

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

Niloufar Darbandi¹, Monireh Mahmoodi², Zahra Khosravi³

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

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

نیلوفر دربندی^۱، منیره محمودی^۲، زهرا خسروی^۲

۱. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، کد پستی ۸۳۴۹-۶۸۸۸-۰۰۰۱-۶۷۴۵. کد ارجید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۶۸۸۸-۰۰۰۱-۶۷۴۵-۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹.

۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، کد پستی ۸۳۴۹-۶۸۸۶۴۱۰۴۸، پست الکترونیک: mahmoodi@araku.ac.ir کد ارجید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۸۳۸۳-۶۱۵۰.

۳. کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، کد پستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹. کد ارجید: ۰۰۰۳-۰۰۰۳-۱۶۲۵-۰۷۰۱.

چکیده

زمینه و هدف: نانوذرات 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 باوری مردان را به خطر بیندازد. در مطالعه حاضر اثر آنتی اکسیدانتی ان استیل سیستئین بر پارامترهای اسپرمی و بیوشیمیابی در موش‌های تیمار شده با نانوذرات اکسید روی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: ۲۴ سر موش نر بالغ NMRI با میانگین وزنی ($2/11 \pm 35/45$ گرم) به صورت تصادفی به چهار گروه (n=6) کنترل، نانوذرات اکسید روی (۵۰ میلی گرم/ کیلو گرم)، ان استیل سیستئین (۱۵۰ میلی گرم/ کیلو گرم) و ان استیل سیستئین + نانوذرات 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 $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: کاهش معنی‌داری در تعداد، درصد تحرک پیش‌رونده و قابلیت حیات اسپرم، ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل، سطح تستوسترون، LH و FSH سرم در گروه نانوذرات اکسید روی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.001$). در حالی که سطح مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$). در تیمار هم‌زمان ان استیل سیستئین با نانوذرات اکسید روی پارامترهای فوق به طور معنی‌داری بهبود یافت. در گروه ان استیل سیستئین اختلاف معنی‌داری در پارامترهای فوق نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد ($p > 0.05$).

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان داد که ان استیل سیستئین با کاهش استرس اکسیداتیو، افزایش سطح ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل و میزان تستوسترون دارای نقش محافظتی در مقابل اثرات مخرب نانوذرات اکسید روی بر پارامترهای اسپرمی و فاكتورهای بیوشیمیابی است.

کلمات کلیدی: ان استیل سیستئین، هورمون‌های جنسی، اسپرم، نانوذرات اکسید روی.

وصول مقاله: ۱۴۰۱/۱۴ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۱/۱۰/۲۸؛ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۸.

مقدمه

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 اسperm و میزان تستوسترون و کاهش معنی‌داری در مورفولوژی غیرطبیعی، شکنندگی DNA و کمبود پروتامین اسperm می‌گردد (۹). علاوه بر این، NAC با پتانسیل‌های آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های 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، دژنه‌شدن نورون‌ها، آپوپتوزیس، نقص عملکرد میتوکندریابی و تورم نورونی را بهبود بخشد. ان استیل سیستئین 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 تولیدمثی مردان، همچنین با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی ان استیل سیستئین، در مطالعه حاضر به بررسی اثر محافظتی ان استیل سیستئین بر پارامترهای اسpermی 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 وزنی 35 ± 2 گرم از موسسه پاستور ایران تهیه و در خانه‌ی حیوانات دانشگاه اراک در شرایط متعادل (دماهی 21 ± 2 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،

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

یکی از متداول‌ترین نانو ذرات مورد استفاده، نانو ذرات اکسید روی (ZnO NPs) است که به دلیل خواص فیزیکی و شیمیابی خاص خود به طور گسترده در بسیاری از محصولات آرایشی و بهداشتی، صنایع نساجی، عوامل ضد باکتری در بسته‌بندی مواد غذایی، تهیه کودهای شیمیابی و برخی کاربردهای زیست پزشکی استفاده می‌شود (۳). با این حال، 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 مثی مردان اثرات سیتو توکسیک داشته و باروری مردان را به خطر بیندازد (۲). نانو ذرات اکسید روی باعث کاهش تعداد، تحرک و قابلیت حیات اسperm، بروز سلول‌های دژنه شده (۴)، توقف اسpermatoژنر و افزایش درصد ناهمجارتی‌های اسperm 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 (۶) 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 آنتی‌اکسیدانی کل و افزایش قابل توجهی در سطح پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (۲).

