

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

محمد سعید حیدر نژاد<sup>۱\*</sup>، گلی قاسمی<sup>۲</sup>، جهانگیر کبوتری کنج<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه جانورشناسی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ <sup>۲</sup>گروه فیزیولوژی جانوری، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ <sup>۳</sup>گروه دامپزشکی،

دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۳۰

تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۴

### چکیده:

زمینه و هدف: در سال های اخیر نانو ذرات نقره به طور گسترده ای در عرصه های مختلف به کار برده شده و نگرانی های زیادی برای سلامت انسان و محیط زیست به وجود آورده اند 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 شاخص های باروری موش های کوچک آزمایشگاهی نر انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش نر بالغ سالم نژاد Balb/c با میانگین وزنی  $28.5 \pm 3$  گرم به طور تصادفی در ۳ گروه ۱۲ تایی قرار گرفتند. گروه شاهد فقط از آب استفاده می کردند گروه تیمار ۱ نانو ذرات نقره با غلظت ۲۰ ppm و گروه تیمار ۲ نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ ppm هر دو با روش خوراکی دریافت می کردند. تحرک، تولید و تعداد اسپرم ها با استفاده از روش ها و فرمول های مربوطه تعیین شد. نتایج به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: 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 ۱۹/۶٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. این نانو ذرات در غلظت ۵۰ ppm سبب کاهش معنی داری در تولید اسپرم نسبت به گروه کنترل و گروه غلظت ۲۰ ppm گردید. همچنین تعداد اسپرم اپیدیدیم در گروه تیمار نانو ذرات نقره با غلظت ۲۰ ppm، ۱۴/۷۶٪ و در تیمار ۵۰ ppm، ۳۶٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. نتیجه گیری: 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.

واژه های کلیدی: نانو ذرات نقره، تولید روزانه اسپرم (DSP)، اپیدیدیم، موش.

### مقدمه:

نگرانی های زیادی برای سلامت انسان و محیط زیست به وجود آورده اند 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، از آنجایی که 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

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 از جمله محصولات مصرفی و پزشکی، بررسی سمیت نانو ذرات نقره برای امنیت استفاده کنندگان از این محصولات لازم و ضروری می باشد (۳). در سال های اخیر نانو ذرات نقره به طور گسترده ای در عرصه های مختلف به کار برده شده و

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

زیست را تشکیل دهند، اثرشان بر سیستم تولیدمثلی، به خصوص بر روی عملکرد سیستم تولیدمثلی نر، هنوز هم مبهم است و نیاز به بررسی بیشتر اثر این نانو ذرات بر سیستم تولیدمثلی می باشد (۲۲، ۲۳). گزارش شده است که کاهش تعداد اسپرم و نیز کاهش تحرک اسپرم شاخص‌های مهم و معتبری در جهت بیان ناباروری حیوانات آزمایشگاهی نر می باشد (۲۴). Sardari و همکاران و Zare و همکاران نشان دادند که حتی مقادیر کمی از نانو ذرات نقره تأثیر سمی بر روی سلول‌های جنسی داشته و سبب کاهش تحرک اسپرم می شود. مطالعات نشان داده‌اند که حداقل محدوده غلظتی که نانو ذرات نقره منجر به تأثیر سمی می شوند بین ۱۰ ppm تا ۵۰ ppm است (۲۵، ۲۶). 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 به وسیله بلیت‌های مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت می گرفت. در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش نر بالغ سالم نژاد Balb/c با میانگین وزنی  $28/5 \pm 3$  گرم به طور تصادفی در ۳ گروه ۱۲ تایی (۱ گروه شاهد و ۲ گروه تیمار) قرار گرفتند.

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

بافت های تولیدمثلی، این امر به ویژه 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 (۶، ۷). نانو ذرات می توانند از طریق سلول های اپیتلیوم و غشاهای زیستی عبور و در نتیجه می توانند بر فیزیولوژی هر سلول در بدن جانور تأثیر بگذارند (۸، ۹). 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 به نوبه 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 اسپرماتوزن دارند (۲۰-۱۶). در مطالعه اثر نانو ذرات نقره بر اسپرم اپیدیدی موش صحرایی مشخص شد نانو ذرات نقره ۲۰ نانومتر باعث کاهش تعداد سلول اسپرم اپیدیدی، 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 اندازه گیری شده در روز ۷ و ۲۸ پس از تزریق را کاهش داده است، در نتیجه عملکرد طبیعی و ساختار لوله های اسپرم ساز 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

