# Improvement of Sperm Parameters and Oxidative Stress by N-acetyl-cysteine in Adult Male Mice Treated with Zinc Oxide Nanoparticles

**Niloufar Darbandi[1], Monireh Mahmoodi [2], Zahra Khosravi [3]**

1. Asistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, Arak, Iran. ORCID ID: 0000-0001-6888-8745

2. Asistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, Arak, Iran. (Corresponding Author), Tel: +98-9188641048, Email: m-mahmoodi@araku.ac.ir. ORCID ID: 0000-0001-8383-6150

3. Master of Science, Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, Arak, Iran. ORCID ID: 0000-0003-1625-0701

## ABSTRACT

**Background and Aim:** Zinc oxide nanoparticles are one of the nanoscale materials that by inducing the production of reactive oxygen species, DNA damage and apoptosis may have cytotoxic effects on the reproductive system and endanger male fertility. In the present study, we investigated the antioxidant effect of N-acetylcysteine on sperm and biochemical parameters in mice treated with zinc oxide nanoparticles.

**Materials and Methods:** 24 adult male NMRI mice with average weight (35.45 ± 2.11 g) were randomly divided into four groups (n = 6) of control, zinc oxide nanoparticles (50 mg/kg), N-acetylcysteine (150 mg/kg) and N-acetylcysteine + zinc oxide nanoparticles and treated intraperitoneally for 28 days. Then the mice were anesthetized and their left epididymis was used to evaluate sperm parameters (number, motility and viability). In addition, serum levels of testosterone, LH and FSH, malondialdehyde and total antioxidant capacity were measured. Using SPSS software, data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey's test. Differences among mean values were considered significant at $p<0.05$.

**Results:** We observed a significant decrease in the number, percentage of progressive motility and sperm viability, total antioxidant capacity, serum levels of testosterone, LH and FSH in the zinc oxide nanoparticles group compared to those in the control group ($p<0.001$). While the plasma malondialdehyde level showed a significant increase ($p<0.001$). Simultaneous treatment with N-acetylcysteine and zinc oxide nanoparticles improved the above parameters significantly. In N-acetylcysteine group, no significant difference was observed in these parameters compared to the control group ($p<0.05$).

**Conclusion:** These findings showed that acetylcysteine has a protective role against the destructive effects of zinc oxide nanoparticles on sperm parameters and biochemical factors by reducing oxidative stress, increasing the level of total antioxidant capacity and testosterone levels.

**Keywords:** N-acetylcysteine, Sex hormones, Sperm, Zinc oxide nanoparticles.

**Received:** Sep 5, 2022 **Accepted:** Jun 18, 2023

**How to cite the article:** Niloufar Darbandi, Monireh Mahmoodi, Zahra Khosravi . Improvement of Sperm Parameters and Oxidative Stress by N-acetyl-cysteine in Adult Male Mice Treated with Zinc Oxide Nanoparticles. SJKU 2023;28(3):37-47.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و هشت / مرداد و شهریور ۱۴۰۲/۴۷-۳۷

# بهبود پارامترهای اسپرمی و استرس اکسیداتیو توسط ان استیل سیستئین در موش‌های نر بالغ تیمار شده با نانو ذرات اکسید روی

**نیلوفر دربندی[۱]، منیره محمودی[۲]، زهرا خسروی [۳]**

۱. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک کد پستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶. کد ارکید: 0000-0001-6888-8745

۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، کد پستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶. (مؤلف مسئول)، تلفن: ۰۹۱۸۸۶۴۱۰۴۸، پست الکترونیک: m-mahmoodi@araku.ac.ir کد ارکید: 0000-0001-8383-6150

۳. کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، کد پستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶. کد ارکید: 0000-0003-1625-0701

## چکیده

**زمینه و هدف:** نانو ذرات اکسید روی از جمله مواد در مقیاس نانو هستند که با القای تولید گونه‌های فعال اکسیژن، آسیب DNA و آپوپتوز ممکن است اثرات سیتوتوکسیک بر سیستم تولید مثلی داشته و باروری مردان را به خطر بیندازد. در مطالعه حاضر اثر آنتی اکسیدانتی ان استیل سیستئین بر پارامترهای اسپرمی و بیوشیمیایی در موش‌های تیمار شده با نانوذرات‌اکسیدروی بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** ۲۴ سر موش نر بالغ NMRI با میانگین وزنی (۲/۱۱ ± ۳۵/۴۵ گرم) به صورت تصادفی به چهار گروه (n=۶) کنترل، نانو ذرات اکسید روی (۵۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم)، ان استیل سیستئین (۱۵۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم) و ان استیل سیستئین + نانو ذرات اکسید روی تقسیم‌بندی و به مدت ۲۸ روز به صورت داخل صفاقی تیمار شدند. سپس موش‌ها بی‌هوش و اپیدیدیم چپ آن-ها برای ارزیابی پارامترهای اسپرمی (تعداد، تحرک و قابلیت حیات) استفاده شد. علاوه بر این سطح سرمی تستوسترون، LH و FSH، مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل اندازه‌گیری شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS و روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون Tukey تجزیه و تحلیل و تفاوت میانگین‌ها در حد (p<۰/۰۵) معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** کاهش معنی‌داری در تعداد، درصد تحرک پیش‌رونده و قابلیت حیات اسپرم، ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل، سطح تستوسترون، LH و FSH سرم در گروه نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد (p<۰/۰۰۱). در حالی که سطح مالون‌دی‌آلدئید پلاسما افزایش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۰۱). در تیمار هم‌زمان ان استیل سیستئین با نانو ذرات اکسید روی پارامترهای فوق به‌طور معنی‌داری بهبود یافت. در گروه ان استیل سیستئین اختلاف معنی‌داری در پارامترهای فوق نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

**نتیجه‌گیری:** این یافته‌ها نشان داد که ان‌استیل‌سیستئین با کاهش استرس اکسیداتیو، افزایش سطح ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل و میزان تستوسترون دارای نقش محافظتی در مقابل اثرات مخرب نانو ذرات اکسید روی بر پارامترهای اسپرمی و فاکتورهای بیوشیمیایی است.

