

## **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 صحرایی

سمانه داودی فریمانی<sup>۱</sup>، جینا خیاطزاده<sup>۲\*</sup>، مسعود همایونی تبریزی<sup>۳</sup>

## 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) می‌تواند باعث آزواسپرمی 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 روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در سه گروه تیمار نانوذرات اکسید مس (غلظت‌های ۰/۷۵، ۰/۵۰ و ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و یک گروه شاهد نرمال سالین را به مدت ۱۴ روز به صورت داخلی صفائی دریافت کردند. پس از آن بیضه‌ها خارج شدند. وزن و قطرهای کوچک و بزرگ بیضه اندازه‌گیری شد. و بیان ژن USP9Y با تکیک Real PCR time مورد بررسی قرار گرفت.

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

**نتیجه‌گیری:** 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.

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

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

## مقدمه

فناوری نانو ساخت و کنترل مواد در ابعاد بین ۱-۱۰۰ نانومتر است. نانومواد سنتزی به طور گسترده در علوم پزشکی، زیست‌فناوری، شیلات و کشاورزی استفاده می‌شوند [۱]. به دنبال پیشرفت‌های اخیر در زمینه نانوتکنولوژی، نانوذرات اکسید فلز می‌توانند در زمینه‌های مختلف از مواد نوری-کترونیکی گرفته تا حسگرها، پاکسازی محیط و زیست‌پژوهشی مورد استفاده قرار گیرند [۲]. ذرات نانو علی‌رغم فواید زیاد، می‌توانند دارای سمتی و خطرات احتمالی نیز باشند. استنشاق این ترکیبات می‌تواند با پاسخ-هایی همچون التهاب مزمن و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن همراه باشد. یکی از مهم‌ترین نانوذرات اکسیدهای فلزی که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند، اکسید مس می‌باشد [۳].

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

\***لشائی ذیسنه مسئله:**

خراسان رضوی، مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

تلفن: ۰۵۱۳۸۴۱۶۰۱۵، دورنیوس: ۹۱۵۱۱۲۶۵۸۲.

پست‌الکترونیک: j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

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

مس سومین عنصر فراوان بعد از روی و آهن در بدن انسان و یک کاتیون بسیار موثر در واکنش‌های انتقال الکترون و اتصال به مولکول‌های آلی می‌باشد. نانوذره اکسید مس در مصارف مختلفی ازجمله: ابرسانه‌ها، حسگرهای گازی، کاتالیزورها، باتری، ساطع کننده‌های تشعشع میدان [۴]، تجزیه، مایع خنک‌کننده، رساناها و صنعت رنگ [۵] کاربرد دارد. همچنین، با فعالیت ضدمیکروبی خود در زمینه‌های کشاورزی و پزشکی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد [۶]. نانوذرات اکسید مس ۵۰ بار سمعی تر از اکسید مس توده-ای می‌باشد. در محیط آبی طبیعی نانوذرات اکسید فلز می‌تواند به صورت تجمعی حضور داشته باشد. بررسی‌ها نشان داده سمتی نانوذرات با اتحال‌پذیری آنها مرتبط می‌باشد [۷]. امروزه تغییرات زندگی صنعتی تاثیرات فراوانی را روی سلامت و بهداشت انسان ایجاد کرده است [۸]. یکی از این جنبه‌های سلامتی قدرت باروری فرد می‌باشد. در ایران شیوع نرخ ناباروری ۲۰/۲ درصد و از میانگین جهانی که ۱۲ تا ۱۵ درصد است، بالاتر می‌باشد. از طرف دیگر هزینه‌های درمان ناباروری در کشور بالاست و نیز زوجین مبتلا به نازایی در گیر بیماری‌های روحی و روانی شده که زندگی ایشان را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۹، ۱۰]. در مطالعات انجام شده روی تاثیر نانوذرات بر لوله‌های اسپرم‌ساز، نتایج نشان داده است که این ذرات باعث تغییرات بافت بیضه و وارد شدن آسیب به سلول‌های زایا شده [۱۱] و با القاء مسیر استرس اکسیداتیو سبب

نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند [۱۳]. موش‌های صحرایی به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی زیر تقسیم شدند: گروه شاهد (دربافت کننده  $0/5 \text{ mg/kg}$ ) و گروه‌های تجربی دریافت کننده نانوذرات اکسید مس با غلظت‌های  $0/25$ ،  $0/50$  و  $0/75 \text{ میلی گرم بر کیلوگرم}$ . نانوذرات اکسید مس با قطر  $20-60 \text{ نانومتر}$  از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان (پارس ستر) خریداری گردید. از XRD-STM جهت ارزیابی ذرات و فاکتورهای موجود در محلول نانو استفاده شد. سپس، نانوذره اکسید مس در دوزهای مذکور در نرمال سالین  $0/9 \text{ درصد}$  و با استفاده از اولتراسونیکیتور به مدت  $10 \text{ دقیقه}$  حل شده و بالافاصله 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 بدست آمده به مدت  $14 \text{ روز}$ ، روزی یکبار و به صورت داخل صفاقی تزریق شد [۱۴]. با گذشت  $14 \text{ روز}$  از آغاز تیمار موش‌ها توسط کتابین 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، قطرهای کوچک و بزرگ بیضه از طریق کولیس دیجیتال (AACO، چین) اندازه‌گیری شد. مقدار  $100 \text{ میلی گرم}$  از بافت تازه بیضه برداشته شد و سپس استخراج RNA با استفاده از کیت شرکت دنازیست آسیا طبق پروتوكل این شرکت انجام شد. پس از انجام بررسی‌های کمی و کیفی RNA،  $2 \text{ میکرولیتر}$  از آن برای ساخت cDNA مورد استفاده قرار گرفت. جهت ساخت cDNA از کیت فرماتاز استفاده شد و تمامی مراحل مطابق پروتوكل 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 نرم‌افزار SPSS ویرایش  $16$  متقل گردید و برای مقایسه از آزمون ANOVA و پس آزمون LSD استفاده شد. همچنین، سطح اطمینان  $0/05$  برای محاسبات در نظر گرفته شد.

