زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره دوم، زمستان ۱۴۰۱، صفحات ۱۸۲- ۱۷۱

مقاله پژوهشی

بررسی تاثیر نانولوله‌های کربنی چندجداره (MWCNTs) بر میزان ترشح هورمون تستوسترون موش صحرایی نر تحت شرایط بی‌وزنی

عرفان مطلب‌زاده[۱]، نسیم حیاتی رودباری[۱*]، مریم صلواتی‌فر[۲]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی هوافضا، پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم و تحقیقات و فن‌آوری، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: nasimhayati@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1963341.1403

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۹

چکیده

با توجه به پیشرفت علم و انجام اکتشافات فضایی و اهمیت حفظ سلامت فضانوردان چه در مدت زمان ماموریت فضایی و چه پس از برگشت به زمین بعد از انجام پژوهش‌های فضایی، بررسی تاثیرات بی‌وزنی برروی هورمون تستوسترون و حفظ باروری فضانوردان حائز اهمیت فراوانی می‌باشد. از طرفی با توجه به کاربرد نانولوله‌های کربنی در بخش تجهیزات سفینه و همچنین شیلدهای محافظ، فضانوردان در معرض غلظت‌های بالایی از این نانو ماده قرار خواهند داشت، از این رو بررسی تاثیرات این نانو ماده بر میزان هورمون تستوسترون فضانوردان مرد در شرایط بی‌وزنی به منظور حفظ قدرت باروری آنها اهمیت شایانی دارد. در تحقیق حاضر، ۳۰ سر موش صحرایی نر مورد استفاده قرارگرفت. حیوانات بطور تصادفی در پنج گروه شش‌تایی شامل گروه کنترل، شم و سه گروه تجربی تقسیم شدند. گروه کنترل به مدت زمان ۳۰ روز آب و غذای معمولی دریافت کردند. گروه شم به مدت ۳۰ روز در شرایط بی‌وزنی (در قفس بی‌وزنی) قرارگرفتند. گروه تجربی۱ طی مدت زمان ۳۰ روز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانولوله کربنی به صورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه تجربی۲ به مدت زمان ۳۰ روز در قفس بی‌وزنی قرار گرفته و ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانولوله کربنی به صورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه تجربی ۳ به مدت زمان ۳۰ روز ۳ سی‌سی محلول (۲/۵ سی‌سی آب، ۰/۵ سی‌سی توئین) به صورت درون صفاقی دریافت کردند. نتایج نشان داد در گروه شم و گروه‌های تجربی ۱ و ۲ کاهش وزن در موش‌های مورد تیمار مشاهده می‌شود. در بررسی نمونه‌های سرم خون، میزان سطح تستوسترون به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده بود. قرارگرفتن در معرض نانولوله‌های کربنی چندجداره (MWCNT) در شرایط بی‌وزنی باعث کاهش معنی‌داری در میزان هورمون تستوسترون می‌شود.

کلمات کلیدی: تستوسترون، نانولوله کربنی چندجداره، بی‌وزنی، موش صحرایی.

مقدمه

تستوسترون یک هورمون استروئیدی جنسی است که نقش فیزیولوژیکی مهمی در مردان و زنان دارد و در توسعه فرآیندهای مورفولوژیکی و عملکردی نقش دارد که توسط مکانیسم‌های مولکولی مختلف کنترل می‌شود. همچنین در ایجاد ویژگی‌های جنسی اولیه، که شامل نزول بیضه، اسپرم‌زایی و افزایش میل جنسی

است، نقش مهمی دارد. از سوی دیگر، تستوسترون توانایی تنظیم ویژگی‌های ثانویه مردانه را دارد، شامل الگوی موی مردانه، تغییرات صوتی، عمیق شدن صدا و اثرات آنابولیک است که شامل جهش رشد در سن بلوغ و افزایش رشد بافت در صفحه اپی‌فیزیال در اوایل و در نهایت بسته شدن صفحه بعداً می‌شود. بلوغ و رشد ماهیچه‌های اسکلتی، سنتز پروتئین و گلبول‌های قرمز را تحریک می‌کند. محل اصلی تولید تستوسترون در مردان، در شبکه آندوپلاسمی صاف سلول‌های لیدیگ در بیضه‌ها قرار دارد و در زنان، هورمون تستوسترون توسط تخمدان‌ها و قشر غدد فوق کلیوی و برخی از مناطق مغز قرار دارد. در بلوغ، محور گناد هیپوفیز هیپوتالاموس نقش مهمی در تنظیم سطح هورمون تستوسترون و عملکرد غدد جنسی ایفا می‌کند (۲).

هیپوتالاموس، هورمون محرکه گنادوتروپین (GnRH) را ترشح می‌کند که با اثر بر روی سیستم پورتال هیپوفیزیال هیپوتالاموس به لوب قدامی غده هیپوفیز موجب ترشح هورمون لوتئینیزه کننده (LH) و هورمون محرک فولیکول (FSH) می‌شوند. در غدد جنسی هورمون لوتئینیزه کننده بر روی سلول‌های لیدیگ برای افزایش تولید تستوسترون عمل می‌کند. از سوی دیگر، تستوسترون ترشح را از طریق بازخورد منفی کنترل می‌کند، بنابراین سطح تستوسترون در خون افزایش می‌یابد (۱).