در هر دو گروه تیمار نانو ذرات نقره با غلظت ۲۰ ppm و ۵۰ ppm در یک دوره ۴۰ روزه و روزانه یکبار در زمان مشخصی به میزان ۱ میلی‌لیتر به روش خوراکی تجویز می‌گردید. 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 بی‌هوشی که ترکیبی از ۱۰ میلی‌لیتر کتامین، ۰/۵ میلی‌لیتر آسپیرومازین، ۲ میلی‌لیتر دیازپام و کمتر از ۰/۵ میلی‌لیتر زایلازین بود، به مقدار کمتر از ۰/۱ میلی‌لیتر به کمک سرنگ انسولین با تزریق عضلانی بی‌هوش نمودیم. به‌منظور ارزیابی میزان تحرک اسپرم‌ها، مقداری از انتهای اپیدیدیم بریده شد و پس از خرد کردن به قطعه‌های 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 ظرفیت‌پذیری اسپرم‌ها و خارج شدن از داخل قطعه‌های خردشده بافت اپیدیدیم به بافر PBS در انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO<sub>2</sub>) 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، اسپرم‌های دارای حرکت در ۵ میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰× بررسی و میانگین درصد اسپرم‌های متحرک نسبت به تعداد کل اسپرم‌های موجود در میدان به‌عنوان درصد حرکت ثبت گردید (۲۹، ۳۰)، 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، پارانثیم بیضه توسط ۵ میلی‌لیتر بافر هموژن‌کننده حاوی نرمال سالین و ۰/۰۵٪ تریتون X-100 (ساخت شرکت مرک آلمان) و ۰/۰۲٪ ائوزین Y (برای رنگ‌آمیزی اسپرم‌ها) 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 میلی‌لیتر)؛ E: وزن بیضه (گرم)؛ F: ۴/۸۴ (مدت زمانی که اسپرماتیدهای مرحله ۱۶-۱۴ در چرخه اپیتلیوم لوله‌های منی ساز موش سوری باقی می‌مانند) و به عبارتی ۴/۸۴ یک عدد ثابت برای محاسبه تولید اسپرم در هر روز در موش هست (۳۵).

در هر روز نمونه‌گیری از سلول‌های اسپرم ناحیه دم اپیدیدیم، جهت تعیین تعداد سلول‌های اسپرم و بررسی اثر نانو ذرات نقره بر تعداد اسپرم، سلول‌های اسپرم اپیدیدیم توسط لام نئوبار شمارش شد و تعداد کل آن با استفاده از فرمول‌های 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 ۵٪ CO<sub>2</sub>) در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه به‌منظور ظرفیت‌پذیری اسپرم‌ها 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- جمع‌آوری مایع رویی که دارای مجموع اسپرم‌هاست؛ ۷- رقیق کردن مایع رویی با یک محلول دارای ۵ گرم بی‌کربنات سدیم (NaHCO<sub>3</sub>) و ۱ میلی‌لیتر فرمالین ۳۵٪ و ۲۵ میلی‌گرم ائوزین ۱٪ جهت فیکس کردن و بهتر دیده شدن اسپرم‌ها 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 سلول‌ها بی‌حرکت شوند (۳۶)؛ ۹- شمارش سلول‌های اسپرم به

شاهد از نرم افزار صفحه گسترده (Excel) استفاده شد. قبل از هرگونه تست از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده گردید تا از نرمال بودن داده ها اطمینان حاصل شود.

### یافته ها:

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 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 ( $P=0/03$ ) (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 ( $P=0/00$ ).

کمک عدسی  $40\times$  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 میلی لیتر حجم نمونه، ۵: عدد ثابت برای به دست آوردن تعداد اسپرم ها در کل 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 به دست آمده است) (۲۸).

