



بررسی اثر نانو سلنیوم بر اووژنز و تغییرات رحمی در موش بالغ نژاد NMRI

عاطفه شرفلی، نسیم حیاتی رودباری*، کاظم پریور، پروانه مقامی

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

*مسئول مکاتبات: nasimhayati@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۰

چکیده

عناصر غذایی مختلف با اثر بر اندام‌های تولیدمثلی مردان و زنان در پیشگیری و درمان ناباروری تاثیر بسزایی دارند. از جمله این عناصر می‌توان به سلنیوم اشاره کرد. هدف از این تحقیق، ارزیابی نانوذرات سلنیوم بر روی اووژنز و تغییرات رحمی در موش ماده بالغ نژاد NMRI بود. در تحقیق حاضر، ۳۰ سر موش ماده بالغ نژاد NMRI مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات به صورت تصادفی در پنج گروه شامل گروه کنترل، شم و سه گروه تجربی قرار داده شدند. گروه کنترل بدون تاثیر نانوسلنیوم و حلال آن قرار گرفتند. گروه شم حلال نانوسلنیوم (آب مقطر) را دریافت کردند. گروه‌های تجربی نانوسلنیوم را در سه غلظت ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۳۰ روز از طریق گاواژ دریافت کردند. وزن موش‌ها در گروه‌های تجربی در دوزهای ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوسلنیوم کاهش معنی‌داری داشته است. وزن تخمدان‌ها و قطر آنها کاهش داشته اما معنی‌دار نبود. تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه، آتروفیه افزایش داشته است. تعداد فولیکول‌گراف در دوز ۰/۴ و جسم زرد در دوز ۰/۳ کاهش داشته است. قطر فولیکول‌های بدوی، اولیه، آتروفیه و قطر جسم زرد کاهش داشته است. فولیکول ثانویه قطرش افزایش داشته اما معنی‌دار نبود. قطر فولیکول‌گراف تغییرات معنی‌داری نداشته است. تعداد رگ‌های خونی تخمدان‌ها افزایش داشته اما قطر آنها تغییر معنی‌داری نداشته است. در گروه‌های تجربی قطر حفره رحم کاهش معنی‌دار داشته است. ضخامت لایه رحمی پریمیتریوم کاهش داشته، ضخامت میومیتریوم کاهش معنی‌دار داشته، ضخامت لایه رحمی آندومیتریوم افزایش معنی‌داری داشته است. تعداد غدد لایه آندومیتریوم در گروه تجربی سوم کاهش داشته اما قطر آنها در هیچ کدام از گروه‌ها تغییرات معنی‌داری نداشته است. نانوسلنیوم به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی باعث، افزایش تعداد فولیکول‌های بدوی، اولیه، ثانویه شد و لایه رحمی آندومتر افزایش و پریمیتریوم و میومیتریوم کاهش داشته است.

کلمات کلیدی: نانوسلنیوم، هیستوپاتولوژی، تخمدان، اووژنز، رحم.

مقدمه

های متعددی به سیستم باروری در حیوان نر و ماده شده است که به صورت ناباروری یا کم باروری دیده می‌شود (۲۶). در چند دهه گذشته نانوذرات به طور وسیعی برای کاربردهای متنوعی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و پیشرفت‌هایی در زمینه زیست‌شناسی سرطان و ژنومیک و پروتئومیک داشته است و در

پیشرفت‌های اخیر در زمینه‌های بیوتکنولوژی و صنعت، منجر به تولید محصولات شده که باعث پیشرفت گسترده‌ای در این صنعت شده است. در کنار این پیشرفت‌ها، شمار زیادی از عوامل فیزیکی و شیمیایی و بیولوژیکی ایجاد شده که محیط زیست اطراف ما را تحت تاثیر قرار داده و سبب بروز آسیب-



ماهی، صدف، خرچنگ، قلو، جگر، دانه‌های آفتابگردان، خاویار و میگو. مقدار سلنیوم در مواد غذایی تا حد زیادی متفاوت است و به ترکیبات و محتوی سلنیوم خاک وابسته است (۱۷، ۱۸). هدف این تحقیق ارزیابی نانوذرات سلنیوم بر روی اووژنز و تغییرات رحمی در موش ماده بالغ نژاد NMRI می‌باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه از ۳۰ سر موش ماده بالغ نژاد NMRI با میانگین وزنی ۲۰-۲۵ گرم استفاده شد. موش‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه و به اتاق حیوانات مجتمع آزمایشگاهی رازی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی علوم تحقیقات تهران، انتقال داده شدند. به مدت یک هفته به منظور سازگاری با شرایط جدید نگهداری شدند و پس از این مدت آزمایشات آغاز شد. حیوانات در دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد با رعایت دوره نوری به صورت 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 نانو سلنیوم مورد استفاده در این پژوهش از شرکت پارسوا اکسیر آزما، وارد کننده مواد شیمیایی و تحقیقاتی (که تولیدکننده آن شرکت المنتز آمریکا است) خریداری شد. تیمارهای این پژوهش شامل گروه‌های کنترل، شم، سه گروه تجربی (۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بودند.

موش‌های گروه کنترل در طول دوره آزمایش به جز آب و غذای استاندارد هیچ گونه ماده‌ای دریافت نکردند. موش‌های گروه شم تنها ۰/۵ سی‌سی آب مقطر را به مدت ۳۰ روز به صورت گاواژ دریافت کردند. موش‌های گروه آزمایش اول میزان ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موش‌های گروه آزمایش دوم میزان ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم و موش‌های گروه آزمایش

جهت درمان بالینی بیماران موثر بوده است (۳). هدف فناوری نانو در پزشکی، ارائه امکانات آسیب‌شناسی و درمانی آنها در مقیاس‌های بنیادی، یعنی ملکولی و یا حتی ریز مولکولی است، در حیطه داروسازی نیز نانو فناوری دارای کاربردهای بسیار اساسی است (۸، ۲۶). نتیجه بررسی‌های دانشمندان نشان می‌دهد کمبود سلنیوم (Se) در بدن، کاهش قدرت باروری در مردان را به دنبال خواهد داشت. سلنیوم در تولید هورمون تستوسترون شرکت کرده و با کاهش میزان سلنیوم در بدن تحرک اسپرم‌ها به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد که نتیجه آن ضعف و تغییر شکل قسمت انتهایی اسپرم می‌باشد (۹، ۱۶، ۲۳). نانوذره سلنیوم قدرت بالایی در پاکسازی رادیکال‌های آزاد دارد (۴، ۵، ۲۱). این عنصر ابتدا به عنوان یک عنصر سمی شناخته شد و پس از آن نشان داده شد که بدن به مقادیر بسیار ناچیز این عنصر برای حفظ سلامتی و پیشگیری و درمان بیماری و در سوخت و ساز بدن و در انجام چند مسیر متابولیک نیاز دارد (۶، ۷، ۱۰). برای رسیدن به افزایش اثربخش یا کاهش سمیت سلنیوم بهتر است از نانو سلنیوم استفاده شود (۲، ۲۴، ۲۷).