**کلمات کلیدی:** ان استیل سیستئین، هورمون های جنسی، اسپرم، نانو ذرات اکسید روی.

وصول مقاله:۱۴۰۱/۶/۱۴ اصلاحیه نهایی:۱۴۰۱/۱۰/۷ پذیرش:۱۴۰۱/۱۰/۲۸

[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

**مقدمه**

نانو ذرات (NPs)معمولاً به‌عنوان ذرات کلوئیدی جامد با حداقل ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر شناخته می‌شوند که دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی مانند اندازه کوچک و سطح ویژه بالا در مقایسه با مواد حجیم مربوطه هستند (۲، ۱).

یکی از متداول‌ترین نانو ذرات مورد استفاده، نانو ذرات اکسید روی (ZnO NPs) است که به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی خاص خود به طور گسترده در بسیاری از محصولات آرایشی و بهداشتی، صنایع نساجی، عوامل ضد باکتری در بسته‌بندی مواد غذایی، تهیه کودهای شیمیایی و برخی کاربردهای زیست پزشکی استفاده می‌شود (۳). بااین‌حال، سمیت ذاتی این نانوذره همراه با ورود و تجمع آسان آن در ارگانیسم‌ها، نگرانی‌هایی را در مورد کاربرد وسیع آن ایجاد کرده است.

مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که نانو ذرات اکسید روی می‌توانند با عبور از سدهای بیولوژیکی بر روی سیستم تولید مثلی مردان اثرات سیتوتوکسیک داشته و باروری مردان را به خطر بیندازد (۲). نانو ذرات اکسید روی باعث کاهش تعداد، تحرک و قابلیت حیات اسپرم، بروز سلول‌های دژنره شده (۴)، توقف اسپرماتوژنز و افزایش درصد ناهنجاری‌های اسپرم در اپیدیدم می‌شود (۵). همچنین نشان داده شده است که نانو ذرات اکسید روی با تشکیل ROS و آسیب DNA هسته‌ای منجر به افزایش آپوپتوز در سلول‌های سرتولی و لیدیگ می‌گردد (۲) و سنتز تستوسترون را مهار می‌کند (۶). از طرفی قرار گرفتن در معرض غلظت بالای نانو ذرات اکسید روی منجر به کاهش قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT، SOD، GPx و GSH و ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل و افزایش قابل توجهی در سطح پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (۲).

N–استیل‌سیستئین (NAC) به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان و پیش‌ساز گلوتاتیون می‌تواند سطح گلوتاتیون را افزایش داده و از آسیب‌های داخل سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدی ممانعت کند (۷، ۸). گزارش شده است که تیمار با ان استیل سیستئین موجب افزایش معنی‌داری در تعداد و تحرک اسپرم و میزان تستوسترون و کاهش معنی‌داری در مورفولوژی غیرطبیعی، شکنندگی DNA و کمبود پروتامین اسپرم می‌گردد (۹). علاوه بر این، NAC با پتانسیل های آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال های آزاد و همچنین با حفظ یکپارچگی غشای سلولی و بازسازی سلول‌های آسیب دیده در کاهش سمیت کلیوی، کبدی و بیضوی مؤثر است (۱۰).

تحقیقات نشان داده است که این ماده ممکن است فرآیندهای پاتوفیزیولوژیکی مانند استرس اکسیداتیو، دژنره‌شدن نورون‌ها، آپوپتوزیس، نقص عملکرد میتوکندریایی و تورم نورونی را بهبود ببخشد. ان‌استیل‌سیستئین دارای اثرات مثبت در کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو و مارکرهای التهابی، همچنین بهبود حافظه و یادگیری در مازهای مختلف حافظه نیز است (۱۱).

با توجه به استفاده روزافزون از نانو ذرات اکسید روی و اثرات مخرب آن بر سیستم تولیدمثلی مردان، همچنین با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانتی ان استیل سیستئین، در مطالعه حاضر به بررسی اثر محافظتی ان استیل سیستئین بر پارامترهای اسپرمی و استرس اکسیداتیو در موش‌های تیمار شده با نانو ذرات اکسیدروی پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

تعداد ۲۴ سر موش نر بالغ نژاد NMRI با میانگین وزنی۲±۳۵ گرم از موسسه پاستور ایران تهیه و در خانه‌ی حیوانات دانشگاه اراک در شرایط متعادل (دمای ۲±۲۱ درجه سلسیوس و نور محیط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) نگهداری شدند. تمام حیوانات دارای شرایط تغذیه‌ای یکسان و با امکان دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه کنترل،



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

نانو ذرات اکسید روی (۵۰mg/kg, Tecnan Spain) (۶، ۱۲) ان استیل سیستئین (۱۵۰mg/kg, Sigma Germany) (۱۴، ۱۳) و ان استیل سیستئین به همراه نانو ذرات اکسید روی تقسیم شدند. تیمارها به‌صورت داخل صفاقی و به مدت ۲۸ روز (۱۵) انجام گرفت. در تمام مراحل تحقیق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید (IR.ARAKMU.REC.1399.049).

