

اثرات نانوذره اکسید مس بر بافت و آنزیم‌های متابولیک کبد و کلیه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

• ثمین خدایی

کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

• اکرم سادات نعیمی (نویسنده مسئول)

دکتری بیولوژی دریا، استادیار دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه

زیست‌شناسی

• فاطمه نظر حقیقی

دکتری بوم‌شناسی دریا، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد رشت،

دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۰۷-۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷-۰۹-۲۶

Email: a_naeemi@guilan.ac.ir



چکیده

امروزه یکی از مشکلات محیط‌های آبی، ورود فاضلاب‌های صنعتی حاوی نانوذرات است. در این مطالعه اثرات نانوذره‌ی اکسیدمس (CuO NPs) بر برخی آنزیم‌ها و تغییرات بافت‌های کبد و کلیه بچه ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا سمیت حاد (LC50 96h)، این نانوذره تعیین شد. سپس بچه ماهیان به مدت ۹۶ ساعت در معرض غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/l از CuO NPs به همراه شاهد، هریک با سه تکرار قرار گرفتند. در چهار بازه زمانی بافت‌های کبد و کلیه جدا و بررسی شدند. همچنین سنجش فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات ترانس آمیناز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) در بافت‌ها انجام گرفت. آنالیز فعالیت همه آنزیم‌ها در بافت کبد در غلظت ۲۰۰ mg/l پس از ۹۶ ساعت، افزایش معناداری را در مقایسه با شاهد ($p < 0/05$) نشان دادند. برای بافت کلیه، فعالیت آنزیم‌های ALP و LDH در غلظت ۲۰۰ mg/l در هر ۴ بازه‌ی زمانی و برای آنزیم‌های ALT و AST در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/l پس از ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تفاوت معناداری ($p < 0/05$) نشان دادند. بافت کبد عوارضی چون پرخونی، خونریزی، نکروز سلولی، آتروفی سلولی و دژنراسیون چربی به شدت مشاهده گردید. بافت کلیه، تغییرات بافتی مشابه در کنار کاهش یا تخریب کپسول بومن، انبساط گلوبومرولی، رسوبات هموسیدرین، نکروز، تخریب و بسته شدن مجاری کلیوی را به شدت نشان داد. نتایج نشان داد مقادیر تحت‌کشنده نانوذره‌ی اکسیدمس می‌تواند موجب تغییر فعالیت آنزیم‌های شاخص بافت کبد و کلیه ماهی کپور معمولی گردد و آثار هیستوپاتولوژیک چشمگیری بر جای بگذارد.

کلمات کلیدی: نانوذرات اکسیدمس، کلیه، کبد، کپور معمولی

● Veterinary Researches & Biological Products No 124 pp: 82-96

Effects of copper oxide nanoparticles on the tissue and metabolic enzymes of liver and kidney of common carp (*Cyprinus carpio*)

By: Khodaei, S., Department of Biology, Faculty of sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. Naeemi, A.S., (Corresponding Author) Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. and Nazarhaghighi, F., Young Researchers and Elite club, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

Received: 2018-10-10 Accepted: 2018-12-17

Email: a_naeemi@guilan.ac.ir

Nowadays one of the aquatic environment problems is the entry of industrial wastewater containing nanoparticles. In the present study, the effects of copper oxide nanoparticles (CuO NPs) on some enzymes and histological alterations of liver and kidney tissues in the juvenile carp was assessed. At first, acute toxicity (LC50 96h) of CuO NPs were determined. Then, juvenile carps were exposed to the sublethal concentrations of 50, 100 and 200 mg/l of CuO NPs for 96h. Liver and kidney tissues of carp were separated after four periods. Also, ALT, AST, ALP and LDH enzyme activity assay in tissue extracts was done. The analysis of all enzymes activity in liver at a concentration of 200 mg/l after 96h, showed significant increase compared to the control treatment ($P < 0/05$). In kidney, ALP and LDH enzyme activity for all of the four periods at concentration of 200 mg/l and GOT and GPT enzyme activity after 48, 72 and 96h at concentration of 100 and 200 mg/l showed significant difference. In the acute treatments of liver tissue side effects such as blood congestion, cellular necrosis, and cell atrophy and fatty degeneration was observed. kidney tissue were indicated same histopathological changes and shrinkage or degeneration of Bowman's capsule, glomerular expansion, hemosiderin deposits, tubular necrosis and degeneration or occlusion of the tubular lumen. The results showed that sublethal amounts of CuO NPs could affect the activity of the liver and kidney enzymes of the common carp and showed significant histopathological effects.

