

# اثر نانو ذرات اکسید روی و یون روی بر آسیب‌شناسی بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

برهان منصوری\*<sup>۱</sup>، سید علی جوهری<sup>۲</sup>، نمامعلی آزادی<sup>۳</sup>، معصومه آریایی<sup>۴</sup>، صبا اصغری<sup>۳</sup>، لیلا دکانی<sup>۳</sup>

## چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر نانوذرات اکسید روی و یون روی بر آسیب‌شناسی بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می‌باشد. در این مطالعه از ۶۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده گردید. همچنین دو غلظت غیرکشنده نانوذرات اکسید روی و دو غلظت غیرکشنده یون روی که عبارت بودند از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر به همراه گروه شاهد (فاقد هرگونه ماده شیمیایی) استفاده گردید. پس از ۱۴ روز مواجهه با این مواد، بافت آبشش نمونه برداری شد. به منظور انجام مطالعه بافت‌شناسی کلاسیک، نمونه‌ها پس از آماده‌سازی به روش هماتوکسیلین - انوزین رنگ آمیزی شد. مهمترین آسیب‌های ایجاد شده در بافت آبشش شامل خمیدگی تیغه‌های ثانویه، هایپرتروفی تیغه‌های ثانویه، افزایش ترشح موکوس، افزایش به هم چسبیدگی لاملاهای ثانویه، تلائزیکتازی مویرگی، هیپرپلازی و در نهایت نکروز بوده است. میزان آسیب‌ها در مواجهه با نانوذرات اکسید روی بیشتر از یون روی بوده است و در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر شدت آسیب‌های بافتی بالاتر از غلظت ۰/۰۵ میکروگرم بر لیتر بوده است. باتوجه به نتایج، می‌توان گفت این ماده قابلیت اثرگذاری و ایجاد آسیب بر بافت آبشش ماهی را دارا می‌باشد، بنابراین لازم است توجه بیشتری در هنگام استفاده از این ماده انجام گیرد و از رهاش آن به محیط زیست خودداری شود.

**واژگان کلیدی:** نانوذرات اکسید روی، یون روی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، آبشش، آسیب‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۸

## مقدمه

در بین نانومواد پرمصرف در بخش‌های مختلف، نانوذرات روی به طور بسیار چشمگیری مورد استفاده قرار گرفته و استفاده از آنها در بخش‌های مختلف با سرعت بسیار زیادی در حال گسترش است (۱). نانوذرات اکسید روی از جمله نانومواد سنتتیک بوده که در مقیاس وسیعی در بخش‌های صنعتی و خانگی نظیر تولید

سرامیک، لاستیک، روغن و مواد غذایی، رنگ و رنگدانه‌ها، نیمه رساناها، نساجی، تصفیه فاضلاب، مواد آرایشی، خمیر دندان، کرم‌های ضدآفتاب و شیمی درمانی به کار برده می‌شوند (۲۴) و (۲۱). میزان نانوذرات اکسید روی در آب‌های سطحی، رسوبات و لجن تصفیه‌خانه‌های فاضلاب اروپا و آمریکا به ترتیب ۰/۰۱، ۰/۰۱ و ۱۷/۱ میکروگرم در لیتر و ۲/۹۰، ۰/۵۱ و ۲۳/۲ میکروگرم در لیتر گزارش شده است (۱۰). نانو ذرات اکسید روی از طریق رهاسازی یون‌های روی در محیط‌های آبی می‌توانند موجب آسیب بافتی آبریان شوند (۱۶). براساس مطالعات صورت گرفته، سمیت نانوذره اکسید روی و یون روی برای ماهیان و بی مهرگان در طبقه مواد سمی تا مضر قرار دارد (۴). پیش‌بینی می‌شود که هر سال بر مقدار این نانوذره در محیط زیست اضافه شود، از طرفی اطلاعات در رابطه با تاثیرات سم‌شناسی محیطی نانوذرات اکسید روی در مقایسه با نانوذرت دیگر از جمله نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و نانوذرات نقره محدود می‌باشد (۱۵).

زمانی که غلظت غیرکشنده‌ای از آلاینده در محیط وجود داشته باشد ممکن است سبب تغییراتی در بافت و سلول موجودات گردد، که یکی از راه‌های مشاهده این تغییرات استفاده از روش آسیب‌شناسی بافتی است (۱۴). آسیب‌شناسی بافتی روش مفید برای ارزیابی سلامت آبریان بوده و اولین نشانه‌های آسیب یا تغییراتی که بوسیله آزمایش ساختاری و ماکروسکوپی بافت‌های ماهی به آسانی قابل تشخیص نیست را نشان می‌دهد (۱۱).

\* ۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

borhamansouri@yahoo.com

۲- دانشجوی دکتری سم‌شناسی محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۳- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۴- گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۵- مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

سم‌شناسی، آب شرب شهر سنندج بود که برای کلرزدایی از آن به مدت حداقل ۲۴ ساعت هوادهی می‌گردید.

پودر نانو ذرات اکسید روی تولیدی شرکت US Research Nanomaterials با میانگین قطر ۲۵ نانومتر از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان خریداری گردید. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره و گذاره از این نانوذرات که توسط شرکت مذکور تهیه شده است درنگاره ۱ به نمایش درآمده است. برای تهیه سوسپانسیون با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از این پودر، ۱ گرم از این ماده وزن شده و در یک ظرف شیشه‌ای ابتدا قطره قطره آب دو بار تقطیر به آن اضافه گردید و هم زده شد تا به صورت یک خمیر یکنواخت در آید. سپس حجم خمیر بدست آمده توسط آب مقطر به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سوسپانسیون حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در حمام سونیکاتور قرار داده شد. منبع روی یونی در این پژوهش نیز نمک سولفات روی هفت آبه ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) ساخت کارخانه Merck آلمان بود که از آن نیز محلول ذخیره‌ای با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه گردید. در این پژوهش از دو غلظت نانو ذرات اکسید روی و دو غلظت یون روی (هر غلظت با سه تکرار) شامل ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر به همراه یک گروه شاهد (فاقد هرگونه ماده شیمیایی افزوده) استفاده شد. غلظت بالای این مواد (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) بر اساس یک سری آزمایشات اولیه برای تعیین محدوده کشندگی آن‌ها مشخص گردید. بدین صورت، براساس پیش‌آزمون‌های انجام شده، غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر برای ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان کشنده بوده و باعث تلفات ۱۰۰ درصدی در این گونه گردید، در مقابل در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هیچگونه تلفاتی مشاهده نگردید. بنابراین غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر به عنوان غلظت تحت کشنده برای آزمون‌های بعدی انتخاب گردید. از طرفی غلظت پایین (۰/۰۵ میکروگرم در لیتر) به عنوان مقدار متناظر با غلظت نانوذرات اکسید روی در محیط زیست انتخاب گردیده بود (۳۰). در هر تیمار از ۱۰ عدد ماهی

بافت آبشش از جمله بافت‌های در معرض آلاینده‌های محیطی می‌باشد که قابلیت تجمع بالایی از مواد سمی از جمله نانوذرات را نیز در خود دارد (۸). بافت آبشش به عنوان اندامی که مبادله گازها، تنظیم اسمزی، تنظیم اسید-باز و دفع مواد زائد نیتروژنی را بر عهده دارد، به دلیل تماس مستقیم با محیط آبی و داشتن لایه اپیتلیال نازک، یکی از اندام‌های هدف برای ایجاد آسیب توسط مواد سمی بوده و اندام مهمی برای مطالعات آسیب-شناسی بافتی می‌باشد (۸). مطالعاتی در رابطه با اثر نانوذرات مختلف بر آسیب‌شناسی بافت آبشش آبزیان مختلف صورت گرفته است، به عنوان نمونه Selvanayagam و Subashkumar (۲۶) گزارش کردند که نانوذرات اکسید روی موجب آسیب‌هایی نظیر هیپرپلازی، تانژیکتازی مویرگی، چسبندگی لاملاهای ثانویه و نکروز بافت آبشش ماهی کپور معمولی شده است. همچنین در مطالعه منصوری و جوهری (۲۰)، آسیب‌هایی نظیر جوش خوردگی رشته‌های آبشش، هیپرپلازی و نکروز در لایه‌های اپی‌تلیال آبشش ماهی زیراپس از مواجهه ماهیان با نانوذرات نقره گزارش گردیده است. این مطالعه با هدف بدست آوردن اطلاعات مفید از میزان آسیب‌پذیری بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در محیط‌های آبی در مواجهه با نانو ذرات اکسید روی و یون روی تحت شرایط کنترل شده طراحی شده است.