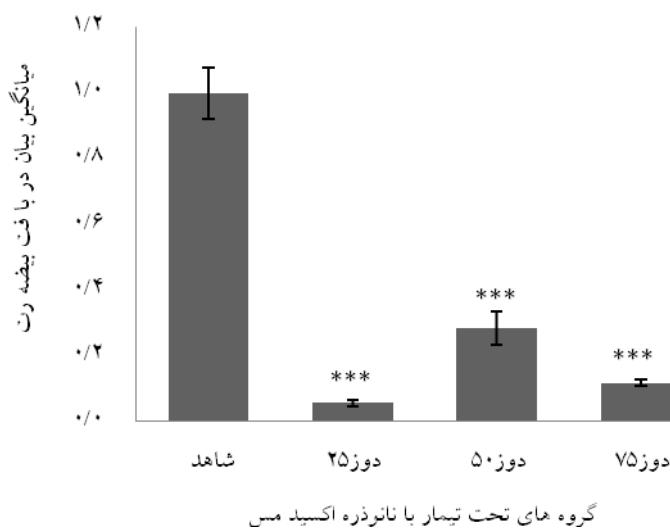
## نتایج

مطابق با نمودار شماره  $1$ ، مقایسه میانگین بیان ژن Usp9Y در بیضه موش‌های صحرائی دریافت کننده دوزهای  $0/25$  و  $0/50$  و  $0/75 \text{ mg/kg}$  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 مکانیسم‌های متعددی سبب افزایش سطح رادیکال‌های آزاد می‌گردد. 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 پیام‌رانی 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 اسپرماتوژن، عملکردها و ساختار اسپرم (تحرک، قابلیت بقا، واکنش آکروزومی، اتصال اسپرم به تخمک، آسیب به DNA و غشای...) و حتی کاهش شانس لقاح و لانه گزینی منجر به ناباروری می‌شوند [۱۴]. پیشنهاد شده است که ناباروری در مردان می‌تواند حاصل جهش و یا دیگر تغییرات در ژن‌های درگیر در اسپرماتوژن باشد [۱۵]. ریزحدفی در کروموزوم Y یکی از عوامل مهم در عقیمی مردان است [۹]. یکی از ژن‌های مهم در روند اسپرماتوژن ژن USP9Y می‌باشد که در منطقه a AZF بازوی بلند کروموزوم Y قرار گرفته و دارای  $46$  اگزون می‌باشد [۱۶]. طبق بررسی‌های انجام شده حذف ژن USP9Y می‌تواند باعث آزواسپرمی و یا الیگواسپرمی گردد [۱۷، ۱۸]. همچنین، جهش در اگزون شماره  $12$  این ژن مسئول آزواسپرمی شناخته شده است [۱۶]. علی‌رغم استفاده روبرو شد از نانو ذرات، اطلاعات درباره اثرات سمتی 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.

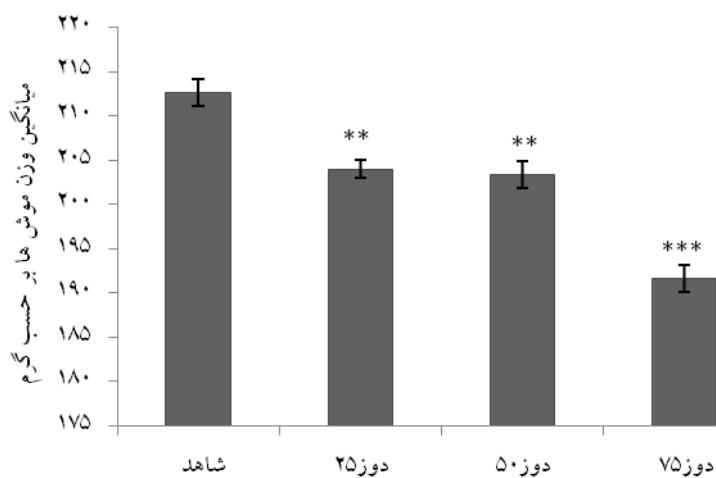
## مواد و روش‌ها

برای انجام مطالعه تجربی حاضر از  $24$  سر موش صحرایی نر جوان بالغ در محدوده وزنی  $197/50 \pm 4/48 \text{ گرم}$  استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد  $12$  ساعت روشنایی و  $12$  ساعت تاریکی، حرارت  $25$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت  $25-30 \text{ درصد}$



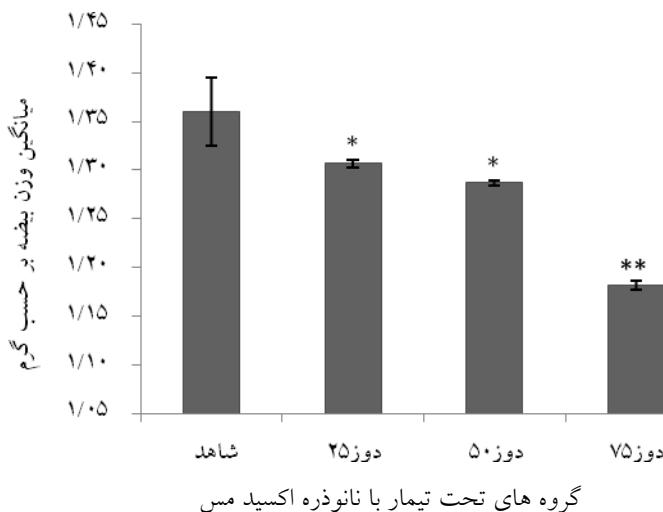
نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین بیان ژن USP9Y در بیضه موش های صحرایی

میله های ستاره دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه دارای کاهش معنی دار می باشند ( $P \leq 0.05$ ).



نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین وزن موش های صحرایی (گرم) در گروه های مورد مطالعه

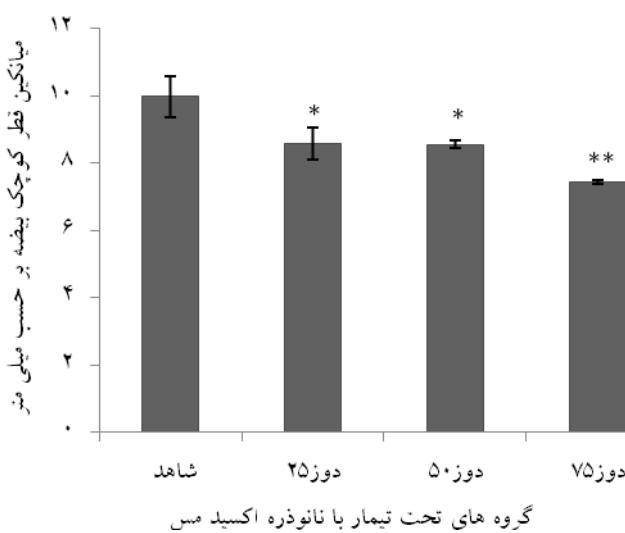
میله های ستاره دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه دارای کاهش معنی دار می باشند ( $P \leq 0.05$ ).



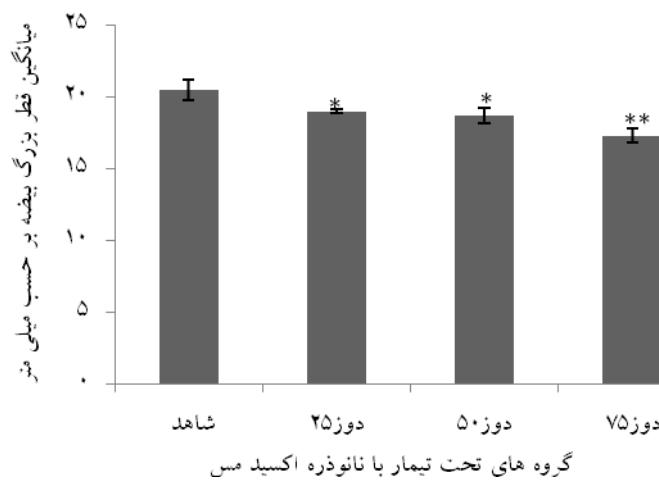
نمودار شماره ۳- مقایسه میانگین وزن بیضه موش های صحرایی (گرم) در گروه های مورد مطالعه میله های ستاره دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه داری کاهش معنی دار می باشند ( $P \leq 0.05$ ).

( $P < 0.05$ ). بر اساس نمودار شماره ۳، مقایسه میانگین وزن بیضه موش ها در گروه های ۰/۲۵ و ۰/۵۰ mg/kg ۰/۵۰ تفاوت معنی داری نداشت و اختلاف این دو گروه با گروه ۰/۷۵ mg/kg معنی دار بود. مقایسه میانگین قطر کوچک بیضه موش های صحرایی دریافت کننده تیمار با دوزهای ۰/۲۵ و ۰/۴۷۹ (۸/۶۰۰±۰/۴۷۹ میلی متر)، ۰/۵۰ (۷/۴۵۰±۰/۰۵۲ میلی متر) با گروه شاهد کاهش معنی داری نشان داد ( $P < 0.05$ ). بر اساس نمودار شماره ۴، موش ها در گروه های ۰/۲۵ و ۰/۵۰ تفاوت معنی داری نداشت و خلاف این دو گروه با گروه ۰/۷۵ mg/kg معنی دار بود.

