

Comparison of the Effects of Nano Titanium Dioxide with 10nm Diameter on Testis and Epididymis of Adult Male Mice NMRI Strain in “in vivo” Conditions

N. Hayati Roodbari^{1*}, K. Parivar², S. Rezaee³,
A. R. Badiee⁴

1. Assistant Professor, Islamic Azad University, Tehran Science and Research Branch, Department of Biology, Tehran, Iran

2. Professor, Islamic Azad University, Tehran Science and Research Branch, Department of Biology, Tehran, Iran

3. M. Sc. Student, Islamic Azad University, Tehran Science and Research Branch, Department of Biology, Tehran, Iran

4. Associate Professor, Department of Chemistry, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received: May 26, 2014; Accepted: Aug. 27, 2014)

Abstract

According to increasing use of nano materials and our daily exposure to them, it is required to investigate their effects on genital organs. Upon this purpose, in this resserch the effect of nano titanium dioxide on the spermatogenesis were studied. The effect of titanium dioxide with particle size of 10 nm on spermatogenesis of adult male NMRI mice strain in “in vivo” conditions was studied. Three groups: control (no treatment), sham (treated with distilled water), experimental (treatment with doses of 6, 30, 150, 300 mg / kg of nano titanium dioxide 10nm) were investigated. Intraperitoneal injection was applied for 5 consecutive days. 2 weeks after the last injection, mice were anesthetized and their testes and epididymis were removed. After fixing and preparing slides, they were examined. In this study, mouse weight, number of tubes in the testes and epididymis, tunica albuginea thickness, number of Leydig cells, fibroblasts, Sertoli and sperm numbers at three significant levels ($p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$) were studied. The results showed the most adverse effects on spermatogenesis factor. Especially histological effects with the dose of 30 mg/kg in comparison to 150 and 300 mg/kg were more effectual. Concerning to the results, it is possible this material inhibits the enzymes responsible for growth and causes cell death and necrosis of tissues. The necessity of precaution for usage of this material, according to the results of this research is determined.

Keywords: Nano titanium dioxide, Spermatogenesis, Testis, Epididymis, Mice.

مقایسه اثرات نانو دی اکسید تیتانیوم با قطر ۱۰ nm بر بیضه و اپیدیدیم موش نر بالغ نژاد NMRI در شرایط in vivo

نسیم حیاتی رودباری^{۱*}، کاظم پریور^۲، ساغر رضایی^۳،
علیرضا بدیعی^۴

۱. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه

زیست‌شناسی، تهران

۲. استاد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه

زیست‌شناسی، تهران

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و

تحقیقات تهران، گروه زیست‌شناسی، تهران

۴. دانشیار، پردیس علوم پایه، دانشکده شیمی، دانشگاه تهران، تهران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۵، تاریخ تصویب: ۹۳/۶/۵)

چکیده

با توجه به استفاده روزافزون و رویارویی هر روزه ما با نانو مواد و اهمیت بررسی اثرات نانو مواد بر دستگاه تناسلی، این کار تحقیقاتی روی اثرات نانو دی اکسید تیتانیوم بر اسپرماتوژنز انجام شد. اثر نانو دی اکسید تیتانیوم با قطر ۱۰ nm بر اسپرماتوژنز موش نر بالغ نژاد NMRI در شرایط in vivo مورد بررسی قرار گرفت. سه گروه کنترل (بدون تیمار)، شام (تیمار با آب مقطر)، تجربی (تیمار با دوزهای ۶، ۳۰، ۱۵۰، ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از نانو دی اکسید تیتانیوم) مورد مطالعه قرار گرفتند. به تیمار به صورت ۵ روز متوالی تزریق درون صفاقی انجام شد. ۲ هفته پس از آخرین تزریق، موش‌ها بیهوش شدند و بیضه و اپیدیدیم از بدنشان خارج گردید و پس از فیکس کردن و تهیه لام مورد بررسی قرار گرفتند. در این تحقیق، وزن موش، تعداد لوله‌ها در بیضه و اپیدیدیم، ضخامت تونیکا آلبوجینا، تعداد سلول‌های لیدیگ، فیبروبلاست، سرتولی و تعداد اسپرم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تحقیقات بیشترین اثرات سوء را بر فاکتورهای اسپرماتوژنز به خصوص از نظر هیستولوژیکی در دوز ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نسبت به دوز ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نشان داد. با توجه به نتایج، لزوم احتیاط مصرف این ماده با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق مشخص می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: نانو دی اکسید تیتانیوم، اسپرماتوژنز، بیضه، اپیدیدیم، موش سوری.

مقدمه

وقتی میکرو ذرات به نانو ذرات تبدیل می‌شوند با برخی تغییرات فیزیکی مواجه می‌شویم که مهمترین آن‌ها عبارتند از: افزایش نسبت مساحت سطحی به حجم و ورود اندازه ذره به قلمرو اثرات کوانتومی (Erb et al., 2002).

افزایش نسبت مساحت سطحی به حجم که به تدریج با کاهش اندازه ذره رخ می‌دهد، باعث غلبه یافتن رفتار اتم‌های واقع در سطح ذره به رفتار اتم‌های درونی می‌شود. این پدیده بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ذره اثر می‌گذارد (Alivisatos, 2002; Erb et al., 1996). به محض این که ذرات به اندازه کافی کوچک شوند، شروع به رفتار مکانیک کوانتومی و خواص جدید می‌کنند (Alivisatos, 1996). نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) به دلیل داشتن خواص منحصر به فردشان می‌توانند در تولید انواع رنگ، لوازم آرایشی و بهداشتی، ساخت سرامیک و فتوکاتالیست‌ها، تصفیه آب و فاضلاب، فیلتراسیون گازها و بسیاری از صنایع دیگر کاربرد داشته باشند (Chen et al., 2011; Chiang et al., 2009; Mital and Manoj, 2011). فرضیه‌های مطرح شده نسبت به آسیب‌های احتمالی حاصل از فناوری نانو، باعث کندی رشد و توسعه این فناوری شده است (Das and AAnsari, 2009). پس باید اطلاعات صحیح، بی طرفانه و قانونمند درباره خطرهای و چگونگی پرهیز از آنها بدست آورده شود (Chen et al., 2006; Zhang et al., 2010).