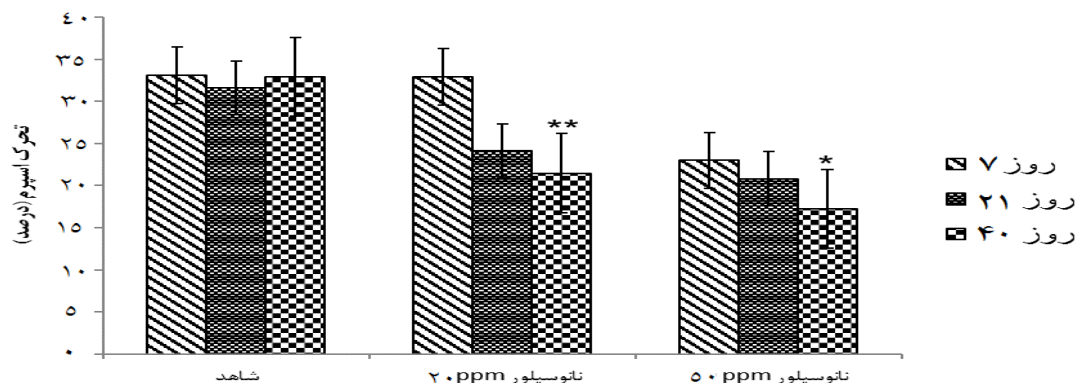
بنابراین در این مطالعه، تمامی داده ها به صورت  $Means \pm Standard Error (SE)$  نمایش داده شدند. نتایج به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد و سپس برای مقایسه میانگین های مربوط به گروه کنترل با هر یک از گروه های تیمار و نیز مقایسه میانگین ها بین گروه های تیمار از آزمون LSD استفاده شد. اختلاف معنی داری بین گروه ها ( $P \leq 0/05$ ) در نظر گرفته شد. برای رسم نمودار مربوط به تغییرات پارامترهای محاسبه شده در گروه های مختلف تیمار و

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

#### مختلف نمونه گیری

گروه های تحت مطالعه	زمان نمونه گیری	تحرک اسپرم اپیدیدیم (درصد)
شاهد	روز ۷	$33/12 \pm 1/6$
	روز ۲۱	$31/63 \pm 1/8$
	روز ۴۰	$32/93 \pm 2/6$
نانو نقره ۲۰ ppm	روز ۷	$32/93 \pm 2/3^*$
	روز ۲۱	$24/11 \pm 1/6$
	روز ۴۰	$21/48 \pm 1/7$
نانو نقره ۵۰ ppm	روز ۷	$22/99 \pm 1/3$
	روز ۲۱	$20/82 \pm 1/2$
	روز ۴۰	$17/23 \pm 1/3^*$

مقادیر به صورت  $(SE \pm Mean)$  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 شده اند.



### 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 ۵۰ ppm در روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه شاهد و نیز نسبت به روز ۷ در این گروه درمانی ( $P < 0/05$ ) بر اساس آزمون LSD \*\*: کاهش معنی دار میزان تحرک اسپرم اپیدیدیم در تیمار نانو ذرات نقره با دوز ۲۰ ppm در روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه شاهد و نیز نسبت به روز ۷ در این گروه درمانی ( $P < 0/05$ ) بر اساس آزمون LSD

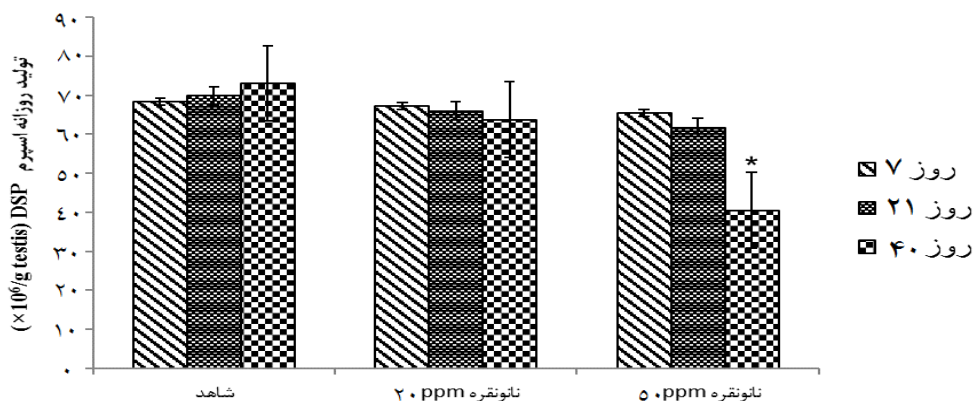
در هر دو گروه تیمار و گروه شاهد شده است ( $P=0/03$ ) (جدول شماره ۲) (نمودار شماره ۲). علاوه بر آن، نتایج نشان داد که در غلظت ۲۰ ppm تولید روزانه اسپرم به میزان ۷٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است؛ ولی این میزان کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود ( $P=0/25$ ). همچنین کاهش معنی دار میزان تولید روزانه اسپرم در روز ۴۰ نسبت به روزهای ۷ و ۲۱ از مدت زمان دوره آزمایش مشاهده شد.