N-استیل سیستئین (NAC) به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و پیش‌ساز گلوتاتیون می‌تواند سطح گلوتاتیون را افزایش داده

سانتریفیوژ و مایع رویی جدا شده و جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفوتوомتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت مالوندی‌آلدئید با استفاده از عدد ثابت ضریب خاموشی $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Coefficient Extinction) که عبارت است از $10^5 \times 1/56$ و بر حسب نانومول بر میلی‌لیتر، طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{extinction coefficient} : \frac{\text{جنب}}{1/56 \times 10^5} = \boxed{x} \text{ Mol/l} = \boxed{x} \times 10^4 = \text{nmol/ml}$$

سنچش میزان ظرفیت آنتیاکسیدانی کل (FRAP): محلول استاندارد سولفات آهن ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) با غلظت 1mM آماده و از آن رقت‌های مختلف تهیه شد، سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفوتوومتر خوانده شد و منحنی استاندارد سولفات آهن رسم گردید. جهت سنچش ظرفیت استاندارد سولفات آهن 100 میکرو لیتر از پلاسما با 3 میلی‌لیتر از آنتیاکسیدانی کل، 100 میکرو لیتر از پلاسما با 3 میلی‌لیتر از FRAP ترکیب و به مدت 5 دقیقه در بن‌ماری در دمای 37 درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس جذب محلول با دستگاه اسپکتروفوتوومتر در طول موج 593 نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول رگرسیون حاصل در منحنی استاندارد میزان ظرفیت آنتیاکسیدانی کل بر حسب نانومول بر میلی‌لیتر محاسبه شد (۱۶).

سنچش میزان هورمون‌های تسوسترون، LH و FSH :
Mizan hormon testosterone ELISA kit, cat num (ELA-1559), DRG International (MyBioSource Co, cat FSH و LH, Inc., USA num: MBS041300 and MBS2507988, در سرم خون طبق دستورالعمل کیت به روش الیزا انجام و در طول موج 450 نانومتر اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری:

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

نانو ذرات اکسید روی (mg/kg, Tecnan Spain) (۶)، (۱۲) ان استیل سیستین (mg/kg, Sigma Germany) (۱۵۰)، (۱۳) و ان استیل سیستین به همراه نانو ذرات اکسید روی تقسیم شدند. تیمارها به صورت داخل صفاقی و به مدت 28 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 دی‌ایتل اتر بی‌هوش و ناحیه‌ی دمی اپی‌دیدیم چپ جدا و جهت بررسی پارامترهای اسپرمی به محیط کشت Ham's F10 منتقل شد. سنچش پارامترهای اسپرمی بر اساس دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت (WHO) انجام گرفت.

سنچش قابلیت حرکت، تعداد، قابلیت حیات و طول دم اسپرم:

قابلیت حرکت اسپرم با استفاده از لام نوبار با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی $\times 200$ مورد بررسی و درصد اسپرم‌های با حرکات پیش‌رونده، درجا و ساکن محاسبه شد. شمارش اسپرم توسط لام نوبار با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی $\times 400$ انجام گرفت. جهت سنچش قابلیت حیات اسپرم، گسترش‌های اسپرم با اوزین - نیگروزین رنگ‌آمیزی و تعداد 100 اسپرم با استفاده از میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی $\times 1000$ شمارش گردید. طول دم اسپرم مطابق با روش استریولوژیکی محاسبه شد (۱۶).

سنچش مالوندی‌آلدئید (MDA):

برای اندازه‌گیری میزان مالوندی‌آلدئید، از روش داریر و هادلی و بر اساس واکنش با تری‌باریتوريک اسید استفاده شد (۱۷). ابتدا معرف واکنش شامل تیوباریبیوتیک اسیک (TCA) اسید (TBA) $\times 375$ درصد، تری‌کلرواستیک اسید (TCA) $\times 15$ درصد و اسید کلریدریک $\times 25$ درصد نرمال تهیه شد. سپس 100 میکرولیتر از نمونه سرم با 200 میکرولیتر معرف واکنش ترکیب شد. نمونه‌ها بعد از 15 دقیقه که داخل حمام آب گرم با دمای 95 درجه سلسیوس قرار گرفتند، بلافالصه در آب سرد خنک شدند. سپس به مدت 10 دقیقه با دور 1000