مقایسه میانگین وزن موش های صحرایی دریافت کننده تیمار با دوزهای ۰/۲۵ (۰/۰۰±۱/۰۰ گرم)، ۰/۵۰ (۰/۰۴±۰/۰۰ گرم) و ۰/۷۵ (۰/۱۵±۰/۰۳ گرم) با گروه شاهد (۰/۱۹۱±۰/۰۷۶ گرم) کاهش معنی داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). بر اساس نمودار شماره ۲، میانگین وزن موش ها در گروه های ۰/۲۵ و ۰/۵۰ تفاوت معنی داری نداشت و اختلاف این دو گروه با گروه ۰/۷۵ mg/kg معنی دار بود. همچنین، مقایسه میانگین وزن بیضه موش های صحرایی دریافت کننده تیمار با دوزهای ۰/۲۵ (۱/۳۰۶۹±۰/۰۰۴۱ گرم)، ۰/۵۰ (۱/۲۸۶۸±۰/۰۰۲۸ گرم) و ۰/۷۵ (۱/۱۸۱۴±۰/۰۰۴۷ گرم) با گروه شاهد (۱/۳۶۰۰±۰/۰۳۵۰ گرم) کاهش معنی داری را نشان داد



نمودار شماره ۴- مقایسه میانگین قطر کوچک بیضه موش های صحرایی (گرم) در گروه های مورد مطالعه میله های ستاره دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه داری کاهش معنی دار می باشند ( $P \leq 0.05$ ).



نمودار شماره ۵- مقایسه میانگین مجموع قطر بزرگ بیضه موش های صحرائی (گرم) در گروه های مورد مطالعه میله های ستاره دار در مقایسه با گروه شاهد نشانه داری کاهش معنی دار می باشند ( $P \leq 0.05$ ).

منجر به کاهش قابل توجهی در زنده ماندن سلول ها، تغییر در چرخه سلولی و افزایش فرانکانس سلول ها در مراحل G1, G2 و M می گردد [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 سلول های اسپرم در بیضه همراه است. همچنین، جهش یا حذف این ژن در نمونه اسپرم مردان نابارور دیده شد [۲۰]. نتایج یک مطالعه دیگر نیز نشان داد که ژن USP9Y در منطقه AZFa قرار داشته و در روند اسپرماتوژن دخالت دارد. همچنین، بیان شده است که حذف این ژن می تواند باعث آزو اسپرمی و الیگو اسپرمی گردد [۲۰]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد میانگین وزن بدنه، وزن بیضه، قطر کوچک و قطر بزرگ بیضه در موش های تحت تیمار با غلظت های مختلف نانوذره مس پس از ۱۴ روز کاهش معنی داری در مقایسه با گروه شاهد داشت. این اثرات وابسته به غلظت بوده و غلظت mg/kg ۰/۷۵ پیشترین سمیت را نشان داد. بیان شده است که آسیب های ناشی از نانوذرات مس به طور بالقوه ممکن است منجر به ناهنجاری و عقب ماندگی رشد و نمو جنین در موش باردار شود [۲۱]. 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  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase جلوگیری کرده و باعث تکثیر سلول های بین تغییراتی آبیش می گردد. اندازه گیری شاخص های رشد در این مطالعه نشان داد که غلظت مصرفی نانوذره باعث کاهش رشد گروه تیمار نسبت به گروه شاهد شده، درحالی که آسیب هیستو پاتولوژی کی و بیو-شیمیایی در سایر اندام ها و همچنین مرگ و میر مشاهده نشد [۲۲]. این کاهش عملکرد رشد احتمالا به دلیل افزایش سوخت و ساز بدنه

مقایسه میانگین قطر بزرگ بیضه موش های صحرائی دریافت کننده تیمار با دوز های ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵ mg/kg (میلی متر)، ۰/۵۵ (۱۸/۹۸۳ $\pm$ ۰/۱۴۰ میلی متر)، ۰/۷۵ mg/kg (۱۸/۷۰۷ $\pm$ ۰/۴۷۷ میلی متر) و ۰/۰۵ (۱۷/۲۸۷ $\pm$ ۰/۴۷۷ میلی متر) با گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). بر اساس نمودار شماره ۵، موش ها در گروه های ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ mg/kg تفاوت معنی داری نداشت و اختلاف این دو گروه با گروه ۰/۰۷۵ mg/kg معنی دار بود.

