مقاله پژوهشی

اثر نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید بر توان باروری آزمایشگاهی در موش سفید کوچک آزمایشگاهی

رامین جهانگیرفرد[1*]، کوثر جهدی[2]

۱. گروه آناتومی و جنین‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۱۰/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۲/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: رادیکال‌های آزاد سمّی تولیدشده به‌وسیله نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید بر روی دستگاه تولیدمثل اثرات نامطلوب داشته و اختلالاتی را در رابطه باکیفیت مایع منی و کاهش قدرت باروری ایجاد می‌کند. هدف از این تحقیق بررسی اثرات تیتانیوم دی اکساید بر توان باروری آزمایشگاهی در موش سفید کوچک آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش نر بالغ به ۴ گروه کنترل و آزمایشی تقسیم‌بندی شدند. در گروه کنترل حیوانات هیچ ماده‌ای دریافت نکردند. در گروه‌های آزمایشی حیوانات تیتانیوم دی اکساید را با دوزهای ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ دریافت کردند. پس از پایان دوره تیمار، حیوانات به روش جابجایی مهره‌های گردنی آسان کشی شدند و سپس نمونه‌های اسپرم از دم اپیدیدیم برای ارزیابی لقاح داخل آزمایشگاهی جمع‌آوری شدند. سطح $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج لقاح داخل آزمایشگاهی نشان داد نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای باعث کاهش کیفیت جنین و مراحل رشد جنینی در مقایسه با گروه کنترل شد. همچنین درصد جنین‌های متوقف‌شده در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاضر نشان داد که استرس اکسیداتیو تولیدشده به‌وسیله نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید باعث کاهش کیفیت اسپرم و توان باروری آزمایشگاهی در حالت وابسته به دوز می‌شود.

کلمات کلیدی: اسپرم، تیتانیوم دی اکساید، رشد جنینی، لقاح داخل آزمایشگاهی، موش

مقدمه

نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید اغلب در تولید ویتامین‌ها به کار می‌روند. مطابق با مقررات و ضوابط فدرال ایالات‌متحده آمریکا، مقدار تیتانیوم دی اکساید (غیر نانوذرّات) استفاده‌شده نباید از یک درصد از غذا تجاوز کند (۳-۱). در حال حاضر تیتانیوم دی اکساید در صنایع غذایی، مکمل‌های غذایی و تولید محصولات زراعی استفاده می‌شوند. علاوه بر این، نانوذرّات به‌طور گسترده در سایر زمینه‌ها ازجمله ساخت دارو، محصولات مصرفی، رنگ‌ها، پوشش‌های سطحی و همچنین برای پاک‌سازی آلاینده‌های آب، هوا و خاک مورداستفاده قرار می‌گیرند (۹-۴). علی‌رغم اینکه تیتانیوم دی اکساید یک ماده‌ی ایمن در نظر گرفته‌شده است ولی عوارض جانبی احتمالی آن بر سلامت انسان‌ها و حیوانات به‌طور وسیع گزارش‌شده است (۱۰، ۱۱). با توجه به قدرت سمّیت تیتانیوم دی اکساید، آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان احتمالاً آن را به‌عنوان ماده‌ی سرطان‌زا به طرق استنشاقی برای انسان معرفی کرده است (۱۲). مسیر قرار گرفتن انسان‌ها در معرض تیتانیوم دی اکساید اغلب از طریق مصرف مواد غذایی است و استفاده از آن به‌عنوان یک افزودنی دارویی، جایی که نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید وجود دارد به‌عنوان مواد رنگی در غذا به کار گرفته می‌شود (۱۳). ویژگی‌های فوتوکاتالیستی

*نویسندگان مسئول: **رامین جهانگیرفرد**، گروه آناتومی و جنین‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران Email: r.jahangirfard@urmia.ac.ir
https://orcid.org/0000-0003-4985-0850

