‌توجهی بر روی تحرک اسپرم انسان می‌گذارند (۳۷). در این مطالعه، کاهش معنی‌دار درصد تحرک اسپرم در گروه تیمار با نانو ذرات نقره در مقایسه با موش های گروه کنترل مشاهده شد که این بیانگر این است که نانو ذرات نقره علاوه بر بیضه، اثرات منفی خود را بر بخش های دیگر سیستم تولیدمثلی ازجمله اپیدیدیم، اعمال نموده و مجموعه ی چنین تأثیراتی سرانجام بر تحرک اسپرم تأثیر گذاشته و با تأثیر بر عملکرد میتوکندری، باعث کاهش تحرک اسپرم شده است. این کاهش وابسته به دوز و غلظت نانو ذرات بوده است. پیشنهاد شده که سمیت نانو ذرات نقره به دلیل آزاد شده یون‌های نقره است که با انتشار یا آندوسیتوز وارد سلول شده و سبب اختلال در عملکرد میتوکندری می‌شود. متعاقب آن پروتئین‌ها و اسیدهای هسته‌ای تخریب و تکثیر سلولی متوقف می‌شود (۳۸).

آشارانی و همکاران، تغییراتی مانند کاهش میزان تکثیر سلولی، اختلال در عملکرد میتوکندری و القای آپوپتوز و یا نکروز را در سلول های در معرض نانو ذرات نقره مشاهده کردند (۲۱). در رابطه با تحرک اسپرم می توان به این نکته توجه کرد که بررسی ها نشان داد که نانو ذرات می توانند بر اپیدیدیم تأثیر گذاشته و باعث التهاب اپیدیدیم شوند که دارای نقش مهمی در کاهش تحرک اسپرم است (۴۰،۳۹). نتایج برخی مطالعات بیانگر تأثیر منفی نانو ذرات طلا و دی اکسید تیتانیوم، بر روند اسپرماتوژنز و تحرک اسپرم های اپیدیدیم می باشند (۴۲،۴۱). برخی از نانو ذرات رادیکال های آزاد (ROS) تولید می کنند که می تواند باعث آسیب ساختار تاژک اسپرم شود و باعث کاهش حرکت اسپرم شود (۴۵-۴۳). قابلیت تحرک و زنده

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017

ماندن اسپرم به‌عنوان مهم ترین پارامترهای اسپرم برای سنجش توانایی لقاح و همچنین تمامیت غشای اسپرم محسوب می شوند (۴۷،۴۶).

نتایج این پژوهش نشان داد که تجویز خوراکی نقره نانو ذرات با غلظت ppm ۵۰ باعث کاهش معنی دار تعداد اسپرم موجود در اپیدیدیم و تولید روزانه اسپرم در روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه کنترل و نیز نسبت به روز ۷ در این گروه درمانی شده است ($P\leq ۰/۰۵$). همچنین کاهش معنی دار تعداد اسپرم موجود در اپیدیدیم در غلظت ppm ۲۰ در روز ۴۰ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($P\leq ۰/۰۵$)، ولی در تولید روزانه اسپرم در این غلظت تغییر معنی داری مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$).

تعداد اسپرم و تولید روزانه آن شاخص های مهم برای محققان برای تشخیص عوارض جانبی اثرات عوامل مختلف بر روند اسپرماتوژنز می باشند (۴۸،۳۱). نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که نانو ذرات نقره با دوز بالاتر به‌طور قابل‌توجهی باعث کاهش تعداد اسپرم اپیدیدیم و تولید اسپرم روزانه بیضه شد. ازآنجایی‌که روند اسپرماتوژنز بسیار وابسته به ساختار طبیعی لوله های اسپرم ساز است توضیح احتمالی در رابطه با کاهش تولید روزانه اسپرم این است که این ذرات ممکن است باعث تخریب ساختار بافتی بیضه شده باشند.

در رابطه با کاهش معنی دار تعداد اسپرم اپیدیدیم و تولید روزانه اسپرم در گروه های تحت تیمار با نانو ذرات نقره چندین فرضیه احتمالی به نظر می رسد:

