

مطالعه تغییرات هیستومورفومتری و هیستوشیمی تخمدان موش صحرایی متعاقب مصرف اکسید آهن و نانو اکسید آهن

حسن مروتی^{۱*}، حسین نجف زاده^۲، سیده مهسا پور موسوی^۳، علی شهریاری^۲، بابک محمدیان^۴، ایرج کاظمی نژاده^۵

(۱) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

(۲) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران

(۳) دانش آموخته بافت شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران

(۴) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران

(۵) گروه فیزیکی، دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران

(دریافت مقاله: ۲۵ آبان ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۲۹ دی ماه ۱۳۹۴)

چکیده

زمینه مطالعه: آهن فراوان ترین فلز موجود در بدن است و ماده‌ای بالقوه خطرناک در محیط بدن محسوب می‌شود زیرا به راحتی می‌تواند رادیکال‌های مضر را ایجاد کند. **هدف:** با توجه به عوارض آهن و نانو ذرات آهن و احتمال وجود آنها در آلودگی‌های زیست محیطی از قبیل آلودگی هوا، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات اکسید آهن معمولی و نانو ذرات اکسید آهن و همچنین مقایسه اثرات آنها بر برخی از شاخص‌های بافت تخمدان موش صحرایی در مدل تجربی طراحی شد. **روش کار:** این تحقیق در ۵ گروه از موش‌های صحرایی ماده شامل گروه‌های شاهد، اکسید آهن (با دوز ۱۵ mg/kg) و نانو اکسید آهن (با دوزهای ۵، ۱۵ و ۳۰) انجام شد. مواد بصورت داخل صفاقی و روزانه به مدت ۱۶ روز تزریق شدند. در روز هفدهم موش‌ها آسان کشی شده و بافت تخمدان آنها جدا شد و از نظر تغییرات بافتی و تجمع آهن بوسیله رنگ آمیزی اختصاصی و به کمک میکروسکوپ نوری ارزیابی شدند. **نتایج:** طبق یافته‌های این مطالعه روند فولیکولوژن در تمام گروه‌های دریافت کننده آهن نسبت به گروه شاهد تحت تأثیر قرار گرفت و تعداد اجسام زرد در گروه‌های دریافت کننده نانو اکسید آهن با دوزهای مختلف، کاهش، و تعداد فولیکول‌های آنتریک در تمام گروه‌ها نسبت به گروه شاهد افزایش معنی دار یافت. **نتیجه‌گیری نهایی:** آهن و نانو ذرات آهن احتمالاً با اختلال در مسیرهای اکسیداتیو سلولی، تعداد فولیکول‌ها و اجسام زرد را کاهش و همچنین در اثر ایجاد شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تخریب میکروفیلانمت‌ها به دنبال سرباری آهن، تعداد فولیکول‌های آنتریک را افزایش می‌دهند که این حالت می‌تواند تأثیر منفی بر باروری موش‌های ماده ایجاد کند.

واژه‌های کلیدی: فولیکولوژن، نانو ذرات آهن، تخمدان، رت

مقدمه

آهن دار قرار بگیرند از آن جمله، در بیماری‌های ارثی مثل هموکروماتوز و یا در انتقال‌های خون در تالاسمی‌ها، آنمی‌های کشنده و همودیالیزهای طولانی مدت، در تحقیقات پزشکی مثل درمان با سلول‌های بنیادین، مهندسی بافت یا تصویربرداری و همچنین از نظر زیست محیطی نیز حضور ذرات آهن در آب، غذا و آلودگی‌های هوا، می‌تواند برای بدن مضر باشد (۱۸)، (۱۶). همچنین برخی حیوانات در اثر مصرف زیاد کودهای حاوی آهن دچار سرباری آهن می‌شوند. هرچه ذره‌ی آهن کوچک‌تر می‌شود نسبت سطح به حجم آن بیشتر می‌شود و واکنش شیمیایی و بیولوژیکی آن افزایش می‌یابد. واکنش شیمیایی بیشتر نانو مواد منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد از جمله رادیکال‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) می‌شود. این رادیکال‌های آزاد به غشای سلول آسیب می‌رسانند و با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و شاخص‌های استرس اکسیداتیو منجر به التهاب بافت و مرگ سلول‌ها می‌شوند (۱۱).