انسان‌ها و سایر موجودات ساکن بر روی کره زمین، در میدان گرانشی 1g تکامل یافته‌اند. در حالی که محیط فضایی مستلزم قرار گرفتن در معرض بی‌وزنی در فضاپیماها، گرانش صفر در فضا و قرار گرفتن در معرض جاذبه فوق‌العاده در هنگام ورود مجدد است. قرار گرفتن در معرض بی‌وزنی اثرات فیزیولوژیکی متعددی از جمله تغییر تعادل مایعات و الکترولیت‌ها، تغییرات قلبی عروقی، کاهش تراکم مواد معدنی استخوان، تحلیل عضلانی، افزایش درصد چربی بدن، مقاومت به انسولین، تغییرات حسی حرکتی (از جمله در بینایی و عملکرد دهلیزی)، تغییر در ظرفیت ریه، افزایش نرخ فیلتراسیون گلومرولی و کاهش تعریق و اثرات قلبی عروقی شامل کاهش حجم بطن چپ، کاهش فشار خون و افزایش شیوع آریتمی قلبی است (۳). نمونه‌هایی از تغییرات ظرفیت ریه شامل کاهش ظرفیت حیاتی در ابتدا در طول بی‌وزنی، سپس بازگشت به مقادیر قبل از پرواز، در حالی که ظرفیت باقیمانده در طول قرار گرفتن در معرض بی وزنی کاهش می‌یابد. افزایش استرس اکسیداتیو در برخی از اثرات بی‌وزنی، از جمله اثرات بر تولید مثل زنان و مردان دخیل بوده است. در نتیجه فرصت‌های محدود برای آزمایش‌ها در مدار در بی‌وزنی واقعی، و همچنین مواجهه‌های مخدوش کننده در مدار (مانند تشعشع، اختلال در ریتم شبانه‌روزی، استرس و نیروهای g بالا در طول ورود مجدد)، چندین روش توسعه داده شده است. برای شبیه‌سازی بی‌وزنی اینها عمدتاً به سه دسته تقسیم می‌شوند: ۱- تصادفی‌سازی جهت گرانش در طول زمان (با استفاده از کلینواستات یا دستگاه موقعیت‌یابی تصادفی)؛ ۲- ایجاد نیروی خنثی‌کننده (جلوگیری مغناطیسی)؛ ۳- تعلیق اندام عقبی. دو روش اول برای ارگانیسم‌های تک‌سلولی، گیاهان، مگس سرکه، گورخرماهی و کشت سلولی پستانداران استفاده شده است. مدل تعلیق اندام عقبی شامل آویزان کردن جوندگان توسط دم یا در یک مهار کل بدن در وضعیت سر به پایین ۳۰ درجه است، در حالی که در انسان در حالت استراحت در تخت با شیب ٦ درجه سر به پایین برای شبیه‌سازی اثرات فیزیولوژیکی اصلی استفاده شده است. بی‌وزنی، از جمله جابجایی سیال و عدم تحمل وزن، جاذبه فوق-العاده با سانتریفیوژ حاد برای مدل‌سازی اثرات پرتاب و ورود مجدد شبیه‌سازی شده است. سانتریفیوژ

طولانی مدت با شبیه‌سازی بی‌وزنی زمینی جفت شده است تا اثرات گرانش را به‌عنوان زنجیره‌ای از بی‌وزنی به جاذبه بررسی کند. از سانتریفیوژ در آزمایش‌های روی مدار نیز استفاده می‌شود تا گرانش طبیعی را در شرایط قرار گرفتن در معرض سایر جنبه‌های محیط فضا فراهم کند (۵).

سرعت حرکت اسپرم در حالت بی‌وزنی دستخوش تغییراتی می‌شود، اسپرم‌ها درحالت بی‌وزنی باسرعت بیشتری حرکت می‌کنند که ممکن است لقاح تحت تاثیر این تغییرات تحرک اسپرم قرار گیرد و نیروی جاذبه باعث کاهش تحرک اسپرم می‌شود. هورمون محرک فولیکول (FSH) که مسئول تخمک‌گذاری در زنان با تحریک بلوغ تخمک و تحریک تولید اسپرم در مردان است، می‌تواند توسط بی‌وزنی آسیب ببیند. بنابراین، تخمک‌گذاری و شروع بلوغ تخمک و تولید اسپرم ممکن است انجام نشود. اسیدیته بالاتر واژن بیرونی به دلیل توزیع مایع در قسمت بالایی بدن ممکن است اسپرم را بکشد یا تعداد اسپرم را کاهش دهد. درحالت بی‌وزنی ضخیم شدن اندومتر را تا حدی کاهش می‌دهد که همین مورد باعث عدم کاشت سلول تخم می‌شود. سرعت بالا در حالت بی وزنی به این دلیل که دم اسپرم می‌تواند در گرانش صفر طولانی‌تر شود می‌توان مشاهده کرد که این حرکت سریع اسپرم در محیط بی‌وزنی ممکن است به صورتی که بیان می‌شود بر باروری اسپرم تأثیر بگذارد، اسپرم ممکن است گرم تر از دمای معمولی شود برای انجام لقاح ممکن است تاثیر بیشتری روی تخمک ماده داشته باشد سرعت بالای اسپرم و برخود با دیواره تحت محیط بی‌وزنی می‌تواند باعث ایجاد نیروی اصطکاک بین اسپرم در حال جریان شود که ممکن است گرمایی ایجاد کند که اسپرم را از بین می-برد.تحرک را به عنوان درصد اسپرم متحرک در بین کل اسپرم تعریف می‌کند. درصد اسپرم‌هایی که می-توانند تا انتها تولید کنند کاهش می‌یابد. می‌توان مشاهده کرد که برخی از اسپرم‌ها در راه شنا از طریق ترشح اسیدیته بالاتر واژن بیرونی مردند. این ممکن است در نتیجه اسیدیته واژن در بی‌وزنی، عدم روانکاری ویرجینال به دلیل عدم ترشح مایع از ویرجینال برای سهولت در جاگذاری باشد. تغییر در گرانش که باعث تغییراتی در سیستم تناسلی نر و ماده پستانداران می‌شود به شیوه‌ای نسبتاً پیچیده است.به دلیل آسیب در تولید اسپرم، در صورت امکان لقاح تخمک‌ها و رشد آنها تا زمان تولد، این احتمال وجود دارد که فرزندان در قسمتی از سیستم خود دچار تاخیر رشد و ناهنجاری شوند (۱۰).