پس از پایان دوره تیمار موش‌ها توسط دی‌اتیل‌اتر بی‌هوش و ناحیه‌ی دمی اپی‌دیدیم چپ جدا و جهت بررسی پارامترهای اسپرمی به محیط کشت Ham's F10 منتقل شد. سنجش پارامترهای اسپرمی بر اساس دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت (WHO) انجام گرفت.

سنجش قابلیت تحرک، تعداد، قابلیت حیات و طول دم اسپرم:

قابلیت تحرک اسپرم با استفاده از لام نئوبار با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۲۰۰× مورد بررسی و درصد اسپرم‌های با حرکات پیش رونده، درجا و ساکن محاسبه شد. شمارش اسپرم توسط لام نئوبار با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۴۰۰× انجام گرفت. جهت سنجش قابلیت حیات اسپرم، گسترش‌های اسپرم با ائوزین – نیگروزین رنگ‌آمیزی و تعداد ۱۰۰ اسپرم با استفاده از میکروسکوپ نوری و با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰× شمارش گردید. طول دم اسپرم مطابق با روش استریولوژیکی محاسبه شد (۱۶).

سنجش مالون‌دی آلدئید (MDA):

برای اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید، از روش دارپر و هادلی و بر اساس واکنش با تری باربیتوریک اسید استفاده شد (۱۷). ابتدا معرف واکنش شامل تیوباربیوتیک استیک اسید (*TBA*) ۰/۳۷۵ درصد، تری‌کلرواستیک اسید(*TCA*) ۱۵ درصد و اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال تهیه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه سرم با ۲۰۰ میکرولیتر معرف واکنش ترکیب شد. نمونه‌ها بعد از۱۵ دقیقه که داخل حمام آب‌گرم با دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند، بلافاصله در آب سرد خنک شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ و مایع رویی جدا شده و جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت مالوندیآلدئید با استفاده از عدد ثابت ضریب خاموشی (*Coefficient Extinction*) که عبارت است از $M^{-1}\,cm^{-1}$ ۱۰$^{۵}$ × ۱/۵۶ و برحسب نانومول بر میلی‌لیتر، طبق فرمول زیر محاسبه گردید..

$$\text{ضریب خاموشی (extinction coefficient)} : \frac{\text{جذب}}{۱/۵۶\times۱۰^{۵}} = \boxed{x}\ \text{Mol/l} = \boxed{x}\ \times۱۰^{۶} = \text{nmol/ml}$$

سنجش میزان ظرفیت آنتیاکسیدانی کل (FRAP):

محلول استاندارد سولفات آهن (Feso4,7H2o) با غلظت ۱mM آماده و از آن رقت‌های مختلف تهیه شد، سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و منحنی استاندارد سولفات آهن رسم گردید. جهت سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، ۱۰۰ میکرو لیتر از پلاسما با ۳ میلی‌لیتر از معرف FRAP ترکیب و به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس جذب محلول با دستگاه اسپیکتروفوتومتر در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه-گیری و با استفاده از فرمول رگرسیون حاصل در منحنی استاندارد میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بر حسبنانومول بر میلی‌لیتر محاسبه شد (۱۶).

سنجش میزان هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH :

میزان هورمون تستوسترون ( Testosterone ELISA kit, cat num (ELA-1559), DRG International (MyBioSource Co, cat ،FSH و LH ،(Inc.,:USA num: MBS041300 and MBS2507988, especively) در سرم خون طبق دستورالعمل کیت به روش الایزا انجام و در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری:

داده‌های حاصل توسط نرم افزار SPSS ورژن ۱۶ و روش آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و تست آماری Tukey مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

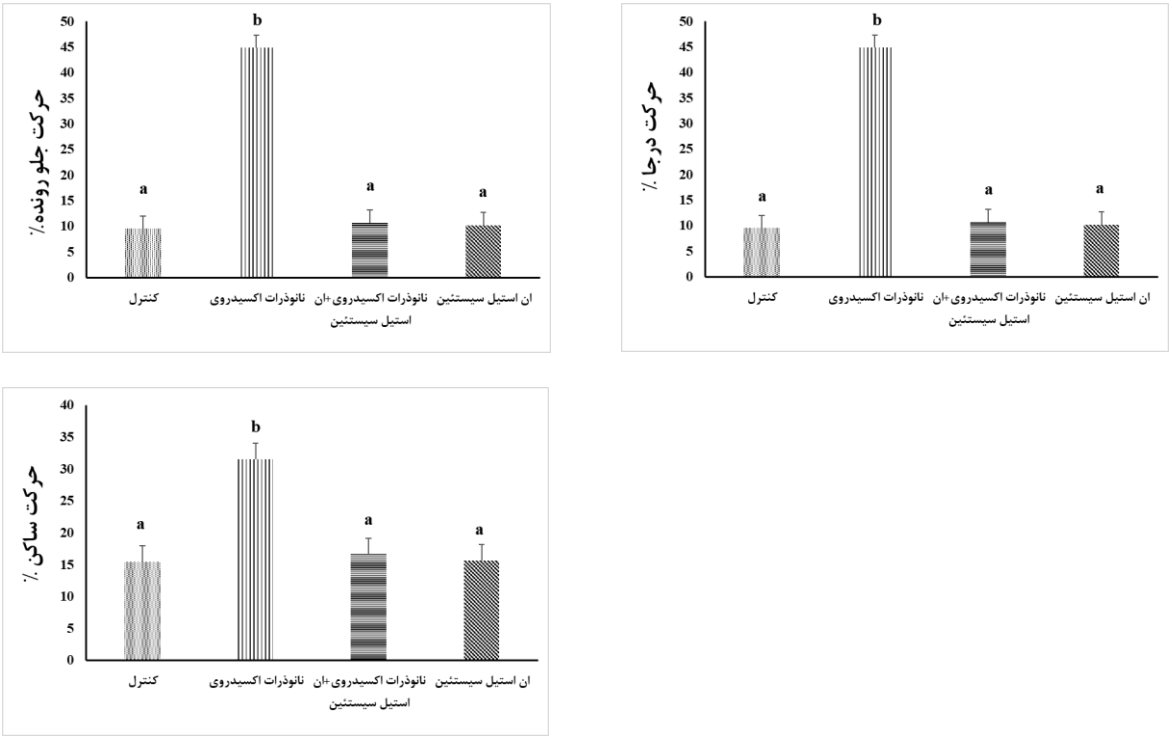
[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