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 ۵۰ ppm ۲۰/۶۸٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. نتایج نشان داد که این نانو ذرات در غلظت ۵۰ ppm سبب کاهش معنی داری در تولید روزانه اسپرم (DSP) در روز ۴۰ نسبت به گروه کنترل و گروه غلظت ۲۰ ppm و نیز نسبت به روز

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

گروه های تحت مطالعه	زمان نمونه گیری	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 ۲۰ ppm	روز ۷	۶۷/۱۹±۵/۱۰ab
	روز ۲۱	۶۵/۹۳±۸/۴ab
	روز ۴۰	۶۳/۷۶±۸/۱ab
نانو نقره ۵۰ ppm	روز ۷	۶۵/۳۶±۵/۷
	روز ۲۱	۶۱/۷۰±۷/۵
	روز ۴۰	۴۰/۵۲±۶/۱*

مقادیر به صورت ( $SE \pm Mean$ ) 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.



**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 ۲۰ ppm و نیز نسبت به روز ۷ در هر دو گروه درمانی و گروه شاهد ( $P < 0/05$ ) بر اساس آزمون LSD

در روز ۴۰ نسبت به گروه کنترل و نیز نسبت به روز ۷ و ۲۱ شده است ( $P \leq 0/05$ ) (جدول شماره ۳) (نمودار شماره ۳). در این آزمایش کاهش تعداد اسپرم اپیدیدیم در غلظت ۲۰ ppm 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 از لحاظ آماری معنی دار بود ( $P \leq 0/05$ ). علاوه بر آن، کاهش وابسته به زمان تعداد اسپرم اپیدیدیم در روز ۴۰ نسبت به روز ۷ و نیز روز ۲۱ مشاهده شده است ( $P \leq 0/05$ ).

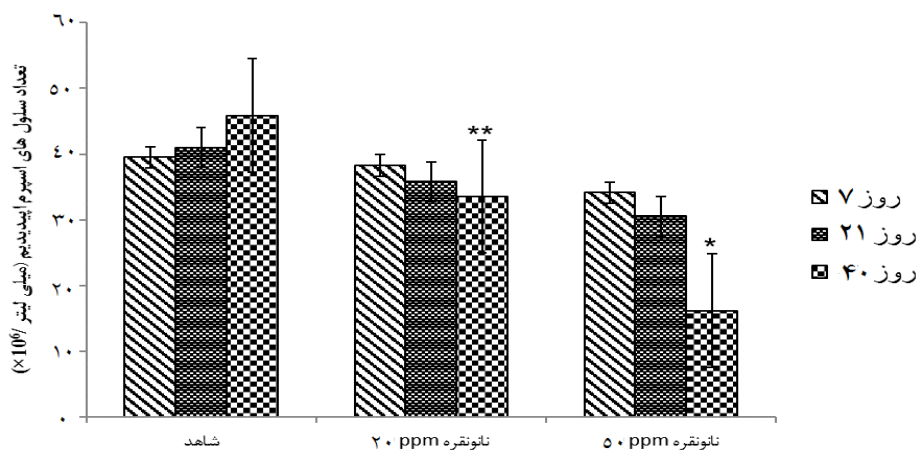
نتایج مقایسه میانگین داده های مربوط به اثرات دوزهای مختلف نانو ذرات نقره بر تعداد کل اسپرم اپیدیدیم با استفاده از آزمون LSD در گروه کنترل با گروه های تحت تیمار که به مدت ۴۰ روز نانو ذرات نقره با دوزهای ۲۰ ppm و ۵۰ ppm را به صورت خوراکی دریافت کرده بودند، نشان داده شد که تعداد اسپرم اپیدیدیم در گروه تیمار نانو ذرات نقره با غلظت ۲۰ ppm، ۱۴/۷۶٪ و در تیمار ۵۰ ppm، ۳۶٪ نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. این نشان می دهد که نانو ذرات نقره با دوز ۵۰ ppm سبب کاهش معنی دار تعداد اسپرم اپیدیدیم

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

#### مختلف نمونه گیری

تعداد سلول های اسپرم اپیدیدیم	زمان نمونه گیری	گروه های تحت مطالعه
۳۹/۵۰±۲/۳	روز ۷	شاهد
۴۱±۱/۷	روز ۲۱	
*۴۵/۸۷±۳/۲	روز ۴۰	
۳۸/۳۱±۲/۲	روز ۷	نانو نقره ۲۰ ppm
۳۵/۸۱±۳/۱	روز ۲۱	
۳۳/۵۶±۲/۸	روز ۴۰	
۳۴/۱۲±۲/۶	روز ۷	نانو نقره ۵۰ ppm
۳۰/۵۶±۲/۱	روز ۲۱	
*۱۶/۱۸±۲/۲	روز ۴۰	

مقادیر به صورت ( $SE \pm Mean$ ) 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 شده اند.



