

The effect of copper oxide nanoparticles on the expression of the USP9Y gene in rat testicles

Davoudi-Farimani S, Khayat Zade J*, Homayoni-Tabrizi M

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.

Received: 2017/07/12 | Accepted: 2018/02/24

Abstract:

Background: The increasing use of nanoparticles has raised concerns about the risks of nanoparticle release to the environment, which has adverse effects on fertility. Disruption of the expression of the USP9Y (Ubiquitin Specific Protease 9 Y chromosome) gene may cause azoospermia or oligospermia in the testes. The aim of this study was to investigate the effect of copper oxide nanoparticles on the expression of the USP9Y gene in rat testicles.

Materials and Methods: In this experimental study, 24 adult male Wistar rats were divided into three treatment groups and one control group. The treatment groups received different concentrations of copper oxide nanoparticles (0.25, 0.50 and 0.75 mg/kg) and the control group received normal saline intraperitoneally for 14 days. Then, the testicles were removed and the size and diameter of the small and large testicles were measured. Finally, the expression of the USP9Y gene was investigated by the real-time PCR method.

Results: After 14 days exposure to copper oxide nanoparticles, the rats' body weight, weight and diameter of the testicles, and the USP9Y gene expression were reduced dose-dependently in all three treatment groups.

Conclusion: It seems that exposure to copper oxide nanoparticles may have a negative effect on fertility by reducing the expression of some genes associated with fertility of the male rats, and also by reducing the weight and size of the testes.

Keywords: Oxidative nanoparticles, USP9Y gene, Testicle, Infertility, Rat

* Corresponding Author.

Email: j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

Tel: 0098 915 112 6582

Fax: 0098 513 841 6015

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2018; Vol. 22, No 2, Pages 120-127

Please cite this article as: Davoudi-Farimani S, Khayat Zade J, Homayoni-Tabrizi M. The effect of copper oxide nanoparticles on the expression of the USP9Y gene in rat testicles. *Feyz* 2018; 22(2): 120-7.

بررسی تاثیر نانوذرات اکسید مس بر بیان ژن USP9Y در بیضه موش صحرائی

سمانه داودی فریمانی^۱، جینا خیاطزاده^{۲*}، مسعود همایونی تبریزی^۳

خلاصه:

سابقه و هدف: افزایش استفاده از نانوذرات نگرانی درخصوص خطرات رهایش نانوذرات به محیط زیست ازجمله تاثیر بر باروری به وجود آورده است. اختلال در بیان ژن USP9Y (Ubiquitin Specific Protease 9 Y chromosome) می تواند باعث آرواسپرمی و یا الیگواسپرمی در بیضه گردد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر نانوذرات اکسید مس بر بیان ژن USP9Y در بیضه موش صحرائی انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار در سه گروه تیمار نانوذرات اکسید مس (غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و یک گروه شاهد نرمال سالین را به مدت ۱۴ روز به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. پس از آن بیضه ها خارج شدند. وزن و قطرهای کوچک و بزرگ بیضه اندازه گیری شد. و بیان ژن USP9Y با تکنیک Real PCR time مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: پس از ۱۴ روز مواجهه با نانوذرات اکسید مس کاهش وزن بدن، کاهش وزن و قطرهای بیضه و نیز کاهش بیان ژن USP9Y در هر سه گروه تیمار به صورت وابسته به غلظت مشاهده شد.

نتیجه گیری: مواجهه با نانوذرات اکسید مس از طریق کاهش بیان برخی ژن های مرتبط با باروری جنس نر و نیز کاهش وزن و اندازه بیضه می تواند بر باروری تاثیر منفی داشته باشد.

واژگان کلیدی: نانوذرات اکسید مس، ژن USP9Y، بیضه، ناباروری، موش صحرائی

دو ماه نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۲، خرداد و تیر ۹۷، صفحات ۱۲۷-۱۲۰

