Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2015; 17(93): 64-74

The Effect of the Molybdenum trioxide (MoO3) nanoparticles on histological changes of testis and spermatogenesis process in adult male Wistar rats

Mohseni kouchesfehani H[1], Mirzamohamadi M[2*], Sohrabi D[3]

1- Department of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University of Tehran, Tehran, Iran.
2- Department of Animal Sciences, Kharazmi University of Tehran, Tehran, Iran.
3- Department of Histology, Zanjan University of Medical Sciences,Zanjan,Iran.

Received: 17 Sep 2014, Accepted: 26 Nov 2014

Abstract

Background: nanoparticles due to their small size can overcome blood-testis barrier and affect spermatogenesis process.The aim of this study is to investigate the influence of trioxide (MoO3) nanoparticles on histological changes of testis and spermatogenesis process in adult male Wistar rats.

Materials and Methods: In this experimental study30 adult male Wistar rats were randomely divided into five groups (n=6) ,including control, 2 sham groups, and 2experimental groups.Control group had no treatment. Two experimental groups received doses 5 & 10 mg/kg/BW nano Molybdenum trioxide(20nm) respectively, and two sham groups received the same doses of normal saline by intraperitoneal injection.After 28 days, rats testis was removed and fixed in Bouin's fixative for histological examination. The 5µm sections were stained with hematoxilin-eosin.

Results: In experimental group which received 5mg/kg/BW nanoparticle, there was some disorganization of spermatogenic cells in some seminiferous tubules. In experimental group which received 10mg/kg/BW nanoparticle, a significant decrease was also observed in the number of spermatogenic and sertoli cells in comparison with the control group.

Conclusion: According to the findings of this study exposure to the high doses of (MoO3) nanoparticles can disrupt male reproductive system in a dose- dependent manner. Hence, the application of (MoO3) NPs should be carried out cautiously.

Keywords: Nanoparticles, Spermatogenesis, Testis Tissue

*Corresponding Author:
Address: Mofateh Ave,Kharazmi University of Tehran,Faculty of Biological Sciences,Tehran,Iran
Email: mina.mirzamohamadi@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۷، شماره۱۲ (شماره پیاپی۹۳)،اسفند ۱۳۹۳، ۷۴-۶۴

اثر نانو ذرات مولیبدن تری اکسید برتغییرات بافت شناسی بیضه و فرایند اسپرماتوژنز در موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار

هما محسنی کوچصفهانی[۱]، مینا میرزامحمدی[۲*]، داود سهرابی[۳]

۱-دانشیار، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران
۲ -دانشجوی کارشناسی ارشد سلولی – تکوینی، گروه علوم جانوری، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران
۳ – دانشیار، گروه بافت شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۵

چکیده

زمینه و هدف: نانو ذرات می‌توانند با داشتن اندازه کوچک بر سد خونی بیضه‌ای غلبه کرده و بر فرایند اسپرماتوژنز تاثیر گذارند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات نانو ذرات مولیبدن بر تغییرات روند اسپرماتوژنز و بافت بیضه در رت نر بالغ ویستار می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۳۰رت نر بالغ ویستار به طور تصادفی به ۵ گروه شش تایی شامل یک گروه کنترل، دو گروه شم و دو گروه تجربی تقسیم شدند. گروه کنترل تیماری دریافت نکرد. دو گروه تجربی دوز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو ذرات مولیبدن تری اکسید(۲۰نانومتر) و دو گروه شم، سرم فیزیولوژی به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند. بعد از ۲۸ روز، بیضه رت‌ها خارج شد و جهت بررسی‌های بافت‌شناسی در محلول ثابت کننده بوئن تثبیت گردید. برش‌های ۵ میکرومتری با هماتوکسیلین–ائوزین رنگ آمیزی شدند.

یافته‌ها: در گروه تجربی که دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو ذره دریافت کردند، کمی به هم ریختگی در سلول‌های اسپرماتوژنیک در تعدادی از لوله‌ها مشاهده شد. در گروه تجربی که دوز۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو ذره دریافت کردند، به علاوه در تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک و سرتولی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این تحقیق، مواجهه با مقادیر زیاد نانو ذرات مولیبدن، سیستم تولید مثلی نر را از طریق وابسته به دوز به هم می‌ریزد. بنابراین در استفاده از این نانو ذرات باید احتیاط شود.