این عنصر به بدن کمک می‌کند تا با رادیکال‌های آزادی که باعث بروز بیماری‌هایی مانند سرطان می‌شوند مقابله می‌کند. همچنین این عنصر در عملکرد سیستم ایمنی بدن نقش دارد و به عنوان یک آنتی-اکسیدان روند پیری را کند می‌کند (۱۲، ۱۳، ۱۹، ۲۲). وجود سلنیوم در خون مادر از ورود سم به بدن جنین جلوگیری می‌کند (۲۱).

بیشترین غلظت آن در کبد و کلیه می‌باشد. دفع کلیوی مهمترین روش حذف سلنیوم از بدن می‌باشد. مقدار اندکی از سلنیوم از راه مدفوع دفع می‌شود (۱۱). سلنیوم نه تنها به عنوان مکمل غذایی بلکه به عنوان یک عامل درمانی محسوب می‌شود. مواد غذایی غنی از سلنیوم عبارتند از: نان، غلات، آجیل، گوشت،



رحمی منجر شد. تصاویر فتومیکروگراف مقاطع عرضی بافت تخمدان و رحم را در گروه‌های مختلف در شکل‌های ۱ تا ۱۰ نشان داده شده است. افزایش در تعداد فولیکول‌های بدوی در گروه تجربی ۲ و ۳، افزایش تعداد فولیکول‌های اولیه در هر سه گروه تجربی، افزایش فولیکول‌های ثانویه در گروه تجربی ۲، کاهش تعداد فولیکول‌های گراآف در گروه تجربی ۳، کاهش تعداد جسم‌های زرد در گروه تجربی ۲ در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید (شکل‌های ۱ تا ۵). در مورد بافت رحم نیز، کاهش قطر حفره رحم در گروه تجربی ۲ و ۳، کاهش معنی‌دار ضخامت لایه میومتریم در گروه تجربی ۳ و افزایش معنی‌دار ضخامت لایه آندومتریم در همه گروه‌های تجربی، کاهش معنی‌دار تعداد غدد رحمی در گروه تجربی ۳ نیز مشاهده گردید (شکل‌های ۶ تا ۱۰).

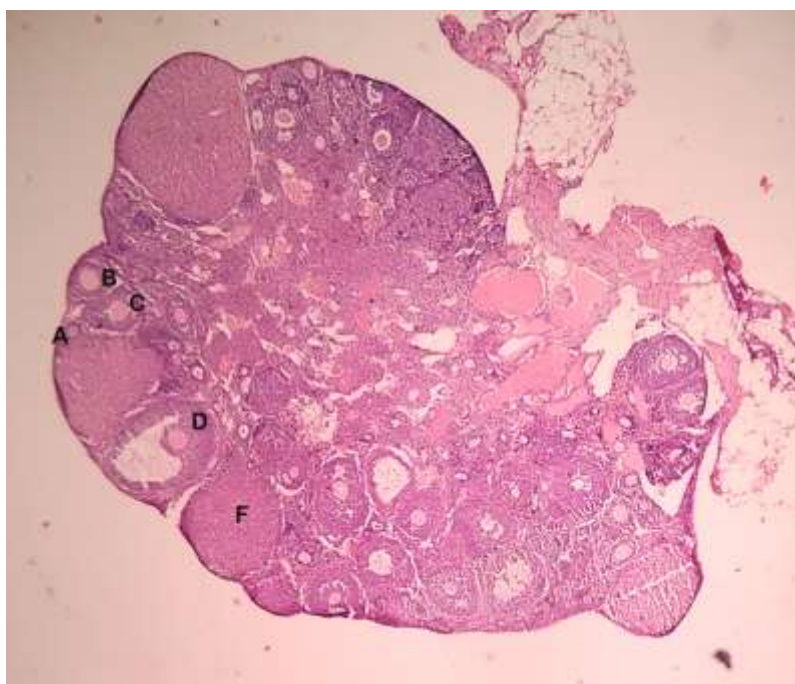
در بررسی تعداد انواع فولیکول‌ها افزایش معنی‌دار در گروه‌های تحت تیمار مشاهده کردیم. افزایش تعداد فولیکول بدوی در گروه تجربی دوم و سوم (نمودار ۱)، افزایش تعداد فولیکول اولیه در هر سه گروه تجربی (نمودار ۲)، افزایش تعداد فولیکول‌های ثانویه در گروه تجربی سوم (نمودار ۳)، کاهش تعداد فولیکول گراآف در گروه تجربی سوم (نمودار ۴)، کاهش تعداد اجسام زرد در گروه تجربی دوم (نمودار ۵) مشاهده شد. در قطر فولیکول ثانویه در گروه تجربی سوم افزایش مشاهده گردید (نمودار ۶).

تعداد رگ‌های خونی در هر سه گروه تجربی افزایش داشته است (نمودار ۷). کاهش قطر حفره رحم در گروه تجربی دوم و سوم مشاهده گردید (نمودار ۸). کاهش ضخامت لایه میومتریم در گروه تجربی سوم (نمودار ۹)، افزایش ضخامت لایه آندومتریم در هر سه گروه تجربی (نمودار ۱۰)، کاهش تعداد غدد ترشحی لایه آندومتریم در گروه تجربی سوم (نمودار ۱۱) مشاهده گردید.