مقدمه

مس سومین عنصر فراوان بعد از روی و آهن در بدن انسان و یک کاتیون بسیار موثر در واکنش های انتقال الکترون و اتصال به مولکول های آلی می باشد. نانوذره اکسید مس در مصارف مختلفی از جمله: ابررسانه ها، حسگرهای گازی، کاتالیزورها، باتری، ساطع کننده های تشعشع میدان [۴]، تجزیه، مایع خنک کننده، رساناها و صنعت رنگ [۵] کاربرد دارد. همچنین، با فعالیت ضد میکروبی خود در زمینه های کشاورزی و پزشکی می تواند مورد استفاده قرار گیرد [۶]. نانوذرات اکسید مس ۵۰ نانومتر از اکسید مس توده- ای می باشند. در محیط آبی طبیعی نانوذرات اکسید فلز می توانند به صورت تجمعی حضور داشته باشند. بررسی ها نشان داده سمیت نانوذرات با انحلال پذیری آنها مرتبط می باشد [۷]. امروزه تغییرات زندگی صنعتی تاثیرات فراوانی را روی سلامت و بهداشت انسان ایجاد کرده است [۸]. یکی از این جنبه های سلامتی قدرت باروری فرد می باشد. در ایران شیوع نرخ ناباروری ۲۰/۲ درصد و از میانگین جهانی که ۱۲ تا ۱۵ درصد است، بالاتر می باشد. از طرف دیگر هزینه های درمان ناباروری در کشور بالاست و نیز زوجین مبتلا به نازایی درگیر بیماری های روحی و روانی شده که زندگی ایشان را تحت تاثیر قرار می دهد [۱۰،۹]. در مطالعات انجام شده روی تاثیر نانوذرات بر لوله های اسپرم ساز، نتایج نشان داده است که این ذرات باعث تغییرات بافت بیضه و وارد شدن آسیب به سلول های زایا شده [۱۱] و با القاء مسیر استرس اکسیداتیو سبب

فناوری نانو ساخت و کنترل مواد در ابعاد بین ۱۰۰-۱ نانومتر است. نانومواد سنتزی به طور گسترده در علوم پزشکی، زیست فناوری، شیلات و کشاورزی استفاده می شوند [۱]. به دنبال پیشرفت های اخیر در زمینه نانو تکنولوژی، نانوذرات اکسید فلز می توانند در زمینه های مختلف از مواد نوری-الکترونیکی گرفته تا حسگرها، پاک سازی محیط و زیست پزشکی مورد استفاده قرار گیرند [۲]. ذرات نانو علی رغم فواید زیاد، می توانند دارای سمیت و خطرات احتمالی نیز باشند. استنشاق این ترکیبات می تواند با پاسخ هایی همچون التهاب مزمن و تولید رادیکال های آزاد اکسیژن همراه باشد. یکی از مهم ترین نانوذرات اکسیدهای فلزی که در سال های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته اند، اکسید مس می باشد [۳].

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

^۲ استادیار، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

خراسان رضوی، مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۹۱۵۱۱۲۶۵۸۲ | دورنویس: ۰۵۱۳۸۴۱۶۰۱۵

پست الکترونیک: j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۲۱ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۲/۵

نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند [۱۳]. موش-های صحرایی به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی زیر تقسیم شدند: گروه شاهد (دریافت کننده ۰/۵ mg/kg نرمال سالین) و گروه‌های تجربی دریافت کننده نانوذرات اکسید مس با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم. نانوذرات اکسید مس با قطر ۶۰-۲۰ نانومتر از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان (پارس ستر) خریداری گردید. از XRD-STM جهت ارزیابی ذرات و فاکتور-های موجود در محلول نانو استفاده شد. سپس، نانوذره اکسید مس در دوزهای مذکور در نرمال سالین ۰/۹ درصد و با استفاده از اولتراسونیکیتور به مدت ۱۰ دقیقه حل شده و بلافاصله به حیوانات تزریق شد. به منظور جلوگیری از رسوب نانوذرات، هر روز سونیکه کردن تکرار می‌شد. بر اساس مطالعه انجام شده، این دوزها سمی و یا کشنده نبودند. محلول به دست آمده به مدت ۱۴ روز، روزی یکبار و به صورت داخل صفاقی تزریق شد [۱۴]. با گذشت ۱۴ روز از آغاز تیمار موش‌ها توسط کتامین بیهوش شده و سپس کشته و کالبد شکافی شدند. بیضه چپ آنها از بدن جدا شد و وزن بیضه با ترازوی دیجیتال (Sartorius، آلمان) اندازه‌گیری شد. همچنین، قطره‌های کوچک و بزرگ بیضه از طریق کولیس دیجیتال (AACO، چین) اندازه‌گیری شد. مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه بیضه برداشته شد و سپس استخراج RNA با استفاده از کیت شرکت دنایست آسیا طبق پروتوکل این شرکت انجام شد. پس از انجام بررسی‌های کمی و کیفی RNA، ۲ میکرولیتر از آن برای ساخت cDNA مورد استفاده قرار گرفت. جهت ساخت cDNA از کیت فرمتاز استفاده شد و تمامی مراحل مطابق پروتوکل این کیت انجام گردید. از Real time PCR برای سنجش بیان ژن *Usp9y* به عنوان ژن‌های هدف استفاده گردید و بتا اکتین به عنوان ژن ساختمانی جهت کنترل داخلی استفاده شد. بیان نسبی ژن‌ها سنجش گردید و سپس این بیان نسبی برای هر تکرار و هر تیمار به نرم-افزار SPSS و ویرایش ۱۶ منتقل گردید و برای مقایسه از آزمون ANOVA و پس آزمون LSD استفاده شد. همچنین، سطح اطمینان ۰/۰۵ برای محاسبات در نظر گرفته شد.