## بحث

تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر نانوذرات اکسید مس بر بیان ژن USP9Y در بافت بیضه، وزن بدنه، وزن بیضه و نیز قطر های بیضه موش صحرائی انجام شد. در بازه زمانی مورد مطالعه مرگ و میر مشاهده نشد. بر اساس نتایج غلظت های ۰/۰۵، ۰/۰۷۵ و ۰/۰۷۵ میلی گرم بر کیلو گرم از نانوذره اکسید مس با قطر ۲۰-۶۰ نانومتر به صورت غلظت زیر کشته بودند و منجر به کاهش وزن بدنه، وزن بیضه و قطر های بیضه شدند. نمودار شماره ۱ نشان داد میانگین بیان ژن USP9Y در بیضه موش های تحت تیمار با غلظت های مختلف نانوذره مس پس از ۱۴ روز کاهش معنی داری را در مقایسه با گروه شاهد داشت. تا کنون مطالعه ای در خصوص تاثیر نانوذرات اکسید مس بر بیان ژن USP9Y انجام نشده است. از نتایج سایر مطالعات، سمیت این نانوذره نتیجه گیری شد. Karlson و همکارانش با مقایسه نانو ذرات مختلف  $\text{CuO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  و  $\text{TiO}_2$  روی رده سلولی A549 (بافت اپی تیالی ریه انسانی) نانو اکسید مس را سمی ترین نانوها از نظر وارد کردن آسیب بر DNA معرفی نموده اند [۲۳]. بیان شده است که قرار گرفتن سلول های اپی تیالی A549 ریه انسان در معرض  $\text{CuO}$

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 اسperm می‌باشد [۲۲]. تمامی پژوهش‌های ذکر شده نشان-دهنده 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.

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 به صورت زنجیره ردیف می‌شوند که منجر به آمبولیزاسیون رگ‌های خونی به خصوص مویرگ‌های با قطر ۷-۱۰ میکرومتر می‌شود. این اتفاق می‌تواند جریان خون را بلوکه کرده و در نهایت موجب کاهش اکسیژن‌رسانی به بافت هدف و هاپوکسی و نکروزه شدن بافت شود [۱۷]. فرضیه‌ای وجود دارد که نانوذرات با اندازه کوچک قادر به نفوذ از سد خونی-بیضه‌ای می‌باشد و بر طبق فرضیه 'Elevator door' بعد از مواجهه با نانوذرات به دلیل 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. به‌حال، مکانیسم‌های مولکولی دخیل در سمیت نانوذرات بر اسپرماتوژن هنوز به طور واضح مشخص نشده و گفته شده است که اثرات سمی نانوذرات به تاثیر آنها بر اسکلت سلولی بر می‌گردد و سپس غشای هسته‌ای بهم می‌ریزد. به علاوه، احتمالاً نانوذرات توسط سلول‌های اسپرماتوژنیک و یا سلول‌های لایدیگ اندوسیتوز می‌شوند که منجر به تغییرات سلولی شده و سپس اگزوسیتوز می‌شوند؛ پس ممکن است هیچ نشانه مورفو‌لولوژیکی از آسیب نانوذرات مشاهده نشود [۲۱]. همچنین، در خصوص سایر مکانیسم‌های احتمالی تاثیر نانوذرات می‌توان گفت بر اساس

### References:

- [1] Khosravi Zade N, Souri Nejhad 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, Heidarnegahd 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 Shahrkord Univ Med Sci* 2015; 17(5): 23-32. [in Persian]
- [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, Frías-Espericueta MG, Osuna F, Lozano-Olvera R, Voltolina D. 2010: shrimp Litopenaeus vannamei (Crustacea: Histo-logical effects of Cu<sup>2+</sup> to white Decapoda) juveniles at low salinities. *Rev Biol Mar Oceanogr* 45(1): 99-105.
- [17] Chomouckaa J, Drbohlavovaa 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 out-growth 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]