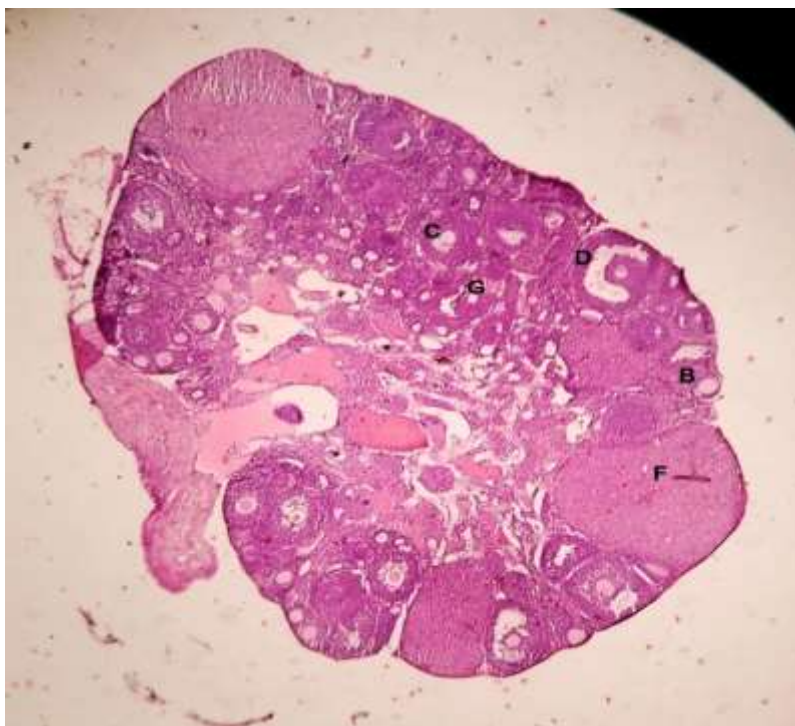
سوم ۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن بدن به ازای هر موش نانوسلنیوم به صورت گاواژ داده شد. آزمایشات به مدت ۳۰ روز ادامه یافت و پس از اتمام آزمایش به منظور بررسی پارامترهای تخمدانی و رحم، موش‌های هر گروه به طریقه بی‌هوشی با استفاده از اتر بی‌هوش و کشته شدند. پوست بدن و پرده صفاق بریده شد، سپس بافت‌های تخمدان چپ و راست و رحم (شاخ‌های رحمی چپ و راست) بوسیله قیچی و پنس و اسکالپل جدا گردید. هرکدام از بافت‌ها در ظرف‌هایی حاوی بوئن قرار داده شد و پس از گذشت ۴-۸ ساعت، بوئن از ظرف‌ها خالی گردید و به جای آن الکل ۷۰ درصد جایگزین شد که مرحله آبیگری با الکل‌های صعودی (۸۰، ۷۰، ۹۵، ۹۵، ۱۰۰، ۱۰۰) هر کدام به مدت یک ساعت انجام گرفت و بعد از آن شفاف‌سازی توسط زایلن ۱، ۲ و ۳ هر کدام به مدت یک ساعت، و پارافین دهی، بافت‌ها در پارافین ۱، به مدت زمان دو ساعت و پارافین ۲، به مدت زمان چهار ساعت قرار گرفتند. بعد از این مرحله، مرحله قالب‌گیری آغاز شد، سپس برش‌گیری توسط دستگاه میکروتوم به قطر ۶ میکرومتر انجام شد و سپس نوارهای پارافین حاوی نمونه بر روی لام قرار داده شد و در انتها رنگ‌آمیزی هماتوکسین-ئوزین انجام شد. بعد بوسیله استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند. سپس تحلیل و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 22 در سطح معنی‌داری ($p < 0.05$) با در نظر گرفتن خطای معیار (SE) و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (-one-way ANOVA) و تست Tukey انجام گرفت و نمودارهای مربوطه توسط نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج

مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که مصرف نانوسلنیوم به افزایش فولیکول‌ها و تغییرات لایه‌های



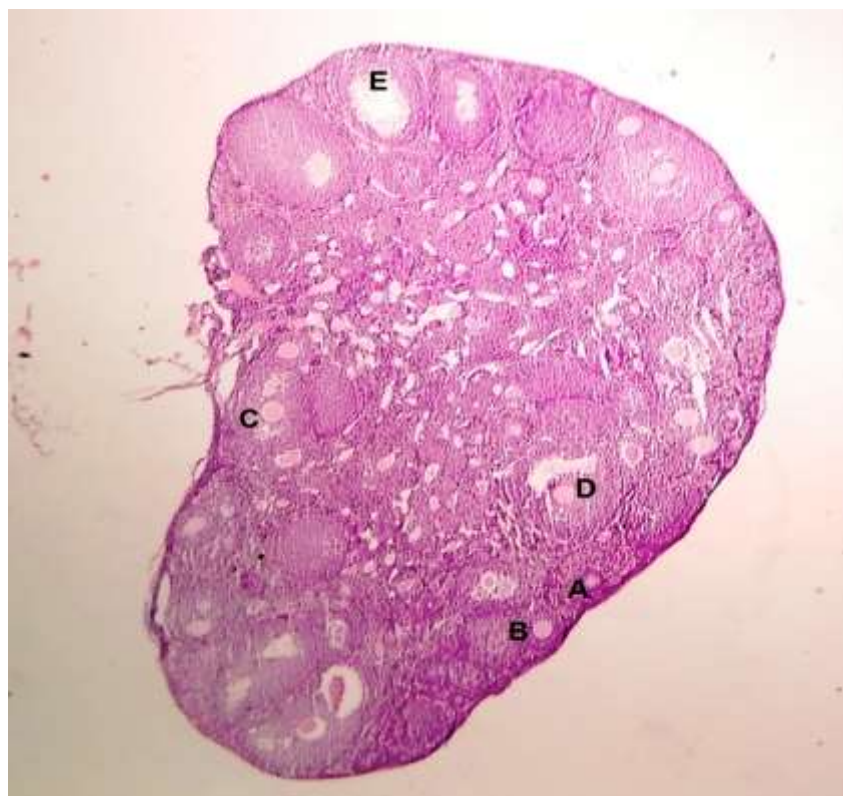
شکل ۱- بافت تخمدان گروه کنترل. A: فولیکول بدوی، B: فولیکول اولیه، C: فولیکول ثانویه، D: فولیکول گرافف، F: جسم زرد (بزرگنمایی 400×).



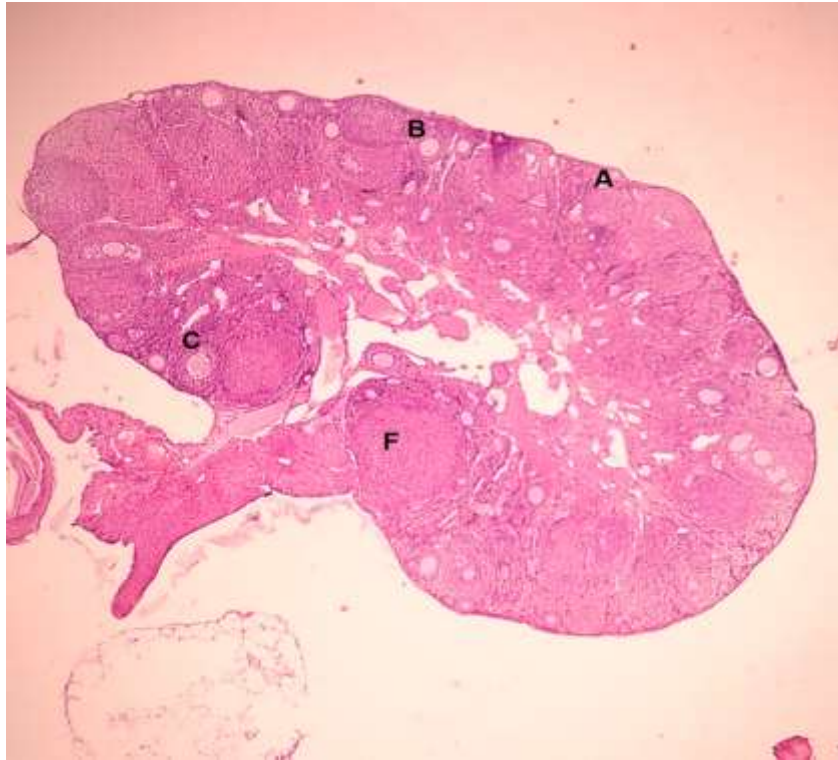
شکل ۲- بافت تخمدان گروه شم. B: فولیکول اولیه، C: فولیکول ثانویه، D: فولیکول گرافف، F: جسم زرد، G: رگ خونی (بزرگنمایی 400×).