تفاوت میانگین‌ها در سطح (p<۰/۰۵) معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

قابلیت تحرک اسپرم :

در گروه نانو ذرات اکسیدروی نسبت به گروه کنترل میانگین درصد اسپرم‌های جلورونده به‌طور معنی‌داری کاهش و درصد اسپرم‌های درجا و ساکن به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۰۱). در گروه تیمار هم‌زمان ان‌استیل-سیستئین به همراه نانو ذرات اکسیدروی میانگین درصد اسپرم‌های با حرکت جلورونده افزایش معنی‌دار و درصد اسپرم‌های با حرکات درجا و ساکن کاهش معنی‌داری نسبت به گروه نانو ذرات اکسیدروی نشان داد (p<۰/۰۰۱) و به سطح گروه کنترل رسید. مقایسه درصد تحرک اسپرم در گروه ان استیل سیستئین با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵) (نمودار۱)




نمودار ۱- مقایسه میانگین قابلیت تحرک اسپرم‌ها در گروه‌های مختلف موش پس از تیمار با نانو ذرات اکسید روی (۵۰mg/kg/day) و ان استیل سیستئین (۱۵۰ mg/kg/day) به مدت ۲۸ روز. مقادیر به صورتMean±SD می‌باشد. b در مقایسه با a دارای اختلاف معنی‌داری (p< ۰/۰۰۱) است. (p <۰/۰۵ و one way ANOVA, Tukey's test).

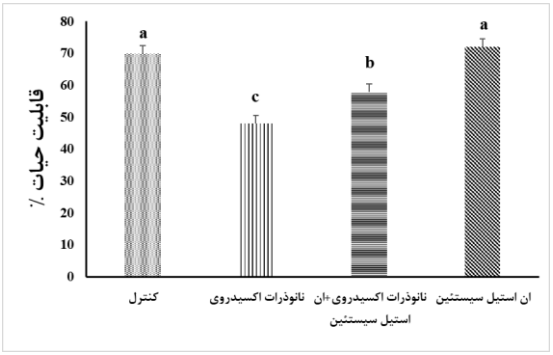
تعداد و قابلیت حیات اسپرم:

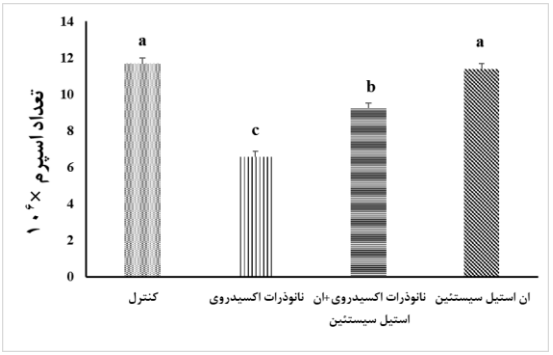
میانگین تعداد و قابلیت حیات اسپرم در گروه نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۰۱). در گروه ان استیل سیستئین به همراه نانو ذرات اکسید روی تعداد و درصد قابلیت حیات اسپرم نسبت به گروه نانو ذرات اکسید روی افزایش معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۰۱)؛ اما به سطح گروه کنترل نرسید (p<۰/۰۰۱). در گروه ان استیل سیستئین تعداد و قابلیت حیات اسپرم نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵) (نمودار ۲).



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

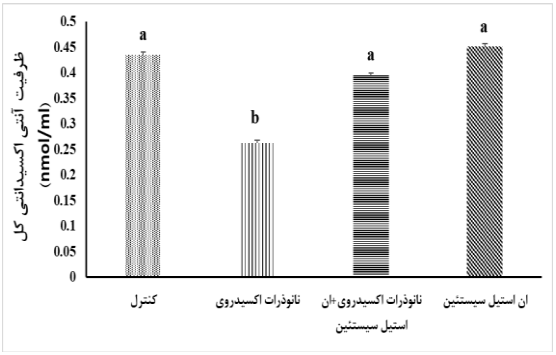


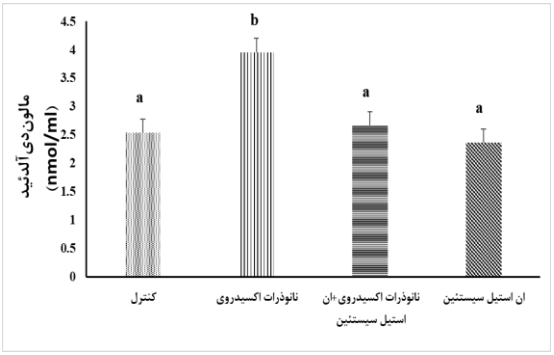




نمودار۲- مقایسه میانگین تعداد و قابلیت حیات اسپرم در گروه‌های مختلف موش پس از تیمار با نانو ذرات اکسید روی (۵۰mg/kg/day) و ان استیل سیستئین (۱۵۰ mg/kg/day) به مدت ۲۸ روز. مقادیر به‌صورتMean±SD است. b و c در مقایسه با a دارای اختلاف معنی-داری ($p<۰/۰۰۱$) است. bدر مقایسه با c ($p<۰/۰۰۱$) است. ($p<۰/۰۵$ و one way ANOVA, Tukey's test).