با توجه به تولید و کاربرد روزافزون نانو مواد از جمله نانوذرات آهن و احتمال آلودگی زیست محیطی از قبیل آلودگی هوا به ذرات آهن در مقیاس نانو، مطالعه حاضر به منظور مقایسه اثرات اکسید آهن معمولی با نانو ذرات اکسید آهن بر برخی از شاخص‌های بافت تخمدان از جمله

تغییرات بافتی تخمدان و به دنبال آن تغییرات عملکردی تخمدان یکی از عوامل مهم در ناباروری‌ها در انسان و حیوانات محسوب می‌شود. در این میان عوامل تغذیه‌ای و محیطی از جمله سموم و داروها نقش تعیین کننده‌ای دارند. آهن فراوان ترین فلز موجود در بدن است و ماده‌ای بالقوه خطرناک در محیط بدن نیز محسوب می‌شود زیرا به راحتی می‌تواند رادیکال‌های مضر را ایجاد کند (۱۴). سمیت آهن عمدتاً به واکنش فنتون مربوط می‌شود. در این واکنش مقدار آهن می‌تواند در ایجاد رادیکال هیدروکسی، سوپراکسید و پراکسید هیدروژن دخالت داشته باشد که منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن شود، این گونه‌های فعال اکسیژن با آنزیم‌ها و اجزای سلولی از جمله پراکسی‌زوم‌ها، شبکه آندوپلاسمی و اجزای موجود در سیتوپلاسم واکنش می‌دهد. نتیجه این واکنش‌ها استرس اکسیداتیوی است که آسیب شدید سلولی ایجاد می‌کند (۵). در شرایط سرباری آهن، ظرفیت اتصال پروتئین‌های انتقال دهنده آهن در بدن، اشباع شده و آهن به شکل رادیکال به بافت‌ها متصل می‌شود و آسیب سلولی و بافتی ایجاد می‌کند (۷).

بافت‌های بدن از راه‌های مختلف می‌توانند در معرض آهن و ترکیبات



بررسی آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد و برای مقایسه‌ی اختلاف میانگین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون LSD استفاده شد. تفاوت میانگین‌های گروه‌ها با $p \leq 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

مطالعه کمی بر روی تمامی مراحل فولیکولوژن نشان داد که تعداد فولیکول‌های آغازین، اولیه، ثانویه و اجسام زرد در گروه‌های دریافت کننده نانواکسید آهن، با دوزهای مختلف، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۱)، همچنین تعداد فولیکول‌های آنترزی (تصویر ۱)، در گروه‌های دریافت کننده نانواکسید آهن با دوزهای مختلف و اکسید آهن، نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار یافت ($p < 0.05$) ولی هیچ اختلاف معنی‌داری بین تعداد فولیکول‌های ثالثیه در گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل مشاهده نگردید (جدول ۱).

میزان تجمع آهن در فولیکول‌های اولیه، آغازین، ثالثیه، بالغ، اجسام زرد و فولیکول‌های آنترزی در گروه‌های دریافت کننده نانواکسید آهن با دوزهای مختلف و اکسید آهن نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار یافت ($p < 0.05$) (تصویر ۲، ۳، ۴) (جدول ۲).

قطر فولیکول‌های آغازین در گروه اکسید آهن نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار یافت و قطر فولیکول‌های بالغ در گروه‌های دریافت کننده نانواکسید آهن با دوزهای مختلف و گروه اکسید آهن نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار یافت ($p < 0.05$). هیچ اختلاف معنی‌داری بین قطر فولیکول‌های ثالثیه، آنترزی و اجسام زرد در گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل رخ نداد (جدول ۳).

در مقایسه‌ی دیگر، کاهش تعداد فولیکول‌های ثانویه در گروه‌های دریافت کننده نانو با دوزهای مختلف نسبت به گروه اکسید آهن بیشتر بود به طوری که با این گروه اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$). کاهش تعداد اجسام زرد در گروه‌های دریافت کننده نانو با دوزهای مختلف نسبت به گروه اکسید آهن بیشتر بود به طوری که با این گروه اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$). افزایش تعداد فولیکول‌های آنترزی بین گروه اکسید آهن و گروه نانواکسید آهن 50 mg اختلاف معنی‌دار نشان داد به طوری که در گروه اکسید آهن افزایش بیشتری نشان داد.

میانگین قطر فولیکول‌های ثانویه در گروه دریافت کننده اکسید آهن نسبت به گروه‌های نانواکسید آهن 15 mg و 45 به طور معنی‌داری کاهش بیشتری نشان داد ($p < 0.05$). میانگین قطر فولیکول‌های بالغ در گروه دریافت کننده اکسید آهن نسبت به گروه‌های نانواکسید آهن 15 mg و 5 به طور معنی‌داری کاهش بیشتری نشان داد ($p < 0.05$). میزان تجمع آهن در فولیکول‌های آغازین و اولیه در گروه‌های نانواکسید آهن 45 mg و 5 نسبت به گروه اکسید آهن به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). میزان تجمع آهن در فولیکول‌های ثانویه، ثالثیه، بالغ و آنترزی در گروه‌های

تعداد فولیکول‌ها، قطر فولیکول‌ها و بررسی بافت تخمدان از نظر میزان حضور آهن طراحی گردید تا ضمن بررسی بیشتر اثرات آهن بر تغییرات هیستومورفولوژیکی بافت تخمدان، تأثیر کوچکتر شدن ذرات آهن را بر این تغییرات ارزیابی نماید.