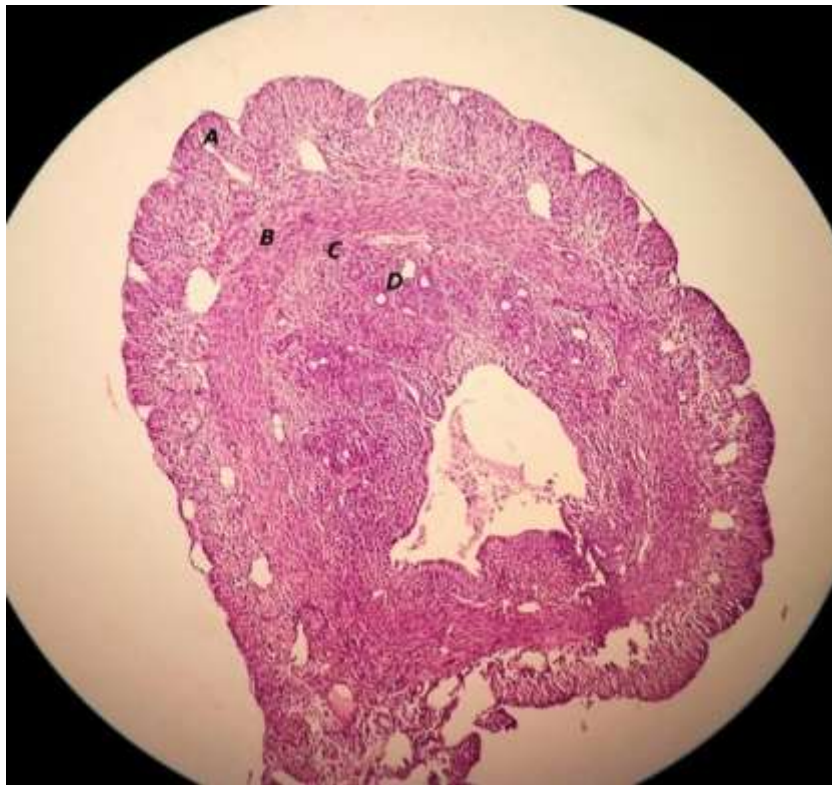
شکل ۳- بافت تخمدان گروه تجربی با دوز دریافتی ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن موش. B: فولیکول اولیه، C: فولیکول ثانویه، D: فولیکول گراف، F: جسم زرد (بزرگنمایی ۴۰۰×).



شکل ۴- بافت تخمدان گروه تجربی با دوز دریافتی ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن موش. A: فولیکول بدوی، B: فولیکول اولیه، C: فولیکول ثانویه، D: فولیکول گراف، E: فولیکول آترتیک (بزرگنمایی ۴۰۰×).



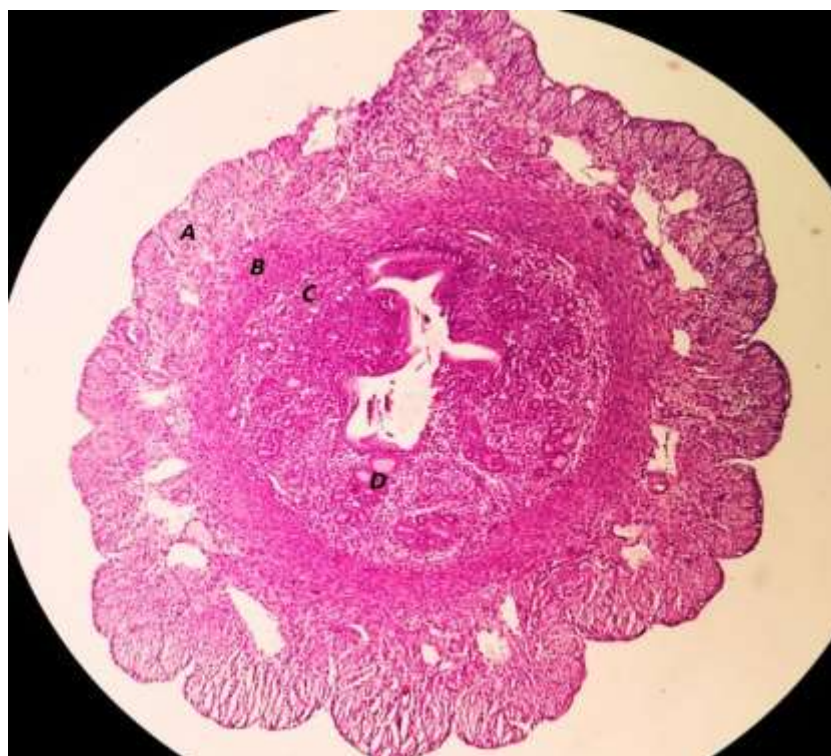
شکل ۵- بافت تخمدان گروه تجربی با دوز دریافتی ۰/۴ میلی گرم برکیلوگرم از وزن موش. A: فولیکول بدوی، B: فولیکول اولیه، C: فولیکول ثانویه، F: جسم زرد (بزرگنمایی ۴۰۰×).