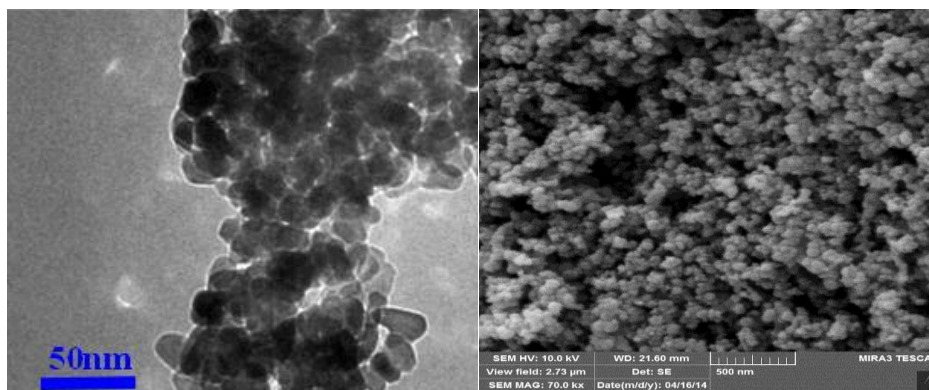
## مواد و روش کار

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد استفاده در این پژوهش از یک مرکز پرورش خصوصی تهیه گردید. به منظور سازگاری با شرایط آزمایشگاه، ماهی‌ها به مدت ۱۰ روز پیش از شروع آزمایشات در مخازن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری همراه با هوادهی نگهداری گردیدند. در طول این مدت میانگین دمای آب ثابت نگه داشته شد و ماهی‌ها روزانه ۲ بار و هر بار به میزان ۱٪ وزن بدن، تغذیه گردیدند. آب مورد استفاده برای نگهداری ماهی‌ها در طی دوره سازگاری و همچنین انجام آزمایشات

سریالی با کیفیت مناسب تهیه و لام‌ها توسط میکروسکوپ نوری (Nikon (eclipse- E200 در بزرگنمایی ۴۰ بررسی - گردیدند.

تغییرات قطر لاملای اولیه، قطر لاملای ثانویه و طول لاملای ثانویه بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تصاویر بافتی تهیه شده، بوسیله نرم‌افزار Axio Vision Real 4.8 اندازه‌گیری و با گروه شاهد مقایسه گردید. برای مقایسه میانگین قطر لاملای اولیه، قطر لاملای ثانویه و طول لاملای ثانویه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در غلظت‌های مختلف از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماري R انجام گردید. همچنین تغییرات بافتی ساختارهای آبشش براساس روش نیمه کمی با استفاده از امتیازات از- تا +++ براساس درجه تغییر مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش (-) بدون تغییر، (+) تغییر خفیف، (++) تغییر متوسط و (+++) تغییر شدید می‌باشد (۲۷).

قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده گردید که به مدت ۱۴ روز در معرض نانوذره اکسید روی و یا یون روی قرار گرفتند. در پایان روز ۱۴م، از هر تیمار ۳ عدد ماهی قزل‌آلا به صورت کاملاً تصادفی صید شده و با استفاده از پودر گل میخک بی‌هوش گردیدند. سپس بافت آبشش آنها به صورت کامل و بدون کمترین آسیب فیزیکی خارج گردید. به منظور انجام مطالعات بافت‌شناسی، ابتدا بافت آبشش به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن فیکس شده و سپس در الکل ۷۰٪ نگهداری گردید. پس از طی مراحل آبیگری، شفاف‌سازی و پارافینه کردن بافت‌ها در دستگاه خودکار (Duplex processor, Shandon Elliott)، نمونه‌ها قالب‌گیری شده و توسط دستگاه میکروتوم (MicroTec, Rotary microtome, CUT 4050) برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر از آنها تهیه شد و برش‌ها روی لام چسبانده شدند. رنگ‌آمیزی لام‌های حاصله به روش استاندارد هماتوکسیلین - ائوزین صورت گرفت و از هر نمونه ۳ لام



نگاره ۱- تصویر SEM (سمت راست) و TEM (سمت چپ) نانوذرات اکسید روی مورد استفاده در این مطالعه

مطالعه نشان داد که آسیب‌های ایجاد شده در بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط نانوذرات اکسید روی و یون روی شامل هیپرپلازی، آماس، چماقی شدن راس لاملای ثانویه، تلانژیکتازی مویرگی، انحناء در لاملای ثانویه، کوتاه شدن لاملای ثانویه، خمیدگی تیغه‌های ثانویه، چسپندگی لاملاها، افزایش ترشح موکوس، هیپرتروفی، افزایش تعداد سلول‌های