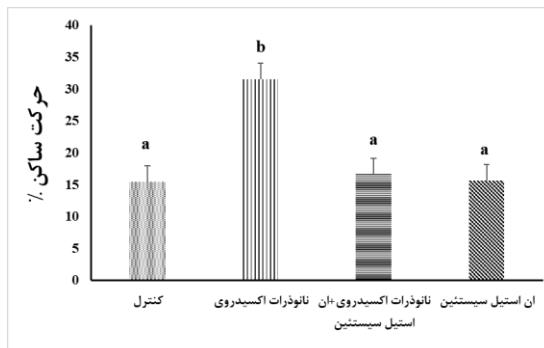
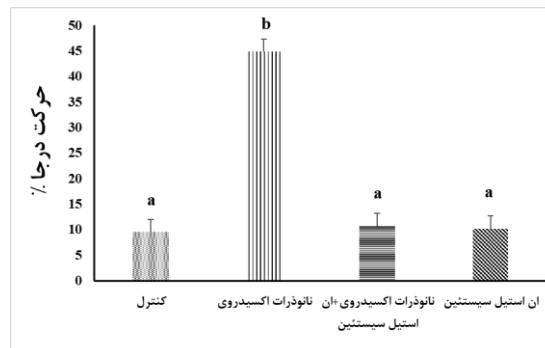
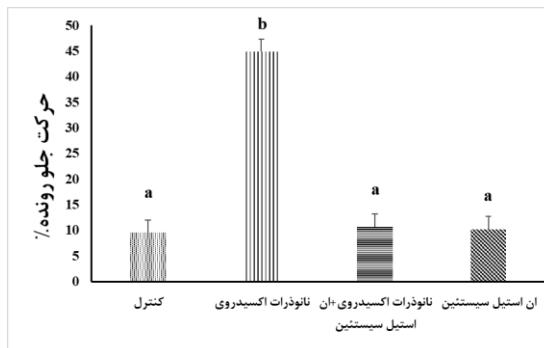
سیستئین به همراه نانو ذرات اکسیدروی میانگین درصد اسپرم‌های با حرکت جلورونده افزایش معنی دار و درصد اسپرم‌های با حرکات درجا و ساکن کاهش معنی داری نسبت به گروه نانو ذرات اکسیدروی نشان داد ($p<0.001$) و به سطح گروه کنترل رسید. مقایسه درصد تحرک اسپرم در گروه ان استیل سیستئین با گروه کنترل تفاوت معنی داری نشان نداد ($p>0.05$) (نمودار ۱)

تفاوت میانگین‌ها در سطح ($p<0.05$) معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

قابلیت تحرک اسپرم :

در گروه نانو ذرات اکسیدروی نسبت به گروه کنترل میانگین درصد اسپرم‌های جلورونده به طور معنی داری کاهش و درصد اسپرم‌های درجا و ساکن به طور معنی داری افزایش یافت ($p<0.001$). در گروه تیمار هم زمان ان استیل-

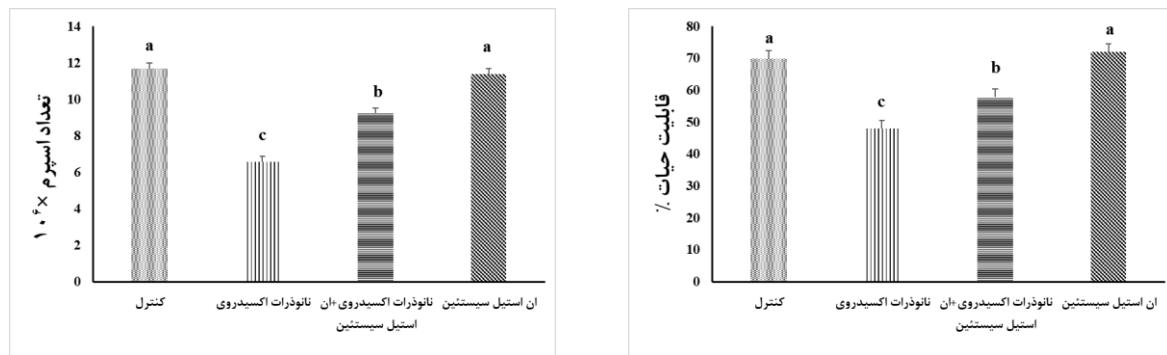


نمودار ۱- مقایسه میانگین قابلیت تحرک اسپرم‌ها در گروه‌های مختلف موش پس از تیمار با نانو ذرات اکسید روی (50 mg/kg/day) و ان استیل سیستئین (150 mg/kg/day) به مدت ۲۸ روز. مقادیر به صورت $\text{Mean}\pm\text{SD}$ می‌باشد. b در مقایسه با a دارای اختلاف معنی داری (one way ANOVA, Tukey's test) و $p<0.05$ ($p<0.001$) است.