مواد و روش کار

این مطالعه تجربی با مدل حیوانی در ۵ گروه از موش‌های صحرایی ماده با سن ۱۴-۱۰ هفته و وزن $200-180 \text{ g}$ (در هر گروه ۱۰ سر) انجام شد. گروه اول: به عنوان گروه شاهد نگهداری گردید، گروه دوم: اکسید آهن معمولی را با دوز 15 mg/kg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت داخل صفاقی روزانه و به مدت ۱۶ روز متوالی دریافت نمود (۱۸، ۲). گروه سوم: نانواکسید آهن را با دوز 5 mg/kg بصورت داخل صفاقی روزانه و به مدت ۱۶ روز متوالی دریافت نمود ضمناً قطر نانوذره اکسید آهن با میکروسکوپ الکترونی گذاره، 17 nm تعیین شد. گروه چهارم: نانواکسید آهن را با دوز 15 mg/kg بصورت داخل صفاقی روزانه و به مدت ۱۶ روز متوالی دریافت نمود. گروه پنجم: نانواکسید آهن را با دوز 45 mg/kg بصورت داخل صفاقی روزانه و به مدت ۱۶ روز متوالی دریافت نمود. بعد از ۱۶ روز، تعداد پنج سر از موش‌ها در هر گروه بی‌هوش شده، سپس آسان کشی شدند، یک تخمدان از هر موش وزن گیری شده و برای مطالعه بافت شناسی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین و با میکروسکوپ نوری، برداشت شد و به روش معمول آماده سازی مقاطع بافتی، مقاطع $6-5 \mu\text{m}$ سریالی با فواصل $20 \mu\text{m}$ تهیه گردید. در این بررسی ساختار بافتی تخمدان و ساختار فولیکول‌های آغازین، اولیه، ثانویه، ثالثیه، بالغ و آنترزی و روند فولیکولوژن در گروه‌های مختلف، و قطر انواع فولیکول‌های حاوی اووسیت با وزیکول‌زایا و همچنین فولیکول‌های آنترزی و جسم‌های زرد در گروه‌های مختلف در سه فیلد میکروسکوپی از هر لام و از هر موش در هر گروه سه لام، مشخص و مورد مطالعه و اندازه گیری قرار گرفت و میانگین تعداد فولیکول‌ها در گروه‌ها مقایسه گردید (۴). تعداد پنج موش از هر گروه، برای مطالعه هیستوشیمی بافت تخمدان به منظور ارزیابی حضور آهن به وسیله میکروسکوپ نوری، در نظر گرفته شدند (۷، ۳، ۲). بر این اساس ابتدا موش‌ها بی‌هوش شدند، سپس نرمال سالین حاوی 5 واحد هپارین به ازای هر میلی لیتر، در داخل قلب تزریق گردید، شریان کاروتید بریده شد تا خون از بدن خارج شود و سپس تخمدان‌ها جدا شده، وزن گیری شده و فیکس شدند و بعد از طی مراحل پاساژ بافتی مقاطع $6-5 \mu\text{m}$ از آنها تهیه شده و طبق روش رنگ آمیزی اختصاصی برای آهن (Perls Prussian blue) رنگ شده و به وسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند و بافت تخمدان برای برآورد میزان تجمع آهن در انواع فولیکول‌های آغازین، اولیه، ثانویه، ثالثیه، بالغ، آنترزی و جسم زرد در گروه‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه داده‌ها بر اساس میانگین \pm خطای استاندارد در جداول مربوطه ارائه شده اند، برای



جدول ۱. میانگین تعداد انواع فولیکول‌ها و جسم زرد در گروه‌های مختلف. حروف غیرمشابه در ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در حد ($p < 0.05$).