تیتانیوم دی اکساید سبب اثرات نامطلوب در بافت‌های ریه (۱۴، ۱۵)، آب‌شش‌ها (۱۶)، کبد (۱۷، ۱۸)، طحال (۱۹، ۲۰)، مغز (۲۱، ۲۲)، دستگاه تولیدمثل (۲۳، ۲۴) و دستگاه قلب و عروق (۲۵) در حیوانات گزارش‌شده است. همچنین اثرات مزمن تیتانیوم دی اکساید به‌طور آشکار باعث افت عملکرد کلیه‌ها می‌گردد (۱۹). گزارش‌شده است که این نانوذرّات می‌توانند در کلیه ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تجمّع پیدا کنند (۲۰). اثرات تیتانیوم دی اکساید باعث افزایش میزان سطوح اوره و کراتینین در رت شده است (۱۹). همچنین در موش سوری سبب نارسایی توبول‌های کلیوی و درنتیجه باعث گشادشدن گلومرول‌های کلیوی می‌گردد (۲۶). پژوهشگران ثابت کردند که استفاده طولانی‌مدت از تیتانیوم دی اکساید سبب تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. این سیستم با تولید رادیکال‌های آزاد سمّی می‌تواند آثار تخریبی بر بافت‌های مختلف بدن و نیز اسپرم‌های تولیدشده در بافت بیضه اعمال کند (۲۰). به‌هرحال سیکل اسپرماتوژنز در اثر رادیکال‌های آزاد تحت تأثیر قرار می‌گیرند و دچار اختلال در تولید اسپرماتوزوآ می‌شوند. پیشرفت اثرات سمّی گونه‌های فعال اکسیژن به داخل سلول‌ها و بافت‌های گوناگون بدن احتمالاً باعث ایجاد نکروز، آپوپتوز و التهاب می‌گردند (۲۷). بیان‌شده است که با افزایش میزان غلظت گونه‌های فعال اکسیژن در محیط کشت در هر دو تکنیک لقاح خارج رحمی و تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم با کاهش میزان باروری ارتباط مستقیم دارد (۲۸). Yoneda و همکاران نشان دادند که کاهش اثرات غلظت اکسیژن و پر اکسید هیدروژن در محیط کشت می‌تواند اثرات بهبودی بر روی کیفیت جنین در مرحله بلاستوسیست داشته باشد (۲۹). تاکنون هیچ مطالعه‌ای مبنی بر اثرات نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید بر روی رشد جنین‌های حاصل از لقاح داخل آزمایشگاهی ارائه نگردیده است. لذا با توجه به اهمیت ایجاد تنش‌های استرس اکسیداتیو ناشی از تیتانیوم دی اکساید بر روی کیفیت و کمیت تولید جنین‌های آزمایشگاهی، مطالعه اخیر به‌عنوان اولین مطالعه در این زمینه انجام‌گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد (NMRI) موردمطالعه قرار گرفت. حیوانات از مرکز پرورش و نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده داروسازی دانشگاه فردوسی مشهد تهیّه و در قفس‌های پلاستیکی به مدت ۳۵ روز نگهداری شدند و غذا و آب شهری به‌صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار داده شد. حیوانات موردمطالعه با شرایط محیطی به مدت یک هفته آداپته و سازگار شدند. محیط نگه‌داری حیوانات با رعایت دمای ۲۵ الی ۲۷ درجه سانتی‌گراد و با رطوبت نسبی ۲۵ الی ۳۰ درصد همچنین پروتکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با توجه به سیکل نوری از ۷ صبح تا ۷ شب صورت پذیرفت. هنگام مراحل کاری، با در نظر گرفتن اصول و منشور اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفت. گروه‌ها شامل: گروه ۱ (گروه کنترل)؛ حیوانات در این گروه به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند و هیچ ماده‌ای دریافت نکردند. گروه ۲ (گروه آزمایشی)؛ در این گروه حیوانات تیتانیوم دی اکساید را با دوز ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به‌صورت خوراکی دریافت کردند. گروه ۳ (گروه آزمایشی)؛ در این گروه حیوانات تیتانیوم دی اکساید را با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به‌صورت خوراکی دریافت کردند. گروه ۴ (گروه آزمایشی)؛ در این گروه حیوانات تیتانیوم دی اکساید را با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به‌صورت خوراکی دریافت کردند. در پژوهش حاضر تیتانیوم دی اکساید با آب مقطر حل و از طریق گاواژ خورانده شد. بعد از پایان دوره درمان، حیوانات موردمطالعه توزین شدند و سپس با تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین به ترتیب با دوزهای ۷۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش می‌شدند. درنهایت با استفاده از روش جابجایی مهره‌های گردنی آسان کشی شدند. بعد از کنار زدن پوست و عضلات ناحیهٔ بطنی، دم اپیدیدیم با کنار زدن بافت‌های همبندی برداشته شد و سپس دم اپیدیدیم برای خروج اسپرم‌ها به تکه‌های کوچک بریده شدند. نمونه‌های اخذشده در لوله فالکون‌های استریل حاوی یک میلی‌لیتر محیط کشت HTF حاوی ۴ میلی‌گرم آلبومین سرم گاوی (BSA) در انکوباتور ۵ درصد دی‌اکسید کربن با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفتند تا اسپرم‌ها وارد محیط کشت شوند (۳۰).