ارزیابی MDA و ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل سرم خون:

در گروه نانو ذرات اکسید روی افزایش معنی‌داری در سطح MDA و کاهش معنی‌داری در ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل سرم خون در مقایسه با گروه کنترل دیده شد ($p<۰/۰۰۱$). تیمار هم‌زمان ان استیل سیستئین به همراه نانو ذرات اکسید روی منجر به کاهش معنی‌داری در سطح MDA سرم خون شد و به سطح گروه کنترل رسید .همچنین در گروه تیمار هم‌زمان ان استیل سیستئین به همراه نانو ذرات اکسید روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل سرم خون نسبت به گروه نانو ذرات اکسید روی افزایش معنی‌داری یافت ($p<۰/۰۰۱$)؛ اما به سطح گروه کنترل نرسید ($p<۰/۰۱$). در گروه ان استیل-سیستئین میزان MDA و ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل سرم خون در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$ ) (نمودار ۳)




نمودار ۳ – مقایسه میزان مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل سرم خون در گروه‌های مختلف موش پس از تیمار با نانو ذرات اکسید روی (۵۰mg/kg/day) و ان استیل سیستئین (۱۵۰ mg/kg/day) به مدت ۲۸ روز. b در مقایسه با a دارای اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) است. ($p<۰/۰۵$ و one way ANOVA, Tukey's test).

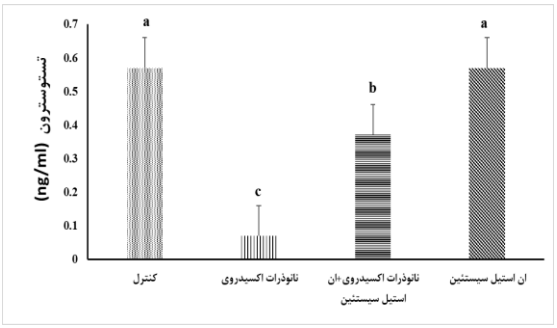
ارزیابی هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH:

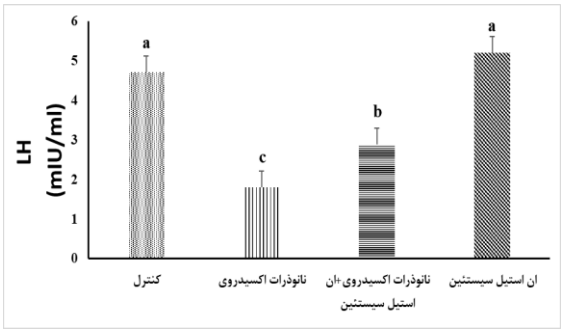


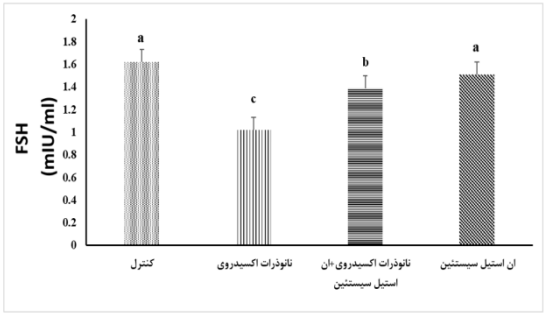
[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

در گروه نانو ذرات اکسید روی کاهش معنی‌داری در سطح هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH سرم خون نسبت به گروه کنترل دیده شد (p<۰/۰۰۱). در گروه تیمار هم‌زمان ان استیل سیستئین به همراه نانو ذرات اکسید روی افزایش معنی‌داری در میزان هورمون‌های تستوسترون (p<۰/۰۰۱)، LH و FSH (p<۰/۰۵) نسبت به گروه نانو ذرات اکسید روی دیده شد؛ اما این افزایش به سطح گروه کنترل نرسید. در گروه ان استیل سیستئین میزان این هورمون ها در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵) (نمودار ۴).




نمودار۴- مقایسه میانگین هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH سرم خون در گروه‌های مختلف موش پس از تیمار با نانو ذرات اکسید روی (۵۰ mg/kg/day) و ان استیل سیستئین (۱۵۰ mg/kg/day) به مدت ۲۸ روز. مقادیر به صورت Mean±SD است. c در مقایسه با a دارای اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) است. b با c در تستوسترون (p<۰/۰۰۱) و در LH و FSH (p<۰/۰۵) است. (p <۰/۰۵ و one way ANOVA, Tukey's test).

## بحث

نتایج بررسی حاضر نشان داد که تیمار با نانو ذرات اکسید روی منجر به کاهش معنی‌داری در تعداد اسپرم، درصد اسپرم‌های زنده و اسپرم‌های با حرکت جلو رونده و همچنین افزایش معنی‌داری در میانگین درصد اسپرم‌های درجا و ساکن نسبت به گروه کنترل می‌شود. برخی مطالعات گذشته نیز نتایج تحقیق حاضر را تائید می‌نماید (۲۰-۱۸،۶).

گزارش شده است که نانو ذرات اکسیدروی به دلیل سایز بسیار کوچک می‌توانند با عبور از سدهای بیولوژیکی به داخل بافت‌های تولیدمثلی نفوذ و با دسترسی به میتوکندری سلول منجر به نقص زنجیره‌ی انتقال الکترون و در نتیجه تحریک تشکیل ROS شوند. سطوح بالای ROS از طریق پراکسیداسیون لیپیدی و تغییرات پروتئینی، اختلال در ساختمان DNA، تداخل در عملکردهای سیگنالیک سلولی و تنظیم ژن‌های رونویسی موجب آسیب به سلول و



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

آپوپتوزیس می‌گردد (۲۱، ۴). همچنین پراکسیداسیون لیپید-ها در ناحیه میتوکندریایی اسپرم باعث تخلیه ATP و در نتیجه کاهش تحرک اسپرم می‌شود (۲۲).