علم سم‌شناسی نانو مواد، در توسعه و گسترش نانو فناوری پایدار و ایمن، نقش بسیار مهمی خواهد داشت (Mahshid et al., 2006). اگرچه هم‌اکنون اطلاعات کمی در ارتباط با اثر سم‌شناسی زیست‌محیطی و اثر سم‌شناسی انسانی نانو مواد در دسترس است، با این وجود با توجه به ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی نانومواد، پیش‌بینی می‌شود که این مواد با اجزای زیستی برهم‌کنش داشته و اثرات زیادی بر رفتار و خصوصیات ماکرومولکول‌ها، سلول‌ها و بدن موجودات زنده بر جای می‌گذارند (Andrew et al., 2010; Mahshid et al., 2006).

(al., 2006; Revell, 2006).

نانو مواد در مقایسه با دیگر مواد شیمیایی معمول ویژگی‌های فراوان و بی‌نظیری دارند (Mahshid et al., 2006; O'Grady, 2002).

ویژگی‌های فیزیکی از جمله اندازه ذرات، ریخت‌شناسی و حلالیت‌پذیری و ویژگی‌های شیمیایی یعنی ترکیب و ساختار شیمیایی نوع روکش ذره، دارای اهمیت بسیاری هستند و پیش‌بینی می‌شود تغییر هر یک از این ویژگی‌ها دارای نوع و میزان اثر بیولوژیکی متفاوت باشد. همچنین عوامل دیگری از جمله نسبت سطح به حجم، انتقال فاز، ثبات شیمیایی و تمایل به تشکیل توده نیز ممکن است به همین نسبت اهمیت داشته باشد (O'Grady, 2002).

به طور کلی با توجه به کاربرد نانو مواد در صنایع مختلف و وجود فرضیه‌های زیاد برای تأثیرات مخرب نانو ذرات بر روی موجودات زنده، بررسی و پژوهش در این زمینه از اهمیت زیادی برخوردار است و هدف از این پژوهش، بررسی اثرات مخرب نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم با سایز ۱۰ نانومتر بر روی اسپرما توئرز موش سوری نر بالغ نژاد NMRI است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از موش‌های سوری نرسفید کوچک بالغ نژاد NMRI (Naval Medical Research Institute) استفاده شد. ۵۰ سر موش سوری نر با وزنی در حدود ۲۵-۳۰ g در سه گروه ۶ تایی شامل یک گروه کنترل (بدون تیمار) (گروه ۱)، یک گروه شم (تیمار با آب مقطر) (گروه ۲) و یک گروه تجربی تیمار با دوزهای ۶ (گروه ۳)، ۳۰ (گروه ۴) و ۱۵۰ (گروه ۵)، ۳۰۰ (گروه ۶) میلی گرم بر کیلوگرم نانو ذرات به ازای وزن بدن مورد بررسی قرار گرفتند.

حیوانات مورد نیاز از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند و در اتاق حیوانات آزمایشگاه زیست جانوری دانشگاه علوم و تحقیقات تهران در قفس‌های فلزی حیوانات که کف آنها با تراشه‌های چوب پوشیده شده

دو هفته پس از آخرین تزریق، موش‌ها را وزن و سپس بیهوش کرده و بافت بیضه و اپیدیدیم را برای بررسی جدا کردیم.

پس از خارج کردن بافت بیضه، برای بررسی‌های مورفولوژیکی به وسیله ترازوی دیجیتال، بافت‌ها را وزن کرده و به وسیله کولیس ورنیه طول و عرض آنها اندازه‌گیری گردید. سپس بافت بیضه و اپیدیدیم، در سرم فیزیولوژی شست‌وشو و به مدت ۸ ساعت در فیکساتیو بوئن قرار داده شد و سپس به الکل ۷۰٪ منتقل و برای بررسی‌های بافت‌شناسی از بافت‌های فیکس شده لام تهیه شد.

قطر و ضخامت کلیه لوله‌ها و ضخامت تونیکا و قطر اپیتلیوم ژرمینال، تعداد لوله‌ها، تعداد سلول‌های فیروبلاست، لایدیک، رگ خونی، اسپرماتوگونی A و B، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتیدها و سرتولی توسط میکروسکوپ نوری بررسی گردید (تصاویر ۱-۱۲).

پس از جمع‌آوری داده‌ها، آنالیزهای آماری توسط نرم‌افزار SPSS و آنالیز One-Way ANOVA انجام و $p < 0.05^*$ و $p < 0.01^{**}$ و $p < 0.001^{***}$ به عنوان شاخص معنی‌داری در نظر گرفته شد و نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ نمایش داده شد.

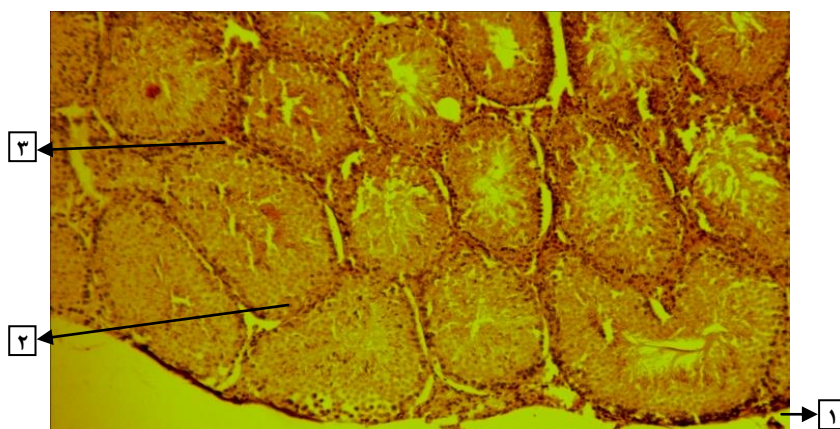
بود و در شرایط کنترل شده (درجه حرارت 23 ± 2 سانتی‌گراد و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) با دسترسی آسان به آب لوله‌کشی قابل شرب شهر تهران و پلیت‌های آماده و مخصوص که از شرکت خوراک دام پارس خریداری شدند، نگهداری شدند.

تمام موش‌های سوری به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش‌ها در شرایط یکسان محیطی در آزمایشگاه نگهداری شدند، تا از نظر تطابق، آشنایی و رژیم غذایی به محیط عادت نمایند. آزمایشات حیوانی مورد تأیید کمیته اخلاق بود.