انواع فولیکول	گروه‌ها					
	آغازین	اولیه	ثانویه	ثالثیه	بالغ	آتزی
شاهد (a)	۲/۶۰ ± ۳/۳۷۳ ^{bcd}	۲/۶۴ ± ۳/۳۳۹ ^d	۴/۳۰ ± ۴/۱۷۷ ^{bde}	۰/۶۱ ± ۱/۱۵۱	۰/۱۴ ± ۰/۰۷۵	۷/۳۱ ± ۰/۱۸۴ ^{bc}
اکسید آهن (b)	۷/۶۳ ± ۲/۲۵۷ ^a	۲/۲۷ ± ۳/۳۴۴	۵/۶۳ ± ۴/۰۷۷ ^{cde}	۰/۵۹ ± ۱/۱۵۳	۰/۱۱ ± ۰/۰۶	۷/۴۰ ± ۰/۳۷۰ ^{cde}
نانوآکسید آهن ۵ mg (c)	۷/۳۶ ± ۲/۲۴۴ ^a	۲/۰۸ ± ۳/۳۳۶	۴/۱۲ ± ۴/۳۳۷ ^{bde}	۰/۷۴ ± ۱/۲۶۶	۰/±۰/۰۰ ^e	۷/۹۹ ± ۰/۳۰۹ ^e
نانوآکسید آهن ۱۵ mg (d)	۷/۱۸ ± ۰/۰۹۸ ^a	۱/۶۵ ± ۲/۲۵۶	۲/۵۷ ± ۴/۶۶۶ ^{abc}	۰/۸۳ ± ۱/۱۷۷	۰/۰۸ ± ۰/۰۵۸	۷/۸۳ ± ۰/۱۴۱ ^{bc}
نانوآکسید آهن ۴۵ mg (e)	۷/۴۱ ± ۲/۲۵۱ ^a	۲/۰۳ ± ۳/۳۰۴	۲/۴۵ ± ۲/۲۷۹ ^{abc}	۰/۵۵ ± ۱/۱۵۴	۰/۲۱ ± ۰/۰۹۱ ^e	۳/۳۰ ± ۲/۲۹۱ ^{acd}

جدول ۲. میانگین میزان تجمع آهن در انواع فولیکول‌ها و جسم زرد در گروه‌های مختلف. حروف غیرمشابه در ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در حد ($p < 0.05$).

انواع فولیکول	گروه‌ها					
	آغازین	اولیه	ثانویه	ثالثیه	بالغ	آتزی
شاهد (a)	۰/۰ ± ۰/۰۰ ^{ce}	۰/۰ ± ۰/۰۰ ^{ce}	۰/۳۸ ± ۱/۸۳ ^{bc}	۰/۰ ± ۰/۰۰ ^{bce}	۰/۰ ± ۰/۰۰ ^{bce}	۱ ± ۰/۰ ^e
اکسید آهن (b)	۰/۳۰ ± ۱/۱۵۳ ^{ce}	۰/۳۰ ± ۱/۱۵۳ ^{ce}	۱/۵۰ ± ۱/۱۶۷ ^{de}	۱/۱۰ ± ۲/۲۳۳ ^{ad}	۰/۵۶ ± ۱/۱۷۶ ^{ad}	۷/۳۳ ± ۱/۱۶۷ ^{cd}
نانوآکسید آهن ۵ mg (c)	۲/۴ ± ۳/۳۴۰ ^{abde}	۲ ± ۳/۳۷۸ ^{abde}	۱/۱۱ ± ۲/۲۶۱ ^d	۰/۸۹ ± ۲/۲۶۱ ^{ad}	۰/۴۴ ± ۱/۱۷۶ ^{ad}	۰/۷۵ ± ۱/۱۶۴ ^{bc}
نانوآکسید آهن ۱۵ mg (d)	۰/۲۷ ± ۱/۱۴۱ ^{ce}	۰/۱۸ ± ۱/۱۲۲ ^{ce}	۰/۲۰ ± ۱/۱۳۳ ^{bce}	۰/۰ ± ۰/۰۰ ^{bce}	۰/۰ ± ۰/۰۰ ^{bce}	۰/۷۰ ± ۱/۱۵۳ ^{bce}
نانوآکسید آهن ۴۵ mg (e)	۱/۷۸ ± ۲/۲۷۸ ^{abcd}	۱/۷۸ ± ۲/۲۷۸ ^{abcd}	۰/۹۰ ± ۲/۲۳۳ ^{bd}	۰/۸۰ ± ۲/۲۰۰ ^{bd}	۰/۶۷ ± ۱/۱۶۷ ^{bd}	۱/۷۸ ± ۲/۲۷۸ ^{acd}

جدول ۳. میانگین قطر انواع فولیکول‌ها و جسم زرد در گروه‌های مختلف (a). حروف غیرمشابه در ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در حد ($p < 0.05$).