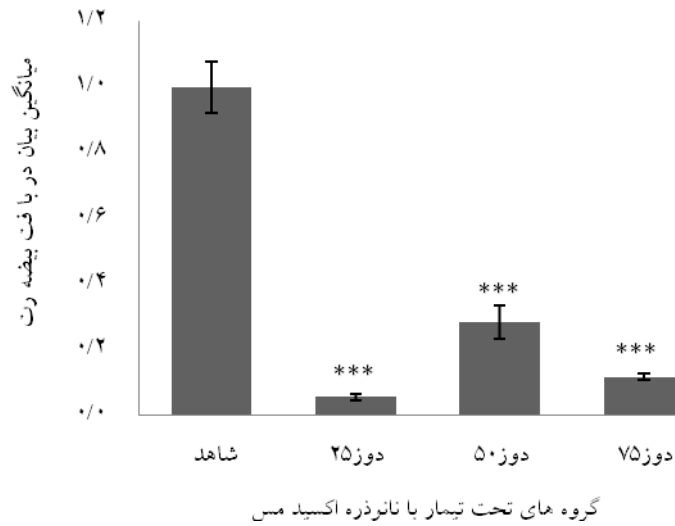
نتایج

مطابق با نمودار شماره ۱، مقایسه میانگین بیان ژن *Usp9Y* در بیضه موش‌های صحرایی دریافت‌کننده دوزهای ۰/۲۵ mg/kg، ۰/۵ و ۰/۷۵ کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد.