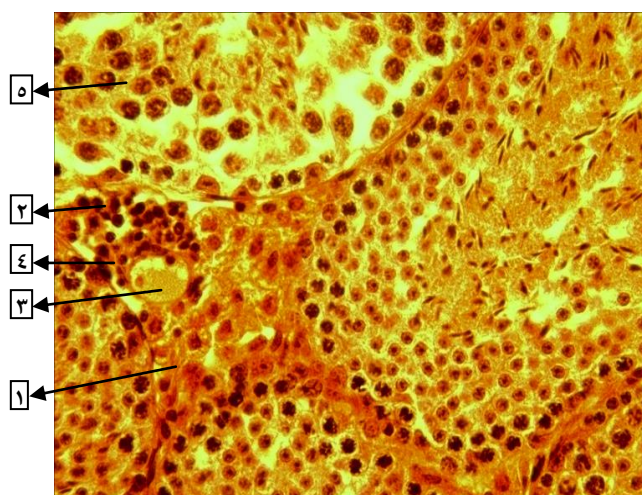
هر یک از موش‌های گروه شم به مدت ۵ روز با آب مقطر و هر کدام از موش‌های گروه‌های تجربی به مدت ۵ روز با دوزهای (۳۰، ۱۵۰، ۳۰۰ mg/kg) به صورت تزریق درون صفاقی تیمار شدند.

جهت تهیه دوزهای موردنظر، مقدار معین از پودر نانوذره دی اکسید تیتانیوم ۱۰nm را با ۰/۵cc آب مقطر ۲ بار تقطیر و به وسیله وورتکس مخلوط گردید. سوسپانسیون حاصل توسط سرنگ انسولین به موش‌ها تزریق شد. فرمول محاسبه میزان تزریق:

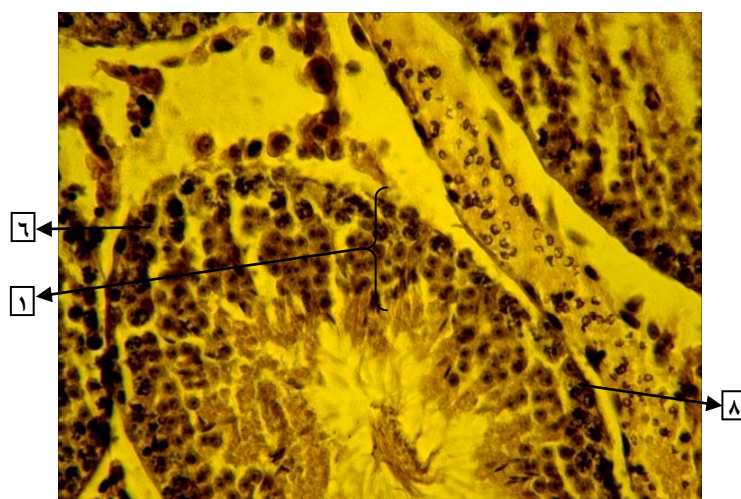
$$\frac{\text{دز} \times \text{وزن موش}}{1000 \text{ ml}}$$



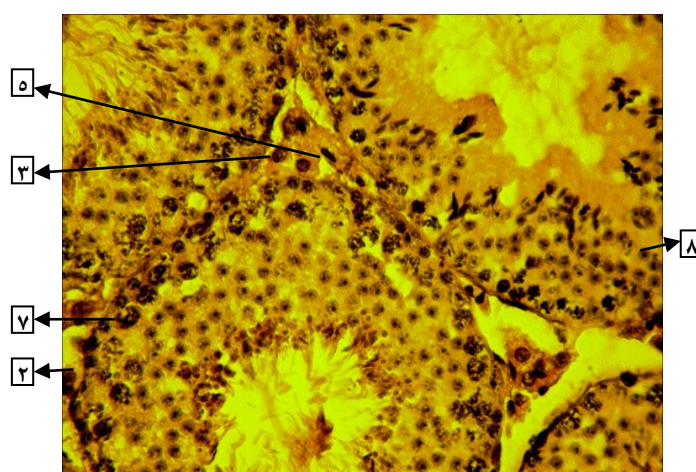
تصویر ۱. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر به صورت عرضی از بیضه، نمونه‌های بالغ در گروه کنترل (بزرگنمایی $\times 400$) [۱- تونیکا آلبوجینا / ۲- لوله‌های سمینی فرز / ۳- سلول‌های لیدیک]



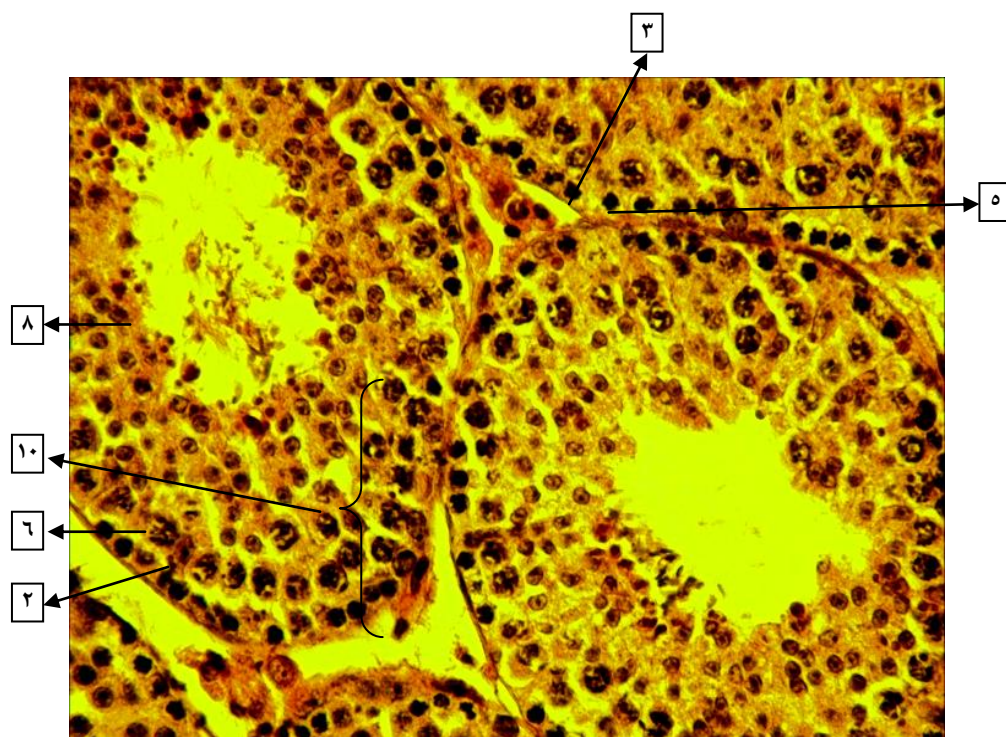
تصویر ۲. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر به صورت عرضی از بیضه، نمونه‌های بالغ در گروه شم (بزرگنمایی $\times 400$) [۱- لوله‌های سمینی فرز / ۲- سلول‌های لیدیگ / ۳- مقطع رگ خونی / ۴- فیبروبلاست / ۵- اسپرماتوگونی B]