واژگان کلیدی: اسپرماتوژنز، بافت بیضه، نانو ذرات

***نویسنده مسئول:** تهران، دانشگاه خوارزمی تهران، گروه علوم جانوری

mina.mirzamohamadi@yahoo.com

مقدمه

نانو تکنولوژی، فعالیت در مقیاس نانو برای خلق و ایجاد محصول منحصر به فرد و دارای خصوصیات جدید می‌باشد. نانو ذرات به دسته‌ای از مواد اطلاق می‌شود که اندازه آنها بین محدوده ۱تا ۱۰۰ نانومتر است. این اندازه با مقیاس سلولی و اجزای آن نیز سازگار می‌باشد(۳-۱). این تکنولوژی قدرتمند گرچه ممکن است فواید و محاسن بسیاری به ارمغان بیاورد ممکن است مضرات بالقوه خطرناکی هم به همراه داشته باشد، زیرا اندازه کوچک نانو ذرات باعث می‌شود تا این مواد بتوانند بر سدهای دفاعی بدن فائق آیند. یکی از سدهای دفاعی مهم بدن، سد خونی- بیضه‌ای (Blood-testis barrier-BT) می‌باشد. علی رغم این که فرایند اسپرماتوژنز به دلیل وجود سد خونی – بیضه‌ای در یک محیط حفاظت شده و ایمن اتفاق می‌افتد، اما این فرایند از اثرات نانو ذرات در امان نیست، زیرا بسیاری از نانو ذرات می‌توانند از سدخونی – بیضه‌ای عبور کنند(۱، ۲ ،۴). اکسیدهای فلزی نانو ذرات در مقیاس وسیعی هم در صنعت و هم در سایر موارد کاربرد دارند. در بین اکسیدهای فلزی نانو ذرات، نانو ذارت مولیبدن تری اکسید امروزه توجه زیادی را به خود جلب کرده است. از این نانو ذرات به طور عمده‌ای در صنعت، شیشه سازی و به عنوان کاتالیزور کراکینگ، کاتالیزور هیدروژنه کردن و تولید آلیاژهای مقاوم استفاده می‌شود(۵). استفاده رو به رشد از این نانو ذرات در جوامع انسانی، بی‌شک منجر به آزاد سازی چنین موادی به انواع محیط‌ها و اکوسیستم‌ها خواهد شد. باتوجه به این مقدمه، بررسی اثرات احتمالی این ذرات بر روی موجودات، به ویژه پستانداران و بر سیستم تولید مثلی ضروری است تا در نهایت، نتایج این بررسی‌ها در انسان مورد توجه و بررسی قرار گیرد. استول و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثرات سیتو توکسیک نانو ذرات نقره (۲۰ نانو متر)، نانو ذرات مولیبدن تری اکسید(۳۰ نانو متر) و نانو ذرات آلومنیوم (۳۰ نانو متر) را در شرایط برون تنی بر سلول‌های بنیادی دودمان زایای پستانداران بررسی نمودند. وقتی مولیبدن با ابعاد نانو ذره در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و غلظت بالاتر از آن در این آزمایش استفاده شد، عملکرد میتوکندری و فعالیت‌های متابولیکی سلولی به صورت چشم‌گیری تحت تاثیر قرار گرفت و کاهش یافت. مواجه با نانو ذرات مولیبدن در غلظت‌های پایین باعث افزایش چشم‌گیر در نشت لاکتات دهیدروژناز (Lactate dehydrogenase-LDH) می‌شود. نانو ذرات مولیبدن در غلظت‌های بالاتر از۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر باعث بروز آپوپتوز و در غلظت‌های زیر ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر باعث بروز نکروز در تعدادی از سلول‌ها می‌شود. در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو ذرات مولیبدن اثرات توکسیک قابل توجهی را نشان می‌دهند(۲). هدف از این مطالعه بررسی اثرات دو دوز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، نانو ذرات مولیبدن بر تغییرات روند اسپرماتوژنز و بافت بیضه در موش صحرایی نر بالغ (Rat) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به سن تقریبی ۱۲-۱۳ هفته از محل تکثیر حیوانات دانشکده پزشکی زنجان خریداری شدند. این حیوانات به طور تصادفی در ۵ گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل یک گروه کنترل، دو گروه شم و دو گروه تجربی بودند. موش‌های متعلق به گروه‌ها، وزنی در محدوده ۲۶۰-۲۸۰ گرم داشتند. پس از بررسی از لحاظ سلامت ظاهری، موش‌ها در قفس‌های جداگانه‌ای در محل نگهداری حیوانات، به مدت ۱۰ روز برای تطبیق با محیط جدید نگهداری شدند. در کل دوره تحقیق، همه موش‌ها تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و دمای محیط ۲۲تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دسترسی آزاد به آب و غذا بودند. تغذیه موش‌ها در کل دوره تحقیق به شکل پلیت‌های آماده بود که به طور تمام وقت در اختیارشان قرارداشت. پس از سپری شدن دوره ۱۰ روز، برای تطبیق با محیط، محلول استوک ۳۰ میلی‌گرم از نانو ذرات مولیبدن تری اکسید با قطر ذره ۲۰ نانو متر (یو. اس نانو آمریکا) در

۳۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی نمکی کمی قبل از تزریق تهیه شد. برای پخش هرچه بهتر نانوذرات در سرم فیزیولوژی، محلول استوک به مدت ۱۵ دقیقه در معرض سونیکاتور(UP200H آلمان شرکت Hiescher) قرار گرفت. به ترتیب به گروه تجربی اول و دوم، دوز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانو ذرات مولیبدن تری اکسید به صورت محلول در سرم فیزیولوژی و به دو گروه شم، سرم فیزیولوژی معادل با دوزهای ذکر شده به صورت درون صفاقی، ۲۸ روز، یک روز در میان تزریق شد. گروه شاهد هیچ ماده خاصی دریافت نکرد. بعد از پایان ۲۸ روز، موش‌ها قبل از تشریح، برای رعایت ملاحظات اخلاقی با اتر بی‌هوش شدند. سپس بیضه چپ موش‌ها خارج و در محلول بوئن تثبیت گردید. مراحل آماده سازی بافتی شامل آب گیری، الکل گیری و شفاف کردن، نفوذ پارافین و قالب‌گیری انجام شد و برش‌های ۵ میکرونی با رنگ هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. در مقاطع تهیه شده علاوه بر شمارش سلول‌های اسپرماتوژنیک و سلول‌های سرتولی و لیدیگ، قطر لوله‌های اسپرم ساز و ضخامت غلاف سفید نیز با کمک گراتیکول (خط کش اکولری) اندازه‌گیری وثبت شد.

جهت شمارش سلول‌ها در هر گروه تعداد ۱۰ برش به صورت تصادفی انتخاب شد و در هر برش تعداد ۱۰ لوله اسپرم ساز، به صورت تصادفی اندازه‌گیری و سلول‌ها شمارش شدند. شمارش سلولی با میکروسکوپ نوری با عدسی شیئی ۴۰ و با کمک مشخصات مورفولوژیکی سلولی و موقعیت قرارگیری سلول‌ها در داخل لوله‌های منی ساز انجام شد.