Key words: Copper oxide nanoparticles, Kidney, liver, common carp

آبی معمولاً در معرض ورود نانوذرات قرار دارند (۵). این مواد به سادگی توسط موجودات آبی از قبیل نرم‌تنان، سخت پوستان و ماهی‌ها جذب می‌شوند (۷). جذب و اثر نانوذرات بر آبزیان موضوع بسیار مهمی است که منجر به مطالعات گسترده زیست سم‌شناسی در این زمینه شده است (۸). نانو ذره اکسید مس یکی از ترکیبات بسیار مهم صنعتی است که در گروه اکسیدهای نیم‌رسانا می‌باشد، تولید ارزان قیمت دارد و خواص الکتریکی و اپتیکی خوبی را داراست. کاربردهای وسیع نانو ذره اکسید مس در سلول‌های خورشیدی، حسگرهای گازی، فرآیند های کاتالیستی، کاربرد در ترانزیستور های اثر میدان، سوئیچ های نوری، رسانه های ذخیره مغناطیسی و الکترودهای لیتیوم-یون می باشد (۱۴) و می‌تواند به سادگی به منابع آبی وارد شود (۱۳). از آنجایی که کشور ایران یکی از کشورهای پیشرو در علم نانو تکنولوژی است، توجه به استفاده از این مواد در آبی‌پروری و بهداشت آبزیان کشور، جایگاه بیشتری را به خود جلب نموده و تلاش برای کاربردی نمودن نانوذرات در این صنعت نیز در حال توسعه می‌باشد. کرانه‌های جنوبی دریای خزر با برخورداری از منابع جنگلی، منابع آبی و همچنین خاک حاصلخیز و باران فراوان، دارای اکوسیستم‌های بسیار متنوعی است.

مقدمه

سیستم‌های آبی پیوسته در مواجهه با مشکلات ناشی از آلاینده‌ها هستند که از منابع مختلف مانند فاضلاب‌های صنعتی، پساب های کشاورزی و فاضلاب شهری اکثراً بدون هیچ تصفیه ای به آب‌ها رها می‌گردند. بنابراین موجودات آبی به طور مداوم در معرض خطرات ناشی از آلودگی محیط زیستشان قرار دارند (۲۴). امروزه آلودگی فلزات در طبیعت از اصلی‌ترین تهدیدکنندگان سلامت محیط زیست به شمار می‌روند (۱۵). فلزات سنگین نظیر سرب، جیوه، مس، کادمیوم، نیکل و کروم به دلیل ایجاد اختلال در مکانیسم‌های حفظ کننده ی هموستاتیک موجودات گوناگون از سموم پرخطر هستند. اغلب این فلزات به طور فزاینده ای توسط صنایع مختلف به دریاها و تالاب‌ها وارد می‌شوند (۲۳). امروزه فناوری نانو با کاربردهای جدید در زمینه های مختلف پزشکی، علم مواد، ساخت ساز و تکنولوژی های دیگر همراه بوده و نانوذرات مهندسی شده منجر به افزایش تنوع محصولات در بازار شده است. خصوصیات نانوذرات به شکل قابل توجهی از مولکول‌های کوچک متفاوت می‌باشد و می‌تواند اثرات خطرناک زیادی بر محیط زیست و همچنین بر سلامت انسان داشته باشد (۴ و ۱۷). محیط‌های