انواع فولیکول	گروه‌ها					
	آغازین	اولیه	ثانویه	ثالثیه	بالغ	آتزی
شاهد (a)	۳/۲۵ ± ۴/۴۰ ^b	۴/۰۹۲ ± ۲/۸۴ ^e	۱۵۰ ± ۸/۸۴ ^{ce}	۴۷۹ ± ۴۷/۱۶	۱۰۵۱ ± ۶۷/۱۴ ^{bde}	۸۸۰ ± ۶۰/۹۶
اکسید آهن (b)	۲/۰۸۶ ± ۲/۵۴ ^{ad}	۵۳/۴۱ ± ۲/۸۵ ^c	۱۹۷ ± ۱۷/۸۳ ^{ce}	۵۷۶ ± ۵۵/۶۳	۴۴۸ ± ۱۶/۴۳ ^{acde}	۹۴۵ ± ۶۹/۷۶
نانوآکسید آهن ۵ mg (c)	۲۵/۹۴ ± ۱/۱۵	۳۴/۸۹ ± ۵/۰۱ ^{bc}	۲۶۴/۴ ± ۲/۶۲ ^{abd}	۵۱۲ ± ۳۰/۳۲	۸۱۶ ± ۳۳/۱۱ ^{abe}	۹۹۶ ± ۳۶/۹۲
نانوآکسید آهن ۱۵ mg (d)	۳/۵۳ ± ۲/۴۳ ^{bc}	۳۹/۷۸ ± ۳/۰۳ ^e	۱۶۰ ± ۱۷/۴۵ ^e	۵۴۰ ± ۷/۵۲	۸۱۴ ± ۴۶/۲۴ ^{abc}	۹۸۰ ± ۳۲/۳۴
نانوآکسید آهن ۴۵ mg (e)	۲۲/۸۰ ± ۳/۳۷۸ ^d	۵۵/۷۵ ± ۴/۴۵ ^{acd}	۲۸۳/۶ ± ۲۳/۷۵ ^{abd}	۵۵۰ ± ۴۳/۰۳	۵۹۰ ± ۲۵/۳۹ ^{abcd}	۸۹۱ ± ۵۴/۱۴

اکسید آهن نسبت به گروه نانوآکسید آهن ۱۵mg به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$).

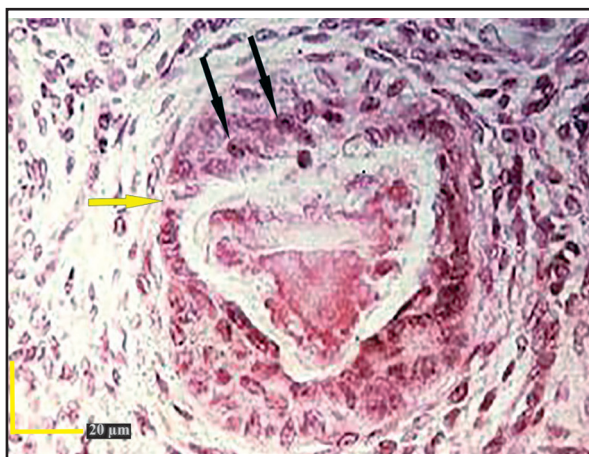
بحث

با توجه به افزایش حضور نانو ذرات آهن در محیط زندگی و هم چنین کاربرد وسیع ظروف آشپزخانه‌ای حاوی این ذرات این سؤال مطرح می‌گردد که این ذرات بر سلامت چه تأثیری می‌گذارد. در این پژوهش هیچ‌گونه مرگ و میری در موش‌های گروه تجربی مشاهده نشد. به نظر می‌رسد تجویز نانوآکسید آهن باعث کاهش تعداد فولیکول‌های آغازین، اولیه، ثانویه، اجسام زرد و فولیکول‌های بالغ و افزایش فولیکول‌های آترتیک در تخمدان گردید که می‌تواند نتیجه‌ی استرس اکسیداتیوی باشد که در اثر واکنش فنتون رخ می‌دهد است که در نهایت سبب آسیب شدید سلولی و سمیت در تخمدان می‌شود زیرا در شرایط سرباری آهن، ظرفیت اتصال پروتئین‌های انتقال دهنده آهن در بدن، اشباع شده و آهن به شکل رادیکال به بافت‌ها متصل می‌شود و آسیب سلولی و بافتی ایجاد می‌کند (۷). در مطالعه‌ای بیان شده است که در سرباری آهن، بسیاری از بافت‌ها

از جمله دستگاه تولیدمثلی و به ویژه تخمدان متأثر می‌شوند که با مطالعه حاضر نیز مطابقت دارد (۱۷).

به نظر می‌رسد آهن به اشکال نانو یا غیر نانو سبب کاهش قطر فولیکول‌های بالغ می‌شود که استرس اکسیداتیو و آثار مخرب آهن به دلیل ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن و ترکیب شدن با آنزیم‌ها و اجزای سلولی از جمله پراکسی زومها، شبکه‌ی آندوپلاسمی و اجزای موجود در سیتوپلاسم می‌تواند توجیه کننده این امر باشد (۱۷، ۱۵، ۷، ۳). توانایی ایجاد تجمع آهن در انواع فولیکول‌های تخمدانی در تحقیق حاضر با تحقیقات دیگران در بافت‌های دیگر و یا بافت تخمدان همخوانی دارد (۸، ۳). در این مطالعه با رنگ آمیزی اختصاصی آهن، محل‌های تجمع آهن در بافت تخمدان مورد بررسی قرار گرفت که از میان قسمت‌های مختلف، اجسام زرد دارای بیشترین میزان تجمع بودند که این امر با مطالعه دیگر مطابقت دارد (۱۷). همچنین طبق تحقیق حاضر تعداد فولیکول‌های ثانویه و اجسام زرد در گروه‌های دریافت کننده نانو نسبت به اکسید آهن، کاهش بیشتری دارد که طبق تحقیقات مشابه می‌تواند به علت این موضوع باشد که هرچه ذره آهن کوچکتر می‌شود نسبت سطح به حجم آن بیشتر می‌شود و واکنش شیمیایی و بیولوژیکی آن افزایش می‌یابد (۲۰، ۱۳، ۱۲). کاهش