کربن یکی از رایج‌ترین و مهم‌ترین عناصر در جهان ما است. این عنصریک جزء اصلی از ماکرومولکول‌های ضروری برای زندگی، مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و کربوهیدرات‌ها با خواص شیمیایی و فیزیکی منحصر به فرد است. این خواص شیمیایی – فیزیکی خارق‌العاده در نانومواد مبتنی بر کربن بیشتر شده است. نانومواد مبتنی بر کربن با رسانایی الکتریکی و گرمایی عالی، سفتی شدید، استحکام، زیست‌سازگاری بالا و سمیت کم مشخص می‌شوند نانو مواد کربنی در صنایع مختلف از جمله الکترونیک، کشاورزی، غذا، داروسازی، پزشکی و آرایشی و بهداشتی کاربرد دارند. از جمله پرکاربردترین و مورد مطالعه‌ترین نانوذرات کربنی می‌توان به گرافن، اکسید گرافن، نانولوله‌های کربنی، فولرن‌ها و نانوالماس‌ها اشاره کرد. گرافن یک ماده دو بعدی، تک لایه است که در آن اتم‌های کربن در ساختار شبکه‌ای لانه زنبوری قرار گرفته‌اند نانوتکنولوژی حوزه وسیعی از تحقیقات بوده و جدیدترین و پیشرفته ترین فناوری تولیدی است که در سراسر جهان در حال گسترش می‌باشد. با انواع مواد تولید شده در مقیاس نانومتر از طریق روش‌های

مختلف شیمیایی و فیزیکی سروکار دارد. مواد نانوساختار، پایه و اساس نانوفناوری، مورد توجه روزافزون در حوزه نانوفناوری است. ابعاد نانومواد زیر ۱۰۰ نانومتر است. این گروه وسیع از مواد امکان دسترسی به گزینه‌های جدید مختلف از خواص مغناطیسی، الکترونیکی، مکانیکی یا نوری را فراهم می‌کنند. نانولوله‌ها متعلق به گروه نویدبخش نانومواد است اگرچه بسیاری از نانولوله‌های دیگر بر پایه بور و همچنین مولیبدن به طور گسترده بیان شده‌اند، اما در حال حاضر نانولوله‌های کربنی حیاتی‌ترین گروه هستند. نانولوله‌های کربنی حاوی یک یا چند لایه گرافیتی متحدالمرکز با قطرهایی در محدوده ۰.٤ نانومتر تا ده‌ها نانومتر هستند. زمینه نانولوله‌های کربنی توسط Iijima در سال ۱۹۹۱ توسط یک مشاهده تجربی اولیه از نانولوله‌های کربنی توسط TEM (میکروسکوپ الکترونی عبوری) و گزارش‌های بعدی از شرایط برای سنتز مقادیر زیادی نانولوله کشف شد (٤).

نانولوله‌های کربنی را می‌توان به‌عنوان صفحات گرافیتی توصیف کرد که به شکل‌های استوانه‌ای پیچیده می‌شوند. طول نانولوله‌های کربنی به صورت میکرومتر با قطر حدود ۱۰۰ نانومتر است.

نانولوله‌های کربنی (CNTs) به عنوان مشتقاتی از الیاف کربن و فولرن با مولکول‌های متشکل از ٦۰ اتم کربن که در لوله‌های خاصی چیده شده‌اند، در نظر گرفته می‌شوند. دو نوع نانولوله کربنی وجود دارد که بر اساس تعداد لایه‌های کربنی موجود در آنها طبقه-بندی می‌شوند. نانولوله‌های کربنی تک‌جداره (SWCNTs) از یک لایه گرافن با قطری بین ۰/٤ تا ۲ نانومتر تشکیل شده‌اند و معمولاً به صورت بسته‌های شش‌ضلعی ساخته می‌شوند (٤). نانولوله‌های کربنی چندجداره (MWCNTs) از دو یا چند سیلندر تشکیل شده‌اند که هر کدام از صفحات گرافن تشکیل شده‌اند. قطر از ۱ تا ۳ نانومتر متغیر است. نانولوله‌های کربنی را می‌توان با سه روش مختلف، روش تخلیه قوس، روش فرسایش لیزری و روش رسوب شیمیایی بخار سنتز کرد. روش تخلیه قوس از دمای بالا یعنی (بیش از ۳۰۰۰ درجه سانتیگراد) استفاده می‌کند که برای تبخیر اتم‌های کربن به پلاسما لازم است و CNTهای چندجداره و تک‌جداره را تشکیل می‌دهد. وجود یک عامل کاتالیزوری برای MWNT اجباری نیست، در حالی که در هنگام تهیه SWNT منفرد، به عامل کاتالیزوری مانند کبالت، ایتریوم، نیکل، آهن و غیره نیاز است. روش رسوب شیمیایی بخار شامل منابع هیدروکربنی مانند کبالت، متان، اتیلن است. روش فرسایش لیزری شامل تبخیر گرافیت در یک کوره الکتریکی گرم شده در دمای ۱۲۰۰ درجه سانتیگراد است. خلوص گرافیت خلوص سطح بالایی را برای محصولات به دست آمده و نسبت تبدیل بالا تضمین می کند. برای اهداف زیست مواد، سطح خلوص بالا یک نگرانی است. بنابراین، پردازش ماکروسکوپی نیز برای بهبود کیفیت مواد نانولوله‌های کربنی و به دست آوردن ویژگی‌های خاص مانند طول، تراز و غیره استفاده می‌شود. MWCNT برای اولین بار توسط Iijima با روش تخلیه قوس کشف شد. این روش قدیمی‌ترین روشی است که قبلاً برای تولید الیاف کربن استفاده می‌شد (٤).