۱- شاید نانو ذرات نقره توانسته اند با تغییر در غلظت هورمون های دخیل در تولیدمثل موجب کاهش تعداد اسپرم در این پژوهش شده باشند؛ ۲- القای آپوپتوزیس و یا سایر انواع مرگ سلولی بر روی سلول های زایشی و سرتولی بیضه در اثر القای استرس اکسیداتیو توسط نانو ذرات نقره احتمال دیگری در مورد کاهش تعداد اسپرم های اپیدیدیمی و تولید روزانه اسپرم در این پژوهش می باشد. در این خصوص گزارش هایی مبنی بر ایجاد آپوپتوزیس در سلول های زایشی بیضه که توسط نانو ذرات نقره ایجاد شده است، وجود دارد. در مطالعه Kim و همکاران، نشان داده شد که بسیاری از نانو ذرات مهندسی شده، ازجمله Ag-NPs باعث اثرات سمیت ژنی، از قبیل شکست‌های رشته DNA، جهش‌های نقطه ای و آسیب اکسیداتیو ساختار DNA می شوند (۱۲)؛ ۳- القای استرس اکسیداتیو یکی از شایع‌ترین مکانیسم های پیشنهادی سمیت نانو ذرات است که به‌نوبه خود موجب پراکسیداسیون لیپید در اسپرم می شود و بنابراین این احتمال وجود دارد که نانو ذرات نقره با القای استرس اکسیداتیو بر روند تولید اسپرم و یا اسپرم های تولید شده اثر گذاشته و بدین ترتیب موجب کاهش تعداد اسپرم های اپیدیدیمی شده باشد (۴۳).

نتایج تحقیقات سمیت نانو ذرات نقره در سلول های بالغ اسپرم در اپیدیدیم نسبت به اسپرم اپیتلیوم لوله اسپرم ساز بیضه، در تمام گروه های درمان شده تعداد اسپرم غیرطبیعی ۲۸ روز پس از تزریق هنگام مقایسه با ۲۴ ساعت پس از تزریق بالاتر بود. این نتیجه به نظر می رسد، برای منعکس کردن تأثیر قوی نانو ذرات نقره بر روی اپیدیدیم بیضه ها می باشد (۱۸). افزایش مورفولوژی غیرطبیعی سر اسپرم و اثر کشنده تزریق نانو ذرات نقره به‌دست‌آمده از طریق سنتز بیوشیمیایی در موش سوری مشخص شده است (۵۱-۴۹).

در بررسی تعداد اسپرم ها و DSP کاهش معنی داری به‌ویژه در گروه تحت درمان با دوز بالاتر ppm ۵۰ در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید که با توجه به این نکته که تولید روزانه اسپرم توسط بیضه ها و عملکرد جذب و ترشح بیضه و اپیدیدیم وابسته به هورمون تستوسترون می باشد (۵۲)، لذا این روند می تواند مربوط به کاهش هورمون تستوسترون باشد. عمل نانو ذرات نقره در اپیدیدیم، به نظر می رسد شبیه به دیگر سموم زیستی باشد که تولید رادیکال های آزاد را افزایش می دهد و پتانسیل آنتی اکسیدانی در اپیدیدیم و اسپرم های آن را کاهش می دهد (۲۸).

Yoshida و همکاران با اثر نانو ذرات کربن بر سیستم تولید مثلی نر کاهش تعداد سلول های سرتولی و نیز کاهش تولید روزانه اسپرم را نشان داد (۵۳). در یک

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017

مطالعه تجربی اثرات سمی نانو ذرات نقره بر سلول های رده سرتولی که یک نوع سلول عمده در بیضه‌ها هستند، نشان داده شد (۵۴). در مطالعه بررسی اثر دوزهای مختلف نانو ذرات نقره با اندازه ۷۰ نانومتر به روش خوراکی بر تعداد سلول اسپرم اپیدیدیم و آکروزوم اسپرم موش، کاهش قابل توجه تعداد سلول های اسپرم اپیدیدیم، اسپرماتوگونی و کاهش واکنش آکروزومی در گروه تجربی دریافت‌کننده نانو ذرات نقره نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید (۵۵).

نتیجه‌گیری:

در پژوهش حاضر ثابت شد که استفاده از محلول نانو ذرات نقره در صورت تجویز طولانی مدت می تواند سبب کاهش تولید روزانه اسپرم و میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیمی و درصد تحرک آن در جنس نر شود که این خود می تواند بر عملکرد سیستم تولید مثلی نر و میزان باروری اثرگذار باشد. بنابراین با توجه به نقش نانو ذرات نقره در محصولات مصرفی و لوازم پزشکی این ذرات یکی از عوامل مضر برای سیستم تولید مثلی و به دنبال آن موثر بر ناباروری محسوب می شوند که لازم است سمیت غلظت این نانو ذرات در مصارف روزانه دقیقاً ارزیابی و کنترل شود.