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

\*: کاهش معنی دار تعداد اسپرم آیدیدیم 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 ( $P < 0/05$ ) بر اساس آزمون LSD \*\*: کاهش معنی دار تعداد اسپرم آیدیدیم در تیمار نانو ذرات نقره با دوز ۲۰ ppm در روز ۴۰ نسبت به گروه شاهد ( $P < 0/05$ ) بر اساس آزمون LSD.

### بحث:

سمیت نانو ذرات نقره به دلیل آزاد شده یون های نقره است که با انتشار یا آندوسیتوز وارد سلول شده و سبب اختلال در عملکرد میتوکندری می شود. متعاقب آن پروتئین ها و اسیدهای هسته ای تخریب و تکثیر سلولی متوقف می شود (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 آیدیدیم تأثیر گذاشته و باعث التهاب آیدیدیم شوند که دارای نقش مهمی در کاهش تحرک اسپرم است (۳۹، ۴۰). نتایج برخی مطالعات بیانگر تأثیر منفی نانو ذرات طلا و دی اکسید تیتانیوم، بر روند اسپرماتوزن و تحرک اسپرم های آیدیدیم می باشند (۴۱، ۴۲). 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 (۴۳-۴۵). قابلیت تحرک و زنده

تحرک اسپرم به عنوان یک شاخص مهم برای بیان سمیت بیضوی ناشی از ماده شیمیایی به کار می رود (۳۵). نتایج حاصل از این مطالعه بر تحرک اسپرم نشان داد که نانو ذرات نقره با دوزهای ۲۰ ppm و ۵۰ ppm سبب کاهش معنی داری در میزان تحرک اسپرم آیدیدیم در روزهای ۲۱ و ۴۰ نسبت به گروه کنترل و نیز نسبت به روز ۷ در گروه های تیمار شده است ( $P \leq 0/05$ ). به همین ترتیب Moretti و همکاران نشان دادند که نانو ذرات نقره تأثیر قابل توجهی بر روی تحرک اسپرم انسان می گذارند (۳۷). در این مطالعه، کاهش معنی دار 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 از جمله آیدیدیم، 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

مطالعه Kim و همکاران، نشان داده شد که بسیاری از نانو ذرات مهندسی شده، از جمله Ag-NPs باعث اثرات سمیت ژنی، از قبیل شکست‌های رشته DNA، جهش‌های نقطه ای و آسیب اکسیداتیو ساختار DNA می‌شوند (۱۲)؛ ۳- القای استرس اکسیداتیو یکی از شایع‌ترین مکانیسم‌های پیشنهادی سمیت نانو ذرات است که به‌نوبه خود موجب پراکسیداسیون لیپید در اسپرم می‌شود و بنابراین این احتمال وجود دارد که نانو ذرات نقره با القای استرس اکسیداتیو بر روند تولید اسپرم و یا اسپرم‌های تولید شده اثر گذاشته و بدین ترتیب موجب کاهش تعداد اسپرم‌های اپیدیدیمی شده باشد (۴۳).

نتایج تحقیقات سمیت نانو ذرات نقره در سلول‌های بالغ اسپرم در اپیدیدیم نسبت به اسپرم اپیتلیوم لوله اسپرم ساز بیضه، در تمام گروه‌های درمان شده تعداد اسپرم غیرطبیعی ۲۸ روز پس از تزریق هنگام مقایسه با ۲۴ ساعت پس از تزریق بالاتر بود. این نتیجه به نظر می‌رسد، برای منعکس کردن تأثیر قوی نانو ذرات نقره بر روی اپیدیدیم بیضه‌ها می‌باشد (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 اسپرم‌ها و DSP کاهش معنی داری به‌ویژه در گروه تحت درمان با دوز بالاتر ۵۰ ppm در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید که با توجه به این نکته که تولید روزانه اسپرم توسط بیضه‌ها و عملکرد جذب و ترشح بیضه و اپیدیدیم وابسته به هورمون تستوسترون می‌باشد (۵۲)، لذا این روند می‌تواند مربوط به کاهش هورمون تستوسترون باشد. عمل نانو ذرات نقره در اپیدیدیم، به نظر می‌رسد شبیه به دیگر سموم زیستی باشد که تولید رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در اپیدیدیم و اسپرم‌های آن را کاهش می‌دهد (۲۸).