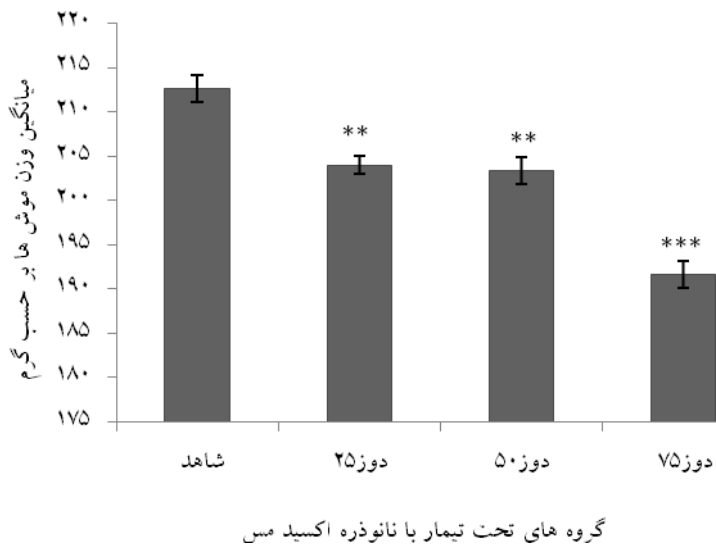
کاهش شدید سلول‌های لایدیگ، قابلیت حیاتی اسپرم و همچنین بیان برخی از ژن‌ها می‌شوند [۱۲]. به علاوه، نانوذرات با مکانیسم-های متعددی سبب افزایش سطح رادیکال‌های آزاد می‌گردند. بنابراین انتظار می‌رود که درصد اسپرم‌های با DNA آسیب دیده و جهش‌یافته نیز در حیوانات مورد آزمایش افزایش یابد [۱۳]. در-خصوص سایر مکانیسم‌های احتمالی تاثیر نانوذرات می‌توان گفت این ذرات فلزی می‌توانند باعث افزایش استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد شوند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که گونه‌های واکنشی اکسیژن در شرایط فیزیولوژیک نقش بسیار مهمی در فرآیندهای پیام‌رسانی داخل سلولی دارند. از طرف دیگر، طی دهه اخیر مشخص شده گونه‌های واکنشی اکسیژن در ایجاد بخش عمده‌ای از انواع ناباروری‌های مردان نقش دارند. در شرایط پاتولوژیک گونه‌های واکنشی اکسیژن از طریق اختلال در فرایند اسپرماتوژنز، عملکردها و ساختار اسپرم (تحرك، قابلیت بقا، واکنش آکروزومی، اتصال اسپرم به تخمک، آسیب به DNA و غشا) و حتی کاهش شانس لقاح و لانه‌گزینی منجر به ناباروری می‌شوند [۱۴]. پیشنهاد شده است که ناباروری در مردان می‌تواند حاصل جهش و یا دیگر تغییرات در ژن‌های درگیر در اسپرماتوژنز باشد [۱۵]. ریزحذفی در کروموزوم Y یکی از عوامل مهم در عقیمی مردان است [۹]. یکی از ژن‌های مهم در روند اسپرماتوژنز ژن *USP9Y* می‌باشد که در منطقه AZF a بازوی بلند کروموزوم Y قرار گرفته و دارای ۴۶ اگزون می‌باشد [۱۶]. طبق بررسی‌های انجام شده حذف ژن *USP9Y* می‌تواند باعث آژواسپرمی و یا الیگواسپرمی گردد [۱۷، ۱۸]. همچنین، جهش در اگزون شماره ۱۲ این ژن مسئول آژواسپرمی شناخته شده است [۱۶]. علی‌رغم استفاده روبه‌رشد از نانو ذرات، اطلاعات درباره اثرات سمی نانو ذرات بر سیستم تولید مثلی و بر سلامت انسان و سایر جانداران بسیار محدود است. با توجه به اینکه در بررسی‌های به عمل آمده تاکنون تحقیقی در خصوص تاثیر نانوذرات اکسید مس بر باروری انجام نشده است، پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر نانوذرات اکسید مس بر بیان ژن *USP9Y* در بافت بیضه موش صحرایی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

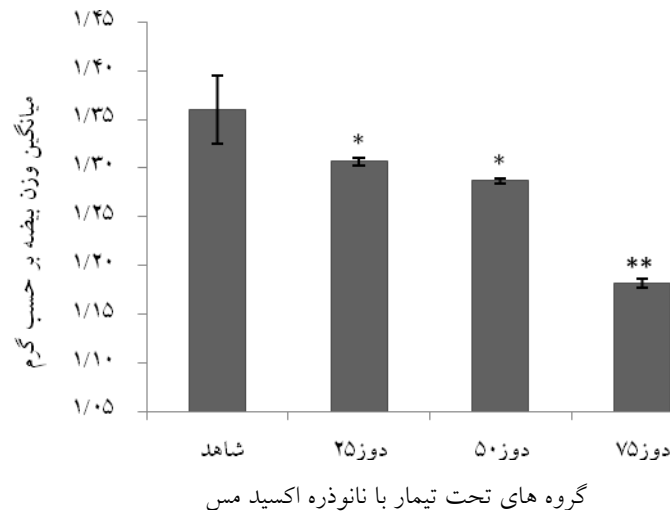
برای انجام مطالعه تجربی حاضر از ۲۴ سر موش صحرایی نر جوان بالغ در محدوده وزنی $197/50 \pm 4/48$ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۳۰-۲۵ درصد



نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین بیان ژن USP9Y در بیضه موش‌های صحرائی میله‌های ستاره‌دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه دارای کاهش معنی‌دار می‌باشند ($P \leq 0.05$).



نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین وزن موش‌های صحرائی (گرم) در گروه‌های مورد مطالعه میله‌های ستاره‌دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه دارای کاهش معنی‌دار می‌باشند ($P \leq 0.05$).