تشکر و قدردانی:

از کلیه افرادی که بهر نحو با انجام این تحقیق ما را حمایت کردند، به‌ویژه پرسنل محترم آزمایشگاه فارماکولوژی دانشگاه شهرکرد تشکر و قدردانی می‌گردد. این تحقیق بخشی از پایان‌نامه مصوب سال ۹۳ دانشگاه شهرکرد- گروه جانوری می‌باشد.

منابع:

1. Hendi A. Silver nanoparticles mediate differential responses in some of liver and kidney functions during skin wound healing. J King Saud Univ Sci. 2011; 23(1): 47-52.
2. Lara HH, Ixtepan-Turrent L, Garza-Trevino EN, Rodriguez-Padilla C. PVP-coated silver nanoparticles block the transmission of cell-free and cell-associated HIV-1 in human cervical culture. J Nanobiotechnol. 2010; 8(1): 15.
3. Chen YB. Introduction to nanotechnology history, definition, methodology, applications, and challenges. Nano Engin Radiat Lab 2012; 2:1-35.
4. Tian H, Eom H-J, Moon S, Lee J, Choi J, Chung YD. Development of biomarker for detecting silver nanoparticles exposure using a GAL4 enhancer trap screening in Drosophila. Environ Toxicol Pharmacol. 2013; 36(2): 548-56.
5. Singh RP, Ramarao P. Cellular uptake, intracellular trafficking and cytotoxicity of silver nanoparticles. Toxicol Lett. 2012; 213(2): 249-59.
6. Simkó M, Nentwich M, Gazsó A, Fiedeler U. How nanoparticles enter the human body and their effects there. Nano Trust Dossier. 2010; 3: 1-4.
7. Taylor U, Barchanski A, Kues W, Barcikowski S, Rath D. Impact of metal nanoparticles on germ cell viability and functionality. Reprod Domest Anim. 2012; 47(s4): 359-68.
8. Yoisungnern T, Choi Y-J, Han JW, Kang M-H, Das J, Gurunathan S, et al. Internalization of silver nanoparticles into mouse spermatozoa results in poor fertilization and compromised embryo development. Sci Rep. 2015; 5: 111-7.
9. Rahman MS, Lee JS, Kwon WS, Pang MG. Sperm proteomics: Road to male fertility and contraception. Int J Endocrinol 2013; 12(5): 36-47.
10. Sleiman HK, Romano RM, Oliveira CAd, Romano MA. Effects of prepubertal exposure to silver nanoparticles on reproductive parameters in adult male Wistar rats. J Toxicol Environ Health. 2013; 76(17): 1023-32.
11. De Jong WH, Borm PJ. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. Int J Nanomedicine. 2008; 3(2): 133-49.
12. Kim YS, Song MY, Park JD, Song KS, Ryu HR, Chung YH, et al. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. Part Fibre Toxicol. 2010; 7(1): 20.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017