اخذ اووسیت از اویداکت

به‌منظور بررسی درصد لقاح و کیفیت جنین‌های حاصل از لقاح آزمایشگاهی حیوانات موردمطالعه با هورمون‌های گنادوتروپین مادیان آبستن به میزان ۱۰ واحد بین‌المللی به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت، هورمون دیگری بنام

هورمون گنادوتروپین جفت انسان به میزان ۱۰ واحد بین‌المللی از طریق داخل صفاقی نیز تجویز شد. حدوداً ۱۰ الی ۱۲ ساعت بعد از تزریق هورمون گنادوتروپین جفت انسان حیوانات با استفاده از داروهای کتامین و زایلازین تحت بیهوشی قرار گرفتند و به دنبال آن آسان کشی شدند. سپس تخمک‌ها پس از شستشو در داخل قطرات محیط کشت لقاح در زیر روغن معدنی گذاشته شدند. اسپرم‌های جداشده مربوط به تک‌تک گروه‌ها پس از طی روند ظرفیت‌یابی به‌طور مجزا به تعداد یک‌میلیون به ازای هر میلی‌لیتر محیط کشت اضافه گردیدند (۳۰).

لقاح و روند رشد جنین

در بررسی حاضر ۴ الی ۶ ساعت بعد از اضافه کردن اسپرم عمل لقاح صورت گرفت. تعداد زایگوت‌های تشکیل‌شده در تک‌تک گروه‌ها بررسی شد و به‌صورت درصد لقاح در هر گروه گزارش شد (۳۱). در این تحقیق جهت ارزیابی میزان باروری آزمایشگاهی و روند رشد جنینی به‌وسیله میکروسکوپ اینورت صورت پذیرفت. در مطالعه حاضر، میزان درصد لقاح، جنین‌های دو الی چهار سلولی، مرحله مورولا، میزان درصد بلاستوسیست، جنین‌های هچ شده و متوقف‌شده در مراحل مختلف تیپ ۱، ۲ و ۳ در هر گروه به‌صورت کاملاً مستقل موردبررسی قرار گرفتند.

مواد شیمیایی

در این مطالعه نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید به شکل پودر سفیدرنگ کریستالیزه از شرکت سیگما آلدریچ با خلوص ۹۹/۷ درصد خریداری شد. این ماده شیمیایی با آب مقطر حل‌شده و با دوزهای تعیین‌شده به حیوانات گاواژ شد.

آنالیز آماری

میانگین داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و سپس از طریق آزمون واریانس یک‌طرفه آنالیز شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها، تعیین اختلاف میانگین‌ها و معنی‌دار بودن نتایج از تست تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

نتایج

الف) درصد لقاح

در مورد درصد لقاح تنها اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروهی بود که بیشترین میزان دوز مصرفی تیتانیوم دی اکساید را دریافت کرده بود ($p<۰/۰۵$). این در حالی است که بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که افزایش دوز مصرفی تیتانیوم دی اکساید با کاهش درصد لقاح رابطه مستقیم داشته به‌طوری‌که کمترین درصد زایگوت به بیشترین دوز تیتانیوم دی اکساید اختصاص یافت (جدول ۱).

ب) جنین‌های دو الی چهار سلولی

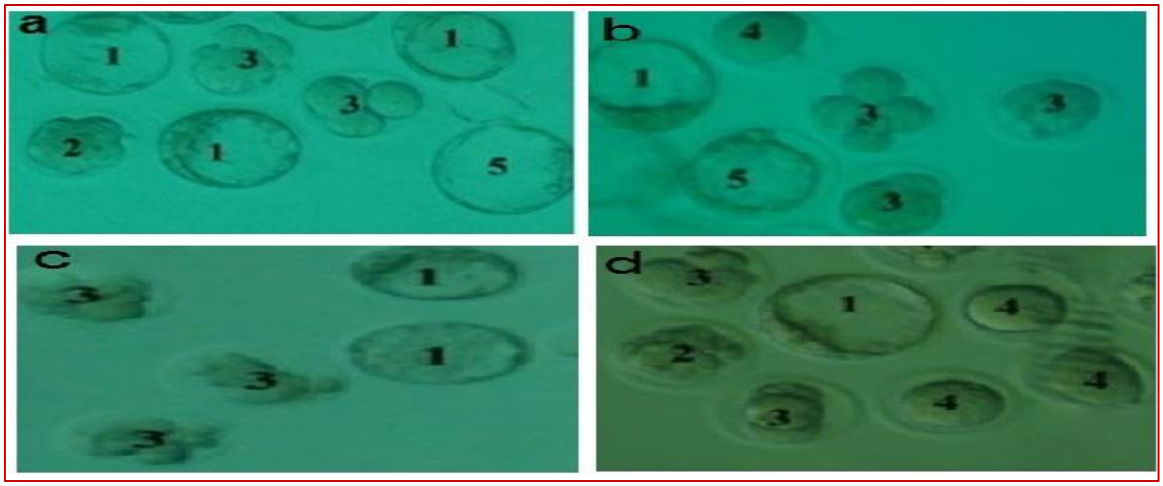
در مورد جنین‌های دو الی چهار سلولی تنها اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروهی بود که بیشترین دوز مصرفی تیتانیوم دی اکساید را دریافت کرده بود ($p<۰/۰۵$). بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار چشمگیری وجود نداشت. بیشترین کاهش میزان جنین‌های دو الی چهار سلولی در گروهی که بیشترین میزان دوز تیتانیوم دی اکساید را دریافت کرده بود