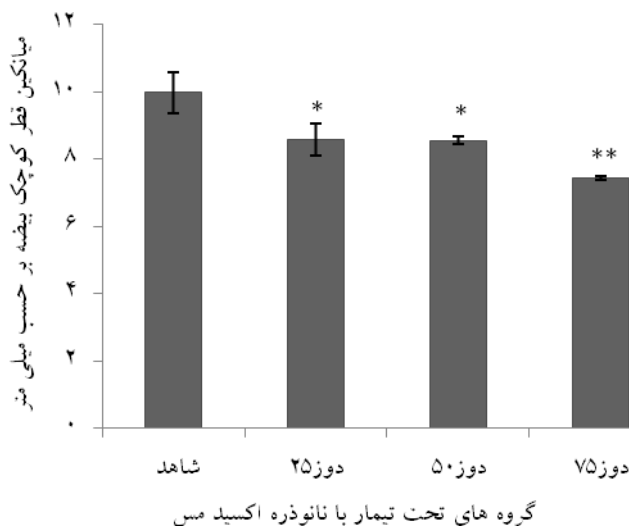


نمودار شماره ۳- مقایسه میانگین وزن بیضه موش‌های صحرایی (گرم) در گروه‌های مورد مطالعه میله‌های ستاره‌دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه دارای کاهش معنی‌دار می‌باشند ($P \leq 0/05$).

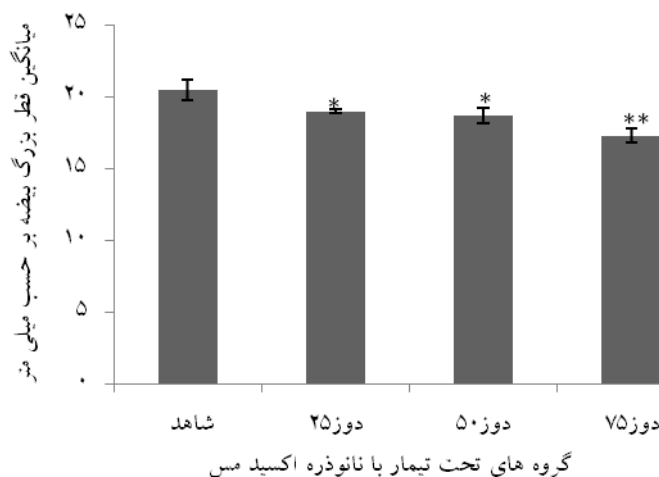
مقایسه میانگین وزن موش‌های صحرایی دریافت کننده تیمار با دوز-های ۰/۲۵ (۰/۲۵/۰۰±۱/۰۰) گرم، ۰/۵۰ (۰/۲۳/۳۳±۱/۵۳) گرم و ۰/۷۵ mg/kg (۱۹۱/۶۷±۱/۵۳) گرم با گروه شاهد (۲۱۲/۶۷±۱/۵۳) گرم کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$). بر اساس نمودار شماره ۳، مقایسه میانگین وزن بیضه موش‌ها در گروه‌های ۰/۲۵ و ۰/۵۰ mg/kg تفاوت معنی‌داری نداشت و اختلاف این دو گروه با گروه شاهد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین قطر کوچک بیضه موش‌های صحرایی دریافت کننده تیمار با دوزهای ۰/۲۵ (۸/۶۰±۰/۴۷۹) میلی‌متر، ۰/۵۰ (۸/۵۶±۰/۱۰۸) میلی‌متر و ۰/۷۵ mg/kg (۷/۴۵±۰/۰۵۲) میلی‌متر با گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). بر اساس نمودار شماره ۴، موش‌ها در گروه‌های ۰/۲۵ و ۰/۵۰ mg/kg تفاوت معنی‌داری نداشت و اختلاف این دو گروه با گروه شاهد معنی‌دار بود.

مقایسه میانگین قطر کوچک بیضه بر حسب میلی‌متر

گروه	میانگین قطر کوچک بیضه (میلی‌متر)
شاهد	~10
دوز ۲۵	~8.5*
دوز ۵۰	~8.5*
دوز ۷۵	~7.5**



نمودار شماره ۴- مقایسه میانگین قطر کوچک بیضه موش‌های صحرایی (گرم) در گروه‌های مورد مطالعه میله‌های ستاره‌دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه دارای کاهش معنی‌دار می‌باشند ($P \leq 0/05$).



نمودار شماره ۵- مقایسه میانگین مجموع قطر بزرگ بیضه موش‌های صحرائی (گرم) در گروه‌های مورد مطالعه میله‌های ستاره‌دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه دارای کاهش معنی‌دار می‌باشند ($P \leq 0.05$).