مواد و روش‌ها طرح آزمایش

برای انجام پژوهش حاضر، نمونه‌گیری از بچه ماهیان کپور معمولی در دی ماه ۱۳۹۳ از یکی از استخرهای پرورشی حومه شهر رشت انجام شد و ۲۰۰ قطعه ماهی با میانگین وزن $10/5 \pm 0/5$ gr و طول $9/8 \pm 1/5$ cm به مخزن 1000 lit حاوی آب شهر کلرزداشی شده در آزمایشگاه بیولوژی دریا دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان انتقال یافتند. پس از اینکه نمونه‌ها یک هفته با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند، به آکواریوم‌های اصلی منتقل گردیدند. در مدت انجام آزمایش شرایط فیزیکی و شیمیایی آب (دمای 21 درجه سانتی‌گراد، pH آب $7/3$ و سختی آب 230 ± 12 mg/l) هر روز کنترل شدند. پس از گذشت یک هفته دوره‌ی سازگاری ابتدا ماهیان به مدت 96 ساعت در معرض غلظت‌های 25 ، 50 ، 100 ، 200 ، 500 ، 1000 و 2000 میلی‌گرم بر لیتر نانوذره اکسید مس قرار گرفتند (25) و میزان مرگ و میر در زمان‌های 24 ، 48 ، 72 و 96 ساعت جهت تعیین LC 50 ثبت شد. سپس با استناد به نتایج حاصل از بخش اول آزمایش، برای بررسی تغییرات بافتی و آنزیمی بافت‌های کبد و کلیه، غلظت‌های تحت کشنده 50 ، 100 و 200 میلی‌گرم بر لیتر از نانوذره اکسید مس به همراه یک تیمار شاهد در سه تکرار در نظر گرفته شد و بچه کپورماهیان به تعداد 20 قطعه در هر تکرار به مدت 96 ساعت در معرض این سه غلظت تحت کشنده قرار گرفتند. نانو ذرات اکسید مس با نام تجاری US NANO مربوط به شرکت آمریکایی US Research Nanomaterials خریداری شد. خصوصیات نانوذره تهیه شده جهت تعیین اندازه، مورفولوژی و بررسی ساختار کریستالی نانوذرات با آنالیزهای میکروسکوپ الکترونی گذاره TEM، میکروسکوپ الکترونی نگاره SEM و پراش اشعه X-ray توسط واحد آزمایشگاهی نانو مورد تایید ستاد توسعه فناوری نانو مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرات قبل از این‌که به مخزن‌ها اضافه شوند، با مقدار مناسب آب مقطر مخلوط و به مدت ده دقیقه به وسیله دستگاه اولتراسوند (شرکت سازنده: QSonica، مدل: S3000) در دمای محیط اولتراسیون شدند تا پراکنش و یکنواختی ذرات آن افزایش یابد (۱). در پایان بازه‌های زمانی 24 ، 48 ، 72 و 96 ساعت چهار نمونه از هر آکواریوم برداشت شد، ماهیان قبل از تشریح با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت 150 mg/l، بیهوش و بیومتری شدند (۱۱). نمونه‌ها پس از خون‌گیری بلافاصله در شرایط استریل تشریح شده و اندام‌های کبد و کلیه شناسایی و جداسازی گردید. بافت‌ها پس از هموژنیزه شدن سانتریفیوژ شده و از محلول حاصل از بخش شفاف رویی برای سنجش آنزیم‌های هدف استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST) یا گلوتامات اگزوالواتات ترانس آمیناز (GOT)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) یا گلوتامات پیرووات ترانس آمیناز (GPT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون با روش فتومتریک اندازه‌گیری شدند (۹). بخش دیگری از بافت کبد و کلیه مبنظور بررسی بافتی نمونه‌برداری و پس از آماده‌سازی به روش هماتوکسیلین-آئوزین (H&E) رنگ آمیزی شد (۹). اسلایدهای بافتی به کمک میکروسکوپ نوری متصل به مانیتور و مجهز به دوربین عکاسی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج حاصل از بررسی داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان

این منطقه علی‌رغم ظاهر توانمند، به دلیل رشد شتابان جمعیت و گسترش فعالیت‌های صنعتی، کشاورزی، شهری، گردشگری و... بسیار آسیب‌پذیر می‌باشد (۲۱). آبریان از جمله ماهی‌ها مستقیماً در معرض تجمع آلاینده‌ها از آب آلوده و غیرمستقیم از طریق زنجیره غذایی هستند (۱۹). این امر مشکلاتی مانند انواع بیماری‌ها و نیز تغییراتی در ساختار آن‌ها ایجاد می‌کند (۱۶).