در پایان داده‌های به دست آمده توسط آزمون تی و با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد. گروه‌ها دو به دو با هم مقایسه شدند و یافته‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار بیان و سطح معنی‌داری نیز کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

سلول‌های ژرمینال وسرتولی در داخل لوله منی ساز و سلول‌های لایدیگ دربافت بینابینی مورد بررسی قرار گرفتند. شناسایی این سلول‌ها با توجه به ویژگی‌ها وموقعیت قرارگیری آنها به قرار زیر صورت گرفت.

سلول سرتولی: حد و مرز سیتوپلاسم این سلول‌ها در مقاطع مشخص نیست اما هسته‌ای واضح با هستک مشخص دارند. هسته این سلول‌ها کاملا متفاوت از سلول‌های ژرمینال بوده و اغلب مثلثی، هرمی نامنظم و یو کروماتینی می‌باشند.

اسپرماتوگونی: این سلول‌ها بر روی غشای پایه قرار دارند و دارای هسته یو کروماتینی بیضوی شکل یا گرد همراه با یک یا دو هستک هستند. این سلول‌ها دارای دو گروه تیره و روشن می‌باشند و در این مطالعه هر دو نوع سلول تحت یک عنوان بررسی شدند.

اسپرماتوسیت اولیه: بین غشا پایه و سلول‌های گرد و کوچک اسپرماتید ابتدایی، سلول‌های بزرگ‌تری به نام اسپر ماتوست اولیه، در چند لایه به چشم می‌خورد که معمولا هسته آنها در مراحل پروفاز میوز اول دیده می‌شود.

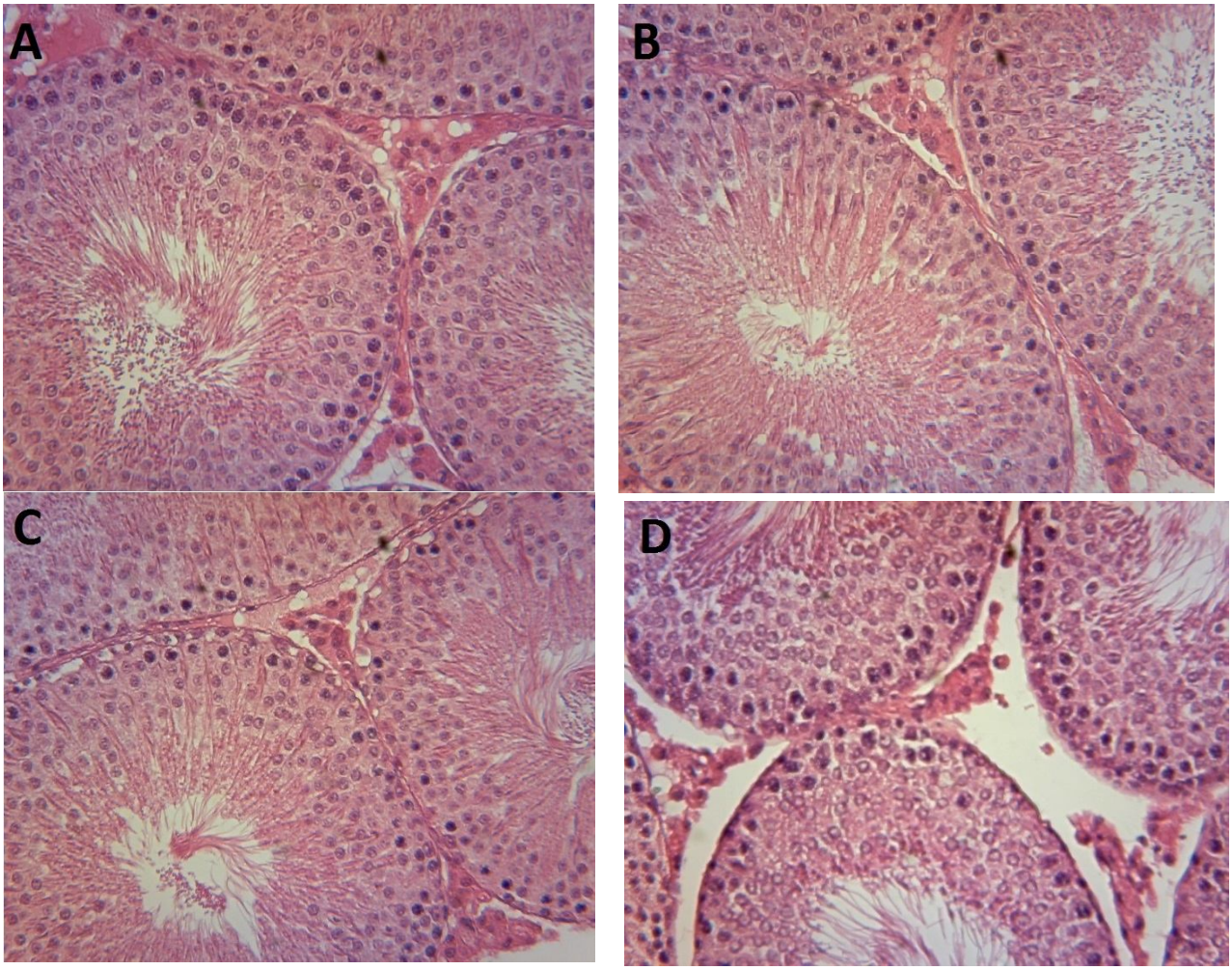
اسپرماتوسیت ثانویه: این سلول‌ها به دلیل سرعت انجام میوز دوم معمولا درون لوله‌های منی ساز دیده نمی‌شوند و در شمارش‌ها منظور نشدند.