## نتایج

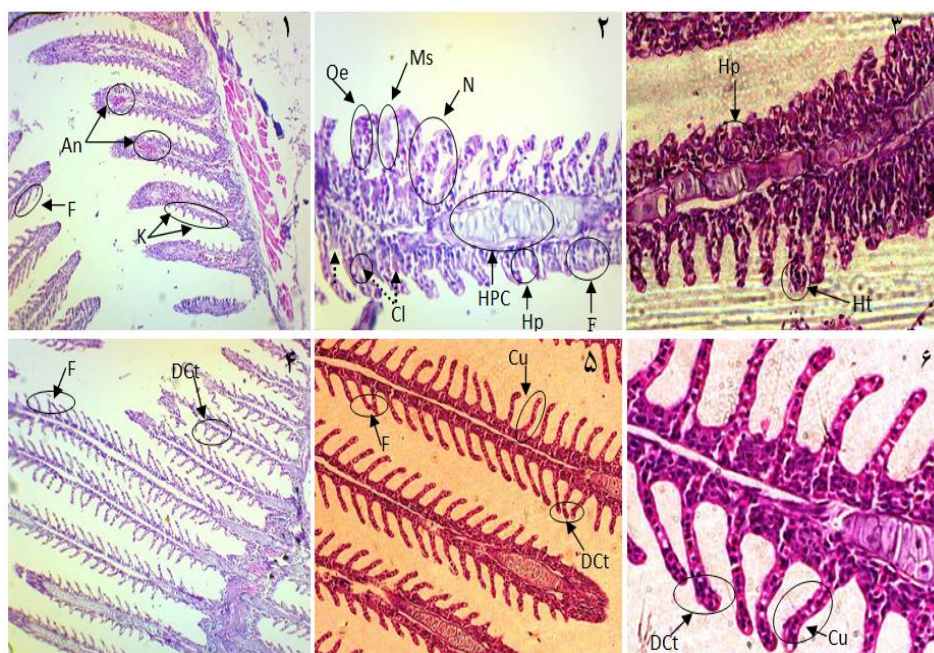
تصاویر بافت‌شناسی آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در گروه شاهد به همراه گروه‌های مواجهه‌یافته با نانوذرات اکسید روی و یون روی در نگاره‌های ۲ و ۳ ارائه شده است. براساس نتایج بدست آمده از نگاره ۲، رشته‌های آبشش در گروه شاهد به صورت طبیعی بود. حداقل آسیب را دارد. همچنین نتایج این

مواجهه با نانوذرات اکسید روی بسیار محسوس تر و بیشتر بوده است.



نگاره ۲- آبشش گروه شاهد ماهی قزل آلابی رنگین کمان به روش (H&E x20)

کلراید و نکرروز بود. همچنین میزان آسیب‌های بافت آبشش در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به غلظت ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر بیشتر بوده است، شدت آسیب، موجب چسبندگی شدید در لاملای ثانویه آبشش ماهی قزل‌آلابی رنگین‌کمان شده بود (جدول ۲). باتوجه به جدول ۲، میزان ضایعات بافت آبشش در حالت نانوذرات اکسید روی بیشتر از یون روی بوده است. در این مطالعه تغییرات در پارامترهای مربوط به آبشش ماهی قزل‌آلابی رنگین‌کمان بعد از مواجهه با یکی از سه غلظت مختلف از دو ماده یون روی یا نانوذره آن مطالعه گردید. طراحی آزمایش در قالب یک طرح متعادل با ۶ تکرار طرح-ریزی شد. در جدول ۱ میانگین و انحراف معیار نمونه‌ها آورده شده‌اند. این جدول نشان می‌دهد که با افزایش غلظت ماده سمی، قطر اولیه و ثانویه بطور متوسط افزایش پیدا کرده‌اند و طول لاملای ثانویه دچار کاهش شده است. این کاهش در



نگاره ۳- بافت آبشش ماهی قزل‌آلابی رنگین‌کمان پس از ۱۴ روز مواجهه با نانوذرات اکسید روی و یون روی در این مطالعه؛ نانوذرات اکسید روی در غلظت ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر (شماره ۱؛ x10) و غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر (شماره ۲: x20؛ شماره ۳: x60)؛ یون روی در غلظت ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر (شماره ۴؛ x10) و غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر (شماره ۵: x40؛ شماره ۶: x60)؛ تانژیکتازی مویرگی (An)، انحناء در لاملای ثانویه (DCt)، هیپرپلازی (Hp)، هیپرتروفی (Ht)، ادم (Oe)، کوتاه شدن لاملای ثانویه (K)، خمیدگی تیغه‌های ثانویه (Cu)، چسبندگی لاملاها (F)، افزایش ترشح موکوس (Ms)، افزایش تعداد سلولهای کلراید (پیکان منقطع سیاه؛ Cl) و نکرروز (N)؛ (H&E x20)

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار برای هر یک از پارامترهای آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