نسبت به گروه نانو ذرات اکسید روی افزایش معنی داری نشان داد ($p<0.001$); اما به سطح گروه کنترل نرسید ($p>0.001$). در گروه ان استیل سیستئین تعداد و قابلیت حیات اسپرم نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری نشان داد ($p>0.05$) (نمودار ۲).

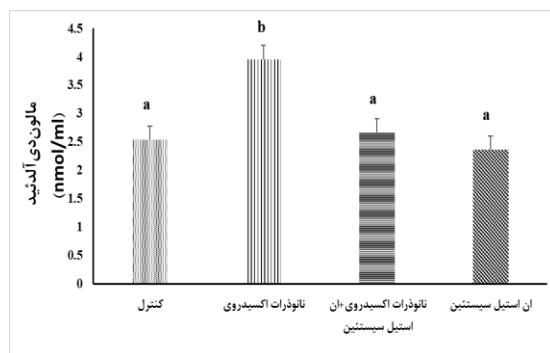
تعداد و قابلیت حیات اسپرم:

میانگین تعداد و قابلیت حیات اسپرم در گروه نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ($p<0.001$). در گروه ان استیل سیستئین به همراه نانو ذرات اکسید روی تعداد و درصد قابلیت حیات اسپرم

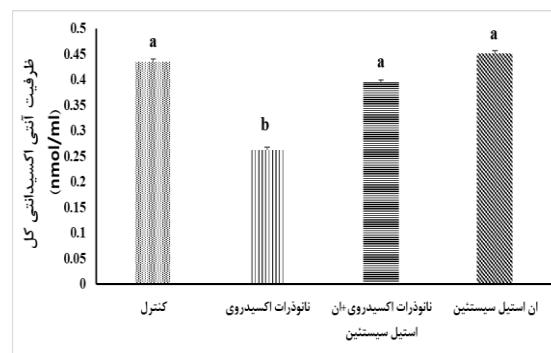


نمودار ۲- مقایسه میانگین تعداد و قابلیت حیات اسperm در گروههای مختلف موش پس از تیمار با نانو ذرات اکسید روی (50 mg/kg/day) و ان استیل سیستین (150 mg/kg/day) به مدت ۲۸ روز. مقادیر به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ است. b و c در مقایسه با a دارای اختلاف معنی- داری (one way ANOVA, Tukey's test) و $p < 0.05$ است. b در مقایسه با c ($p < 0.001$) است.

هم‌زمان ان استیل سیستین به همراه نانو ذرات اکسید روی ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل سرم خون نسبت به گروه نانو ذرات اکسید روی افزایش معنی‌داری یافت ($p < 0.001$). اما به سطح گروه کنترل نرسید ($p > 0.01$). در گروه ان استیل - سیستین میزان MDA و ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل سرم خون در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$) (نمودار ۳)



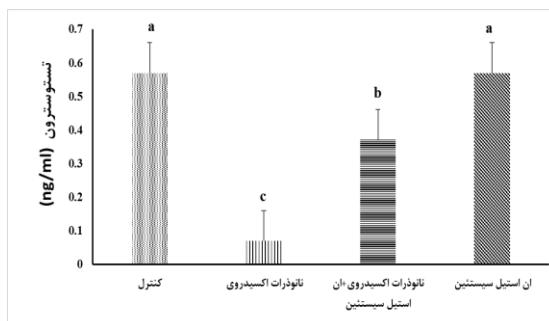
ارزیابی MDA و ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل سرم خون: در گروه نانو ذرات اکسید روی افزایش معنی‌داری در سطح MDA و کاهش معنی‌داری در ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل سرم خون در مقایسه با گروه کنترل دیده شد ($p < 0.001$). تیمار هم‌زمان ان استیل سیستین به همراه نانو ذرات اکسید روی منجر به کاهش معنی‌داری در سطح MDA سرم خون شد و به سطح گروه کنترل رسید. همچنین در گروه تیمار