تصویر ۳. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر به صورت عرضی از بیضه، نمونه‌های بالغ در گروه تجربی ۱ (دوز ۶mg/kg) (بزرگنمایی $\times 400$) [۶- اسپرماتوگونی B / ۸- اسپرماتیدها / ۱۰- اپیتیمیوم ژرمینال]

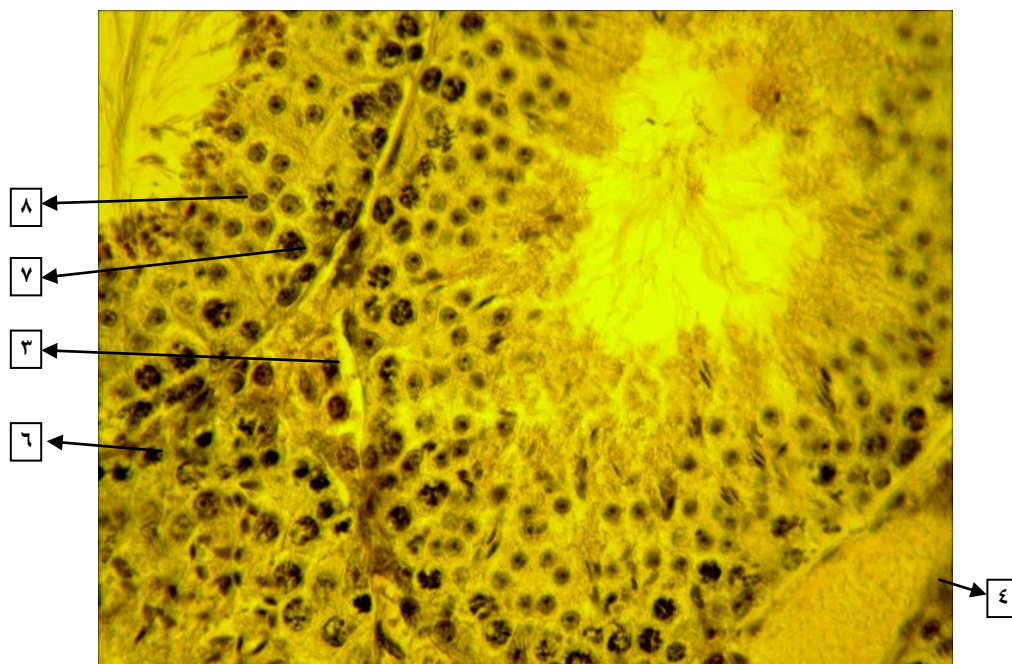


تصویر ۴. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر به صورت عرضی از بیضه، نمونه‌های بالغ در گروه تجربی ۲ (دوز ۳۰ mg/kg) (بزرگنمایی $\times 400$) [۲- لوله‌های سمینی فر / ۳- لیدیگ / ۵- فیبروبلاست / ۷- اسپرماتوسیت اولیه / ۸- اسپرماتیدها]



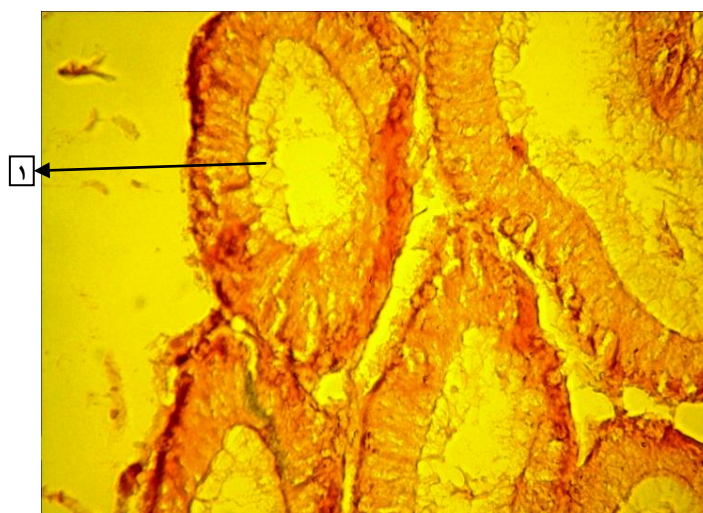
تصویر ۵. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر به صورت عرضی از بیضه، نمونه‌های بالغ در گروه تجربی ۳ (دوز ۱۵۰mg/kg) (بزرگنمایی $\times 400$)

[۲- لوله‌های سمینی فر / ۳- لیدیک / ۵- فیبروبلاست / ۶- اسپرماتوگونی B / ۸- اسپرماتیدها / ۱۰- اپیتلیوم ژرمینال]

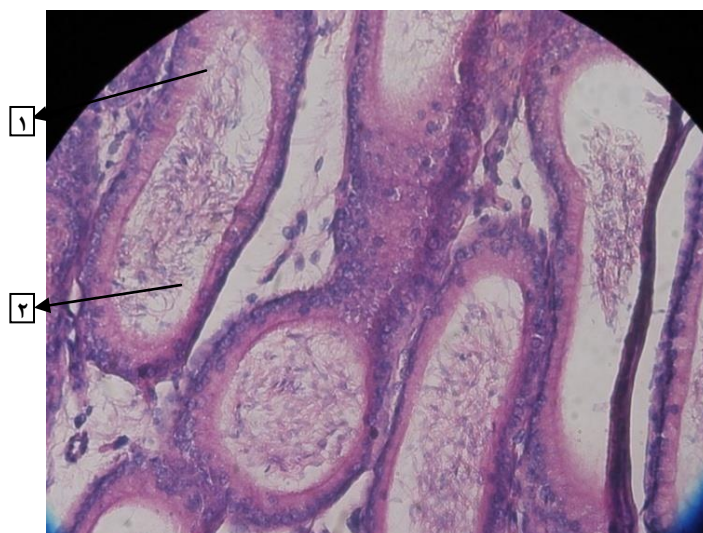


تصویر ۶. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر به صورت عرضی از بیضه، نمونه‌های بالغ در گروه تجربی ۴ (دوز ۳۰۰ mg/kg) (بزرگنمایی $\times 400$)