سطح معنی داری	۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر		۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر		شاهد		نوع ماده	پارامترهای آبشش
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین		
	۱/۹۲	۳۴/۷۴	۲	۲۶/۴۲			یون روی	
< ۰/۰۰۱	۴/۷۵	۴۳/۴۱	۳/۰۷	۳۳/۹۴	۴/۰۷	۱۹/۷۴	نانوذرات اکسید روی	قطر اولیه
	۱/۴۵	۷/۷۶	۱/۰۷	۶/۹۲			یون روی	
< ۰/۰۰۱	۳/۶۵	۹/۵۷	۰/۸۴	۶/۹۴	۰/۸۴	۷/۹۶	نانوذرات اکسید روی	قطر ثانویه
	۲/۱۵	۴۵/۹۱	۳/۲۰	۳۷/۱۹			یون روی	
< ۰/۰۰۱	۱۰/۵۳	۲۰/۸۴	۶/۶۳	۳۴/۵۷	۸/۶۶	۴۵/۸۷	نانوذرات اکسید روی	طول ثانویه

جدول ۲- امتیازدهی نیمه کمی ساختار بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مواجهه با نانوذرات اکسید روی و یون روی به همراه گروه شاهد

آسیب بافت آبشش									
N	Ms	F	Cu	K	Oe	Hp	DCt	An*	
-	-	-	+	+	-	-	+	**	گروه شاهد
++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	نانوذرات اکسید روی
+	+	+	++	+	+	+	++	-	یون روی

\* تلانژیکتازی مویرگی (An)، انحناء در لاملای ثانویه (DCt)، هیپرپلازی (Hp)، آماس (Oe)، کوتاه شدن لاملای ثانویه (K)، خمیدگی تیغه‌های ثانویه (Cu)، چسپندگی لاملاها (F)، افزایش ترشح موکوس (Ms) و نکروز (N)؛  
 \*\* سطح شدت آسیب‌های بافت آبشش: (-) بدون تغییر، (+) تغییر خفیف، (++) تغییر متوسط، (+++) تغییر شدید.

## بحث

موجب اختلال در تنفس و سلامت ماهی خواهد شد (۲۶). Winkaler و همکاران (۲۷) گزارش کردند که تغییرات بافتی نوعی پاسخ ماهی به حضور آلاینده‌های سمی در آب و رسوبات می‌باشد. از آنجاییکه جذب مواد شیمیایی بوسیله بافت آبشش سریع بوده و به دلیل دارا بودن سطح وسیع، بافت آبشش در برابر این مواد بسیار آسیب پذیر است، بنابراین واکنش و عکس‌العمل این بافت نسبت به مواد شیمیایی سریع می‌باشد (۱۹ و ۷). همچنین یافته‌های Hao و همکاران (۱۱) نشان دادند که بافت آبشش می‌تواند به عنوان بافت هدف در مواجهه با نانوذرات اکسید روی مورد بررسی قرار گیرد.

آبشش ماهی اندام حیاتی برای تنفس، تنظیم تبادلات یونی و دفع مواد زائد نیتروژن دار با محیط آبی می‌باشد و مستقیماً تحت تاثیر آلاینده‌های محیطی قرار می‌گیرد (۲۵). آلاینده‌های محیطی قابلیت تغییر در ساختار مورفولوژیک و عملکرد حیاتی آبشش آبیان را دارند. تغییرات آسیب‌شناسی بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این مطالعه نظیر هیپرپلازی سلول‌های اپیتلیوم، خمیدگی لاملای ثانویه و چسپندگی بین لاملاها مشاهده شد و این آسیب‌ها فضای تماس آلاینده‌ها با سیستم عروقی بافت آبشش را افزایش می‌دهد، که در نهایت

از اولین آسیب‌های بافت آبشش در مواجهه با آلاینده‌های محیطی در ماهیان متسع شدن و چماقی شدن رأس رشته‌های لاملای ثانویه می‌باشد، با افزایش روند این ضایعه، حالت آماس در لایه‌ی اپیتلیوم لاملای ثانویه ایجاد می‌گردد و در نهایت حضور مواد آلاینده در محیط موجب کاهش سطح مفید آبشش و در نتیجه کاهش تبادل گازی آبشش می‌شوند (۲۷). براساس نتایج دیگر مطالعات در این زمینه، به دنبال متسع شدن لاملاها، حالت هیپرپلازی در لاملاهای ثانویه بافت آبشش نیز ظاهر می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان داد که هیپرپلازی اپیتلیوم بافت آبشش از جمله آسیب‌های ایجاد شده در مواجهه با نانوذرات اکسید روی می‌باشد، این ضایعه علاوه بر کاهش سطح تنفسی در دسترس برای انتشار اکسیژن، فاصله بین اکسیژن موجود در آب و خون را افزایش می‌دهد و این حالت موجب هیپوکسی خواهد شد (۱۸). همچنین در هایپرپلازی سلول‌های بافت آبشش، تکثیر بیش از حد سلول‌های مجاور لاملا، کاهش فضای بین لاملاها را به دنبال دارد که با افزایش این روند حالت جوش خوردگی در بافت آبشش بوجود می‌آید (۹ و ۶).