13. Panyala NR, Peña-Méndez EM, Havel J. Silver or silver nanoparticles: A hazardous threat to the environment and human health? J Appl Biomed. 2008; 6(2): 117-29.
14. Bansal AK, Bilaspuri G. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. Vet Med Int. 2011; 10(5): 1-7.
15. Lan Z, Yang W-X. Nanoparticles and spermatogenesis: How do nanoparticles affect spermatogenesis and penetrate the blood-testis barrier. Nanomedicine. 2012; 7(4): 579-96.
16. Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager JJ, Hofmann M-C. *In vitro* cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. Toxicoll Sci. 2005; 88(2): 412-9.
17. Orazizadeh M, Khorsandi L, Absalan F, Hashemitabar M, Daneshi E. Effect of beta-carotene on titanium oxide nanoparticles-induced testicular toxicity in mice. J Assist Reprod Genet. 2014; 31(5): 561-8.
18. Asghari S, Johari SA, Lee JH, Kim YS, Jeon YB, Choi HJ, et al. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in Daphnia magna. J Nanobiotechnol. 2012; 10(1): 14.
19. Ema M, Kobayashi N, Naya M, Hanai S, Nakanishi J. Reproductive and developmental toxicity studies of manufactured nanomaterials. Reprod Toxicol. 2010; 30(3): 343-52.
20. Asare N, Instanes C, Sandberg WJ, Refsnes M, Schwarze P, Kruszewski M, et al. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells. Reprod Toxicol. 2012; 291(1): 65-72.
21. AshaRani P, Low Kah Mun G, Hande MP, Valiyaveettil S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. ACS nano. 2008; 3(2): 279-90.
22. 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.
23. Valipoor A, Amiri G, Parivar K, Modaresi M, Taheri J, Kazemi A, et al. A comparative study about toxicity of CdSe quantum dots on reproductive system development of mice and controlling this toxicity by ZnS coverage. Nanomed J. 2015; 2(4): 261-8.
24. Kheradmand A, Roshangar L, Taati M. The role of ghrelin on the morphometry and intracellular changes in the rat testis. Tissue Cell. 2009; 41(2): 105-11.
25. Sardari RRR, Zarchi SR, Talebi A, Nasri S, Imani S, Khoradmehr A, et al. Toxicological effects of silver nanoparticles in rats. Afr J Microbiol Res. 2012; 6(27): 5587-93.
26. Zare Z, Eimani H, Mohammadi M, Mofid M, Dashtnavard H. The effect of orally administered l-carnitine on testis tissue, sperm parameters and daily sperm production in adult mice. Yakhteh Med J. 2010; 11(4): 382-9.
27. Adler I-D. Comparison of the duration of spermatogenesis between male rodents and humans. Mutat Res. 1996; 352(1): 169-72.
28. Movahedin M, Mowlla J. Study of histological changes in the testes and sperm parameters of the mice after contusive spinal cord injury. J Birjand Univ Med Sci. 2008; 15(1): 17-25.
29. Yokoi K, Uthus EO, Nielsen FH. Nickel deficiency diminishes sperm quantity and movement in rats. Biol Trace Elem Res. 2003; 93(1): 141-53.
30. Sonmez M, Yuce A, Turk G. The protective effects of melatonin and vitamin E on antioxidant enzyme activities and epididymal sperm characteristics of homocysteine treated male rats. Reprod Toxicol. 2007; 23(2): 226-31.
31. Ban Y, Komatsu T, Kemi M, Inagaki S, Nakatsuka T, Matsumoto H. Testicular spermatid and epididymal sperm head counts as an indicator for reproductive toxicity in rats. Exp Anim. 1995; 44(4): 315-22.
32. Robb G, Amann R, Killian G. Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. J Reprod Fertil. 1978; 54(1): 103-7.
33. Xu L-C, Zhan N-Y, Liu R, Song L, Wang X-R. Joint action of phoxim and fenvalerate on reproduction in male rats. Asian J Androl. 2004; 6(4): 337-41.
34. Li C, Taneda S, Taya K, Watanabe G, Li X, Fujitani Y, et al. Effects of in utero exposure to nanoparticle-rich diesel exhaust on testicular function in immature male rats. Toxicol lett. 2009; 185(1): 1-8.
35. Cooper TG, Yeung C-H. Physiology of sperm maturation and fertilization. Andrology: Springer. 2010; 16(5): 61-85.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017