پلیمریزاسیون امولسیونی درجا برای سنتز موفقیت‌آمیز کامپوزیت‌های نانولوله کربنی (CNT) در یک سیستم کلوئیدی با پلی‌استایرن یا PS برای تشکیل برس نانوساختار استفاده شد. نانولوله‌های کربنی ابتدا با اسید اولئیک پس از شور شدن با (۳-آمینوپروپیل) تری‌اتوکسی سیلان عامل‌دار شدند تا خواص اتصال متقابل ایجاد کنند. CNTها خواص شیمیایی و فیزیکی عالی مانند استحکام کششی بالا، وزن فوق‌العاده سبک، ساختارهای الکترونیکی ویژه و پایداری شیمیایی و

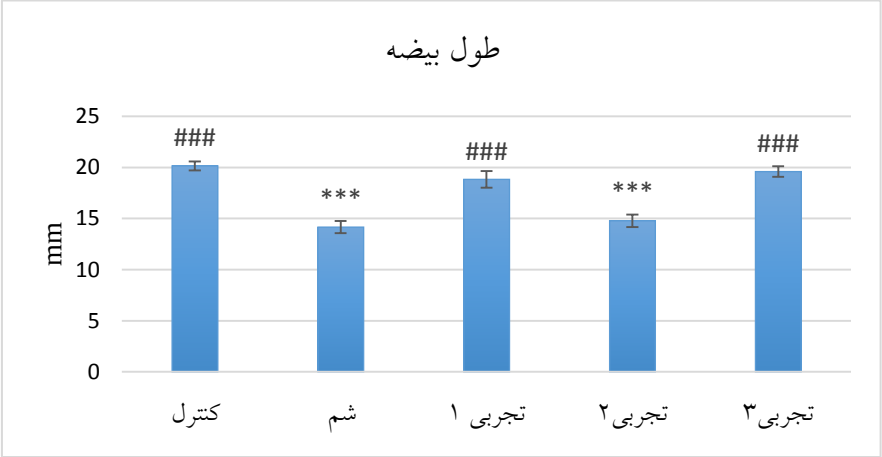
حرارتی بالا را نشان می‌دهند. به دلیل این خواص استثنایی، دانشمندان علاقه زیادی به این نانومواد پیدا کرده‌اند. در میان نانومواد کربنی، نانولوله‌های کربنی بیشترین استفاده را برای کاربردهای مختلف دارند. کاربردهای اصلی نانولوله کربنی شامل انتقال بیومولکول، دارو و دارو به اندام‌های مورد نظر، تشخیص و تجزیه و تحلیل حسگرهای زیستی است (۲).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در تاریخ ۱۴۰۰/۱۲/۱ به شماره شناسه IR.IAU.SRB.REC.1400.311 در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران ثبت و تایید شد. در این مطالعه از ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ با میانگین وزن تقریبی ۲۶۰ گرم استفاده شد. موش‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه وبه اتاق حیوانات مجتمع آزمایشگاهی رازی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انتقال داده شدند. این موش‌ها به صورت تصادفی در پنج گروه شش‌تایی و به مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی متعادل با دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی همراه با استفاده از آب آشامیدنی مناسب و غذای آماده موش به شکل حبه در اختیار آنها قرار گرفت. پس از آن نانولوله کربنی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان خریداری شد. سپس از قفس‌های بی وزنی دانشگاه هوافضا برای تیمار موش‌ها استفاده شد. تیمار این پژوهش شامل گروه‌های کنترل، شم، سه گروه تجربی (تزریق نانو، تزریق توئین۸۰ بی‌وزنی با تزریق نانو) بودند. گروه کنترل در طول دوره آزمایش بجز آب و غذای استاندارد هیچ گونه ماده‌ای دریافت نکردند. گروه شم: حیوانات این گروه در مدت ۳۰ روز در شرایط بی وزنی (در قفس بی‌وزنی) قرار گرفته‌اند. گروه تجربی ۱: در این گروه حیوانات در مدت زمان ۳۰ روز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن موش نانولوله کربنی به صورت درون صفاقی (هر هفته یکبار- مجموع ۵ بار) تزریق شد. گروه تجربی۲: در این گروه حیوانات به مدت زمان ۳۰ روز در قفس بی‌وزنی قرار گرفته و ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن موش نانولوله کربنی نیز به صورت درون صفاقی (هرهفته یکبار- مجموع پنج بار) تزریق شد. گروه تجربی۳: دراین گروه حیوانات به مدت زمان ۳۰ روز ۳ سی‌سی محلول (۲/۵ سی‌سی آب، ۰/۵ سی‌سی توئین) به صورت درون صفاقی (هر هفته یکبار-مجموع پنج بار) تزریق شد. آزمایشات به مدت ۳۰ روز ادامه یافت و پس از اتمام آزمایش به منظور بررسی هورمون تستوسترون موش‌های هر گروه به طریقه بی-هوشی با کتامین با دوز ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و زایلازین با دوز ۱۲ میلی‌گرم/کیلوگرم بیهوش و کشته شدند. پوست بدن و پرده صفاق بریده شد،سپس از قلب برای بررسی هورمون تستوسترون خون گرفته شد و سپس نمونه خون سانترفیوژ شد و سرم خون برای بررسی هورمون تستوسترون با استفاده ازکیت شرکت Monobind ساخت کشور آمریکا جدا شد. سپس باروش تکنیک الایزا باطول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد. نتایج بدست آمده بصورت اعداد خام به کامپیوتر داده شد سپس تحلیل و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۶ با در نظرگرفتن انحراف معیار (SE) و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تست Tukey انجام گرفت ($p < ۰/۰۰۱$). نمودارها توسط نرم‌افزار Excelورژن ۱۶،۶۲ ۲۰۲۰ رسم شدند.