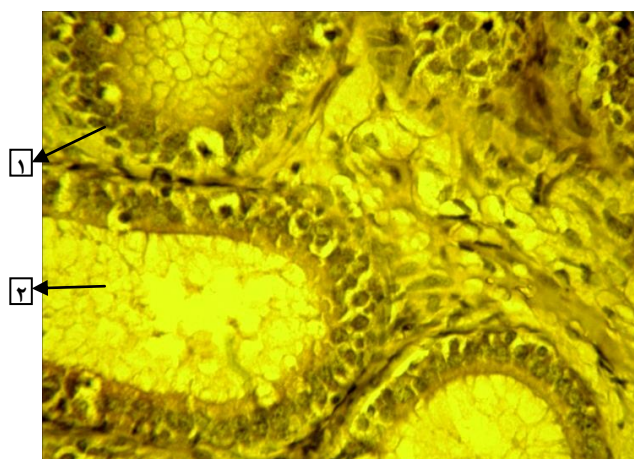
[۳- لیدیک / ۴- مقطع رگ خونی / ۶- اسپرماتوگونی B / ۷- اسپرماتوسیت اولیه / ۸- اسپرماتیدها]



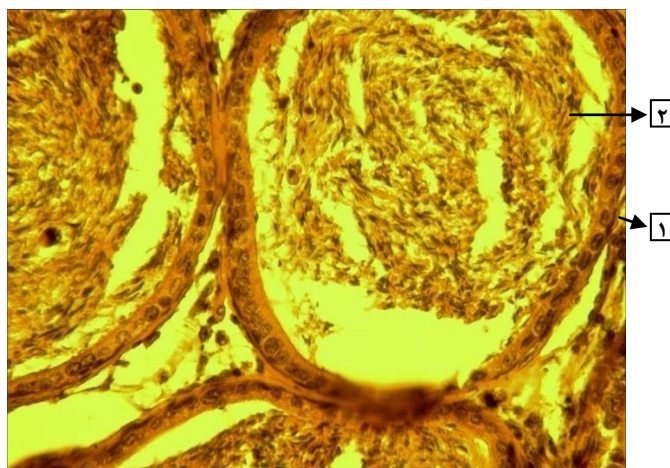
تصویر ۷. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر از اپیدیدیم، نمونه‌های بالغ در گروه کنترل (بزرگنمایی $\times 400$) [۱- لوله‌های اپیدیدیم]



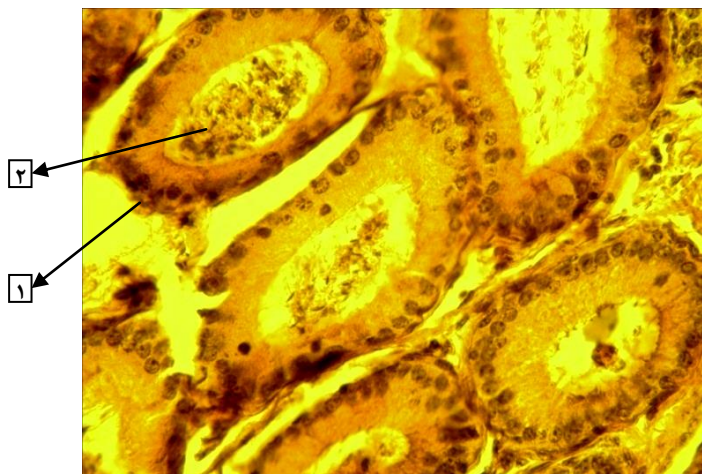
تصویر ۸. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر از اپیدیدیم، نمونه‌های بالغ در گروه شم (بزرگنمایی $\times 400$) [۱- لوله‌های اپیدیدیم / ۲- اسپرم‌های موجود در لوله]



تصویر ۹. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر از اپیدیدیم، نمونه‌های بالغ در گروه تجربی ۱ (دوز ۶ mg/kg) (بزرگنمایی $\times 400$) [۱- لوله‌های اپیدیدیم / ۳- اسپرم‌های موجود در لوله]



تصویر ۱۰. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر از اپیدیدیم، نمونه‌های بالغ در گروه تجربی ۲ (دوز ۳۰ mg/kg) (بزرگنمایی $\times 400$) [۱- لوله‌های اپیدیدیم / ۲- اسپرم‌های موجود در لوله]



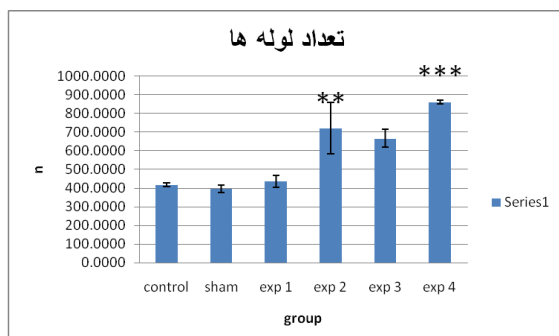
تصویر ۱۱. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر از اپیدیدیم، نمونه‌های بالغ در گروه تجربی ۳ (دوز ۱۵۰ mg/kg) (بزرگنمایی $\times 400$) [۱- لوله‌های اپیدیدیم / ۲- اسپرم‌های موجود در لوله]



تصویر ۱۲. فتومیکروگراف مقطع سریالی به ضخامت ۶ میکرومتر از اپیدیدیم، نمونه‌های بالغ در گروه تجربی ۴ (دوز ۳۰۰ mg/kg) (بزرگنمایی $\times 400$) [۱- لوله‌های اپیدیدیم / ۲- اسپرم‌های موجود در لوله]

نتایج

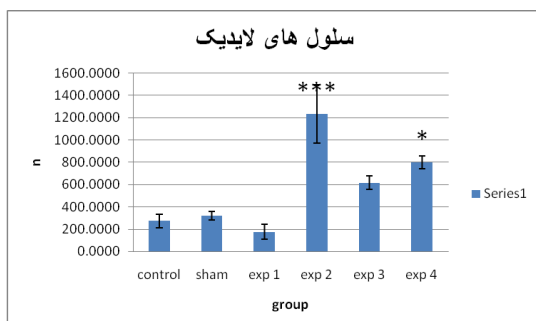
یافته‌های مطالعه حاضر مبنی بر تزریق نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به موش‌های سوری نژاد NMRI نشان می‌دهد که میانگین وزن موش‌ها با افزایش دوز در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ۴ افزایش یافته است (نمودار ۱). همچنین مشاهده شد در گروه‌های ۲ و ۴ این افزایش معنادار می‌باشد.