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات تیتانیوم دی اکساید بر میزان لقاح و جنین‌های دوسلولی تا چهار سلولی در گروه‌های مختلف

	گروه ۱ (کنترل)	گروه ۲ (دوز پایین)	گروه ۳ (دوز متوسط)	گروه ۴ (دوز بالا)
میزان لقاح (درصد)	۸۵/۵۸ ± ۵/۴۳^{a}	۷۴/۱۵ ± ۳/۰۱^{b}	۶۴/۲۴ ± ۶/۳۰^{c}	۴۱/۶۹ ± ۷/۶۵^{d}
جنین‌های دوسلولی (درصد)	۸۳/۴۰ ± ۱/۵۲^{a}	۷۷/۰۰ ± ۷/۷۹^{b}	۷۱/۴۵ ± ۵/۳۲^{c}	۷۰/۳۲ ± ۵/۶۲^{c}
جنین‌های چهار سلولی (درصد)	۸۴/۶۸ ± ۳/۴۰^{a}	۷۷/۷۲ ± ۳/۵۷^{b}	۶۸/۴۲ ± ۳/۰۰^{c}	۶۲/۴۴ ± ۵/۵۶^{c,d}

مشاهده شد. این کاهش نیز وابسته به دوز بوده است (جدول ۱ و شکل ۱).

افزایش میزان دوز مصرفی تیتانیوم دی اکساید میزان درصد بلاستوسیست نیز کاهش پیدا می‌کند (جدول ۲؛ شکل ۱).



شکل ۱- جنین‌های حاصل از لقاح داخل آزمایشگاهی در گروه‌های موردمطالعه (کنترل a، دوز پایین b، دوز متوسط c و دوز بالا d).
بلاستوسیست (۱)، مورولا (۲)، جنین‌های متوقف‌شده (۳)، اووسیت‌های بارور نشده (۴)، جنین‌های در حال هچ شدن (۵). بزرگ‌نمائی ×۲۰۰

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات تیتانیوم دی اکساید بر میزان مورولا، بلاستوسیست و جنین‌های هچ شده در گروه‌های مختلف

	گروه ۱ (کنترل)	گروه ۲ (دوز پایین)	گروه ۳ (دوز متوسط)	گروه ۴ (دوز بالا)
مورولا (درصد)	۷۳/۵۹ ± ۴/۶۰^{a}	۶۱/۵۹ ± ۶/۷۷^{b}	۵۱/۰۳ ± ۷/۴۴^{c}	۵۰/۰۳ ± ۲/۶۳^{c}
بلاستوسیست (درصد)	۵۱/۶۹ ± ۳/۳۳^{a}	۴۳/۴۱ ± ۳/۸۱^{b}	۴۰/۱۹ ± ۶/۱۵^{b}	۳۳/۲۵ ± ۴/۵۹^{c}
جنین‌های هچ شده (درصد)	۱۹/۴۲ ± ۲/۷۰^{a}	۰±۰	۰±۰	۰±۰

پ) جنین‌های مرحله مورولا تا بلاستوسیست

کاهشی در گروه‌های دریافت‌کننده تیتانیوم دی اکساید در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که میزان درصد مورولا در گروه دریافت‌کننده تیتانیوم دی اکساید با دوز پایین نسبت به گروه دریافت‌کننده تیتانیوم دی اکساید با دوز بالا اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). در مورد درصد بلاستوسیست در بین گروه‌های کنترل و دوز بالای تیتانیوم دی اکساید اختلاف معنی‌دار بود. به‌طوری‌که با

ت) جنین‌های هچ شده

به‌طورکلی در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده تیتانیوم دی اکساید شامل دوزهای پایین، متوسط و بالا درصد جنین‌های هچ شده برابر با صفر گزارش شد. درنتیجه اثرات سوء تیتانیوم دی اکساید بر روی جنین‌ها اثبات می‌شود (جدول ۲؛ شکل ۱).