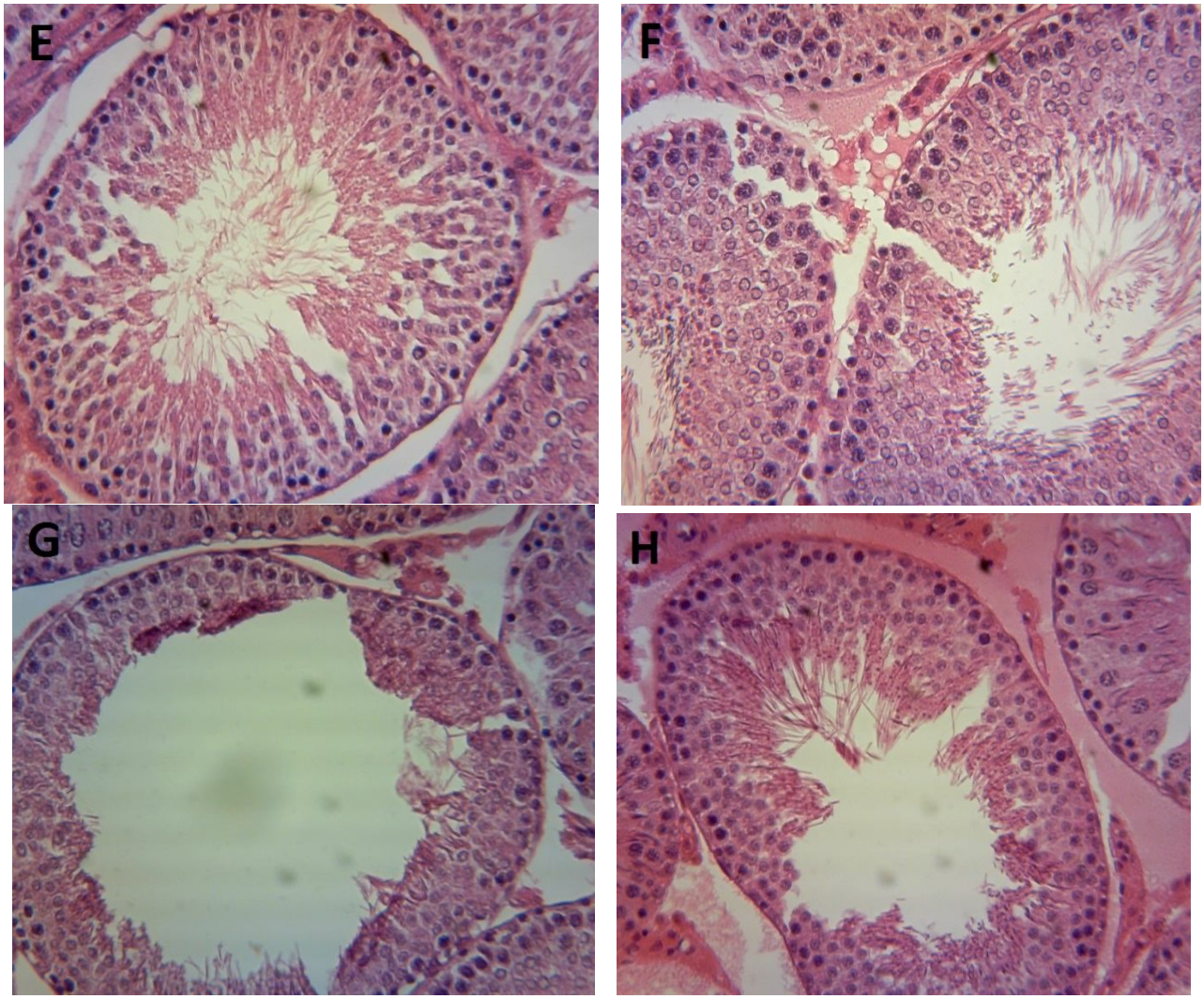
اسپرماتید: این سلول‌ها براساس موقعیت قرارگیری و اندازه به راحتی از اسپرماتوسیت‌های اولیه قابل تشخیص هستند. اسپرماتیدها به لومن نزدیک ترند و اندازه کوچک‌تر و رنگ‌پذیری کمی دارند. به طور کلی این سلول‌ها به سه دسته اسپرماتیدهای گرد، اسپرماتیدهای در حال دراز شدن (Elongating) که شکل آنها نه کاملا گرد و نه کاملا دراز می‌باشد و اسپرماتیدهای دراز (Elongated) دارای هسته کشیده و دم تقسیم می‌شوند.

سلول‌های لایدیگ: این سلول‌ها خارج از لوله منی ساز و در بافت بینابینی هستند و اغلب به صورت گروهی قابل رویت می‌باشند. سلول‌های لایدیگ دارای

هسته گرد با موقعیت مرکزی و یک یا دو هستک مشخص می‌باشند(۶، ۷).