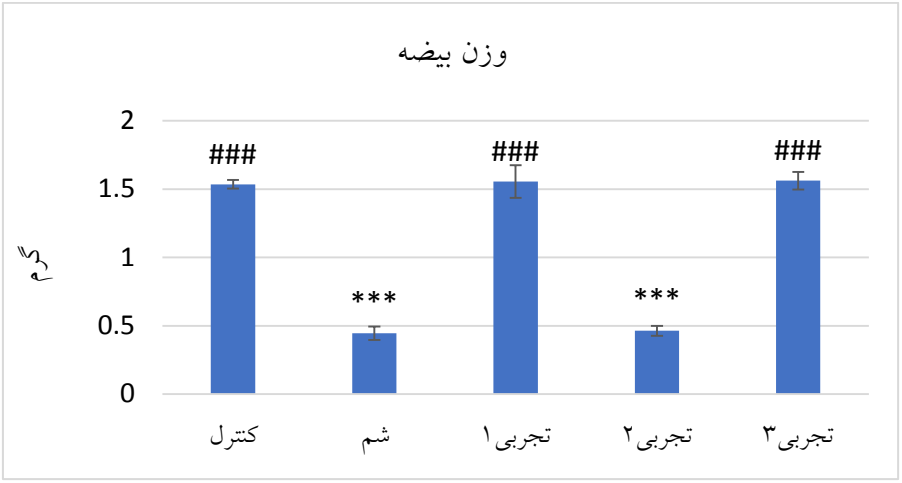
نتایج

بررسی‌های نمونه سرم خون(نمودار4) نشان داد که در حالت بی وزنی (شم)میزان ترشح هورمون تستوسترون در مقایسه با گروه کنترل به شکل معنی داری کاهش پیدا می‌کند در گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ کاهش معنی‌داری از میزان ترشح تستوسترون در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. این به این معنا است که اثر نانولوله کربنی چند جداره در شرایط بی-وزنی باعث کاهش معنی‌داری از میزان ترشح هورمون تستوسترون در مردان می‌شود که این کاهش باعث ایجاد ناباروری شده و مشکلات تولیدمثلی را همراه است. در قسمت بافت بیضه کاهش معنی داری طول بیضه در گروه‌های شم و تجربی ۱، ۲ و ۳ مشاهده شد و قطر بیضه در گروه‌های شم و تجربی ۲ کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل شد و گروه‌های کنترل و تجربی ۱ و ۳ دارای افزایش معناداری نسبت به گروه شم مشاهده شد و گروه‌های دیگر بدون معنا داری بودند و گروه‌های کنترل و تجربی ۱ و ۳ دارای افزایش معناداری نسبت به گروه شم مشاهده بر طبق (نمودارهای ۱ و ۲) شد. در قسمت تغییرات وزن بیضه در گروه‌های شم و تجربی ۲ کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد و در گروه‌های کنترل و تجربی ۱ و ۳ در مقایسه با گروه شم افزایش معناداری مشاهده گردید (نمودار۳).

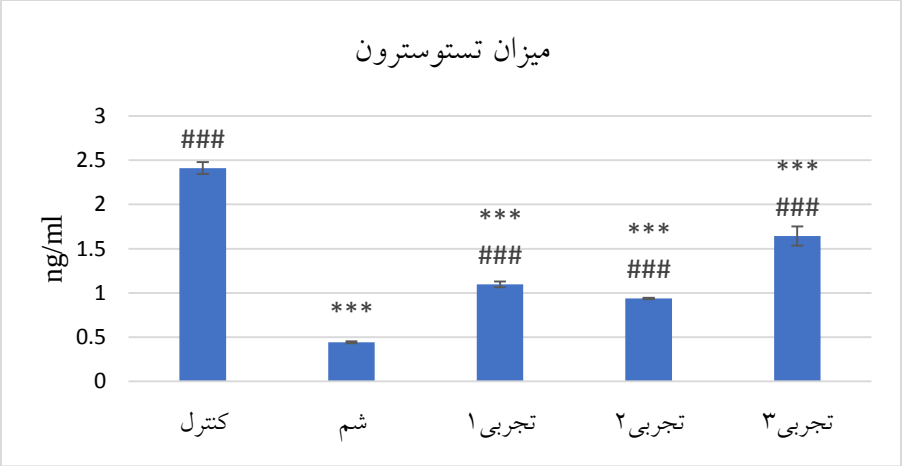


نمودار۱- مقایسه تغییرات طول بیضه در گروه‌های مختلف. ***: (p < ۰/۰۰۱) معناداری نسبت به گروه کنترل، ### (p ۰/۰۰۱ >) معناداری نسبت به گروه بی‌وزنی

نمودار ۲- مقایسه تغییرات قطر بیضه در گروه‌های مختلف. ***: (p < ۰/۰۰۱) معناداری نسبت به گروه کنترل، ### (p ۰/۰۰۱ >) معناداری نسبت به گروه بی‌وزنی



نمودار ۳- مقایسه میزان وزن بیضه در گروه های مختلف. ***: (p < ۰/۰۰۱) معناداری نسبت به گروه کنترل، ###: (p < ۰/۰۰۱) معناداری نسبت به گروه بی‌وزنی



نمودار ٤- مقایسه میزان هورمون تستوسترون در گروه‌های مختلف. ***: (p < ۰/۰۰۱) معناداری نسبت به گروه کنترل، ###: (p < ۰/۰۰۱) معناداری نسبت به گروه بی‌وزنی

بحث

با توجه به پیشرفت علوم و افزایش سفرهای فضایی، اهمیت مطالعات در این زمینه بر همگان مبرهن می‌باشد. امروزه ارسال ایمن و بدون خطر یک فضاپیما به فضای خارج از جو زمین، نیازمند صرف میلیاردها دلار هزینه و زمان متخصصان رشته‌های مختلف است. به‌علاوه تکنولوژی سفینه‌های سرنشین‌دار بسیار پیشرفته‌تر از انواع بدون سرنشین بوده و در صورت نیاز به حمل انسان می‌بایست هزینه بسیار بیشتری صرف شود. از طرف دیگر، در حال حاضر هیچ‌گونه روش مطمئنی برای شبیه‌سازی بی‌وزنی در یک محدوده زمانی نسبتاً طولانی، به‌جز خارج شدن از جو زمین وجود ندارد و نیز ایجاد حالت بی‌وزنی کوتاه‌مدت (چند ثانیه) نظیر آن‌چه در ماشین سقوط آزاد، راکت یا هواپیما اتفاق می‌افتد؛ ارزش چندانی برای مطالعات زیستی ندارد. بنابراین به‌دلیل محدود بودن منابع مالی و مشکلات موجود، اهمیت و نیاز دانشمندان به شبیه‌سازهای بی‌وزنی برای انجام مطالعات زیستی افزایش می‌یابد. با توجه به اهمیت

حفظ سلامت مسافران فضایی در طول اکتشاف و پس از بازگشت به زمین، مطالعات در این حوزه حائز اهمیت به سزایی می‌باشد. علاوه بر این به دلیل کاربرد نانولوله‌های کربنی در سازه و شیلدهای محافظ در سفینه، فضانوردان به مدت هرچند کوتاه در معرض این ماده قرار خواهند گرفت. ثابت شده این نانو ماده بر قدرت باروری موش‌های نر BALB/c تاثیر منفی دارد (۳).