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان ضایعات بافتی نظیر تلانژیکتازی مویرگی، هیپرپلازی و نکروز بافتی در حالت نانویی اکسید روی بیشتر بوده است (جدول ۲)، همچنین میزان تاثیرگذاری نانوذرات اکسید روی نسبت به یون روی، بر میزان کاهش طول و قطر لاملای آبشش ماهی قزل آلائی رنگین‌کمان بیشتر بوده است. میزان تاثیرگذاری نانوذرات اکسید روی و یون روی در غلظت‌های مختلف نیز تاثیر معنی‌داری بر میزان پارامترهای قطر لاملای اولیه، طول و قطر لاملای ثانویه بافت آبشش داشته است ( $P < 0.001$ )، این حالت نشان دهنده‌ی تاثیر هر دو حالت نانویی و یونی فلز روی بر بافت آبشش می‌باشد. بعضی مطالعات میزان سمیت نانوذرات اکسید روی را به یون‌های آزاد محلول مرتبط دانسته‌اند (۲۸ و ۱۲)، زیرا رهاسازی یون‌های محلول روی

( $Zn^{+2}$ ) دارای حلالیت در محیط‌های آبی بوده و دسترسی موجودات نیز در این حالت بیشتر شده و همچنین میزان سمیت این فرم یون روی بیشتر از دیگر فرم‌های روی می‌باشد (۱۲). در مقابل، برخی دیگر از مطالعات نشان داده‌اند که میزان سمیت نانوذرات اکسید روی بیشتر از حالت یونی آن بوده است (۲۹ و ۲۲). از اینرو به نظر می‌رسد که حضور یون‌های محلول روی ( $Zn^{+2}$ ) نمی‌تواند تنها دلیل برای سمیت نانوذرات اکسید روی باشد (۱۱)، ولیکن حلالیت به عنوان یکی از فاکتورهای مهم در سمیت نانومواد در نظر گرفته می‌شود. فاکتورهای مختلفی در میزان سمیت نانوذرات دخیل می‌باشند، که از مهمترین این فاکتورها می‌توان به اندازه نانوذره، ویژگی‌های سطح، حلالیت و مسی‌های مواجهه اشاره نمود (۵). Wong و همکاران (۲۹) نشان دادند که سمیت نانوذرات اکسید روی بر سطح جلبک‌های دریایی بیشتر از حالت یون روی بوده است، و دلیل این امر را حلالیت بیشتر نانوذرات اکسید روی بیان کردند و این حالت موجب رهاسازی بیشتر یون‌های محلول روی ( $Zn^{+2}$ ) شده و در نتیجه سبب جذب بیشتر توسط سطح جلبک‌های دریایی گردید. در طی مطالعه دیگری، Ates و همکاران (۲) نشان داد که در غلظت‌های مشابه، سمیت نانوذرات روی ( $Zn$  NPs) نسبت به نانوذرات اکسید روی ( $ZnO$  NPs) در گونه آرتیما بیشتر بوده است، به طوری که این میزان سمیت به اندازه کوچکتر نانوذرات روی (۴۰-۶۰ نانومتر) در مقابل نانوذرات اکسید روی (۸۰-۱۰۰ نانومتر) بیان شده است.

باتوجه به یافته‌های این مطالعه، ضایعه تلانژیکتازی مویرگی در مواجهه بافت آبشش با نانوذرات اکسید روی ظاهر شده است. به طوریکه تحقیقات نشان داده است که ضایعه تلانژیکتازی مویرگی به دلیل ریزش سلول‌های پیلاردلاملای ثانویه و پارگی عروق خونی بوده که موجب تجمع حجم بالایی از خون در لاملای آبشش ماهی می‌گردد (۱۳). همچنین ترشح موکوس و افزایش سلول‌های کلراید از

از اولین آسیب‌های بافت آبشش در مواجهه با آلاینده‌های محیطی در ماهیان متسع شدن و چماقی شدن رأس رشته‌های لاملای ثانویه می‌باشد، با افزایش روند این ضایعه، حالت آماس در لایه‌ی اپیتلیوم لاملای ثانویه ایجاد می‌گردد و در نهایت حضور مواد آلاینده در محیط موجب کاهش سطح مفید آبشش و در نتیجه کاهش تبادل گازی آبشش می‌شوند (۲۷). براساس نتایج دیگر مطالعات در این زمینه، به دنبال متسع شدن لاملاها، حالت هیپرپلازی در لاملاهای ثانویه بافت آبشش نیز ظاهر می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان داد که هیپرپلازی اپیتلیوم بافت آبشش از جمله آسیب‌های ایجاد شده در مواجهه با نانوذرات اکسید روی می‌باشد، این ضایعه علاوه بر کاهش سطح تنفسی در دسترس برای انتشار اکسیژن، فاصله بین اکسیژن موجود در آب و خون را افزایش می‌دهد و این حالت موجب هیپوکسی خواهد شد (۱۸). همچنین در هایپرپلازی سلول‌های بافت آبشش، تکثیر بیش از حد سلول‌های مجاور لاملا، کاهش فضای بین لاملاها را به دنبال دارد که با افزایش این روند حالت جوش خوردگی در بافت آبشش بوجود می‌آید (۹ و ۶).