ث) ارزیابی جنین‌های متوقف‌شده

میانگین درصد جنین‌های متوقف‌شده نشان داد که افزایشی در میزان درصد جنین‌های متوقف‌شده در گروه‌های

دریافت‌کننده تیتانیوم دی اکساید در مقایسه با گروه کنترل دیده شد. این افزایش بیشتر در گروهی بود که بیشترین میزان دوز مصرفی تیتانیوم دی اکساید را دریافت کرده بود. همچنین مابین گروه‌های آزمایشی دوزهای پایین، متوسط و بالا هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین افزایش جنین‌های متوقف‌شده تیپ ۱، ۲ و ۳ وابسته به دوز بوده به‌طوری‌که با افزایش دوز مصرفی تیتانیوم دی اکساید میزان جنین‌های متوقف‌شده نیز بیشتر می‌شود (جدول ۳؛ شکل ۱).

نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید باعث کاهش میزان درصد لقاح، جنین‌های دو الی چهار سلولی، مرحله مورولا، مرحله بلاستوسیست و جنین‌های هچ شده می‌شود. همچنین باعث افزایش میزان جنین‌های متوقف‌شده در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل شد. تیتانیوم دی اکساید به‌عنوان یک ماده‌ی سرطان‌زا معرفی‌شده است. این ماده ابتدا در سیستم گردش خون جذب‌شده و از طریق چرخش در آن خود را به قسمت‌های مختلف بدن و سپس به داخل سلول‌ها می‌رساند. در

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات تیتانیوم دی اکساید بر درصد جنین‌های متوقف‌شده تیپ‌های ۱، ۲ و ۳ در گروه‌های مختلف

	گروه ۱ (کنترل)	گروه ۲ (دوز پایین)	گروه ۳ (دوز متوسط)	گروه ۴ (دوز بالا)
درصد جنین‌های متوقف‌شده	^{a}۳۹/۵۹ ± ۳/۸۶	^{b}۴۸/۶۵ ± ۲/۱۳	^{b}۴۴/۳۹ ± ۹/۲۷	^{c}۵۱/۷۹ ± ۴/۲۹
درصد جنین‌های متوقف‌شده تیپ ۱	^{a}۲۱/۳۳ ± ۴/۶۳	^{b}۳۸/۶۳ ± ۱/۷۷	^{c}۴۷/۶۲ ± ۴۱/۶۹	^{d}۵۷/۶۷ ± ۱/۲۲
درصد جنین‌های متوقف‌شده تیپ ۲	^{a}۲۶/۵۱ ± ۴/۳۵	^{b}۳۶/۲۶ ± ۶/۴۸	^{a}۲۳/۵۵ ± ۵/۳۱	^{c}۲۰/۴۲ ± ۳/۶۱
درصد جنین‌های متوقف‌شده تیپ ۳	^{a}۵۵/۴۶ ± ۴/۶۹	^{b}۲۱/۳۸ ± ۶/۰۵	^{b}۲۱/۲۱ ± ۵/۹۰	^{c}۱۲/۵۲ ± ۴/۶۷

*حروف متفاوت $^{(a,b)}$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ردیف مابین گروه‌های مختلف است (Mean±SD).

بحث و نتیجه‌گیری

نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید غالباً در بسته‌بندی محصولات غذایی به کار گرفته می‌شوند. اثرات سمّیت تیتانیوم دی اکساید بر سیستم تولیدمثلی حیوانات اثرگذار است (۳۲). نشان داده‌شده است که فرم روتایل نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید با دوزهای ۱۰۰ و یا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر روی بافت بیضه اثر سوء داشته است (۳۳). علاوه بر این، فرم روتایل پس از تجویز خوراکی با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌ضرر تلقی شده است. این در حالی است که فرم آناتاز تیتانیوم دی اکساید سبب آسیب بافت عصبی در رت گردیده است (۳۴). نتایج بررسی حاضر نشان داد

داخل سلول‌ها، در اثر واکنش‌های شیمیایی یکسری مواد زائدی تحت عنوان رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند. ارگانل‌های داخل سلولی به‌خصوص میتوکندری تحت تأثیر تیتانیوم قرارگرفته و عملکرد آن جهت تولید انرژی کاهش پیدا می‌کند. به دنبال کاهش انرژی در سلول‌ها منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد (۳۵). در یک مطالعه انجام‌گرفته گزارش‌شده که استفاده از تیتانیوم دی اکساید سبب کاهش باروری در گونه Drosophila می‌شود (۳۳). بررسی حاضر نیز همسو با مطالعات اخیر نشان داد که تیتانیوم دی اکساید باعث کاهش کیفیت مایع منی و به دنبال آن باعث کاهش قدرت باروری می‌گردد. این کاهش باروری احتمالاً به دلیل تجمّع و اثرات نامطلوب گونه‌های