با توجه به امکان قرارگیری طولانی مدت خدمه پروازهای فضایی در معرض نانولوله‌های کربنی و همچنین تغییرات نیروی گرانش در شرایط فوق، در این مطالعه به بررسی همزمان تاثیر بی وزنی شبیه-سازی شده با مدل تعلیق اندام تحتانی در رت‌ها با تیمار MWCNT پرداخته شده است.

به دلیل حساسیت بالای اندام‌های تولیدمثلی نسبت به شرایط محیطی، در این مطالعه تاثیر شرایط ذکر شده بر اندام جنسی نر و هورمون تستوسترون مورد مطالعه قرار گرفت.

موری هولتون و همکارانش در سال ۲۰۰۲ به این نتیجه رسیدند که پارامترهای محیطی و فیزیولوژیکی، از جمله دمای اتاق، زاویه تخلیه و وزن بدن، باید روزانه کنترل شوند (۷).

محل نگهداری حیوانات، جابجایی و سن نیز فاکتورهای مهمی هستند که در طراحی آزمایش‌های تخلیه اندام عقبی باید در نظر گرفته شوند.

مدل تخلیه اندام عقبی برای تقلید از پرواز فضایی توسعه داده شد. بنابراین این مدل بینش‌های مهمی را در مورد مشکلات بهداشتی مبتنی بر پروازهای فضایی و زمینی ارائه کرده است در این مدل، اندام‌های عقب جوندگان برای ایجاد یک شیب ۳۰ درجه به سمت پایین بالا می‌روند که منجر به جابجایی مایع سر و جلوگیری از تحمل وزن توسط قسمت‌های عقبی می‌شود (۷).

در تحقیق اوگنوا و همکاران در سال ۲۰۲۰ نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که با تغییرات مختصری در استرس مکانیکی خارجی، کاهش فعالیت حرکتی اسپرم موش رخ می‌دهد. در شرایط جاذبه، پس از ۱ ساعت، سرعت حرکت کاهش می یابد، و همچنین نسبت اسپرم‌های متحرک کاهش می یابد. در شرایط بی وزنی شبیه‌سازی شده، پس از ٦ ساعت، تعداد اسپرم های متحرک کاهش می‌یابد. این تغییرات در حرکت با تغییر در ساختار اسکلت سلولی و کاهش محتوای توبولین همراه است (۸).

محمدی و همکارانش در سال ۲۰۲۰ در مورد نانولوله‌های کربنی (CNTs) به‌عنوان یک کلاس جدید از نانوذرات چندمنظوره در زیست‌پزشکی پدیدار شده‌اند، اما اثرات متعدد آنها در داخل بدن نامشخص است (٦). تأثیر انواع مختلف عملکرد و مدت زمان قرار گرفتن در معرض، هنوز مشخص نشده است.

در اینجا، آنها یک مطالعه سم‌شناسی کامل را برای ارزیابی اثرات نانولوله‌های کربنی تک و چند جداره (SWCNTs و MWCNTs) با گروه های عاملی سطحی آمین یا کربوکسیلیک اسید (COOH) گزارش کردند. نتایج نشان داد که استرس اکسیداتیو قابل توجه و آپوپتوز سلولی متعاقب آن می‌تواند در هر دو تجویز حاد و عمدتاً در تزریق داخل وریدی مزمن ایجاد شود. همچنین، پارامترهای تولیدمثلی نر در طول این مواجهه‌ها تغییر کردند. نانولوله‌های کربنی عامل-دار آمینو دارای خواص سمی بیشتری در مقایسه با گروه عامل‌دار COOH بودند و همچنین، در برخی از گروه‌ها، نانولوله‌های چند دیواره در ایجاد سمیت سلولی نسبت به نانولوله‌های تک جداره فعال‌تر بودند. جالب توجه است که SWCNTs-COOH کمترین تغییرات را در اکثر پارامترها داشت. بدیهی است که نتیجه‌گیری می‌شود که سمیت CNTها در اندام‌های

خاص را می‌توان از طریق عملکردهای سطحی خاص به حداقل رساند (٦).

پالمر در سال ۲۰۱۹ اثرات نانولوله‌های کربنی بر سمیت را مورد مطالعه قرار داد. آزمایشگاه آنها قبلا نشان داده بود که یک نانولوله کربنی چندجداره کربوکسیله (MWCNT) پاسخ حساسیت بیش از حد تماسی ناشی از ۲، ٤-دینیتروفلوئوروبنزن را در موش تشدید می‌کند. در اینجا نقش کربوکسیلاسیون را در سمیت پوستی MWCNT بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که داده‌های ارائه‌شده در اینجا نشان می‌دهد که کاربرد موضعی و حاد دوزهای پایین MWCNTها می‌تواند سمیت سلولی کراتینوسیت و تشدید شرایط پوستی آلرژیک را به شیوه‌ای وابسته به کربوکسیلاسیون القا کند (۹).

نانولوله‌های کربنی (CNT) لایه‌هایی از اتم‌های کربن هیبرید شده sp2 هستند که در ساختارهای استوانه‌ای تک جداره (SWCNT) یا چند جداره (MWCNT) تشکیل شده‌اند.

ین نانوذرات با نسبت ابعاد بالا دارای قطر منافذ کمتر از ۱۰۰ نانومتر و طولی معمولاً در مقیاس میکرون هستند. ترکیب آنها به نانولوله‌های کربنی با خواص فیزیکی منحصر به فرد، از جمله استحکام کششی بالا و رسانایی الکتریکی، می‌بخشد.