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان ضایعات بافتی نظیر تلانژیکتازی مویرگی، هیپرپلازی و نکروز بافتی در حالت نانویی اکسید روی بیشتر بوده است (جدول ۲)، همچنین میزان تاثیرگذاری نانوذرات اکسید روی نسبت به یون روی، بر میزان کاهش طول و قطر لاملای آبشش ماهی قزل آلائی رنگین‌کمان بیشتر بوده است. میزان تاثیرگذاری نانوذرات اکسید روی و یون روی در غلظت‌های مختلف نیز تاثیر معنی‌داری بر میزان پارامترهای قطر لاملای اولیه، طول و قطر لاملای ثانویه بافت آبشش داشته است ( $P < 0.001$ )، این حالت نشان دهنده‌ی تاثیر هر دو حالت نانویی و یونی فلز روی بر بافت آبشش می‌باشد. بعضی مطالعات میزان سمیت نانوذرات اکسید روی را به یون‌های آزاد محلول مرتبط دانسته‌اند (۲۸ و ۱۲)، زیرا رهاسازی یون‌های محلول روی

- selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. *Arch. Toxicol.* 87:1181–1200.
- Chang, Y.N., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., Xing, G. (2012): The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials.* 5:2850-2871.
  - Depledge, M.H. (1992): Conceptual paradigms in marine ecotoxicology. In *Proceedings of the 12 TH Baltic Marine Biologists Symposium*; Bjornstad, E., Hagerman, L., Jensen, K., Eds.; Fredensborg, Olsen & Olsen: Helsingor, Denmark, pp. 47–52
  - Evans, D.H., Piermarini, P.M., Choe, K.P. (2005): The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid–base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiol. Rev.* 85:97–177.
  - Farkas, J., Christian, P., Gallego-Urrea, J.A., Roos, N., Hasselov, M., Tollefsen, K.E., Thomas, K.V. (2011): Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. *Aquat. Toxicol.* 101:117-125.
  - Fracário, R., Verani, N.F., Espíndola, E.L.G., Rocha, O., Rigolin-Sá, O., Andrade, C.A. (2003): Alterations on growth and gill morphology of *Danio rerio* (pisces, ciprinidae) exposed to the toxic sediments. *Brazil. Arc. Biol. Technol.* 46:685–695.
  - Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W., Nowack, B. (2009): Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO<sub>2</sub>, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environ. Sci. Technol.* 43:9216-9222.
  - Hao, L., Chen, L., Hao, J., Zhong, M. (2013): Bioaccumulation and sub-acute toxicity of zinc nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*): A comparative study with its bulk counterparts. *Ecotoxicol. Environ. Safet.* 91:52–60.
  - Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H.C., Kahru, A. (2008): Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere.* 71:1308-1316.

بافت آبشش در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی رخ داد. ترشح موکوس به عنوان سدی محافظتی برای محدود کردن اثر آلاینده‌ها و سموم ایفای نقش می‌کند، ولیکن این عمل سبب کاهش تبادلات گازهای تنفسی و هیپوکسی می‌گردد (۱۷). سلول‌های کلراید نیز سبب حفظ تعادل اسمزی یون‌های سلول و غشای سلولی بافت آبشش می‌گردند و افزایش غلظت آلاینده‌های محیطی موجب اثرات منفی بر سلول‌های کلراید شده و فرآیند تنظیم اسمزی را دچار اختلال می‌کند (۳). همچنین ایجاد نکرودر بافت آبشش ماهی ناشی از اثرات مستقیم ناشی از نانو ذرات اکسید روی بوده است.

### تشکر و سپاسگزاری

هزینه اجرای این پژوهش در تاریخ ۱۳۹۴/۶/۲۱ توسط معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان [شماره گرنت ۱۴/۳۵۲۳۲] تأمین گردیده است. نویسندگان این مقاله، از جناب آقای دکتر بهرام نیکخو متخصص پاتولوژی، خانم‌ها فاطمه تقدیمی و پژوین کارگر و آقای محمد خالد رزاق‌طلب، کارکنان بخش پاتولوژی بیمارستان توحید شهر سنندج به خاطر همکاری در انجام این پروژه قدردانی می‌نمایند.