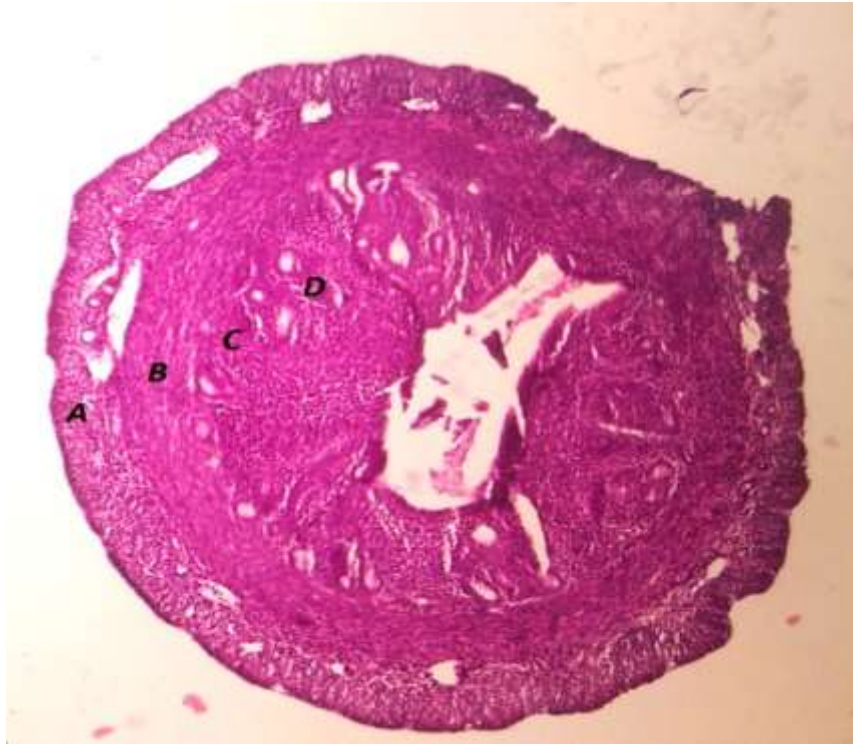
شکل ۶- بافت رحم گروه کنترل. A: لایه پریمتریوم، B: لایه میومتریم، C: لایه آندومتریم، D: غدد (بزرگنمایی ۴۰۰×).



شکل ۷- بافت رحم گروه شم. A: لایه پریمتریوم، B: لایه میومتریم، C: لایه آندومتریم، D: غدد (بزرگنمایی 400×).



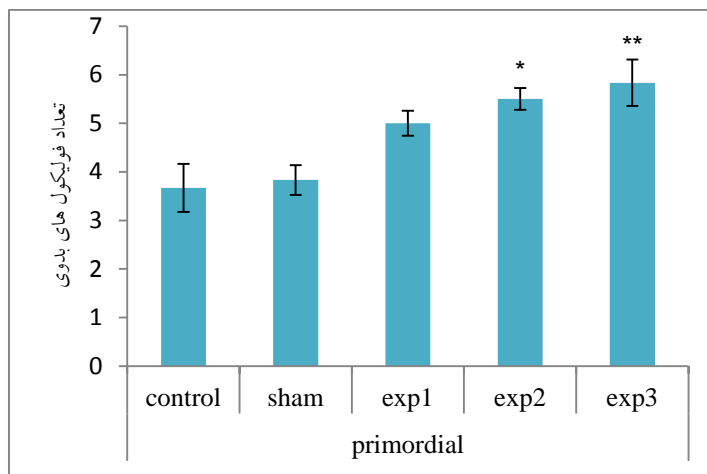
شکل ۸- بافت رحم گروه تجربی با دوز دریافتی ۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم بر وزن موش از نانوسلنیوم. A: لایه پریمتریوم، B: لایه میومتریم، C: لایه آندومتریم، D: غدد (بزرگنمایی 400×).



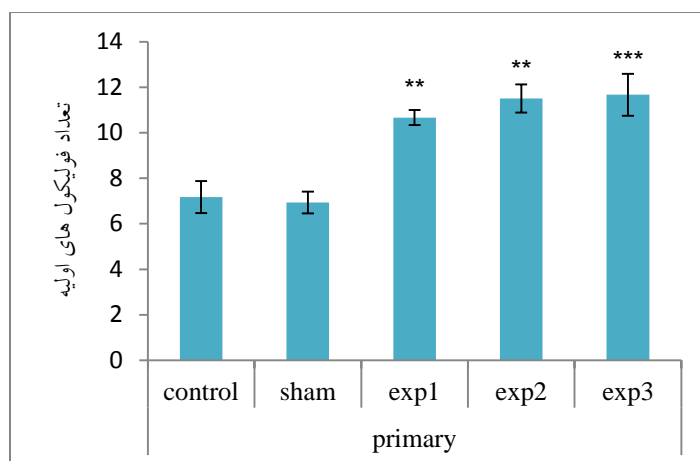
شکل ۹- بافت رحم گروه تجربی با دوز دریافتی ۰/۳ میلی گرم بر کیلوگرم بر وزن موش از نانو سلنیوم. A: لایه پریمتریوم، B: لایه میومتریم، C: لایه آندومتریم، D: غدد (بزرگنمایی ۴۰۰×).



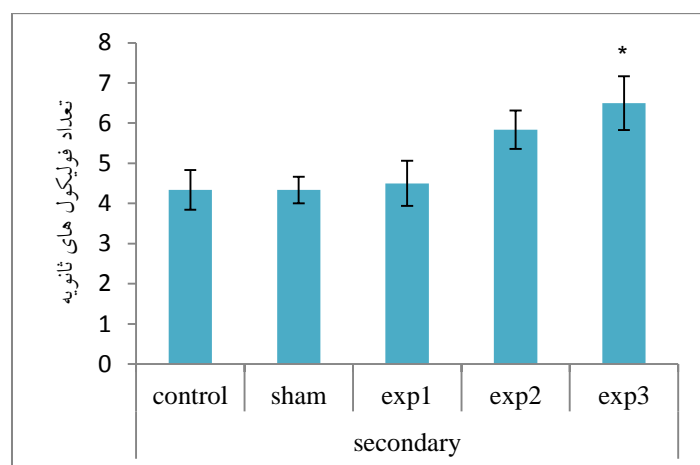
شکل ۱۰- بافت رحم گروه تجربی با دوز دریافتی ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم بر وزن موش از نانو سلنیوم. A: لایه پریمتریوم، B: لایه میومتریم، C: لایه آندومتریم، D: غدد (بزرگنمایی ۴۰۰×).



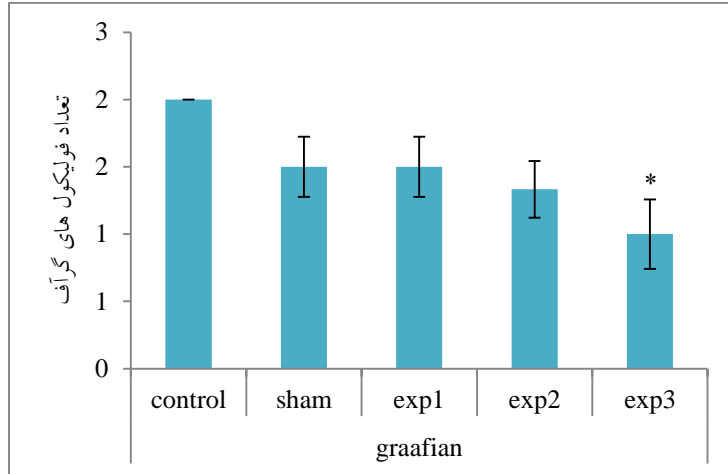
نمودار ۱- مقایسه تعداد فولیکول‌های بدوی در گروه‌ها با گروه کنترل. در گروه تجربی ۲ ($p < 0.05$) و ۳ ($p < 0.01$) افزایش معنی‌دار نسبت به کنترل