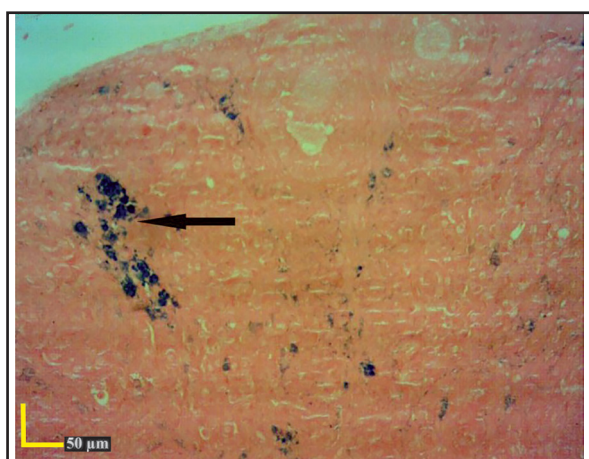




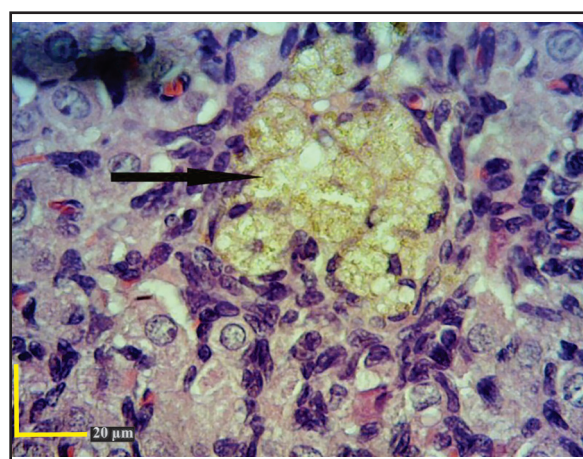
تصویر ۲. نمای میکروسکوپی فولیکول آترزی شده، گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن ۱۵ mg/kg، نظم سلول‌های گرانولوزا بهم ریخته و دچار از هم گسیختگی شده اند (پیکان زرد) هسته ی پیکنوز شده سلول گرانولوزا قابل توجه است (پیکان مشکی) (H&E، ۴۰×).



تصویر ۱. نمای میکروسکوپی از بافت تخمدان موش صحرائی، گروه شاهد، به همراه فولیکول‌های سالم (پیکان‌ها) (H&E، ۱۰×).



تصویر ۴. تخمدان موش صحرائی دریافت کننده نانو اکسید آهن با دوز mg/kg ۴۵، حضور تجمع ذرات آهن در بین سلول‌های لوتینی جسم زرد (پیکان)، (Prussian blue، ۱۰×).



تصویر ۳. تخمدان موش صحرائی دریافت کننده ی نانو اکسید آهن با دوز mg/kg ۴۵، حضور تجمع ذرات آهن در بین سلول‌های لوتینی جسم زرد (پیکان)، (H&E، ۴۰×).

در پی دارد اشاره نمود (۱۲). همچنین آترزی فولیکول‌های تخمدانی طبق تحقیقات صورت گرفته می‌تواند ناشی از تخریب و ایجاد بی‌نظمی در میکروفیلامنت‌های سلول‌های گرانولوزای اطراف فولیکولی باشد که این بی‌نظمی و تخریب میکروفیلامنت‌ها به هنگام سرباری آهن توسط به اثبات رسیده است (۱).