نمودار ۳. مقایسه میانگین تعداد لوله‌ها در بیضه در گروه‌های: کنترل، شم و گروه‌های تجربی با دوزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ میلی گرم بر کیلوگرم، تغییرات در گروه‌های تجربی ۲ و ۴ معنی‌دار است.

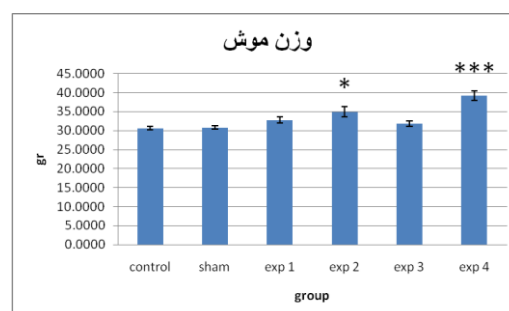
$(\bar{x} \pm SE) (* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001)$

نتایج نشان داد که تعداد سلول‌های لایدیک در بیضه در گروه تجربی ۱ کاهش ولی در گروه‌های ۲، ۳ و ۴ افزایش یافته و این افزایش در گروه‌های ۲ و ۴ نسبت به گروه‌های کنترل و شم از نظر آماری معنادار است (نمودار ۴).



نمودار ۴. مقایسه میانگین تعداد سلول‌های لایدیک در بیضه در گروه‌های: کنترل، شم و گروه‌های تجربی با دوزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ میلی گرم بر کیلوگرم، تغییرات در گروه‌های تجربی ۲ و ۴ معنی‌دار است.

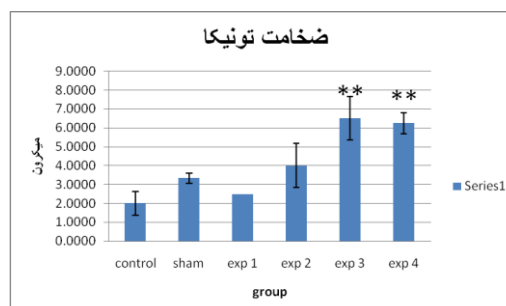
$(\bar{x} \pm SE) (* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001)$



نمودار ۱. مقایسه میانگین وزن موش‌ها در گروه‌های: کنترل، شم و گروه‌های تجربی با دوزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ میلی گرم بر کیلوگرم، تغییرات در گروه‌های تجربی ۲ و ۴ معنی‌دار است.

$(\bar{x} \pm SE) (* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001)$

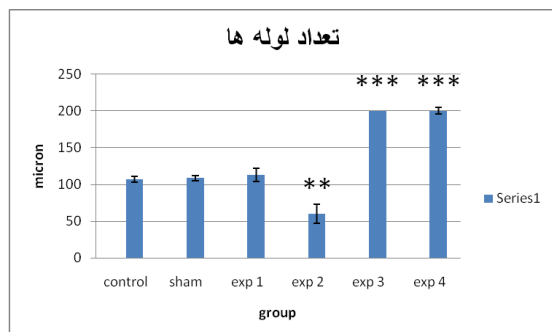
بررسی نتایج ضخامت تونیکا در بیضه در گروه تجربی ۱ کاهش و در گروه‌های تجربی ۲، ۳، ۴، ۵ افزایش میانگین را نسبت به گروه‌های کنترل و شم نشان داد. این افزایش در گروه‌های ۳، ۴ از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه میانگین ضخامت تونیکا در گروه‌های: کنترل، شم و گروه‌های تجربی با دوزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ میلی گرم بر کیلوگرم، تغییرات در گروه‌های تجربی ۳ و ۴ معنی‌دار است.

$(\bar{x} \pm SE) (* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001)$

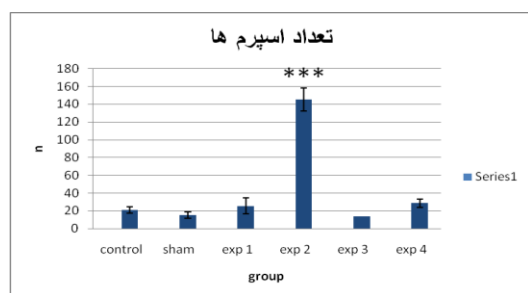
نتایج نشان داد که تعداد لوله‌ها در اپیدیدیم در گروه تجربی ۲ کاهش یافته و معنی‌دار است، ولی در گروه‌های ۱، ۳ و ۴ افزایش یافته و این افزایش نسبت به گروه‌های کنترل و شم از نظر آماری در گروه‌های ۳ و ۴ معنی‌دار است (نمودار ۷).



نمودار ۷. مقایسه میانگین تعداد لوله‌ها در اپیدیدیم در گروه‌های: کنترل، شم و گروه‌های تجربی با دوزهای ۱:۶:۳۰، ۳:۱۵۰:۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، تغییرات در گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ۴ معنی‌دار است.

$(\bar{x} \pm SE) (* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001)$

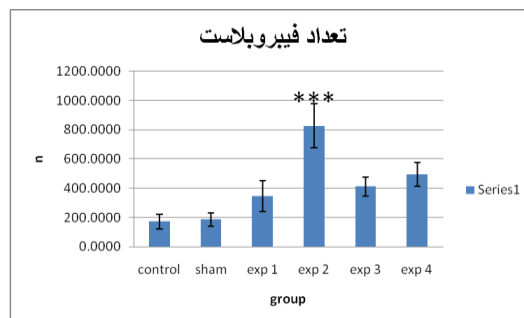
نتایج نشان داد که تعداد اسپرم‌ها در بیضه در گروه تجربی ۲ افزایش یافته و معنی‌دار است و این افزایش نسبت به گروه‌های کنترل و شم از نظر آماری معنی‌دار است (نمودار ۸).