فعال اکسیژن در بافت بیضه و متعاقب آن اختلالاتی در تقسیم-های سلولی ردهٔ سیکل اسپرماتوژنز در ارتباط باشد. استرس اکسیداتیو در اسپرم سبب ایجاد آسیب به DNA، تغییر عملکرد غشاء، اختلال درحرکت و نفوذ و اتصال اسپرم به تخمک و همچنین باعث کاهش در ظرفیت‌یابی، واکنش‌های آکروزومی و زایگوت می‌شود (۲۰، ۲۷). نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق نیز با مطالعات مرور شده همخوانی دارد. در این مطالعه نیز نتایج مشابهی با مطالعات اخیر وجود داشت که بیانگر تغییرات مراحل رشد جنین‌های حاصل از لقاح داخل آزمایشگاهی است. پژوهشگران اظهار داشتند که تجمّع تیتانیوم دی اکساید در برخی از بافت‌ها ازجمله بافت کبد، کلیه، ریه و طحال در حیوان رت وجود دارد (۳۲)؛ بنابراین در راستای مطالعات قبلی تجمّع تیتانیوم دی اکساید را در بافت بیضه نیز ممکن می‌سازد. علاوه بر این، گزارش‌شده است که تیتانیوم دی اکساید می‌تواند از سد خونی- بیضه‌ای عبور کند و سلول‌های ردهٔ اسپرماتوژنز را تحت تأثیر قرار دهد (۳۵). همچنین در این مطالعه همگرا با مطالعات مرور شده استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد ناشی از تجویز تیتانیوم دی اکساید باعث افزایش شکست رشته‌های DNA می-شود. درمجموع چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش معنی‌دار میزان درصد لقاح، درصد جنین‌های دو الی چهار سلولی، درصد مورولا تا بلاستوسیست، درصد جنین‌های هچ شده و همچنین درصد جنین‌های متوقف‌شده در مراحل مختلف و در کل باعث افت توانایی باروری در حیوانات تحت درمان در گروه آزمایشی با تیتانیوم دی اکساید با دوزهای مختلف نسبت به گروه کنترل گردید. در این بررسی کاهش توان باروری، توقف رشد جنینی و مرگ سلولی احتمالاً به دلیل تولید بیش‌ازحد رادیکال-های آزاد یا متابولیت‌های سمّی تیتانیوم دی اکساید در سلول باشد. علاوه بر این، اسپرم‌ها اغلب در معرض استرس اکسیداتیو قرار مـی‌گیرند زیرا غشاء سیتوپلاسمی آن‌ها حاوی مقدار زیادی اسیدهای چرب غیراشباع بوده و سیتوپلاسم اسپرم‌ها نیز دارای یکسری آنزیم‌های کنترل‌کننده است؛ بنابراین بررسی‌های انجام‌شده نشان داده‌اند که استفاده از تیتانیوم دی اکساید سبب ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو به‌واسطهٔ تولید پراکسید هیدروژن اتفاق می‌افتد (۳۳). پس می‌توان کاهش معنی‌دار درصد باروری در گروه‌های دریافت‌کننده تیتانیوم دی اکساید در مقایسه با گروه کنترل را به نقش مهم ROS تولیدشده نسبت داد. در مطالعه حاضر نیز همسو با مطالعات قبلی احتمالاً اسپرم‌ها در معرض خطرات ناشی از استرس اکسیداتیو واقع شدند و متعاقب آن باعث ایجاد اختلالات و ناهنجاری‌های اسپرمی اغلب در ناحیهٔ سر اسپرم می‌گردد و درنتیجه سبب کاهش کیفیت جنین و کاهش قدرت باروری می‌شوند. پس چنین می‌توان گفت که کاهش معنی‌دار درصد باروری در گروه‌های دریافت‌کننده نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید در مقایسه با گروه کنترل را به نقش گونه های فعال اکسیژن تولیدشده به‌واسطه این نانو ذرّه نسبت داد. به‌طورکلی نانوذرّات تیتانیوم دی اکساید با توقف رشد جنینی در مراحل مختلف تکوین و با افزایش بلاستوسیست‌های نامطلوب منتهی به کاهش درصد موفقیت لقاح داخل آزمایشگاهی می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسنده مسئول مقاله از همکاری و مساعدت دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه و فردوسی مشهد تشکر و قدردانی می‌نماید.