36. Kyjovska ZO, Boisen AMZ, Jackson P, Wallin H, Vogel U, Hougaard KS. Daily sperm production: Application in studies of prenatal exposure to nanoparticles in mice. Reprod Toxicol. 2013; 36: 88-97.
37. Moretti E, Terzuoli G, Renieri T, Iacoponi F, Castellini C, Giordano C, et al. *In vitro* effect of gold and silver nanoparticles on human spermatozoa. Andrologia. 2013; 45(6): 392-6.
38. Xu Q, Lin H-Y, Yeh S-D, Yu I-C, Wang R-S, Chen Y-T, et al. Infertility with defective spermatogenesis and steroidogenesis in male mice lacking androgen receptor in Leydig cells. Endocrine. 2007; 32(1): 96-106.
39. Foster WG, Maharaj-Briceno S, Cyr DG. Dioxin-induced changes in epididymal sperm count and spermatogenesis. Environ Health Perspect 2010; 118: 458-64.
40. Manin O, Nikolaev V, Kolomitsev A, Lebedenko I. Comparative toxicological evaluation of domestic golden alloys for soldering. Stomatologiia. 2006; 86(1): 64-7.
41. Takeda K, Suzuki K, Ishihara A, Kubo-Irie M, Fujimoto R, Tabata M. Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve system. J Health Sci. 2009; 55(1): 95-102.
42. Wiwanitkit V, Sereemaspun A, Rojanathanes R. Effect of gold nanoparticles on spermatozoa: The first world report. Fertil Steril. 2009; 91(1): e7-e8.
43. Rastogi ID. Nanotechnology: Safety paradigms. J Toxicol Environ Health Sci. 2012; 4(1): 1-12.
44. Irvine DS, Twigg JP, Gordon EL, Fulton N, Milne PA, Aitken R J. DNA integrity in human spermatozoa. J Androl. 2000; 21(1): 33-44.
45. Ghosh M, Manivannan J, Sinha S, Chakraborty A, Mallick SK, Bandyopadhyay M, et al. *In vitro* and *in vivo* genotoxicity of silver nanoparticles. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. 2012; 749(1): 60-9.
46. Ehmcke J, Wistuba J, Schlatt S. Spermatogonial stem cells: Questions, models and perspectives. Hum Reprod Update. 2006; 12(3): 275-82.
47. Terzuoli G, Iacoponi F, Moretti E, Renieri T, Baldi G, Collodel G. *In vitro* effect of silver engineered nanoparticles on human spermatozoa. J Siena Acad Sci. 2012; 3(1): 27-9.
48. Fukushima T, Hamada Y, Komiyama M, Matsuno Y, Mori C, Horii I. Early changes in sperm motility, acrosome reaction, and gene expression of reproductive organs in rats treated with sulfasalazine. Reprod Toxicol. 2007; 23(2): 153-7.
49. Hsin Y-H, Chen C-F, Huang S, Shih T-S, Lai P-S, Chueh PJ. The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS-and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH_3T_3 cells. Toxicol lett. 2008; 179(3): 130-9.
50. Maekawa M, Toyama Y, Yasuda M, Yagi T, Yuasa S. Fyn tyrosine kinase in Sertoli cells is involved in mouse spermatogenesis. Biol Reprod. 2002; 66(1): 211-21.
51. Ordzhonikidze CG, Ramaiyya LK, Egorova EM, Rubanovich AV. Genotoxic effects of silver nanoparticles on mice *in vivo*. Acta Naturae. 2009; 1(3): 99-101.
52. Martinez-Gutierrez F, Olive PL, Banuelos A, Orrantia E, Nino N, Sanchez EM, et al. Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2010; 6(5): 681-8.
53. Yoshida S, Takakura A, Ohbo K, Abe K, Wakabayashi J, Yamamoto M, et al. Neurogenin3 delineates the earliest stages of spermatogenesis in the mouse testis. Dev Biol. 2004; 269(2): 447-58.
54. O'Neill M, Hutchison G. The effect on nanoparticale exposure on male reproductive function. Nnotoxicology. 2008; 10: 2261-68.
55. 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.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2017; 19(4): 23-34.

Original article

A review of silver nanoparticles (Ag-NPs) effects on some fertility indices in small male laboratory mice Mus musculus

Heydarnejad MS[1*], Ghasemi G[2], Kaboutari Konj J[3]
[1]Zoology Dept., University of Shahrekod, Shahrekod, I.R. Iran; [2]Animal Physiology Dept., University of Shahrekod, Shahrekod, I.R. Iran; [3]Veterinary Dept., University of Shahrekod, Shahrekod, I.R. Iran.

Received: 20/Aug/2016 Accepted: 25/Sep/2016

Background and aims: Silver nanoparticles (Ag-NPs) have attracted phenomenal attention in the current years and caused increased a growing concern for human health and the environment. This, in turn increases the risk related to their potential toxicity. This study was aimed to investigate silver nanoparticles (Ag-NPs) effects on some fertility indices of laboratory small male mice Mus musculus.

Methods: In this experimental study, a group of 36 Balb/c small male mice (average weights; 28.5±3 g) were randomly divided three groups (one control and two treatment groups). The control group received water only. The treated groups of mice (1 and 2) received 20 and 50 ppm concentrations of Ag-NPs with oral exposure. Following respected methods and formulas, sperm motility, DSP and sperm count were determined. The data were analyzed by one-way ANOVA using SPSS.

Results: Sperm motility was reduced down to 37.5% and 19.6% in 50 and 20 ppm-Ag-NPs treated groups of mice, respectively when compared to the control. A significant decrease in the DSP was observed in 50 ppm Ag-NPs-treated mice than to 20 ppm treatment and control ones. In addition, epididymis sperm count was reduced down to 14.76% and 36% in 20 and 50 ppm-Ag-NPs treated groups of mice, respectively when compared to the control.

Conclusion: The use of Ag-NPs can lead to reduction of DSP, epididymis sperm storage and motility percentage in male mice.

Keywords: **Ag-NPs, DSP (daily sperm production), Epididymis, Mice.**

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:39 +0330 on Wednesday October 11th 2017

Cite this article as: Heydarnejad MS, Ghasemi G, Kaboutari Konj J. A review of silver nanoparticles (Ag-NPs) effects on some fertility indices in small male laboratory mice Mus musculus. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 19(4): 23-34.

[*]**Corresponding author:**
Zoology Dept., University of Shahrekod, Shahrekod, I.R. Iran. Tel: 00989173083810, E-mail: m_heydarnejad@yahoo.com