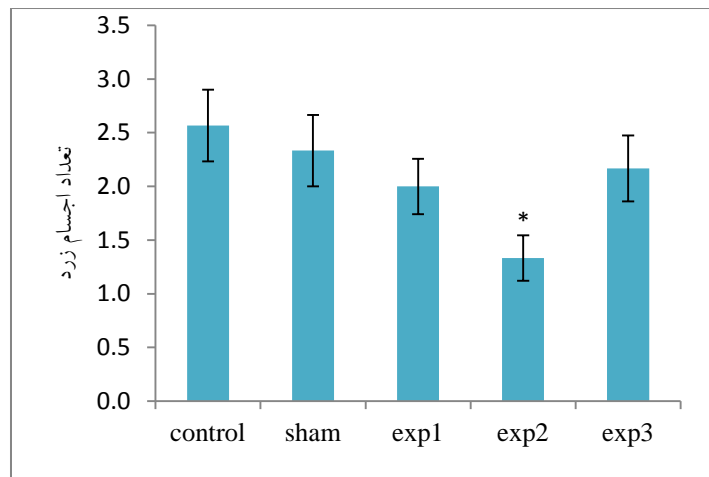
نمودار ۲- مقایسه تعداد فولیکول‌های اولیه گروه‌ها با گروه کنترل. در گروه تجربی ۲ ($p < 0.01$) و ۳ ($p < 0.001$) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل



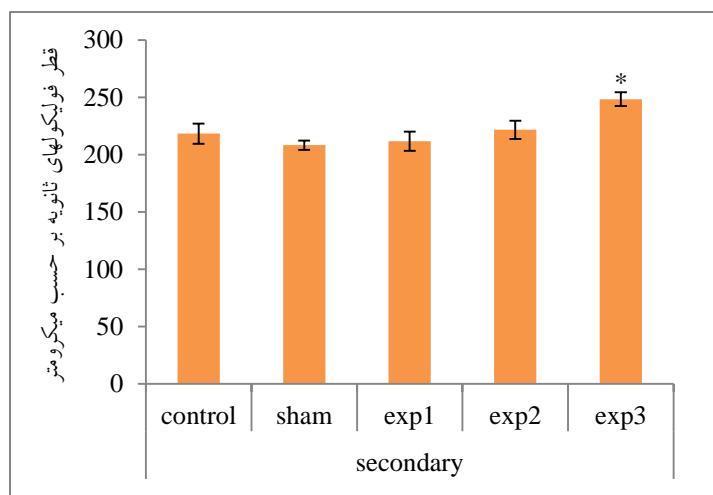
نمودار ۳- مقایسه تعداد فولیکول‌های ثانویه گروه‌ها با گروه کنترل. گروه تجربی ۳ دارای افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل



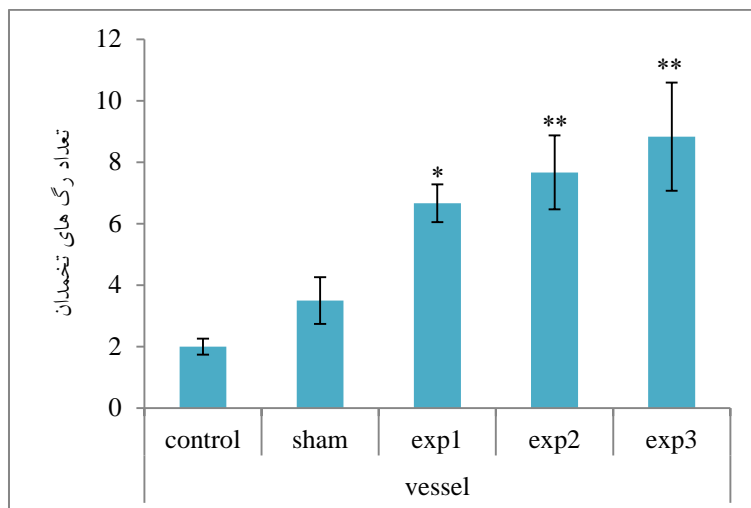
نمودار ۴- مقایسه تعداد فولیکول های گراف با گروه کنترل. کاهش معنی دار ($p < 0.05$) در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل



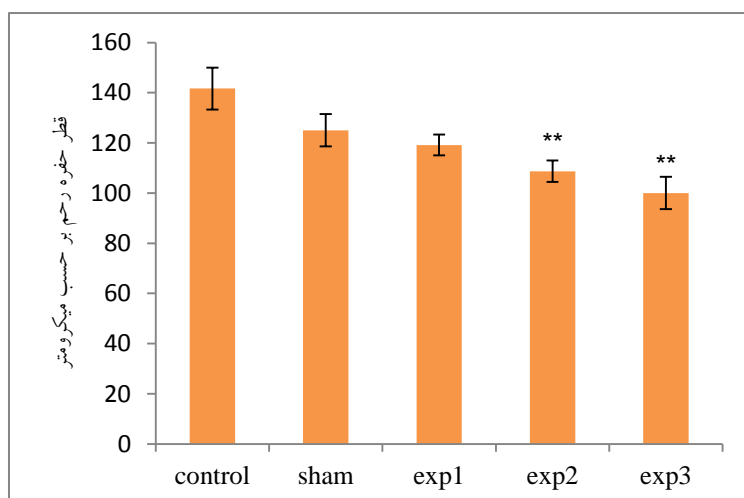
نمودار ۵- مقایسه تعداد جسم زرد گروه ها با گروه کنترل. کاهش معنی دار ($p < 0.05$) در گروه تجربی ۲



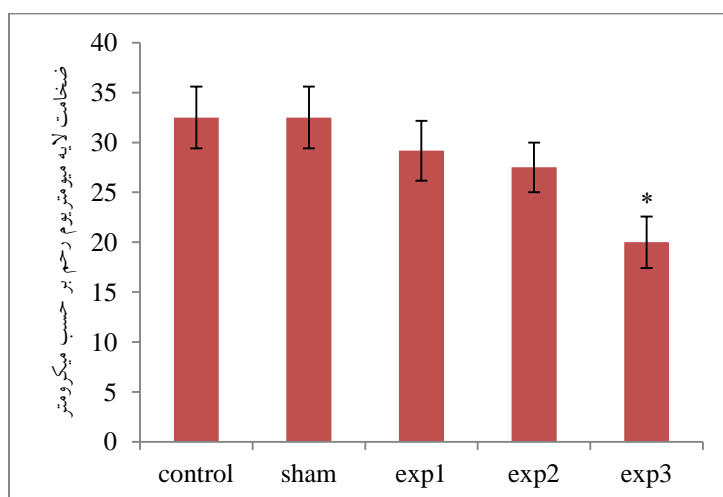
نمودار ۶- مقایسه قطر فولیکول های ثانویه گروه ها با گروه کنترل. افزایش معنی دار ($p < 0.05$) در گروه تجربی ۳