حوزه علم مواد قبلاً از این خواص برای تقویت پلیمرهای مورد استفاده در آن استفاده کرده است مانند وسایل نقلیه و تجهیزات ورزشی. با این حال، سطوح مورد انتظار CNT های آزاد شده از این محصولات کم است. نگرانی بیشتر، هم قرار گرفتن در معرض شغلی فعلی ناشی از تولید CNTها و هم قرار گرفتن در معرض احتمالی از فناوری‌های زیست پزشکی آینده است که از CNTها استفاده می‌کنند. ارزیابی‌های اولیه بر روش‌های ساخت و جابجایی CNT نشان داد که غلظت CNT موجود در هوا می‌تواند تا ۵۳ میکروگرم بر متر مکعب باشد. تحقیقات همچنین نشان داد که قرار گرفتن در معرض تنفس درون تنی با CNTها منجر به التهاب حاد ریه و فیبروز می‌شود (۹).

رحمان در سال ۲۰۱۷ آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان یک نوع از نانولوله‌های کربنی چندجداره (MWCNTs) را به عنوان احتمالاً سرطان‌زا برای انسان طبقه‌بندی کرده است و به بررسی پتانسیل ژنوتوکسیک، جهش‌زایی، التهابی و فیبروتیک MWCNTها پرداخت (۱۱).

نانولوله‌های کربنی چندجداره به دلیل استحکام کششی بالا، انعطاف‌پذیری، قابلیت جذب، دوام و وزن سبک به طور فزاینده‌ای در محصولات تولیدی متنوع گنجانده می‌شوند. در نتیجه، قرار گرفتن در معرض این مواد در محیط‌های محیطی و شغلی یا از طریق محصولات مصرفی در حال افزایش است. انواع MWCNTها در تعداد دیواره، ضخامت دیواره، طول الیاف، سفتی و ناخالصی‌های شیمیایی متفاوت است. اندام هدف اولیه برای اثرات سمی پس از قرار گرفتن در معرض MWCNTها در ریه‌ها است و جذب از طریق دهان کم است. به دلیل اندازه آنها، MWCNTها دسترسی نامحدودی به اکثر قسمت‌های ریه دارند، می‌توانند به نواحی آلوئولی بسیار عروقی، بینابینی و فضای پلور برسند و درجه بالایی از پایداری زیستی ریوی را نشان دهند. در حیوانات آزمایشگاهی، قرار گرفتن در معرض MWCNTها از طریق استنشاق، آسپیراسیون یا القای داخل تراشه باعث التهاب ریوی، هیپرتروفی برونشیولار و آلوئولار، فیبروز بینابینی و تشکیل گرانولوم می‌شود (۱۱).

سیریشا و همکارانش در سال ۲۰۱۸ نشان دادند که ادغام اجزای بیولوژیکی در ابزارهای تحلیلی به‌ویژه در تحقیقات زیست‌پزشکی، پیش‌نیاز تشخیص زودهنگام بسیاری از بیماری‌ها شده است (۱۳).

به خوبی مشخص شده که خصوصیات (الکتریکی و فیزیکی) مواد نانولوله‌های کربنی بسیار حساس است که تحت تأثیر قرار گرفتن در معرض مولکول‌های زیستی قرار می‌گیرد و این امر منجر به تحقیقات بسیاری از محققان شد. اگرچه حسگرهای زیستی مبتنی بر CNT به دلیل عملکرد بهتر آنها به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اما هنوز هم نگرانی‌های عملی زیادی در کاربرد دارند.

برای تجاری‌سازی موفقیت آمیز مفهوم حسگرهای زیستی مبتنی بر CNT، باید بر موانع بسیاری غلبه کرد. تغییرات روی حسگرهای زیستی CNT با پیشرفت‌های برجسته تغییر چشمگیری را تجربه کرده است. مقاله حاضر مروری بر پیشرفت اخیر در حسگرهای زیستی CNT و تجزیه و تحلیل جامعی در مورد روش‌های مختلف برای بهبود عملکرد CNT با طراحی‌های جدید ارائه می‌کند. علاوه بر این، برخی از کاربردها و نگرانی‌های عملی در این زمینه مورد توجه قرار گرفته است.

در تحقیق دیگری، اثرات پاتولوژیک بی‌وزنی بر روی بیضه موش به روشی وابسته به زمان بررسی شد (۱۲).

یافته‌ها نشان می‌دهد که بی‌وزنی منجر به کاهش وزن بدن موش‌هایی شد که به مدت چهار هفته معلق بودند و اختلال قابل توجهی در ساختار بیضه، از جمله کاهش قطر مجرا، نازک شدن اپیتلیال و کاهش تراکم اسپرم، همراه است و باعث اختلال شدیدتر بیضه نسبت به دو هفته بی‌وزنی شد. اطلاعات مربوط به هیستوپاتولوژی بیضه در جوندگان در شرایط بی‌وزنی اندک است.

در مطالعات مشابه، شل شدن لوله‌های اسپرم‌ساز همراه با وجود نکروز گزارش شده است. علاوه بر این، آنها ادم بینابینی و ناپدید شدن سلول‌های زایای بیضه‌ها را همراه بود. برای مثال در پروازهای فضایی در زمان استراحت در انسان منجر به کاهش تستوسترون در گردش خون می‌شود نشان‌دهنده آسیب احتمالی به بافت بیضه است. به طور مشابه، سبک زندگی بی‌تحرک و کم‌تحرکی با ناباروری در مردان هم مرتبط هستند. اختلال بیضه انسان در شرایط بی‌وزنی و موش‌های شبیه‌سازی شده در حالت بی‌وزنی، احتمال اختلال تولید مثل انسان را در سفرهای فضایی گزارش می‌دهد (۱۲).

در تحقیق دیگری بر روی تأثیر قرار گرفتن در معرض MWCNT موش‌های بالغ بر سنتز اسیدهای چرب در کبد موش‌های فرزند مشخص شد که قرار گرفتن در معرض MWCNT به طور قابل توجهی وزن موش‌های موش (نر و ماده) را کاهش داده و شاخص‌های اندام‌های کبدی نر به جز اندام‌های ماده افزایش یافته است (۱٤). قرار گرفتن در معرض MWCNTها می‌تواند منجر به تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت‌های کبد شود و بخش‌هایی از بافت کبد موش تجمع چربی را نشان داده است (۱٤).