لوله‌های منی ساز در گروه کنترل و گروه شم یک و دو که سرم فیزیولوژی بادوزهای معادل با گروه تجربی دریافت کردند، به طور فشرده و منظم در کنار هم قرار داشتند. ضخامت اپیتلیوم منی ساز طبیعی و انواع سلول‌های اسپرماتوژنیک با آرایش نرمال به چشم می‌خورد (شکل ۱، A ، B و C). در گروه تجربی ۱ که دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو ذره دریافت کردند در تعدادی از لوله‌ها بی‌نظمی و بهم ریختگی در سلول‌های داخل لوله‌های منی ساز مشاهده شد (شکل۱،D,E). در این گروه سلول‌های اسپرماتوژنیک شمارش شده با گروه کنترل و شم اختلاف محسوسی را نشان نداد($p>۰/۰۵$)





شکل ۱. فتومیکروگراف لوله‌های اسپرم ساز بیضه رت‌های گروه: کنتـرل (A)، شـم ۱ (B)، شـم ۲ (C)، تجربـی ۱ (DوE) ، تجربـی ۲ (FوG,H). (رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین،درشتنمایی ۴۰۰ ×)

اپی تلیوم لوله‌ها و بافت بینابینی در گروه کنترل و شم ۱ و۲ ساختار طبیعی نشان می‌دهد.(A,B,C). در گروه تجربی ۱ در تعدادی از لوله‌ها به هم ریختگی و بی‌نظمی سلولی مشاهده می‌شود. (D,E). در گروه تجربی ۲ علاوه بر بی‌نظمی و بهم ریختگـی نظـم سـلولی(F,G,H) افزایش فضای لومن لوله نیز دیده می‌شود(G).

بررسی‌ها نشان داد که میانگین سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید گرد و در حال طویل شدن و سرتولی در بین گروه کنترل و تجربی۲ که دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو ذره دریافت کرده‌اند، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$)(جدول۱). تعداد این سلول‌ها در گروه تجربی ۲ نسبت به کنترل کاهش یافته بود (شکل۱،F,G,H). با مقایسه قطر بزرگ و کوچک لوله‌های اسپرم ساز و ضخامت تونیکا آلبوژینه آ، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد(جدول۲).

جدول ۱. نتایج حاصل از شمارش سلول‌های مختلف بیضه در گروه‌های مورد مطالعه

گروه ها	اسپرماتوگونی	اسپرماتوسیت اولیه	اسپرماتیدگرد	اسپرماتید در حال طویل شدن	سرتولی	لایدیگ
کنترل	۶۳/۰۸±۱/۶۵۴	۶۴/۱۵±۲/۰۲۱	۲۰۴/۱±۱/۶۲۵	۲۱۰/۵±۲/۸۱۸	۱۶/۱۴±۰/۵۲۱	۲۸/۲۹±۱/۳۰۲
شم۱	۵۹/۷۳±۲/۱۴۶	۶۸/۷±۴/۳۱۳	۲۰۰/۸۸±۳/۸۶۸	۲۱۷/۹۳±۴۶۷۶	۱۴/۱۶۰±۰/۸۱۵	۲۳/۵۱±۱/۵۹۹
شم۲	۶۰/۲۱±۱/۴۱۵	۶۵/۲۳±۲/۸۹۶	۲۰۱/۶۸±۳/۹۱۵	۲۱۰/۴±۳/۶۱۹	۱۴/۵۱±۰/۲۸۶	۳۰/۱±۱/۱۶۵
تجربی۱	۵۸/۷±۳/۴۲۱	۶۶/۲±۳/۳۰۰	۲۰۳/۱۵±۲/۹۲۸	۲۱۴/۲۶±۴/۲۵۸	۱۲/۴۶±۰/۷۳۵	۳۰/۲۶±۲/۷۴۰
تجربی۲	۵۷/۹۶±۱/۸۳۹*	۵۵/۶۸±۱/۸۹۹*	۱۹۸/۱۵±۲/۱۶۳*	۱۹۵/۷۳±۱/۵۹۴*	۱۱/۲۸±۱/۷۱۶*	۲۶/۰۵±۱/۷۷۳

یافته ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند. * معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

جدول ۲ . مقایسه قطر بزرگ و کوچک لوله منی ساز وضخامت تونیکا آلبوژینه آ

گروه ها	کنترل	شم۱	شم۲	تجربی۱	تجربی۲
قطر بزرگ	۲۳۵/۸۵±۲/۶۵۰	۲۳۶/۳۸±۳/۱۸۲	۲۳۴/۱۳±۳/۷۷۷	۲۳۴/۱۴±۳/۳۴۷	۲۳۷/۸۷±۲/۶۱۱
قطرکوچک	۲۱۸±۱/۷۶۷	۲۱۲/۸۷±۵/۱۴۴	۲۱۱/۸۱±۴/۲۸۹	۲۱۶/۹۳±۶/۰۸۳	۲۲۰/۱۲±۱/۹۶۴
تونیکا آلبوژینا	۱/۱۳±۰/۰۸۸	۱/۴۳±۰/۰۸۸	۱/۴۳±۰/۰۸۸	۱/۳±۰/۱۷۳	۱/۲±۰/۱

یافته ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند. تفاوت معنی‌داری در قطر بزرگ و کوچک لوله های منی ساز و ضخامت غلاف سفید بین گروه ها مشاهده نشد.