همچنین مطالعات دیگر نیز بیان نموده‌اند که فیلامنت‌های بینابینی شامل ویمنتین، سیتوکراتین و دسمین در میتوز سلول‌ها، آترزی فولیکول‌ها و تمایز سلول‌های فولیکولی حائز اهمیت می‌باشند که در سرباری آهن این فیلامنت‌ها نیز متاثر شده و به تبع آن بر روند فولیکولوژن تأثیر خواهند داشت (۱۹، ۱۶، ۹، ۶) تمام مطالعات ذکر شده با تغییرات ایجاد شده در روند فولیکولوژن در تحقیق حاضر، مطابقت دارد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان عنوان نمود که

فولیکول‌های تخمدانی به دنبال سرباری آهن با مطالعه دیگر که بیان می‌نماید، رادیکال‌های آزاد ایجاد شده به وسیله آهن می‌تواند پیر شدن فولیکول‌های تخمدانی را تسریع نماید و تعداد فولیکول‌ها را کاهش دهد، مطابقت دارد، که طبق مطالعه‌ی ایشان این امر به دلیل تولید رادیکال آزاد در سرباری آهن می‌باشد (۱۵). میانگین تعداد فولیکول‌های آترزی شده در گروه‌ها نیز طبق مطالعات مشابه می‌تواند به عنوان شاخص آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو ارزیابی شود که در گروه‌های دریافت کننده آهن در این تحقیق به طور معنی‌داری افزایش یافت (۳).

به طور کلی افزایش تعداد فولیکول‌های آترزی در این مطالعه نکته‌ی حائز اهمیتی است که طبق منابع موجود می‌تواند دلایل مختلف داشته باشد، از آن جمله، می‌توان به واکنش سمی آهن که در نهایت سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) شده و تخریب نواحی مختلف بافت را



References

1. Apopa, P., Qian, Y., Shao, R., Guo, N.L., Schwelger-Berry, D., Pacurari, M., Porter, D., Shi, X., Vallyathan, V., Castranova, V., Flynn, D.C. (2009) Iron oxide nanoparticles induce human microvascular endothelial cell permeability through reactive oxygen species production and microtubule remodeling. *Part Fibre Toxicol.* 6: 1-14.
2. Asano, Y., Meguro, R., Odagiri, S., Li, C., Iwatsuki, H., Shoumura, K. (2006) Visualization of non-heme ferric and ferrous iron by highly sensitive non-heme iron histochemistry in the stress-induced acute gastric lesions in the rat. *Histochem Cell Biol.* 125: 515-525.
3. Asano, Y. (2012) Age-related accumulation of non-heme ferric and ferrous iron in mouse ovarian stroma visualized by sensitive non-heme iron histochemistry. *J Histochem Cytochem.* 60: 229-242.
4. Devine, P., Perreault, S., Luderer, U. (2012) Roles of reactive oxygen species and antioxidants in ovarian toxicity. *Biol Reprod.* 86: 1-10.
5. Kehrer, J.P. (2000) The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicol.* 14:149:43-50.
6. Khan-Dawood, F.S., Yusoff, D., Tabibzadeh, S. (1996) Immunohistochemical analysis of the microanatomy of primate ovary. *Boil Reprod.* 54: 734-742.
7. Kolesarova, A., Capcarova, M., Medvedova, M., Sirotkin, A.V., Kovacic, J. (2011) In Vitro assessment of Iron effect on porcine ovarian granulosa cells: secretory activity, markers of proliferation and apoptosis. *Physiol Res.* 60: 503-510.
8. Lekawanvijit, S., Chattipakorn, N. (2009) Iron overload thalassemic cardiomyopathy: Iron status assessment and mechanisms of mechanical and electrical disturbance due to iron toxicity. *Can J Cardiol.* 25: 213-218.
9. Loffler, S.L.C., Weber, H.V., Spanel-Borowski, K. (2000) The transient disappearance of cytokeratin in human fetal and adult ovaries. *Anat embryol (Berl).* 201: 207-215.
10. Meguro, R., Asano, Y., Odagiri, S., Li, C., Iwatsuki, H., Shoumura, K. (2007) Non heme-iron nano ذرات آهن احتمالاً با اختلال در مسیره‌های اکسیداتیو سلولی، تعداد فولیکول‌ها و اجسام زرد را کاهش و همچنین در اثر ایجاد شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تخریب میکروفیلامنت‌ها به دنبال سرباری آهن، تعداد فولیکول‌های آترتیک را افزایش می‌دهد که این حالت میتواند تأثیر منفی بر باروری موش‌های ماده ایجاد کند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز تقدیر و سپاسگزاری می‌شود.

histochemistry for light and electron microscopy: a historical, theoretical and technical review. *Arch Histol Cytol.* 70: 1-19.