مقاله حاضر با کد اخلاق در پژوهش (۵۱۱۱۸) انجام پذیرفت.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام کردند که هیچ منافع رقابتی ندارند.

References

1. Powell JJ, Faria N, Thomas-McKay E, Pele LC. Origin and fate of dietary nanoparticles and microparticles in the gastrointestinal tract. Journal of autoimmunity. 2010; 34(3): 226-233.
2. Skocaj M, Filipic M, Petkovic J, Novak S. Titanium dioxide in our everyday life; is it safe? Radiology and oncology. 2011; 45(4):227-247.
3. Weir A, Westerhoff P, Fabricius L, Hristovski K, Von Goetz N. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. Environmental science & technology. 2012; 46(4):2242-2250.
4. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environmental health perspectives. 2005; 113(7):823-839.

5. Wang JJ, Sanderson BJ, Wang H. Cyto-and genotoxicity of ultrafine TiO2 particles in cultured human lymphoblastoid cells. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2007; 628(2):99-106.
6. Warheit DB, Webb TR, Reed KL, Frerichs S, Sayes CM. Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine-TiO2 particles: differential responses related to surface properties. Toxicology. 2007; 230(1):90-104.
7. Li J, Li Q, Xu J, Li J, Cai X, Liu R, et al. Comparative study on the acute pulmonary toxicity induced by 3 and 20 nm TiO2 primary particles in mice. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2007; 24(3):239-244.
8. Wang H, Wick RL, Xing B. Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al2O3 and TiO2 to the nematode Caenorhabditis elegans. Environmental Pollution. 2009; 157(4):1171-1177.
9. Xiong D, Fang T, Yu L, Sima X, Zhu W. Effects of nano-scale TiO2, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: acute toxicity, oxidative stress and oxidative damage. Science of the Total environment. 2011; 409(8):1444-1452.
10. Linkov I, Satterstrom FK, Corey LM. Nanotoxicology and nanomedicine: making hard decisions. Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine. 2008; 4(2):167-171.
11. Elsaesser A, Howard CV. Toxicology of nanoparticles. Advanced drug delivery reviews. 2012; 64(2):129-137.
12. Baan RA. Carcinogenic hazards from inhaled carbon black, titanium dioxide, and talc not containing asbestos or asbestiform fibers: recent evaluations by an IARC Monographs Working Group. Inhalation toxicology. 2007; 19(1): 213-228.
13. Han SG, Newsome B, Hennig B. Titanium dioxide nanoparticles increase inflammatory responses in vascular endothelial cells. Toxicology. 2013; 306(5): 1-8.
14. Afaq F, Abidi P, Matin R, Rahman Q. Cytotoxicity, pro-oxidant effects and antioxidant depletion in rat lung alveolar macrophages exposed to ultrafine titanium dioxide. InJournal of Applied Toxicology: An International Forum Devoted to Research and Methods Emphasizing Direct Clinical, Industrial and Environmental Applications 1998; (Vol. 18, No. 5, pp. 307-312). Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.
15. Sun Q, Tan D, Ze Y, Sang X, Liu X, Gui S, et al. Pulmotoxicological effects caused by long-term titanium dioxide nanoparticles exposure in mice. Journal of hazardous materials. 2012; 235:47-53.
16. Federici G, Shaw BJ, Handy RD. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. Aquatic toxicology. 2007; 84(4):415-430.
17. Wang J, Zhou G, Chen C, Yu H, Wang T, Ma Y, et al. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. Toxicology letters. 2007; 168(2):176-185.
18. Ma L, Zhao J, Wang J, Liu J, Duan Y, Liu H, et al. The acute liver injury in mice caused by nano-anatase TiO 2. Nanoscale research letters. 2009, 4(11):1275.
19. Li N, Duan Y, Hong M, Zheng L, Fei M, Zhao X, et al. Spleen injury and apoptotic pathway in mice caused by titanium dioxide nanoparticules. Toxicology letters. 2010, 195(2-3):161-168.
20. Wang J, Li N, Zheng L, Wang S, Wang Y, Zhao X, et al. P38-Nrf-2 signaling pathway of oxidative stress in mice caused by nanoparticulate TiO 2. Biological trace element research. 2011, 140(2):186-197.
21. Yu Y, Ren W, Ren B. Nanosize titanium dioxide cause neuronal apoptosis: a potential linkage between nanoparticle exposure and neural disorder. Neurological research. 2008, 30(10):1115-1120.
22. Wu J, Liu W, Xue C, Zhou S, Lan F, Bi L, et al. Toxicity and penetration of TiO2 nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure. Toxicology letters. 2009; 191(1):1-8.
23. Gao G, Ze Y, Li B, Zhao X, Zhang T, Sheng L, et al. Ovarian dysfunction and gene-expressed characteristics of female mice caused by long-term exposure to titanium dioxide nanoparticles. Journal of hazardous materials. 2012; 243(1): 19-27.
24. Xia M, Wang J, He Y. BrainNet Viewer: a network visualization tool for human brain connectomics. PloS one. 2013; 8(7).
25. Sheng L, Wang X, Sang X, Ze Y, Zhao X, Liu D, et al. Cardiac oxidative damage in mice following exposure to nanoparticulate titanium dioxide. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2013; 101(11): 3238-3246.
26. Chen J, Dong X, Zhao J, Tang G. In vivo acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles to mice after intraperitioneal injection. Journal of applied toxicology. 2009; 29(4): 330-337.