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان دادکه تزریق دوز پایین نانو ذرات مولیبدن تری اکسید (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانو ذره) تغییر خاصی از نظر تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک در بیضه موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار ایجاد نمی‌کند بجز این که فقط کمی بی‌نظمی و بهم ریختگی در سلول هادر تعدادی از لوله‌ها در سلول‌ها مشاهده شد. در حالی که تزریق دوز بالای نانو ذرات مولیبدن تری اکسید (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانو ذره) باعث اختلال در اسپرماتوژنز و کاهش رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک و سلول سرتولی در حیوانات شد. با این که تعداد مطالعات انجام گرفته بر روی نانو ذرات مولیبدن اندک می‌باشد با این حال یافته‌های این تحقیق با نتایج آزمایشات قبلی مطابقت دارد. استول و همکاران اثرات سیتوتوکسیک نانو ذرات مولیبدن تری اکسید(۳۰ نانومتر) را در شرایط برون تنی بر سلول‌های بنیادی دودمان زایای پستانداران بررسی نمودند. با بررسی‌های انجام گرفته توسط آنها مشخص شد که وقتی مولیبدن با ابعاد نانو ذره استفاده شود، عملکرد میتوکندری و فعالیت‌های متابولیکی سلولی به صورت چشم‌گیری تحت تاثیر قرار گرفته و کاهش می‌یابد. در مطالعه آنها مواجهه با نانو ذرات مولیبدن در غلظت‌های بالاتر از۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اثرات توکسیک قابل توجهی را نشان داد که منجر به کاهش تعداد سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی شد(۲،۱). در تجربه حاضر نیز، با افزایش دوز نانو ذرات مولیبدن از ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ، میزان اختلال در فرایند اسپرماتوژنز بیشتر شده و تعداد سلول‌های جنسی و سرتولی کاهش معناداری یافت. علی رغم این که فرایند اسپرماتوژنز به دلیل وجود سد خونی – بیضه‌ای در یک محیط حفاظت شده و ایمن اتفاق می‌افتد، اما این فرایند از اثرات نانو ذرات در امان نمی‌باشد، زیرا بسیاری از نانو ذرات می‌توانند از سدخونی - بیضه‌ای عبور کنند(۱، ۱۰- ۸). فرضیه‌ای وجود دارد که نانو ذرات با اندازه کوچک قادر به نفوذ از سد خونی - بیضه‌ای می‌باشند وبرطبق فرضیه 'elevator door' بعد از مواجهه با نانو ذرات به دلیل ایجاد یک پاسخ التهابی اندازه شکاف سد خونی – بیضه‌ای بزرگ‌تر می‌شود. به همین دلیل نانو ذرات کوچک‌تر می‌توانند از سد عبور کنند و بعضی از نانو ذرات که بزرگ‌تر هستند احتمالا پشت سد می‌مانند. به هرحال مکانیسم‌های مولکولی دخیل در سمیت نانوذرات بر اسپرماتوژنز هنوز به طور واضح مشخص نشده

است. گفته شده است که اثرات توکسیک نانو ذرات به تاثیر آنها بر سایتواسکلتون برمی‌گردد که سپس غشای هسته‌ای به هم می‌ریزد. به علاوه احتمالا نانو ذرات توسط سلول‌های اسپرماتوژنیک و یا سلول‌های لایدیگ اندوسیتوز می‌شوند که منجر به تغییرات سلولی شده و سپس اگزوسیتوز می‌شوند. پس ممکن است هیچ نشانه مورفولوژیکی از آسیب نانوذرات مشاهده نشود(۱). در این مطالعه نانو ذرات مولیبدن تری اکسید(۲۰نانو متر) ضمن غلبه بر سد خونی – بیضه‌ای باعث القا اثرات توکسیک بر سلول‌های سرتولی و سلول‌های اسپرماتوژنیک شده است. سلول‌های سرتولی تنها سلول‌های سوماتیک موجود در لوله‌ها هستند و در ارتباط نزدیک با سلول‌های ژرمینال یک محیط مناسب برای اسپرماتوژنز را فراهم می‌سازند. این سلول‌ها نقش بسیار مهمی در تکامل نسل سلول‌های ژرمینال و پشتیبانی از این سلول‌ها را دارا هستند. بنابراین هرگونه تغییر در این سلول‌ها می‌تواند منجربه اختلال و نقص اسپرماتوژنز گردد(۱۱، ۱۲). تمایز سلول‌های سرتولی و تشکیل سد خونی بیضه‌ای مناسب برای انجام فرایند اسپرماتوژنز طبیعی در طی بلوغ ضروری است. تعداد سلول‌های سرتولی یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین کننده میزان تولید اسپرم می‌باشد. هر سلول سرتولی می‌تواند تعداد معینی از سلول‌های جنسی ویژه هر گونه را حمایت کند. بنابراین افراد با تعداد سلول سرتولی بیشتر، سلول‌های جنسی بیشتری در بیضه تولید می‌کنند(۱۳). بنابراین اکثر مخدوش کننده‌ای اسپرماتوژنز با تغییراتی که در کارکرد جمعیت سلول سرتولی به وجود می‌آورند و نه ضرورتا اثرات پاتولوژیکی در خود سلول‌های جنسی می‌توانند فرآیند اسپرماتوژنز را تحت الشعاع قرار دهند. کاهش تعداد سلول‌های سرتولی باعث از بین رفتن بخشی از سد خونی- بیضه‌ای شده و اسپرماتوژنز طبیعی را مختل می‌کند، سلول‌های جنسی جهت حمایت بیوشیمیایی و فیزیکی کاملا به سلول‌های سرتولی وابسته‌اند(۱۴). می‌توان گفت، باکاهش معنی‌دار در تعداد سلول‌های سرتولی در گروه تجربی۲ که دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانو ذره دریافت کردند، سلول‌های اسپرماتوژنیک حمایت زیستی خود را از دست داده هم‌چنین با تضعیف سد خونی –بیضه‌ای، نانو ذرات توانایی بیشتری در نفوذ به رده‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک و القا اثرات توکسیک کسب کرده‌اند.