در این مطالعه تیمار همزمان ان استیل سیستئین با نانو ذرات اکسید روی، منجر به افزایش معنی‌داری در تعداد و قابلیت حیات و درصد اسپرم‌های جلورونده همچنین کاهش معنی‌داری در درصد اسپرم‌های با حرکت درجا و ساکن شد. احتمالاً ان استیل سیستئین با خاصیت آنتی اکسیدانتی خود، موجب مهار استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی، جلوگیری از شکست DNA و کاهش مرگ سلول‌های جنسی می‌شود (۲۳) که در نهایت باعث افزایش تعداد، تحرک و قابلیت حیات اسپرم می‌گردد (۲۵،۲۴،۹).

در مطالعه حاضر در گروه نانو ذرات اکسید روی افزایش معنی‌داری در غلظت مالوندی آلدئید و کاهش معنی‌داری در ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل سرم خون نسبت به گروه کنترل مشاهده شد که مطابق با نتایج دیگر محققین است (۱۸، ۲۶).

نانو ذرات اکسید روی می‌توانند با اتصال به غشای سلول و ایجاد آسیب مکانیکی منجر به تغییر در مورفولوژی غشا، نشت ساختارهای درون سلولی و خروج اندامک‌های خاص شوند. نانو ذرات اکسیدروی با آزاد کردن لیپیدها و پروتئین‌های غشاء سلولی باعث افزایش نفوذپذیری آن شده و همین امر می‌تواند باعث ورود بیشتر نانو ذرات به داخل سلول و افزایش سمیت سلولی شود (۲۷). همچنین سطوح بالای ROS تولید شده با جذب الکترون از لیپیدهای غشاء باعث آسیب بیشتر و کاهش عملکرد فیزیولوژیک غشاء می‌گردد (۲۸). رادیکال هیدروکسیل (OH) به عنوان یکی از سمی‌ترین گونه‌های ROS که توسط نانو ذرات اکسید روی تولید می‌شود، توانایی اکسید کردن اجزای سلولی و آسیب به غشا سلول را دارا است (۲۹)؛ بنابراین پراکسیداسیون لیپیدی یکی از عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو است که به دنبال مواجه با نانوساختارهای اکسید روی ایجاد و موجب آسیب غشا سلولی می‌گردد (۳۰، ۲۱).

در این مطالعه تیمار همزمان ان استیل سیستئین و نانو ذرات اکسیدروی، توانست میزان پراکسیداسیون لیپیدی را به طور معنی‌داری کاهش و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل را افزایش داده و به حد گروه کنترل برساند.

ان استیل سیستئین دارای پتانسیل بالقوه‌ای برای خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و تقویت سیستم آنتی اکسیدانتی است و به دلیل داشتن تعداد زیادی گروه تیول قادر است سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی مانند گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها شود (۳۱، ۳۲)؛ بنابراین ان استیل سیستئین احتمالاً از طریق بهبود دفاع آنتی اکسیدانتی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی موجب کاهش سطح MDA و افزایش ظرفیت آنتیاکسیدانتی کل می‌شود.

در مطالعه حاضر تیمار با نانو ذرات اکسید روی موجب کاهش معنی‌داری در میزان هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH در مقایسه با گروه کنترل گردید. همچنین در گروه تیمار همزمان، ان استیل سیستئین توانست سطح هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH را نسبت به گروه نانو ذرات اکسیدروی به‌طور معنی‌داری افزایش دهد.

می دانیم که سطح تستوسترون سرم خون به وسیله‌ی عمل استروئیدسازی سلول‌های لیدیگ بیضه صورت می‌گیرد. مواجهه با نانو ذرات اکسید روی ممکن است از طریق افزایش مقدار پروتئین Bax، کاسپاز۳ و ۸ و کاهش پروتئین Bcl2 موجب القای آپوپتوز در سلول‌های لیدیگ و کاهش سطح تستوسترون خون شود (۱۸). از طرفی نشان داده شده که نانو ذرات اکسید روی باعث کاهش قابل توجه در بیان پروتئین تنظیمی حاد استروئیدوژنیک (STAR) شده و در نهایت مانع انتقال کلسترول به غشای داخلی میتوکندری و کاهش میزان هورمون تستوسترون می‌گردد (۳).

ازآنجایی که LH و FSH هورمون‌های هیپوفیزی هستند، تغییر در میزان آن می‌تواند از طریق عبور نانو ذرات از سد خونی مغزی و تغییر در عملکرد غدد درون‌ریز توجیه شود (۳۳). نانو ذرات اکسید روی همچنین باعث تغییر در نفوذپذیری غشای سلول به پتاسیم و سدیم شده و فعالیت



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

پمپ Na-K-ATPase و میتوکندری را مختل می‌کند. با کاهش غلظت یون پتاسیم در خون، این یون نمی‌تواند کانال‌های کلسیمی وابسته به لیگاند پتاسیمی را تحریک کند و در نهایت باعث کاهش رهاسازی GnRH و کاهش رهاسازی FSH و LH می‌گردد (۳۴).