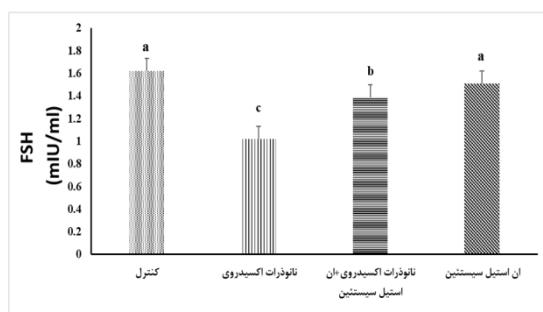
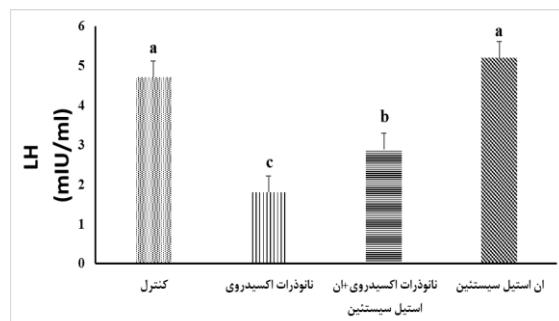
نمودار ۳- مقایسه میزان مالوندی آلدید و ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل سرم خون در گروههای مختلف موش پس از تیمار با نانو ذرات اکسید روی (50 mg/kg/day) و ان استیل سیستین (150 mg/kg/day) به مدت ۲۸ روز. b در مقایسه با a دارای اختلاف معنی‌داری (one way ANOVA, Tukey's test) و $p < 0.05$ است.

ارزیابی هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH:

FSH و LH در گروه نانو ذرات اکسید روی دیده شد؛ اما این افزایش به سطح گروه کنترل نرسید. در گروه ان استیل سیستئین میزان این هورمون‌ها در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$) (نمودار ۴).



در گروه نانو ذرات اکسید روی کاهش معنی‌داری در سطح هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH سرم خون نسبت به گروه کنترل دیده شد ($p < 0.001$). در گروه تیمار هم‌زمان ان استیل سیستئین به همراه نانو ذرات اکسید روی افزایش معنی‌داری در میزان هورمون‌های تستوسترون ($p < 0.001$)



نمودار ۴- مقایسه میانگین هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH سرم خون در گروه‌های مختلف موش پس از تیمار با نانو ذرات اکسید روی a و ان استیل سیستئین (50 mg/kg/day) به مدت ۲۸ روز. مقادیر به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ است. c در مقایسه با دارای اختلاف معنی‌داری ($p < 0.001$) است. b با c در تستوسترون ($p < 0.05$) و در FSH و LH ($p < 0.001$) است. (way ANOVA, Tukey's test

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

بحث

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

در این مطالعه تیمار همزمان ان استیل سیستئین و نانو ذرات اکسیدروی، توانست میزان پراکسیداسیون لیپیدی را به طور معنی داری کاهش و ظرفیت آنتی اکسیدانتی 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 (۳۲، ۳۱)؛ 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 LH کاهش معنی‌داری در میزان هورمون‌های تستوسترون، FSH و 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.

می‌دانیم 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، کاسپاز ۳ 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 استروئیدوزنیک (STAR) شده و در نهایت مانع انتقال کلسترول به غشاء داخلی میتوکندری و کاهش میزان هورمون تستوسترون می‌گردد (۳).

از آنجایی 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 غشاء سلول به پتانسیم و سدیم شده و فعالیت

آپوپتوزیس می‌گردد (۲۱، ۴). همچنین پراکسیداسیون لیپیدی‌ها در ناحیه میتوکندریایی اسperm باعث تخلیه ATP و در نتیجه کاهش تحرک اسperm 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 اسperm‌های جلورونده همچنین کاهش معنی‌داری در درصد اسperm‌های 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 اسperm 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 (۲۶، ۱۸).

نانو ذرات اکسید روی می‌توانند با اتصال به غشاء سلول و ایجاد آسیب مکانیکی منجر به تغییر در مورفولوژی غشاء، 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 دارد (۲۹)؛ بنابراین پراکسیداسیون لیپیدی یکی از عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو است که به دنبال مواجهه با نانو ساختارهای اکسید روی ایجاد و موجب آسیب غشا سلولی می‌گردد (۲۱، ۳۰).

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 به عنوان 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. هیچ کدام از نویسندهای این مطالعه، افراد و دستگاه‌ها تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

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 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 واسطه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد نیز در ارتباط باشد. مشخص شده است که بروز استرس اکسیداتیو در بافت بیضه از آندروروژن توسط سلول‌های لیدیگ مانع 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 گادوتروپین‌ها یا اثر بر گیرنده‌ی آن‌ها اثرات سوء اختلالات هورمون‌های جنسی را کاهش دهد (۳۷).

References

- 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.
- Pinho AR, Rebelo S, Pereira MD. The impact of zinc oxide nanoparticles on male (in) fertility. Materials. 2020;13(4):849.
- 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.
- 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.

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, Neamatyi 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.

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, Tavalaei 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.