نتیجه‌گیری

با توجه به اکتشافات فضایی و سفرهای فضایی و اهمیت سلامت فضانوردان و تولید مثل آنها باید در نظر داشت که اثر نانولوله‌های کربنی چندجداره بر روی اسپرماتوژنز در شرایط بی‌وزنی اثر منفی در ایجاد باروری و کاهش هورمون تستوسترون که برای باروری ضروری است ازین رو براساس دانش ما، در این مطالعه برای اولین بار تاثیر نانولوله‌های کربنی چندجداره برمیزان ترشح هورمون تستوسترون موش صحرایی در شرایط بی‌وزنی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

تشکر و قدردانی

از راهنمایی و همکاری دلسوزانه‌ی اساتید محترم گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم

تحقیقات تهران و استاد محترم گروه فیزیولوژی هوافضا و پژوهشگاه هوافضای وزارت علوم و تحقیقات و فن‌آوری تهران جهت همکاری برای اجرای این تحقیق قدردانی می‌شود.

منابع

1. Abaas H.K. 2020. The Pathological Effect of Exogenous Testosterone on the Male Genital Organs of Rat. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(11):1416-1423.

2. Anzar N., Hasan R., Tyagi M., Yadav N., Narang J. 2020. Carbon nanotube-A review on Synthesis, Properties and plethora of applications in the field of biomedical science. Sensors International, 1:100003.

3. Clément G., Slenzka K. 2006. Fundamentals of space biology: research on cells, animals, and plants in space. Vol. 18., Springer Science and Business Media, 376 p.

4. Iijima, S. (1991) Synthesis of Carbon Nanotubes. Nature, 354, 56-58.

5. Mishra B., Luderer U. 2019. Reproductive hazards of space travel in women and men. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(12):713-730.

6. Mohammadi E., Zeinali M., Mohammadi-Sardoo M., Iranpour M., Behnam B., Mandegary A. 2020. The effects of functionalization of carbon nanotubes on toxicological parameters in mice. *Human and Experimental Toxicology*, 39(9):1147-1167.

7. Morey-Holton E.R., Globus R.K. 2002. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. *Journal of Applied Physiology*, 92(4):1367-1377.

8. Ogneva I.V., Usik M.A., Biryukov N.S., Zhdankina Y.S. 2020. Sperm motility of mice under simulated microgravity and hypergravity. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14):5054.

9. Palmer B.C., Phelan-Dickenson S.J., DeLouise L.A. 2019. Multi-walled carbon nanotube oxidation dependent keratinocyte cytotoxicity and skin inflammation. *Particle and Fiber Toxicology*, 16(1):1-15.

10. Paul J.O., Funmilola O.A., Ayegba A.S. 2020. Sperm motility of mice under simulated microgravity and infertility. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14):5054.

11. Rahman L., Jacobsen N.R., Aziz S.A., Wu D., Williams A., Yauk C.L., White P., Wallin H., Vogel U., Halappanavar S. 2017. Multi-walled carbon nanotube-induced genotoxic, inflammatory and pro-fibrotic responses in mice: Investigating the mechanisms of pulmonary carcinogenesis. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 823:28-44.

12. Ranade A.V., Qaisar R., Karim A., Azeem M., Jose J., Ramachandran G., Ibrahim Z., Elmoselhi A., Ahmad F., Abdel-Rahman W.M. 2022. Hindlimb unloading induces time-dependent disruption of testicular histology in mice. Research Square, doi.org/10.21203/rs.3.rs-1520489/ v2.

13. Sireesha M., Jagadeesh Babu V., Kranthi Kiran A.S., Ramakrishna S. 2018. A review on carbon nanotubes in biosensor devices and their applications in medicine. *Nanocomposites*, 4(2):36-57.

14. Zhang H.Y., Chen R.L., Shao Y., Wang H.L., Liu Z.G., 2018. Effects of exposure of adult mice to multi-walled carbon nanotubes on the liver lipid metabolism of their offspring. *Toxicology Research*, 7(5):809-816.

Investigating the Effect of Multi-Walled Carbon Nanotubes (MWCNT) on the Level of Testosterone Hormone Secretion in Male Rats under Weightlessness Condition

Erfan Motalebzadeh[1], Nasim Hayati Roudbari[1*], Maryam Salavatifar[2]

1-Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Department of Aerospace Physiology, Aerospace Research Institute, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, Iran

Abstract

Considering the progress of science and space exploration and the importance of maintaining the health of astronauts both during the space mission and after returning to earth after carrying out space research, investigating the effects of weightlessness on the hormone testosterone and maintaining the fertility of astronauts is very important. is On the other hand, due to the use of carbon nanotubes in the spaceship equipment sector as well as protective shields, astronauts will be exposed to high concentrations of this nanomaterial, hence the investigation of the effects of this nanomaterial on the testosterone level of male astronauts in the conditions Weightlessness is very important in order to maintain their reproductive power. In this research, 30 male rats were used. The animals were randomly divided into five groups of six including control, sham and three experimental groups. The control group received normal food and water for 30 days. The sham group was placed in weightless conditions (in a weightless cage) for 30 days. Experimental group 1 received 20 mg/kg of multi-walled carbon nanotube intraperitoneally for 30 days. Experimental group 2 was placed in a weightless cage for 30 days and received 20 mg/kg of multi-walled carbon nanotube intraperitoneally. Experimental group 3 received 3 cc of solution (2.5 cc of water, 0.5 cc of tween) intraperitoneally for 30 days. The results showed that in the sham group and experimental groups 1 and 2, weight loss was observed. In the examination of blood serum samples, the level of testosterone had decreased significantly. Exposure to multi-walled carbon nanotubes in weightless conditions causes a significant decrease in the amount of testosterone hormone.

Keywords: Testosterone, Multi-Walled Carbon Nanotube, Weightlessness, Rat.