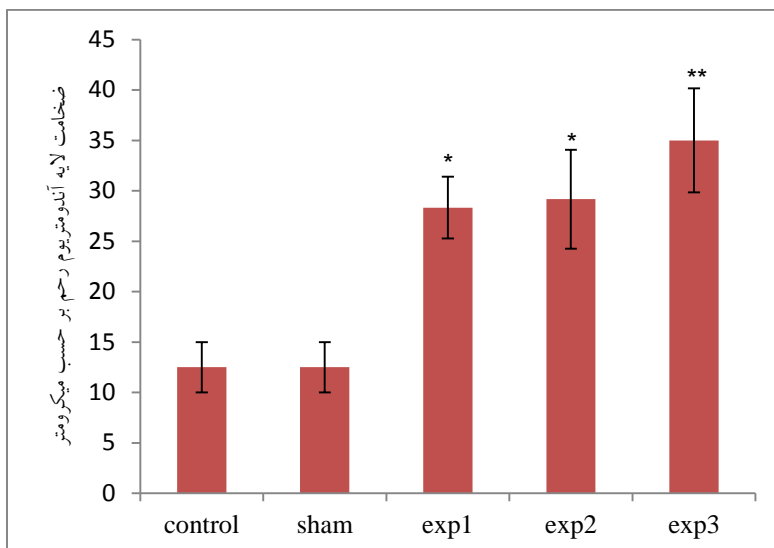
نمودار ۷- مقایسه تعداد رگ‌های خونی گروه‌ها با گروه کنترل. افزایش معنی دار ($p < 0.05$) در گروه تجربی ۱ و افزایش معنی دار ($p < 0.01$) در گروه تجربی ۲ و ۳



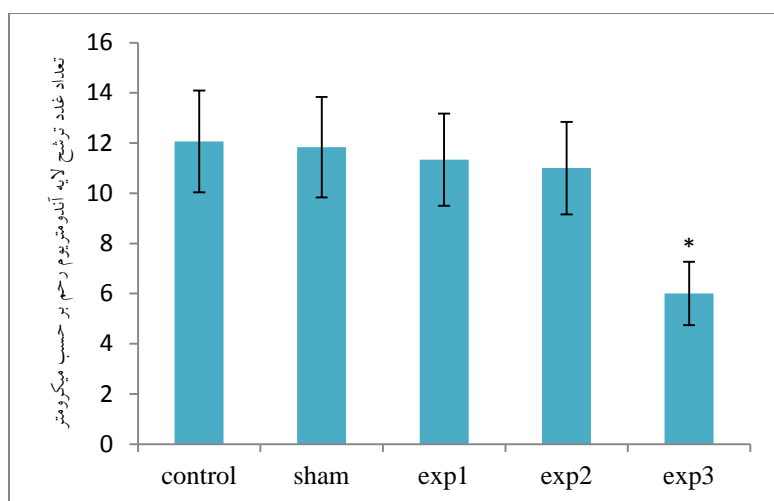
نمودار ۸- مقایسه قطر حفره رحم‌ها در گروه‌ها با گروه کنترل. کاهش معنی دار ($p < 0.01$) در گروه‌های تجربی ۲ و ۳



نمودار ۹- مقایسه ضخامت لایه میومتریم رحمی گروه‌ها با کنترل. کاهش معنی دار ($p < 0.05$) در گروه تجربی ۳



نمودار ۱۰- مقایسه ضخامت لایه آندومتر بر حسب میکرومتر در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و افزایش معنی دار ($p < 0.05$) در گروه تجربی ۳



نمودار ۱۱- مقایسه تعداد غدد دیواره رحم گروه‌ها با گروه کنترل. کاهش معنی دار ($p < 0.05$) در گروه تجربی ۳

بحث

شده کیست‌های تخمدانی در گروه‌های تجربی، شم و کنترل مشاهده نگردید (۲۵). Nad و همکارانش در سال ۲۰۰۷، اثر تزریق کادمیوم، کادمیوم همراه با سلنیوم و کادمیوم همراه روی، بر ساختار تخمدان در بلدرچین ژاپنی مورد مطالعه قرار دادند. بر اساس مطالعاتشان تعداد فولیکول‌های اولیه و همچنین فولیکول‌های در حال رشد و آترتیک در گروه تجویز کادمیوم و کادمیم با سلنیوم افزایش یافت

در مطالعات مختلف اثر مکمل سلنیوم بر تخمدان و تغییرات رحمی مورد مطالعه قرار گرفته، مصرف دهانی نانوسلنیوم باعث افزایش فولیکول‌های تخمدان و تغییرات بافت رحم شد. Wilde و همکارانش در سال ۲۰۰۶ با مطالعه‌ای که بر روی گاوهای ماده انجام دادند، نشان داده شده است که سلنیوم نیز بر کاهش میزان بروز متريت و کیست تخمدان تأثیر می‌گذارد. بر اساس آزمایشات انجام



بافت تخمدان با افزایش اووژنز و تعداد انواع فولیکول‌ها می‌شود نانوسلنیوم باعث کاهش تعداد غدد رحمی و کاهش ضخامت لایه‌های رحمی پریمتریوم و میومتريوم و افزایش ضخامت لایه رحمی آندومتريوم گردید. یافته‌های این مطالعه نشان داد نانوسلنیوم می‌تواند در افزایش فولیکول‌های تخمدان تاثیرگذار باشد اما احتمال دارد این افزایش فولیکول‌ها بتواند باعث پیری تخمدان شود.

منابع

- 1- Abedelahi A.S., Salehnia M., Allameh A.A., Davoodi D. 2010. Sodium selenite improves the in vitro follicular development by reducing the reactive oxygen species level and increasing the total antioxidant capacity and glutathione peroxide activity. *Human Reproduction*, 25(4): 977-985.
- 2- Benstoem C., Goetzenich A., Kraemer S., Borosch S., Manzanares W., Hardy G., Stoppe C., 2015. Selenium and its supplementation in cardiovascular disease--what do we know?. *Nutrients*, 7(5): 3094-3118.
- 3- Blanco E., Shen H., Ferrari M., 2015. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Natural Biotechnology*, 33: 941-951.
- 4- Catal T.B., Bolkent S., 2008. Combination of selenium and three naturally occurring antioxidants administration protects D-galactosamine-induced liver injury in rats. *Biological Trace of Element Research*, 122(2): 127-36.
- 5- Ceko M.H., Hummitzsch K., Hatzirodos N., Bonner W.M., Aitken J.B., Russell D.L., Lane M., Rodgers R.J., Harris H.H., 2015. X-Ray fluorescence imaging and other analyses identify selenium and GPX1 as important in female reproductive function. *Metallomics*, 7(1): 71-82.
- 6- Claire M., Harris H.H., 2013. Which form is that? The importance of selenium

بودشود. بر اساس مطالعات انجام شده، اثر نانوسلنیوم بر اووژنز نشان داد که تعداد فولیکول‌های بدوی، فولیکول‌های اولیه، فولیکول‌های ثانویه و آترتیک افزایش داشته است (۱۵).