27. Gui S, Li B, Zhao X, Sheng L, Hong J, Yu X, et al. Renal injury and Nrf2 modulation in mouse kidney following chronic exposure to TiO2 nanoparticles. Journal of agricultural and food chemistry. 2013; 61(37): 8959-8968.
28. Bedaiwy MA, Falcone T, Mohamed MS, Aleem AA, Sharma RK, Worley SE, et al. Differential growth of human embryos in vitro: role of reactive oxygen species. Fertil Steril. 2004; 82(3): 593-600.
29. Yoneda A, Suzuki K, Mori T, Ueda J, Watanabe T. Effects of delipidation and oxygen concentration on in vitro development of porcine embryos. J Reprod Dev. 2004; 50(3): 287-295.
30. Anand P, Thomas SG, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Sung B, et al. Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. Biochemical pharmacology. 2008; 76(11): 1590-1611.
31. Menkveld R, Wong WY, Lombard CJ, Wetzels AM, Thomas CM, Merkus HM, et al. Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. Hum Reprod. 2001; 16: 1165-1171.
32. Gui S, Li B, Zhao X, Sheng L, Hong J, Yu X, et al. Renal injury and Nrf2 modulation in mouse kidney following chronic exposure to TiO2 nanoparticles. Journal of agricultural and food chemistry. 2013; 61(37): 8959-8968.
33. Philbrook NA, Winn LM, Afrooz AN, Saleh NB, Walker VK. The effect of TiO2 and Ag nanoparticles on reproduction and development of Drosophila melanogaster and CD-1 mice. Toxicology and applied pharmacology. 2011; 257(3): 429-436.
34. Takeda K, Suzuki KI, Ishihara A, Kubo-Irie M, Fujimoto R, Tabata M, et al. Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems. Journal of Health science. 2009; 55(1): 95-102.
35. Ma L, Liu J, Li N, Wang J, Duan Y, Yan J, et al. Oxidative stress in the brain of mice caused by translocated nanoparticulate TiO2 delivered to the abdominal cavity. Biomaterials. 2010; 31(1): 99-105.

Original Article

Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on in Vitro Fertilizing Potential in Albino Mice

Jahangirfard R[1*], Jahdi K[2]

1. Department of Comparative Anatomy and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
2. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 15 Jan 2020 Accepted: 18 Mar 2021

Abstract

Background & Objective: Toxic free radicals produced by titanium dioxide nanoparticles have adverse effects on the reproductive system and can affect the semen quality and decrease fertility. The purpose of this study was to assess the effect of titanium dioxide on in vitro fertilizing potential in albino mice.

Materials & Methods: In this experimental study, 24 adult male mice were divided into 4 control and experimental groups. The experimental groups received titanium dioxide at 2.5, 5 and 10 mg/kg by gavage. After the end of the treatment period, animals were sacrificed by cervical dislocation and then sperm samples were collected from cauda epididymis to investigate in vitro fertilization. The level of $p<0.05$ was considered significant.

Results: In vitro fertilization results showed that titanium dioxide significantly reduced embryonic quality and stages of embryological development compared to the control animals. Also, the percentage of arrested embryos in the experimental groups was significantly enhanced versus the control ($p<0.05$).

Conclusion: The present results exhibited that oxidative stress produced by titanium dioxide causes sperm quality decline and decrease in vitro fertilizing potential in a dose-dependent manner.

Keywords: Sperm, Titanium dioxide, Embryonic development, In Vitro Fertilization, Mouse

*** Corresponding Author: Jahangirfard Ramin,** Department of Comparative Anatomy and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
Email: r.jahangirfard@urmia.ac.ir
https://orcid.org/0000-0003-4985-0850

Journal of Advanced Biomedical Sciences; 10 (2020): 3035-3043