### فهرست منابع

- Adams, L.K., Lyon, D.Y., Alvarez, P.J.J. (2006): Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. *Water. Res.* 40:3527- 3532.
- Ates M., Daniels, J., Arslan, Z., Farah, I.O., Rivera, H.F. (2013): Comparative evaluation of impact of Zn and ZnO nanoparticles on brine shrimp (*Artemiasalina*) larvae: effects of particle size and solubility on toxicity. *Environ. Sci. Process. Impacts.* 2013:1-10.
- Bancroft, J.D., Gamble, M. (2002): Theory and practice of histological techniques. Fifth edition. Elsevier science, oxford Philadelphia. P:130-175.
- Bondarenko, O., Juganson, K., Ivask, A., Kasemets, K., Mortimer, M., Kahru, A. (2013): Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to

13. Hongbo Ma, A., Phillip, L., Williams, B., Stephen, A. (2013): Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles -A review. *Environ. Pollut.* 172:76-85.
14. Jiraungkoorskul, W., Sahaphong, S., Kangwanransan, N., Kim, M.H. (2006): Histopathological study: the effects of Ascorbic Acid on cadmium exposure in fish (*Puntius altus*). *J. Fish. Aquat. Sci.* 1:191-199.
15. Kahru, A., Dubourguier, H.C. (2010): From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicol.* 269:105-119.
16. Keller, A.A., Wang, H., Zhou, D., Lenihan, H.S., Cherr, G., Cardinale, B.J., Miller, R., Ji, Z. (2010): Stability and aggregation of metal oxide nanoparticles in natural aqueous matrices. *Environ. Sci. Technol.* 44:1962-1967.
17. Khan, R.A. (1995): Histopathology in Winter Flounder, *Pleuronectes americanus*, following chronic exposure to crude oil. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 54:297-301.
18. Lappivaara, J., Nikinmaa, M., Tuurala, H. (1995): Arterial oxygen tension and the structure of the secondary lamellae of the gills in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after acute exposure to zinc and during recovery. *Aquat. Toxicol. J.* 32:321-331.
19. Mallatt, J. (1985): Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42:630-648.
20. Mansouri, B., Johari, S. (2014): The effect of colloidal silver nanoparticles on histopathology of zebra fish (*Danio rerio*) gill. *Zanko J Med Sci.* 15:1-8.
21. Nel, A., Xia, T., Madler, L., Li, N. (2006): Toxic potential of materials at the nanolevel. *Sci.* 311:622-627.
22. Nair, S., Sasidharan, A., Rani, V.V.D., Menon, D., Nair, S., Manzoor, K., Raina, S. (2009): Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 20:235-241.
23. Paynton, H.C., Lazorchak, J.M., Impellitteri, C.A., Smith, M.E., Rogers, K., Patra, M., Hammer, K.A., Allen, H.J., Vulpe, C.D. (2011): Differential gene expression in *Daphnia magna* suggests distinct models of action and bioavailability for ZnO nanoparticles and Zn ions. *Environ. Sci. Technol.* 45:762-768.
24. Reijnders, L. (2006): Cleaner nanotechnology and hazard reduction of manufactured nanoparticles. *J. Cleaner. Prod.* 14:124-133.
25. Saber, T.H. (2011): Histological adaptation to thermal changes in gills of common carp fishes *Cyprinus carpio* L. *JouRaf Sci.* 22:46-55.
26. Subashkumar, S., Selvanayagam, M. (2014): First report on: Acute toxicity and gill histopathology of fresh water fish *Cyprinus carpio* exposed to Zinc oxide (ZnO) nanoparticles. *Inter. J. Sci. Res.* 4:1-4.
27. Winkaler, E.U., Silva, A.G., Galindo, H.C., Martinez, C.B.R. (2001): Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta. Scient. Biol. Sci.* 23:507-514.
28. Wiench, K., Wohlleben, W., Hisgen, V., Radke, K., Salinas, E., Zok, S., Landsiedel, R. (2009): Acute and chronic effects of nano- and non-nano-scale TiO<sub>2</sub> and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosphere.* 76:1356-1365.
29. Wong, S.W.Y., Leung, P.T.Y., Djurisic, A.B., Leung, K.M.Y. (2010): Toxicities of nano zinc oxide to five marine organisms: influences of aggregate size and ion solubility. *Anal. Bioanal. Chem.* 396: 609-618.
30. Wu, Q., Nouara, A., Li, Y., Zhang, M., Wang, W., Tang, M., Ye, B., Ding, J., Wang, D. (2013): Comparison of toxicities from three metal oxide nanoparticles at environmental relevant concentrations in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere* 90 (2013) 1123-1131.