در مطالعات Abedelahi و همکارانش در سال ۲۰۱۰ مشخص شد سلنیوم، رشد و تکامل فولیکول‌ها را در شرایط *in vitro* بهبود می‌بخشد. بر اساس مطالعات انجام شده، نانوسلنیوم باعث افزایش فولیکول‌های بدوی، اولیه و فولیکول‌های ثانویه تخمدانی می‌شود (۱).

بر اساس مطالعه‌ای دیگر که در سال ۲۰۱۶ توسط Shen و همکارانش انجام شد. اثر سلنیوم بر سیستم تولیدمثل و رشد جنین را در یک مدل موش‌های صحرائی باردار در معرض سرب، بررسی کردند. سلنیوم عنصری است که ممکن است اثرات مضر سرب را اصلاح کند. در نتیجه قرار گرفتن موش‌های باردار در معرض سرب سبب آسیب به سیستم تولیدمثل در موش‌های حامله می‌شود. این اثرات نامطلوب توسط مکمل سلنیوم رفع یا کاهش می‌یابد. بر اساس مطالعات انجام شده استفاده از نانوسلنیوم باعث تغییراتی در لایه رحم و فولیکول‌های تخمدان می‌شود اما آسیبی دیده نشد (۲۰).

Miron و همکارانش در سال ۲۰۱۳ اثر سلنیوم را بر عملکرد سیستم تولیدمثل بررسی کردند. استفاده از مکمل‌های سلنیوم برای بهبود ناباروری مردان موثر است و در زنان، نقش در بلوغ تخمک‌گذاری و باروری تخمک نشان داده شده است. بر اساس مطالعات انجام شده، نانوسلنیوم در تخمک‌گذاری و اووژنز می‌تواند تاثیرگذار باشد (۱۴).

نتیجه‌گیری

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت نانوسلنیوم در موش‌های سوری بالغ نژاد NMRI باعث افزایش عملکرد



- 15- Nad P.M., Massany P., Skalicka M., Korenekova B., Cigankova V., Almasiova V., 2007. The effect of cadmium in combination with zinc and selenium on ovarian structure in Japanese quails. *Journal of Environmental Science and Health Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 42(13): 2017-2022.
- 16- Nenkova G., Petrov L., Alexandrova A. 2017. Role of Trace Elements for Oxidative Status and Quality of Human Sperm. *Balkan Medical Journal*, 34(4): 343-348.
- 17- Puccinelli M., Malorgio F., Pezzarossa B., 2017. Selenium Enrichment of Horticultural Crops. *Molecules*, 22(6): 933-943.
- 18- Rayman M.P., Infante H.G., Sargent M., 2008. Food-chain selenium and human health. *Spotlight on Speciation*, 100(2): 238-253.
- 19- Rayman M., 2012. Selenium and human health. *Lancet*, 379(9822): 1256-1268.
- 20- Shen W.C., Chen J., Yin J., Wang S.L., 2016. Selenium protects reproductive system and foetus development in a rat model of gestational lead exposure. *European Review of Medical and Pharmacological Science*, 20(4): 80-773.
- 21- Skalickova S.M., Skalickova S., Milosavljevic V., Cihalova K., Horky P., Richtera L., Adam V., 2017. Selenium nanoparticles as a nutritional supplement. *Nutrition*, 33: 83-90.
- 22- Stoffaneller R., Morse N.L., 2015. A review of dietary selenium intake and selenium status in Europe and the Middle East. *Nutrients*, 7(3): 1494-1537.
- 23- Walczak-Jedrzejowska R., Walczak-Jedrzejowska R., Wolski J.K., Slowikowska-Hilczer J., 2013. The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Central European Journal of Urology*, 66(1): 60-67.
- speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease. *Chemical Society Reviews*, 42(23): 8870-8894.
- 7- Freitas R.G., Nogueira R.J., Antonio M.A., Barros-Filho Ade A., Hessel G., 2014. Selenium deficiency and the effects of supplementation on preterm infants. *Revista Paulista de Pediatria*, 32(1): 126-35.
- 8- Gharpure K.M., Wu S.Y., Li C., Lopez-Berestein G., Sood A.K., 2015. Nanotechnology: future of oncotherapy. *Clinical Cancer Research*, 21(14): 3121-3130.
- 9- Hashemi M., Behnampour N., Nejabat M., Tabandeh A., Ghazi-Moghaddam B., Joshaghani H.R., 2017 Impact of Seminal Plasma Trace Elements on Human Sperm Motility Parameters. *Romanian Journal of International Medicine*, 56(1):15-20.
- 10- Hatfield D., Tsuji P.A., Carlson B.A., Gladyshev V.N., 2014. Selenium and selenocysteine: roles in cancer, health and development. *Trends og Biochemical Sciety*, 39(3): 112-120.
- 11- Jobeili L., Rousselle P., Béal D., Blouin E., Roussel A.M., Damour O., Rachidi W., 2017. Selenium preserves keratinocyte stemness and delays senescence by maintaining epidermal adhesion. *Aging (Albany NY)*, 9(11): 2302-2315.
- 12- Kieliszek M., 2013. Significance, and outlook for supplementation. *Nutrition*, 29(5): 713-718.
- 13- Kieliszek M., Błazejak S., 2016. Current Knowledge on the Importance of Selenium in Food for Living Organisms: A Review. *Molecules*, 21(5): 609.
- 14- Mirone M., Giannetta E., Isidori A.M., 2013. Selenium and reproductive function. A systematic review. *Journal of Endocrinological Investigation*, 36(10): 28-36.



26- Wrobel J., Power R., Toborek M., 2016. Biological activity of selenium: Revisited. *IUBMB Life*, 68(2): 97-105.

27- Zhang Z.G., Gao X., Cao Y., Jiang H., Wang T., Song X., Guo M., Zhang N., 2015. Selenium deficiency facilitates inflammation through the regulation of TLR4 and TLR4-related signaling pathways in the mice uterus. *Inflammation*, 38(3): 56-1347.

24- Wang D., Taylor E.W., Wang Y., Wan X., Zhang J., 2012. Encapsulated nanoepigallocatechin-3-gallate and elemental selenium nanoparticles as paradigms for nanochemoprevention. *International Journal of Nanomedicine*, 7: 1711-1721.

25- Wilde D., 2006. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproductive Science*, 96(3-4): 240-249.