نمودار ۸. مقایسه میانگین تعداد اسپرم‌ها در بیضه در گروه‌های: کنترل، شم و گروه‌های تجربی با دوزهای ۱:۶:۳۰، ۳:۱۵۰:۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، تغییرات در گروه تجربی ۲ معنی‌دار است.

$(\bar{x} \pm SE) (* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001)$

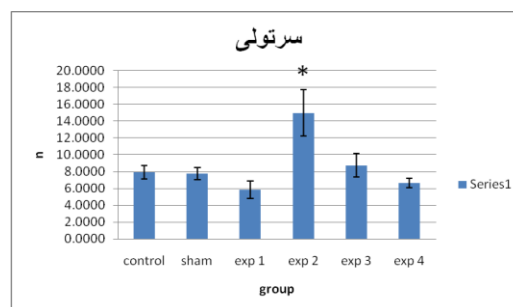
نتایج نشان داد که در تمام گروه‌های تجربی افزایش کلی در میانگین تعداد فیبروبلاست‌ها دیده می‌شود. این افزایش در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم در گروه تجربی ۲ از نظر آماری معنی‌دار است (نمودار ۵).



نمودار ۵. مقایسه میانگین تعداد سلول‌های فیبروبلاست در بیضه در گروه‌های: کنترل، شم و گروه‌های تجربی با دوزهای ۱:۶:۳۰، ۳:۱۵۰:۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، تغییرات در گروه تجربی ۲ معنی‌دار است.

$(\bar{x} \pm SE) (* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001)$

نتایج نشان داد که تعداد سلول‌های سرتولی در بیضه، در گروه‌های تجربی ۱ و ۴ کاهش، ولی در گروه‌های ۲ و ۳ افزایش یافته و این افزایش نسبت به گروه کنترل و شم از نظر آماری در گروه ۲ معنی‌دار است (نمودار ۶).



نمودار ۶. مقایسه میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در بیضه در گروه‌های: کنترل، شم و گروه‌های تجربی با دوزهای ۱:۶:۳۰، ۳:۱۵۰:۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، تغییرات در گروه‌های تجربی ۲ معنی‌دار است.

$(\bar{x} \pm SE) (* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001)$

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه آلودگی‌های ناشی از نانو ذرات به عنوان مسئله جدی و خطرناک مطرح شده است (Revell, 2006; Shi et al., 2006). ماندگاری نانو ذرات دی‌اکسید فلزی در محیط و زنجیره غذایی زیاد می‌باشد که این موجب تداوم مسمومیت‌های ناشی از آنها می‌شود (Peter et al., 2004). در پژوهش حاضر اثر سمیت نانو دی‌اکسید تیتانیوم به علت کاربرد زیاد آن در صنایع مختلف بررسی شده است (Aschberger et al., 2011).

بررسی میانگین وزن موش‌ها در تمام دوزها افزایش نشان داده است که این افزایش در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ معنی‌دار می‌باشد.

Lambort (2006) نیز آزمایشاتی در شرایط *in vivo* بر روی نانو دی‌اکسید تیتانیوم انجام داد و متوجه بزرگ شدن بیضه شد.

ضخامت تونیکا آلبوجینا در گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ۴ افزایش یافته که این افزایش در گروه‌های تجربی ۳ و ۴ معنی‌دار می‌باشد.

به نظر می‌رسد نانو دی‌اکسید تیتانیوم فرایندهای مختلفی در بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Meei et al., 2001).

تعداد لوله‌های سمینی فرز در بیضه و اپیدیدیم بررسی شد. تعداد لوله‌ها در گروه‌های تجربی ۱، ۲، ۳ و ۴ در بیضه و ۱، ۳، ۴ در اپیدیدیم افزایش یافته ولی در گروه‌های تجربی ۲ در اپیدیدیم کاهش یافته است. افزایش در گروه تجربی ۲ و ۴ در بیضه و کاهش در گروه ۲ در اپیدیدیم معنی‌دار می‌باشد.

بررسی سلول‌های لیدیک در بیضه در گروه تجربی ۱ کاهش و در گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ۴ افزایش نشان داد که این افزایش در گروه‌های تجربی ۲ و ۴ معنی‌دار می‌باشد.

Tomoko (2008) آزمایشاتی در شرایط *in vitro* با استفاده از نانو دی‌اکسید تیتانیوم انجام داد و نتیجه گرفت که نانو دی‌اکسید تیتانیوم سیستم تولیدمثلی نر را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این نانو جذب

سلول‌های لیدیک شده و تکثیر آنها را مختل می‌کند. بررسی تعداد فیبروبلاست‌ها در تمام گروه‌های گروه تجربی افزایش نشان داد که این افزایش در گروه تجربی ۲ معنی‌دار می‌باشد.

یکی از سلول‌های مهم در اسپرماتوژنز، سلول سرتولی است که کار پشتیبانی، حفاظت و تنظیم تغذیه اسپرماتوزوئیدهای در حال تکامل را بر عهده دارد. نتایج در گروه تجربی ۱ کاهش و در گروه‌های تجربی ۲، ۳ و ۴ افزایش نشان داد که افزایش در گروه تجربی ۲ معنی‌دار است.

Takeda (2004) نیز نشان داد که در معرض‌گذاری قبل از تولد با نانو ذرات تیتانیوم دی‌اکسید anatase ۲۰-۷۰ نانومتری می‌تواند در سلول‌های لیدیک و سرتولی ۴ روز و ۶ هفته بعد از تولد مشاهده شود. از این رو، تولید اسپرم روزانه به طور واضحی در مقایسه با زاده‌های کنترل کاهش می‌یابد.

در پژوهش ما نیز بررسی تعداد اسپرم‌ها در اپیدیدیم افزایش غیرطبیعی را در گروه تجربی ۲ نشان داد که این افزایش، معنی‌دار است.

پیش‌بینی می‌شود غلظت بالای نانو دی‌اکسید تیتانیوم به علت مهار فعالیت سلول و همچنین تحریک استرس اکسیداتیو و کاهش آنتی‌اکسیدان‌های سلولی و افزایش درگیری سلول‌ها در فرایندهای ایمنی موجب کاهش تعداد سلول‌های خونی می‌گردد (Chen et al., 2006; Zhang et al., 2010).