علاوه بر این سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی (Spermatogonial stem cells - SSCs) اساس اسپرماتوژنز هستند. آنها این توانایی را دارند که از نو احیا شده و به سلول‌های جنسی بیشتری تمایز یابند. پس می‌توانند تعداد زیادی سلول‌های زایشی تمایز یافته ایجاد کنند. سلول‌های سرتولی از عوامل اصلی تنظیم کننده‌های SSCs هستند. یکی از مشارکت کننده‌های کلیدی در تنظیم SSCs، (glial cell line–derived neurotrophic factor) GDNF می‌باشد. فاکتور رشد GDNF توسط سلول‌های سرتولی سوماتیک و سلول‌های حول لوله‌ای ترشح شده و به عنوان القاکننده تکثیر SSC در شرایط برون تنی شناخته شده است. اتصال GDNF به گیرنده‌های GFRα1(GDNFreceptor-α) ، فعال سازی گیرنده c-RET(receptor tyrosine kinase Ret) را کاتالیز و همین طور چندین آبشار سیگنالینگ نظیر PI3K/AKT (phosphoinositide 3 (PI3)-kinase/ Protein kinase B (PKB or Akt)pathway) را فعال می‌کند. هم‌چنین GDNF، ژن‌های ID4(inhibitor of DNA binding 4) و Bc16b(B-cellCLL/lymphoma 6, member B) مربوط به خود تجدیدی را نیز فعال می‌کند. بیان بیش از حد GDNF، تجمع اسپرماتوگونی تمایز نیافته در موش را القا می‌کند. هم‌چنین فقدان گیرنده‌های GFRα1 و c-RET منجر به کاهش در تعداد اسپرماتوگونی تمایز نیافته و هم‌چنین منجر به کاهش تعداد سلول جنسی می‌شود(۱۲، ۱۵، ۱۶). کاهش معنی‌دار در تعداد سلول‌های سرتولی در گروه تجربی ۲ می‌تواند خود تجدیدی SSCs را با کاهش روبرو کند. با توجه به این که تعداد نسل‌های اسپرماتوگونی که دچار تقسیم می‌شوند، تعیین کننده تعداد سلول‌هایی است که باید میوز انجام دهند، بنابر این با کاهش سلول‌های اسپرماتوگونی تعداد کل

سلول‌های ژرمینال و در نتیجه ضخامت اپیتلیوم لوله‌ها کاهش می‌یابد. به طور حتم متعاقب کاهش رده‌های سلولی، تولید اسپرم نیز تحت تاثیر قرارگرفته و کاهش می‌یابد. کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی و تعداد سلول های ژرمینال در جدول ۱ که متعلق به گروه تجربی ۲ می‌باشد نشان داده شده است. نانو ذرات مولیبدن می‌توانند با اعمال اثرات توکسیک بر روی سلول‌های اسپرماتوگونی باعث کاهش تعداد این سلول‌ها و نیز تعداد سلول‌های ژرمینال شوند. القای استرس اکسیداتیو، تولید رادیکال‌های آزاد، کاهش پتانسیل آنتی اکسیدانتی از معمول‌ترین مکانیسم‌های پیشنهاد شده برای اثرات توکسیک نانو ذرات می‌باشد که در مورد نانو ذرات مولیبدن نیز صدق می‌کند. اثرات توکسیک و مخرب نانوذرات روی ساختارهای سلولی به دلیل برهمکنش‌های مستقیم و غیر مستقیم نانو ذرات با مولکول‌های آلی سلولی است. مکانیسم اصلی درگیر در این زمینه، ایجاد اختلال درهموستازی واکنش‌های ردوکس داخل سلولی است که منجر به آسیب اکسیداتیو ماکرومولکول‌هایی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود.

این یک نظریه اثبات شده است که رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive oxygen species-ROS) نقش بسیار حیاتی در متابولیسم سلولی، هموستازی و سیگنالینگ ایفا می‌کنند. مواجهه با نانو ذرات و در معرض نانو ذرات قرار گرفتن تعادل بین تولید ROS سلولی و سم زدایی را برهم می‌زند(۲۰-۱۷). سلول‌های اسپرم پستانداران دارای مقادیر بالایی اسیدهای چرب غیر اشباع، پلاسمالوژن و اسفنگومیلین می‌باشندکه سوبستراهای مهم در عمل اکسیداسیون به شمار می‌روند(۱۸). یکی از تظاهرات مهم استرس اکسیداتیو در سلول‌ها، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی یا LPO (Lipid peroxidation) است که به عنوان پدیده‌ای فیزیولوژیکی در تمامی سلول‌های غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع رخ می‌دهد و از مجموعه واکنش‌های شامل تخریب و تشکیل مجدد پیوندهای دوگانه در اسیدهای چرب غشایی تشکیل می‌شود. روندLPO موجب تخریب ساختار غشا، کاهش قدرت تحرک، مهار فعالیت‌های آنزیمی و ایجاد شکستگی در ساختار DNA می‌شود(۱۸، ۲۰، ۲۱). پراکسیداسیون لیپیدها می‌تواند در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی دو لایه لیپیدی غشا مخصوصا فسفولیپیدها تغییر ایجاد کند که در نهایت منجر به از دست رفتن سیالیت و انعطاف غشا، افزایش نفوذپذیری به یون‌ها و مرگ سلولی شود. برهمکنشی که بین نانو ذرات با پروتئین‌های سلولی ایجاد می‌شود می‌تواند منجر به سیتو فیزیولوژی غیر عادی سلولی شود(۳). مولیبدن با داشتن چندین حالت اکسیداتیو، می‌تواند از طریق تنظیم و تاثیر بر استرس‌های اکسیداتیو بیضه‌ای و تولید رادیکال‌های آزاد به طریق وابسته به دوز بر کیفیت اسپرم و سلول‌های جنسی تاثیر گذاشته و منجر به کاهش رده‌های مختلف سلول جنسی شود.