منجر به کاهش قابل‌توجهی در زنده ماندن سلول‌ها، تغییر در چرخه سلولی و افزایش فرکانس سلول‌ها در مراحل G1، G2 و M می‌گردد [۱۹]. در مطالعه انجام شده فعلی نیز نانوذره اکسید مس باعث کاهش بیان ژن مرتبط با باروری شد. نتایج مطالعه Csilla Krausz و همکاران نشان داد ژن USP9Y مربوط به منطقه AZFa بوده و حذف آن با فقدان کامل سلول‌های اسپرم در بیضه همراه است. همچنین، جهش یا حذف این ژن در نمونه اسپرم مردان نابارور دیده شد [۱۲]. نتایج یک مطالعه دیگر نیز نشان داد که ژن USP9Y در منطقه AZFa قرار داشته و در روند اسپرماتوزن دخالت دارد. همچنین، بیان شده است که حذف این ژن می‌تواند باعث آزو اسپرمی و الیگواسپرمی گردد [۲۰]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد میانگین وزن بدن، وزن بیضه، قطر کوچک و قطر بزرگ بیضه در موش‌های تحت تیمار با غلظت‌های مختلف نانو ذره مس پس از ۱۴ روز کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد داشت. این اثرات وابسته به غلظت بوده و غلظت mg/kg ۰/۷۵ بیشترین سمیت را نشان داد. بیان شده است که آسیب‌های ناشی از نانوذرات مس به‌طور بالقوه ممکن است منجر به ناهنجاری و عقب‌ماندگی رشدونمو جنین در موش باردار شود [۴]. نتایج یک مطالعه انجام شده روی گورخر ماهی نشان داد نانوذره اکسید مس با قطر ۱۰۰ nm و غلظت ۳۰ mg/l از فعالیت پمپ Na^+/K^+ ATPase جلوگیری کرده و باعث تکثیر سلول‌های بین تیغه‌ای آبشش می‌گردد. اندازه‌گیری شاخص‌های رشد در این مطالعه نشان داد که غلظت مصرفی نانوذره باعث کاهش رشد گروه تیمار نسبت به گروه شاهد شده، درحالی‌که آسیب هیستوپاتولوژیکی و بیوشیمیایی در سایر اندام‌ها و همچنین مرگ‌ومیر مشاهده نشد [۱۵]. این کاهش عملکرد رشد احتمالاً به دلیل افزایش سوخت‌وساز بدن

مقایسه میانگین قطر بزرگ بیضه موش‌های صحرائی دریافت کننده تیمار با دوزهای ۰/۲۵ (۱۸/۹۸۳±۰/۱۴۰ میلی‌متر)، ۰/۵۰ (۱۷/۲۸۷±۰/۴۷۷) ۰/۷۵ mg/kg و ۱۸/۷۰۷±۰/۵۵۵ میلی‌متر) با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). بر اساس نمودار شماره ۵، موش‌ها در گروه‌های ۰/۲۵ و ۰/۵۰ تفاوت معنی‌داری نداشتند و اختلاف این دو گروه با گروه ۰/۷۵ mg/kg معنی‌دار بود.

بحث

تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر نانوذرات اکسید مس بر بیان ژن USP9Y در بافت بیضه، وزن بدن، وزن بیضه و نیز قطرهای بیضه موش صحرائی انجام شد. در بازه زمانی مورد مطالعه مرگ‌ومیری مشاهده نشد. بر اساس نتایج غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نانوذره اکسید مس با قطر ۶۰-۲۰ نانومتر به‌صورت غلظت زیرکشنده بودند و منجر به کاهش وزن بدن، وزن بیضه و قطرهای بیضه شدند. نمودار شماره ۱ نشان داد میانگین بیان ژن USP9Y در بیضه موش‌های تحت تیمار با غلظت‌های مختلف نانوذره مس پس از ۱۴ روز کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد داشت. تا کنون مطالعه‌ای درخصوص تاثیر نانوذرات اکسید مس بر بیان ژن USP9Y انجام نشده است. از نتایج سایر مطالعات، سمیت این نانوذره نتیجه‌گیری شد. Karlson و همکارانش با مقایسه نانو ذرات مختلف CuO، Fe_2O_4 ، Fe_3O_4 و TiO_2 روی رده سلولی A549 (بافت اپی‌تلیال ریه انسانی) نانو اکسید مس را سمی‌ترین نانو‌ها از نظر وارد کردن آسیب بر DNA معرفی نموده‌اند [۱۸]. بیان شده است که قرار گرفتن سلول‌های اپی‌تلیالی A549 ریه انسان در معرض CuO