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

ماندن اسپرم به‌عنوان مهم‌ترین پارامترهای اسپرم برای سنجش توانایی لقاح و همچنین تمامیت غشای اسپرم محسوب می‌شوند (۴۶،۴۷).

نتایج این پژوهش نشان داد که تجویز خوراکی نقره نانو ذرات با غلظت ۵۰ ppm 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 ( $P \leq 0/05$ ). همچنین کاهش معنی دار تعداد اسپرم موجود در اپیدیدیم در غلظت ۲۰ ppm در روز ۴۰ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ( $P \leq 0/05$ )، ولی در تولید روزانه اسپرم در این غلظت تغییر معنی داری مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ).

تعداد اسپرم و تولید روزانه آن شاخص‌های مهم برای محققان برای تشخیص عوارض جانبی اثرات عوامل مختلف بر روند اسپرماتوزن می‌باشند (۳۱،۴۸). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نانو ذرات نقره با دوز بالاتر به‌طور قابل‌توجهی باعث کاهش تعداد اسپرم اپیدیدیم و تولید اسپرم روزانه بیضه شد. از آنجایی‌که روند اسپرماتوزن بسیار وابسته به ساختار طبیعی لوله‌های اسپرم‌ساز 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 گروه‌های تحت تیمار با نانو ذرات نقره چندین فرضیه احتمالی به نظر می‌رسد: ۱- شاید نانو ذرات نقره توانسته‌اند با تغییر در غلظت هورمون‌های دخیل در تولیدمثل موجب کاهش تعداد اسپرم در این پژوهش شده باشند؛ ۲- القای آپوپتوزیس و یا سایر انواع مرگ سلولی بر روی سلول‌های زایشی و سرتولی بیضه در اثر القای استرس اکسیداتیو توسط نانو ذرات نقره احتمال دیگری در مورد کاهش تعداد اسپرم‌های اپیدیدیمی و تولید روزانه اسپرم در این پژوهش می‌باشد. در این خصوص گزارش‌هایی مبنی بر ایجاد آپوپتوزیس در سلول‌های زایشی بیضه که توسط نانو ذرات نقره ایجاد شده است، وجود دارد. در



مطالعه تجربی اثرات سمی نانو ذرات نقره بر سلول های رده سرتولی که یک نوع سلول عمده در بیضه ها 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 دریافت کننده نانو ذرات نقره نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید (۵۵).

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، به ویژه پرسنل محترم آزمایشگاه فارماکولوژی دانشگاه شهرکرد تشکر و قدردانی می گردد. این تحقیق بخشی از پایان نامه مصوب سال ۹۳ دانشگاه شهرکرد- گروه جانوری می باشد.

### نتیجه گیری:

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

### منابع:

- 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.
- 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.
- Chen YB. Introduction to nanotechnology history, definition, methodology, applications, and challenges. *Nano Engin Radiat Lab* 2012; 2:1-35.
- 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.
- Singh RP, Ramarao P. Cellular uptake, intracellular trafficking and cytotoxicity of silver nanoparticles. *Toxicol Lett*. 2012; 213(2): 249-59.
- Simkó M, Nentwich M, Gzásó A, Fiedeler U. How nanoparticles enter the human body and their effects there. *Nano Trust Dossier*. 2010; 3: 1-4.
- 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.
- Yoisungern 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.
- Rahman MS, Lee JS, Kwon WS, Pang MG. Sperm proteomics: Road to male fertility and contraception. *Int J Endocrinol* 2013; 12(5): 36-47.
- Sleiman HK, Romano RM, Oliveira CA, 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.
- De Jong WH, Borm PJ. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *Int J Nanomedicine*. 2008; 3(2): 133-49.
- 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.

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. *Toxicol 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; 29(1): 65-72.
21. AshaRani P, Low Kah Mun G, Hande MP, Valiyaveetil 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. Valipour 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.

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. *Stomatologija*. 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, Sereemasun 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<sub>3</sub>T<sub>3</sub> 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 nanoparticle exposure on male reproductive function. *Nanotoxicology*. 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.

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

Heydarnejad MS<sup>1\*</sup>, Ghasemi G<sup>2</sup>, Kaboutari Konj J<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zoology Dept., University of Shahrekod, Shahrekod, I.R. Iran; <sup>2</sup>Animal Physiology Dept., University of Shahrekod, Shahrekod, I.R. Iran; <sup>3</sup>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.

**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