احتمالاً ان استیل سیستئین با توجه به خاصیت آنتی-اکسیدانتی قوی خود با جلوگیری از ایجاد استرس اکسیداتیو و مرگ سلول‌های لیدیگ از کاهش تستوسترون جلوگیری کرده است. همچنین از آنجایی که افزایش بیش از حد کلسیم در سیتوپلاسم به عنوان یکی از عوامل مرگ سلولی محسوب می‌شود، ان استیل سیستئین با تأثیر بر میتوکندری سبب افزایش ورود کلیسم به میتوکندری و در نتیجه کاهش کلسیم درون سیتوپلاسم می‌شود که در نهایت از مرگ سلولی جلوگیری خواهد کرد (۳۵). همان‌طور که گفته شد کاهش غلظت تستوسترون، ممکن است با نارسایی‌های ایجاد شده در عملکرد سلول‌های لیدیگ به واسطه‌ی افزایش تولید رادیکال‌های آزاد نیز در ارتباط باشد. مشخص شده است که بروز استرس اکسیداتیو در بافت بیضه از آندروژنز توسط سلول‌های لیدیگ ممانعت می‌کند (۳۶)؛ بنابراین ان استیل سیستئین با مهار استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی می‌تواند از تخریب بافتی جلوگیری کرده و با کاهش التهاب موجب بهبود اختلالات هورمونی شود. همچنین این ترکیب قادر است با تنظیم ترشح گنادوتروپین‌ها یا اثر بر گیرنده‌ی آن‌ها اثرات سوء اختلالات هورمون‌های جنسی را کاهش دهد (۳۷).

## نتیجه گیری

با توجه به نتایج این پژوهش نانو ذرات اکسیدروی اثرات زیانباری بر پارامترهای اسپرمی، هورمون‌های جنسی و فاکتورهای استرس اکسیداتیو دارد. به نظر می‌رسد که سمیت استرس اکسیداتیو و به دنبال آن تولید بیش از حد ROS منجر به کاهش سطح هورمون‌های جنسی و اختلال پارامترهای اسپرمی می‌شود؛ بنابراین ان استیل سیستئین به‌عنوان یک آنتی اکسیدانت قوی ممکن است از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی، از آسیب به DNA جلوگیری کرده و منجر به کاهش سمیت القا شده توسط نانو ذرات روی و بهبود پارامترهای اسپرمی در موش شود. با این حال بررسی اثرات مخرب نانو ذرات روی بر سیستم تولید مثلی نر و مکانیسم‌های دقیق اثرگذاری ان استیل سیستئین نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجویی با اخذ کد اخلاق (IR.ARAKMU.REC.1399.049) از دانشگاه علوم پزشکی اراک است. بدین‌وسیله از دانشگاه اراک به جهت حمایت مالی و همچنین از زحمات کارشناسان آزمایشگاه تحقیقاتی زیست‌شناسی جانوری قدردانی می‌گردد. هیچ‌کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و دستگاه‌ها تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

## References

1. Yang D, Zhang M, Gan Y, Yang S, Wang J, Yu M, *et al*. Involvement of oxidative stress in ZnO NPs-induced apoptosis and autophagy of mouse GC-1 spg cells. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2020;202:110960.
2. Pinho AR, Rebelo S, Pereira MD. The impact of zinc oxide nanoparticles on male (in) fertility. Materials. 2020;13(4):849.
3. Tang Y, Chen B, Hong W, Chen L, Yao L, Zhao Y, *et al*. ZnO nanoparticles induced male reproductive toxicity based on the effects on the endoplasmic reticulum stress signaling pathway. International Journal of Nanomedicine. 2019;14:9563-76.
4. Mozaffari Z, Parivar K, Roodbari NH, Irani S. Histopathological evaluation of the toxic effects of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on testicular tissue of NMRI adult mice. Adv. Stud. Biol. 2015;7(6):275-91.