مطالعات انجام شده نانوذرات فلزی می‌توانند باعث استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن شوند. از طرف دیگر، طی دهه اخیر مشخص شده است که گونه‌های واکنشی اکسیژن در ایجاد بخش عمده‌ای از انواع ناباروری‌های مردان نقش دارند و علت آن تولید بیش از حد گونه‌های واکنشی اکسیژن در دستگاه تناسلی و اسپرم می‌باشد [۲۲]. تمامی پژوهش‌های ذکر شده نشان‌دهنده این موضوع است که احتمالاً نانوذرات می‌توانند منجر به کاهش باروری شوند و این نتیجه‌گیری با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت مواجهه با نانوذرات اکسید مس از طریق کاهش بیان برخی ژن‌های مرتبط با باروری جنس نر و نیز کاهش وزن و اندازه بیضه می‌تواند بر باروری تاثیر منفی داشته باشد. لذا ضمن ضرورت گسترش مطالعات دقیق‌تر در زمینه بافت بیضه و سایر عوامل موثر بر باروری مردان، توجه به هشدارهای زیست‌محیطی در این زمینه نیز مهم می‌نماید.

تشکر و قدردانی

این طرح با هزینه شخصی انجام شده است. از کلیه افرادی که به هر نحو در انجام این پایان‌نامه ما را حمایت کردند تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

- [1] Khosravi Zade N, Sourji Nejjhad I, Johari A, Ghasemi Z. Effects of acute and chronic toxicity of copper nanoparticles on survival and tissue damage in the white shrimp hepatopancreas and gills. *Litopenaeus Vannamei* 2016, Comparative pathobiology: 1517-26. [in Persian]
- [2] Seyedalipour B, Barimani N, Dehpour Jooybari A, Hoseini SM, Oshrieh M. Histopathological Evaluation of Kidney and Heart Tissues after Exposure to Copper Oxide Nanoparticles in *Mus musculus*. *J Babol Univ Med Sci* 2015; 17(7): 44-50. [in Persian]
- [3] Fattahian Dehkordi R, Heidarneghad S, Ameri A. The effects of zinc oxide nanoparticles on histology male sex gland and its impact on sexual factors in serum. *J Cell Tissue* 2015; 6(2): 187-94. [in Persian]
- [4] Seyedalipour B, Barimani N, Hoseini SM. Embryonic malformations following exposure to copper oxide nanoparticles in *Mus musculus*. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2015; 17(5): 23-32. [in Persian]

جهت سم‌زدایی و حفظ تعادل اتفاق می‌افتد. قرار گرفتن در معرض غلظت‌های بالای مس تنظیمات فیزیولوژیکی و متابولیکی را تغییر می‌دهد [۱۶]. درواقع ذرات مغناطیسی (مانند نانوذرات فلزی) تحت تاثیر میدان مغناطیسی بسته به اندازه و شکل نانوذرات تجمع کرده یا به‌صورت زنجیره ردیف می‌شوند که منجر به آمبولیزاسیون رگ‌های خونی به‌خصوص مویرگ‌های با قطر ۱۰-۷ میکرومتر می‌شود. این اتفاق می‌تواند جریان خون را بلوکه کرده و در نهایت موجب کاهش اکسیژن‌رسانی به بافت هدف و هایپوکسی و نکروزه شدن بافت شود [۱۷]. فرضیه‌ای وجود دارد که نانوذرات با اندازه کوچک قادر به نفوذ از سد خونی-بیضه‌ای می‌باشند و بر طبق فرضیه 'Elevator door' بعد از مواجهه با نانوذرات به‌دلیل ایجاد یک پاسخ التهابی اندازه شکاف سد خونی-بیضه‌ای بزرگ‌تر می‌شود. به همین دلیل نانوذرات کوچک‌تر می‌توانند از سد عبور کنند و بعضی از نانوذرات که بزرگ‌تر هستند، احتمالاً پشت سد می‌مانند. به‌هرحال، مکانیسم‌های مولکولی دخیل در سمیت نانو-ذرات بر اسپرماتوزئوز هنوز به‌طور واضح مشخص نشده و گفته شده است که اثرات سمی نانوذرات به تاثیر آنها بر اسکلت سلولی بر می‌گردد و سپس غشای هسته‌ای به هم می‌ریزد. به‌علاوه، احتمالاً نانوذرات توسط سلول‌های اسپرماتوزئیک 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 [۲۱]. همچنین، درخصوص سایر مکانیسم‌های احتمالی تاثیر نانوذرات می‌توان گفت بر اساس