نتیجه گیری

کاهش ۲ درصد سالانه کیفیت منی در طی ۵۰ سال گذشته در کشورهای صنعتی نگرانی‌های زیادی را موجب شده است. زیرا که گامتوژنز فرایند بیولوژیکی پیچیده و بسیار حساسی است که می‌تواند تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی، شیمیایی و همین طور نانو ذرات قرار گیرد. بسیاری از مواد شیمیایی برروی گامتوژنز و دودمان زایا اثرات منفی دارندکه این تاثیرات می‌تواند به طور مستقیم یا غیر مستقیم بر اثر عملکرد آنها برروی سلول‌های سرتولی باشد. علی‌رغم استفاده رو به رشد از نانو ذرات، اطلاعات در باره اثرات توکسیک نانو ذرات بر سیستم تولید مثلی و بر سلامت انسان و سایر جانداران بسیار محدود است(۲، ۲۲). یافته‌های مطالعه حاضراثرات مضر نانو ذرات مولیبدن تری اکسید را در سیستم تولید مثلی نر نشان می‌دهد. بنابراین از مواجهه با مقادیر زیاد این نانو ذرات باید اجتناب شود. به ویژه باید تدابیر حرفه‌ای و حفاظتی برای کارگرانی که به دلیل شرایط شغلی خود به طور طولانی مدت در معرض این نانو ذرات می‌باشند، اندیشیده شود. درپایان پیشنهاد می‌شود، تاثیر دزهای دیگر این نانوذرات بر فرایند اسپرماتوژنز و ساختار و فراساختار بافت بیضه مورد بررسی قرار بگیرد.

تشکروقدردانی

این مقاله منتج از پایان نامه دانشجویی است و در این مقاله از منبع خاصی کمک هزینه دریافت نشده است. نویسندگان این مقاله از تمامی کسانی که در تدوین این مقاله راهنما و راه گشا بوده اندو اسمی از آنها برده نشده و نیز آقای امیر عزیزی که در نگارش این مقاله همکاری کرده‌اند،کمال تشکر را دارند.

منابع

1. 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.
2. Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager JJ, Hofmann M-C. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. Toxicological sciences. 2005;88(2):412-9.
3. Jennifer M, Maciej W. Nanoparticle technology as a double-edged sword: Cytotoxic, genotoxic and epigenetic effects on living cells. 2013; 4:53-63.
4. Zakhidov S, Pavlyuchenkova S, Marshak T, Rudoy V, Dement'eva O, Zelenina I, et al. Effect of gold nanoparticles on mouse spermatogenesis. Biology Bulletin. 2012; 39(3): 229-36.
5. Finch J. Molybdenum's Time Has Come: Nano Particle Technology for the Future. Materials. 2007;40(1):1-5.
6. Jan SZ, Hamer G, Repping S, de Rooij DG, van Pelt AM, Vormer TL. Molecular control of rodent spermatogenesis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2012;1822(12):1838-50.
7. Weinbauer GF, Luetjens CM, Simoni M, Nieschlag E. Physiology of testicular function. Andrology: Springer; 2010. p. 11-59.
8. Yoshida S, Hiyoshi K, Ichinose T, Takano H, Oshio S, Sugawara I, et al. Effect of nanoparticles on the male reproductive system of mice. International journal of andrology. 2009;32(4):337-42.
9. Ema M, Kobayashi N, Naya M, Hanai S, Nakanishi J. Reproductive and developmental toxicity studies of manufactured nanomaterials. Reproductive Toxicology. 2010;30(3):343-52.
10. 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. Reproductive Toxicology. 2013;36:88-97.
11. Shinohara T, Orwig KE, Avarbock MR, Brinster RL. Restoration of spermatogenesis in infertile mice by Sertoli cell transplantation. Biology of reproduction. 2003;68(3):1064-71.
12. Watanabe N. Decreased number of sperms and Sertoli cells in mature rats exposed to diesel exhaust as fetuses. Toxicology letters. 2005; 155(1): 51-8.
13. Hess RA, de Franca LR. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. Molecular mechanisms in spermatogenesis: Springer; 2008. p. 1-15.
14. Sikka SC, Wang R. Endocrine disruptors and estrogenic effects on male reproductive axis. Asian journal of andrology. 2008; 10(1): 134-45.
15. Naughton CK, Jain S, Strickland AM, Gupta A, Milbrandt J. Glial cell-line derived neurotrophic factor-mediated RET signaling regulates spermatogonial stem cell fate. Biology of reproduction. 2006;74(2):314-21.
16. Braydich-Stolle LK, Lucas B, Schrand A, Murdock RC, Lee T, Schlager JJ, et al. Silver nanoparticles disrupt GDNF/Fyn kinase signaling in spermatogonial stem cells. Toxicological sciences. 2010;116(2):577-89.
17. Devasagayam T, Tilak J, Boloor K, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele R. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. Japi. 2004;52:794-804.
18. Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. Biology of reproduction. 1989;41(1):183-97.
19. Kumar A, Pandey AK, Singh SS, Shanker R, Dhawan A. Engineered ZnO and TiO 2 nanoparticles induce oxidative stress and DNA damage leading to reduced viability of Escherichia coli. Free Radical Biology and Medicine. 2011;51(10):1872-81.
20. Chen CS, Wei YH, Chao HT, Pan RL. Hydroxyl radical induced decline in motility

and increase in lipid peroxidation and DNA modification in human sperm. IUBMB life. 1997;43(2):291-303.
21. Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. Reproductive biomedicine online. 2004; 8(6): 616-27.
22. Montelius E. Scientific Basic for Swedish Occupational Standards XXX. ArbeteochHälsa 2010;45(6):1-115.
23. Zhai X-W, Zhang Y-L, Qi Q, Bai Y, Chen X-L, Jin L-J, et al. Effects of molybdenum on sperm quality and testis oxidative stress. Systems biology in reproductive medicine. 2013; 59(5):251-5.