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

5. Han Z, Yan Q, Ge W, Liu ZG, Gurunathan S, De Felici M, *et al.* Cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on mouse testicular cells. International Journal of Nanomedicine. 2016;11:5187-5203.
6. Talebi AR, Khorsandi L, Moridian M. The effect of zinc oxide nanoparticles on mouse spermatogenesis. Journal of assisted reproduction and genetics. 2013;30(9):1203-9.
7. Gholamloo M, Jafari M. Study of Effect of N-Acetyl Cysteine on Reduction of Paraoxon-Induced Oxidative Stress in Brain and Heart Tissues. Health Research. 2017;2(2):77-85.
8. Kheradmandi R, Jorsaraei SG, Feizi F, Moghadamnia AA, Neamati N. Protective effect of N-acetyl cysteine on chlorpyrifos-induced testicular toxicity in mice. International journal of fertility & sterility. 2019;13(1):51-6.
9. Jannatifar R, Parivar K, Roodbari NH, Nasr-Esfahani MH. Effects of N-acetyl-cysteine supplementation on sperm quality, chromatin integrity and level of oxidative stress in infertile men. Reproductive Biology and Endocrinology. 2019;17(1):1-9.
10. El-Maddawy ZK, El-Sayed YS. Comparative analysis of the protective effects of curcumin and N-acetyl cysteine against paracetamol-induced hepatic, renal, and testicular toxicity in Wistar rats. Environmental science and pollution research. 2018;25(4):3468-79.
11. Darbandi N, Khosravi S, Momeni HR. Effect of N-acetyl- cysteine on memory retrieval, hippocampal CA1 pyramidal neurons and some blood serum oxidative Stress factors in Male wistar Rats treated with zinc oxide nanoparticles. The Journal of Urmia University of Medical Sciences. 2018;29(6):450-63.
12. Abbasalipourkabir R, Moradi H, Zarei S, Asadi S, Salehzadeh A, Ghafourikhosroshahi A, Mortazavi M, Ziamajidi N. Toxicity of zinc oxide nanoparticles on adult male Wistar rats. Food and chemical toxicology. 2015;84:154-60.
13. Feng D, Huang H, Yang Y, Yan T, Jin Y, Cheng X., Cui L. Ameliorative effects of N-acetylcysteine on fluoride-induced oxidative stress and DNA damage in male rats' testis. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2015;792:35-45.
14. Maheshwari A, Misro M, Aggarwal A, Sharma RK. N-acetyl-L-cysteine modulates multiple signaling pathways to rescue male germ cells from apoptosis induced by chronic hCG administration to rats. Apoptosis. 2012;17(6):551-65.
15. Kumari M, Singh P, Study on the reproductive organs and fertility of the male mice following administration of metronidazole. International journal of Fertility & Sterility. 2013; 7(3):225-38.
16. Mahmoodi M, Soleimani Mehranjani M, Kheradmand N. Protective Effect of Pentoxifylline on Sperm and Biochemical Parameters against Dexamethasone-Induced Toxicity in Mice. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2020;30(185):113-24.
17. Hassanzadeh A, Shahvaisi K, Hassanzadeh K, Izadpanah E, Amini A, Moloudi MR. Effects of rebamipide and encapsulating rebamipide with chitosan capsule on inflammatory mediators in rat experimental colitis. Scientific journal of Kurdistan university of medical sciences. 2015;20(3):94-104.
18. Shen J, Yang D, Zhou X, Wang Y, Tang S, Yin H, *et al.* Role of autophagy in zinc oxide Nanoparticles-induced apoptosis of mouse LEYDIG cells. International journal of molecular sciences. 2019; 20(16):4042.
19. Srivastav AK, Kumar A, Prakash J, Singh D, Jagdale P, Shankar J, *et al.* Genotoxicity evaluation of zinc oxide nanoparticles in Swiss mice after oral administration using chromosomal aberration, micronuclei, semen analysis, and RAPD profile. Toxicology and Industrial Health. 2017;33(11):821-34.
20. Abbasalipourkabir R, Moradi H, Zarei S, Asadi S, Salehzadeh A, Ghafourikhosroshahi A. *et al.* Toxicity of zinc oxide nanoparticles on adult male Wistar rats. Food and chemical toxicology. 2015;84:154-60.
21. Javadi A, Mokhtar S, Azimirad R, Esfandiari F, Gourabi H. Mechanisms of the Effects of Zinc Oxide Nanostructures on Living Cells. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2020;10(1):1998-2011.

[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]

22. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. Human reproduction update. 2008;14(3):243-58.
23. Nashwa A, Kawkab AA, Mouneir SM. The protective effect of ginger and N-acetyl cysteine on ciprofloxacin-induced reproductive toxicity in male rats. Journal of American Science. 2011;7(7):741-52.
24. Khoshtabiat L, Mahdavi M. The role of oxidative stress in proliferation and cell death. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2015;25(127):130-145.
25. Ozaras R, Tahan V, Aydin S, Uzun H, Kaya S, Senturk H. N-acetylcysteine attenuates alcohol-induced oxidative stress in he rat. World Journal of Gastroenterology. 2003;9(1):125.
26. Hussein MM, Ali HA, Saadeldin IM, Ahmed MM. Querectin alleviates zinc oxide nanoreprotoxicity in male albino rats. Journal of biochemical and molecular toxicology. 2016;30(10):489-96.
27. Singh S. Zinc oxide nanoparticles impacts: Cytotoxicity, genotoxicity, developmental toxicity, and neurotoxicity. Toxicology mechanisms and methods. 2019;29(4):300-11.
28. Chang YN, Zhang M, Xia L, Zhang J, Xing G. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. Materials. 2012;5(12):2850-71.
29. Kirkinezos IG, Moraes CT. Reactive oxygen species and mitochondrial diseases. Seminars in cell & developmental biology. 2001;12(6):449-57.
30. Valipour S, Hoseini SE, Vahdati A, Kesmati M. The effects of acute administration of zinc oxidenanoparticles on long term memory in the presence and absence of vitamin C in adult male rat. Adv. Environ. Biol. 2014;8:260-6.
31. Shirani M, Nouri M, Askari G. Effect of N-acetyl cysteine supplementation on sperm quality parameters and biochemical markers on the infertile people: A systematic review on clinical trials. KAUMS Journal (FEYZ). 2019;23(4):361-70.
32. Barekat F, Tavalaee M, Deemeh MR, Bahreinian M, Azadi L, Abbasi H. A Preliminary Study: N-acetyl-L-cysteine Improves Semen Quality following Varicocelectomy. Int J Fertil**.** 2016;10(1):120-6.
33. Mozafari Z, Hayati RN, Parivar K, Irani S. Investigation on the effect of Zinc Oxide Nanoparticle on LH, FSH, testosterone hormones in adult male NMRI mice. Journal of animal biology winter. 2016;8(2):65-73.
34. Chen C, Bu W, Ding H, Li Q, Wang D, Bi H, et al. Cytotoxic effect of zinc oxide nanoparticles on murine photoreceptor cells via potassium channel block and Na+/K+-ATPase inhibition. Cell proliferation. 2017;50(3):1-9.
35. Berk M, Samuni Y, Goldstein S, Dean OM. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. 2013;1830(8):4117-29.
36. Jahangiri Asl E, Soleimanzadeh A, Javadi SH, Asri Rezaei S. The effect of intratesticular injection of Zinc Oxide Nanoparticles on plasma concentrations of LH, FSH, Testosterone and Corticosterone in Rat. Veterinary Research and Biological Products. 2021;34(2):94-103.
37. Aldini G, Altomare A, Baron G, Vistoli G, Carini M, Borsani L, et al. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. Free radical research. 2018;52(7):751-62.

[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17 ]

[ DOI: 10.61186/sjku.28.3.37 ]