در تحقیقی که توسط Fabian (2008) صورت گرفت، تأثیر تجویز داخل وریدی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم با دوز ۵ mg/kg در رت‌های نژاد Wistar مورد بررسی قرار گرفت. تجمع مقداری از این ذرات در کبد، کلیه، طحال و ریه یافت شد، ولی هیچ گونه پاسخ التهابی در بافت‌های فوق دیده نشد. بر این اساس او پیشنهاد کرد که نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم اگر با مقادیر کم استفاده شوند، خطری ندارند.

در طی آزمایشات ما، تجمع تیتانیوم دی‌اکسید در کشاله ران، دور بیضه، درون روده و همچنین کیست‌هایی

شود، حضور برخی مواد درشت دانه می‌تواند باعث ایجاد آسیب مستقیم یا مرگ سلول در اثر این تعاملات شود (Shi *et al.*, 2006).

به‌طور کلی نتایج این پژوهش سمیت نانو دی اکسید تیتانیوم را تأیید نمود و مطالعات بیشتر جهت پیش‌بینی اثرات بیشتر این ماده پیشنهاد می‌گردد.

در روی کبد موش‌ها مشاهده شد. هنگامی که نانو ذرات، در یک بافت انباشته می‌شوند ممکن است به درون سلول‌ها جذب شوند و یا این که جذبی صورت نگیرد. اگر این ذرات جذب شوند جایگزینی نهایی مورد سلولی در لیزوزوم یا سیتوپلاسم سلول وابسته به ویژگی‌های نانو ذره خواهد بود. اگر نانو ذره در سیتوپلاسم مستقر

REFERENCES

- Alivisatos, AP.; (1996) Semiconductor clusters, nanocrystals and quantum dots. Science, February; 271 (5251): 933-9.
- Andrew, CA.; Wan, Jackie.; Ying, Y.; (2010) Nanomaterials for in situ cell delivery and tissue regeneration. Jun 15; 62(7-8): 731-40.
- Aschberger, K.; Micheletti, C.; Sokull-Klüttgen, B.; Christensen, F.; (2011) Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health- Lessons learned from four case studies. Aug; 37(6):1143-56.
- Chen, TH.; Lin, CY.; Tseng, MC.; (2011) Behavioral effects of titanium dioxide nanoparticles on larval zebrafish (*Danio rerio*). May; 63(5-12): 303-8.
- Chen, Z.; Meng, H.; Xing, G.; Chen, C.; Zhao, Y.; Jia, G.; *et al.* (2006) Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo*. Toxicology Letters, May; 163(2): 109-20.
- Chiang, CY.; Chiou, SH.; Yang, WE.; Hsu, ML.; Yung, MC.; Tsai, ML.; Chenf, LK.; Huang, HH.; (2009) Formation of TiO₂ nano-network on titanium surface increases the human cell growth. August; 25(8): 1022-1029.
- Das, I.; Ansari, S.; (2009) Nanomaterial in science and technology, Journal of science & industrial research, Aug; 68(08): 657-667.
- Erb, U.; Aust, KT.; Palumbo, G.; (2002) In nanostructured materials. Processing, properties and potential applications. Noyes: New York; p. 179-222.
- Fabian, E.; Landsiedel, R.; Ma-Hock, L.; Wiench, K.; Wohlleben, W.; vanRavenzwaay, B.; (2008) Tissue distribution and toxicity of intravenous administered titanium dioxide nanoparticles in rats. Arch Toxicol, Mar; 82(3):151-7.
- Foss, HS.; Maynard, A.; Baun, A.; Tickner, JA.; (2008) Late lessons from early warnings for nanotechnology. Nat. Nanotechnol. July; 198(3): 444-447.
- Keen, CL.; Uriu-Hare, JY.; Hawk, SN.; Jankowski, MA.; Dalton, GP.; Kwik-Uribe, CL.; Rucker, RB.; (1998) Effect of copper deficiency on prenatal developmental and pregnancy outcome 1,3-the American journal of clinical nutrition; May; 67(5): 1003-1011.
- Lambrota, R.; Liver, G.; Coffigny, H.; Pairault, C.; Frydman, R.; Habert, R.; Rouiller-Fabrea, V.; (2006) A new method for toxicity assays on human and mouse fetal testis. Nov; 88(11): 1831-5.
- Mahshid, S.; Ghamsari, MS.; Askari, M.; Afshar, N.; Lahuti, S.; (2006) Synthesis of TiO₂ nanoparticles by hydrolysis and peptization of titanium isopropoxide solution. Semicond Phys Quantum Electron Optoelectron, July; 9(2): 65-8.
- Meei, W.; Tsung, W.; Luan, H.; (2001) Association of blood arsenic levels with increased reactive oxidants and decreased antioxidant capacity in a human population of northeastern Taiwan. Environ Hroty Peal Perspect Oct; 109(10): 1011-17.

- Mital, GS.; Manoj, T.; (2011) A review of TiO₂ nanoparticles. Chinese Sci Bull, June; 56(16): 1639-57.
- O'Grady, K.; (2002) Biomedical applications of magnetic nanoparticles. J Phys D: Appl Phys; 36(13): 24-32.
- Peter, HH.; Irene, BH.; Oleg, VS.; (2004) Nanoparticles-known and unknown health risks. J Nanobiothechnol, 2(1): 12-27.
- Revell, PA.; (2006) The biological effects of nanoparticles. Nanotechnology Perceptions, 2: 283-98.
- Shi, JW.; Zhang, F.; Zhao, YL.; Chai, ZF.; (2006) Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. Toxicology Letters; 161(2): 115-23.
- Takeda, KT.; Sukue, N.; Yoshido, S.; Endocrin-disrupting activity of chemicals in diesel exhaust and diesel exhaust particles. Environ Sci, 11(1): 33-45.
- Tomoko, K.; Masako, T.; Miyoko, KI.; Takahisa, S.; Ken-ichiro, S.; Yoshimasa, N.; Ken, T.; (2008) The effects of nanoparticles on mouse testis Leydig cells in vitro. Dec; 22(8):1825-31.
- Zhang, XD.; Wu, HY.; Wu, D.; Wang, YY.; Chang, JH.; Zhai, ZB.; *et al.* (2010) Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. Int J Nanomedicine. Oct; 5(5):771-81.