11. Najafzadeh H. (2011) *Nanotoxicology.* (1th ed.) Published by Kerdegar. Ahwaz, Iran.
12. Naqvi, S., Samim, M., Abdin, M., Ahmed, F.J., Maitra, A., Prashant, C., Dinda, A.K. (2010) Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *Int J Nanomed.* 16: 983-989.
13. Samal, N.K., Paulraj, R. (2010) Combined role of magnetic iron oxide nanoparticles and 2.45 GHz microwave radiation on antioxidant enzymes of mice. *Elect Advan Appl.* 2010 (1): 313-316.
14. Siddique, A., Kowdley, K.V. (2012) Review article: the iron overload syndromes. *Aliment Pharmacol Ther.* 35: 876-93.
15. Singer, S.T., Vichinsky, E.P., Gildengorin, G., van Disseldorp, J., Rosen, M., Cedars, M.I. (2011) Reproductive capacity in iron overloaded women with thalassemia major. *Blood.* 118: 2878-2881.
16. Soenen, S.J.H., Nuytten, N., De Meyer, S.F., De Smedt, S.C., De Cuyper, M. (2010) High intracellular iron oxide nanoparticle concentrations affect cellular cytoskeleton and focal adhesion kinase mediated signaling. *Small J.* 7: 832-842.
17. Suh, W.H., Suslick, K.S., Stucky, G.D., Suh, Y.H. (2009) Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience. *Prog Neurobiol.* 87: 133-170.
18. Szalay, B., Tátrai, E., Nyíró, G., Vezér, T., Dura, G. (2011) Potential toxic effects of iron oxide



nanoparticles in in vivo and in vitro experiments.
J Appl Toxicol. 32: 446-453.

19. Van den Hurk, R., Dijkstra, G., van Mil, F.N., Hulshof, S.C., van den Ingh, T.S. (1995) Distribution of the intermediate filament proteins vimentin, keratin, and desmin in the bovine ovary. Mol Reprod Dev. 41: 459-467.
20. Wang, B., Feng, W.Y., Zhu, M.T., Wang, Y., Wang, M., Gu, Y.Q., Ouyang, H., Wang, H.J., Li, M., Zhao, Y.L., Chai, Z.F., Wang, H.F. (2009) Neurotoxicity of low-dose repeatedly intranasal instillation of nano and submicron-sized ferric oxide particles in mice. J Nanopart Res. 1: 41-53.



Histomorphometric and histochemical study of rat ovary following iron oxide and iron oxide nanoparticles consumption

Morovvati, H.^{1*}, Najafzadeh, H.², Poormoosavi, S.M.³, Shahriari, A.², Mohammadian, B.⁴, Kazaminejad, I.⁵

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz- Iran

³Histology Graguated, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz- Iran

⁴Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz- Iran

⁵Department of Physics, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, Ahvaz- Iran

(Received 16 November 2015, Accepted 19 January 2016)

Abstract:

BACKGROUND: The most common metal used in the body is iron and since it may produce ROS, it could potentially be a dangerous substance. **OBJECTIVES:** Regarding the side effects of nanomaterials such as nano iron particles and possibility of environmental contamination including air pollution with nanoscale iron particle, this study was designed to compare the effects of conventional iron oxide with iron oxide nanoparticles, on certain indexes of ovarian tissue in a rat experimental model. **METHODS:** This animal model was carried out in 5 groups of female rats, including control, iron oxide (15 mg) and iron oxide nanoparticles (5, 15 and 30 mg). The drugs were intraperitoneally injected daily for 16 days. On the seventeenth day the rats were euthanized by chloroform. Ovarian tissue was removed, and histological changes and iron accumulation were assessed by special staining and light microscopy. **RESULTS:** According to our findings, folliculogenesis was decreased in all groups receiving iron. The number of corpus luteum in the groups receiving different doses of nanoparticle was reduced and the number of atretic follicles was significantly increased in all groups compared to the control group. **CONCLUSIONS:** In conclusion, probably iron nanoparticles with impaired cellular oxidative pathways, reduces the number of follicles and corpus luteum and increase atretic follicles by producing oxygen free radicals and destructing microfilaments. This can cause a negative effect on the fertility of female rats.

Keyword: folliculogenesis, iron nanoparticles, ovary, rat

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The average number of follicles and corpus luteum in different groups (Dissimilar letters indicate significant differences between the groups ($p < 0.05$)).

Table 2. The average iron concentration in different types of follicles and corpus luteum (Dissimilar letters indicate significant differences between the groups ($p < 0.05$)).

Table 3. The mean diameter of the follicle and corpus luteum in different groups (Dissimilar letters indicate significant differences between the groups ($p < 0.05$)).

Figure 1. Microscopic view of ovarian tissue in rats, the control group with normal follicles (arrows) (H&E $\times 10$).

Figure 2. Microscopic view of follicular atresia, the group receiving 15 mg/kg body nano, order granulosa cells were disrupted (yellow arrow) and pyknotic nuclei (black arrow) (H&E $\times 40$).

Figure 3. Ovarian Rats that received nanoscale iron oxide at a dose of 45 mg/kg, the concentration of iron oxide in the corpus luteal cells (arrow) (H&E $\times 40$).

Figure 4. Ovarian Rats that received nanoscale iron oxide at a dose of 45 mg/ kg, the concentration of iron oxide in the corpus luteal cells (arrow) (Perls Prussian blue, $\times 10$).