- [5] Rinkesh Vishnu K, Sandesh J, Abhijeet S. Synthesis of Copper / Copper Oxide Nanoparticles in Eco-Friendly and Non-Toxic Manner from Floral Extract of *Caesalpinia pulcherrima*. *IJRITCC* 2016; 4(4): 363-6.
- [6] Shobha G, Moses V, Ananda S. Biological Synthesis of Copper Nanoparticles and its impact-a Review. *Int J Pharm Sci Invent* 2014; 3(8): 28-33.
- [7] Mortimer M, Kasemets K, Kahru A. Toxicity of ZnO and CuO nanoparticles to ciliated protozoa *Tetrahymena thermophila*. *Toxicology* 2010; 269(2-3): 182-9.
- [8] Dehghani R. Human - Environment and Illness: Kashan Medical University Publishers. 2015. [in Persian]
- [9] Vahidi S, Ardalan A, Mohammad K. The prevalence of primary infertility in the Islamic Republic of Iran. *Asia-Pacific J Public Health* 2007; 21(3): 243-51. [in Persian]
- [10] Karam Zade A, Mirzapour H, Kheyrollahi M. Genetic factors of male infertility. *J Med Univ Esfahan* 2014; 31(246): 1149-62. [in Persian]

- [11] Tyler-Smith C. An evolutionary perspective on Y-chromosomal variation and male infertility. *Int J Androl* 2008; 31(4): 376-82.
- [12] Krausz C, Degl'Innocenti S, Nuti F, Morelli A, Felici F, Sansone M, et al. Natural transmission of USP9Y gene mutations: a new perspective on the role of AZFa genes in male fertility. *Hum Mol Genet* 2006; 15(18): 2673-81.
- [13] Tapiero H, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother* 2003; 57(9): 399-411.
- [14] Kurkure RV, Jaybhaye S, Sangle A. Synthesis of Copper / Copper Oxide Nanoparticles in Eco-Friendly and Non-Toxic Manner from Floral Extract of *Caesalpinia pulcherrima*. *IJRITCC* 2016; 4(4): 363-6.
- [15] Griffitt RJ, Hyndman K, Denslow ND, Barber DS. Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed to metallic nanoparticles. *Toxicol Sci* 2009; 107(2): 404-15.
- [16] Abad-Rosales SM, Frias-Espericueta MG, Osuna F, Lozano-Olvera R, Voltolina D. 2010: shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Histological effects of Cu²⁺ to white Decapoda juveniles at low salinities. *Rev Biol Mar Oceanogr* 45(1): 99-105.
- [17] Chomouckaa J, Drbohlovaa J, Huskab D, Adamb V, Kizekb R, Hubaleka J. Magnetic nanoparticles and targeted drug delivering. *Pharmacol Res* 2010; 62(2): 144-9.
- [18] Karlsson HL, Cronholm P, Gustafsson J, Moller L. Copper Oxide Nanoparticles are highly toxic: A comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. *Chem Res Toxicol* 2008; 21(9): 1726-32.
- [19] Moschini E, Gualtieri M, Gallinotti D, Pezzolato E, Fascio U, Camatini M, Mantecca P. Metal oxide nanoparticles induce cytotoxic effects on human lung epithelial cells A549. *Chemical Engineering Transaction* 2010; 22: 29-34.
- [20] Kim JA, Lee N, Kim BH, Rhee WJ, Yoon S, Hyeon T, Park TH. Enhancement of neurite outgrowth in PC12 cells by iron oxide nanoparticles. *Biomaterials* 2011; 32(11): 2871-7.
- [21] Kyjovska ZO, Boisen AM, Jackson P, Wallin H, Vogel U, Hougaard KS. Daily sperm production: Application in studies of prenatal exposure nanoparticles in mice. *Reproductive Toxicol* 2013; 36: 88-97.
- [22] Fanaei H, Azizi Y, Khayat S. Role of Oxidative Stress in Male Infertility. *J Fasa Univ Med Sci* 2013; 3(2): 93-103. [in Persian]