علیرغم اینکه مس (Cu) در مقادیر کم برای گیاهان و جانوران عالی ضروری است (در ساختار سیتوکروم C اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز (۱۳). اما زیان‌ها و آسیب‌های پاتولوژیک مس در مقادیر بالا در ماهی‌ها به خوبی شناخته شده است (۲۰). تغییرات بافت‌شناسی می‌تواند به عنوان شاخصی جهت بررسی اثرات آلاینده‌های مختلف انسانی در موجودات زنده استفاده شود و بازتابی از سلامت عمومی کل جمعیت اکوسیستم باشد (۱۹).

گونه‌های مختلف خانواده ی کپور ماهیان به دلیل استفاده از حلقه‌های اول زنجیره‌ی غذایی موجود در آب، استعداد رشد سریع، سازگاری وسیع، گوشت لذیذ و پرورش آسان دارند و از جایگاه ویژه‌ای در تغذیه ی مردم برخوردار می‌باشند. کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در اروپا و آسیا پرورش داده می‌شود و نوع بومی وحشی آن در آب‌های جنوبی دریای خزر مشاهده می‌شود (۹). در بین تحقیقات صورت گرفته در مورد اثر نانوذرات بر ماهیان، مطالعاتی در زمینه ی سمیت کشنده و اثرات نانوذره اکسید مس در ماهیان صورت گرفته است. از جمله مطالعه‌ای که سمیت کشنده میانی در نمونه‌های جوان کپور معمولی، در معارضه با نانوذره اکسید مس در غلظت‌های 50 ، 100 ، 200 ، 300 ، 500 و حتی 1000 mg/l بررسی گردید و اثرات سمیت حاد مشاهده نشد، در حالیکه در غلظت تحت کشنده 100 mg/l اثرات منفی از جمله کاهش رشد در ماهی کپور جوان ملاحظه گردید (۲۵). همچنین اثر نانوذره اکسید مس بر برخی شاخص‌های خونی ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و سمیت کشنده آن نیز بررسی شد و نتایج مشابهی مانند عدم مرگ و میر در غلظت‌های مورد مطالعه بدست آمد (۱۳). به علاوه مطالعاتی در رابطه با غلظت کشنده، فعالیت آنزیم‌ها و تغییرات بافتی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) در مواجهه با نانوذره و درشت ذره اکسید مس صورت گرفت. در این مطالعات در غلظت‌های یک دهم و یک بیستم $96h$ -LC 50 تغییرات بافتی و افزایش معناداری در آنزیم‌های متابولیک کبد مشاهده شد که تغییرات در نانوذره نسبت به درشت ذره بیشتر بود (۱ و ۲). از آن‌جائی‌که کلیه بیشترین میزان خون پس آبخشی را دریافت می‌کند (۲) و کبد به عنوان مهم‌ترین اندام سم‌زدائی در زمان مواجه شدن با آلاینده‌های محیطی، نقش مهمی در متابولیسم مس ایفا می‌کند، تغییرات فیزیولوژیکی و هیستوپاتولوژیکی کبد و کلیه به عنوان شاخص مناسبی برای بررسی اثرات آلاینده‌ها از جمله نانوذرات فلزی در ماهیان هستند (۹). تاکنون مطالعات بسیار اندکی در رابطه اثرات نانوذره اکسید مس بر آسیب‌های بافتی و تغییرات آنزیم‌های متابولیک بافت‌های کبد و کلیه ماهیان صورت گرفته است (۲ و ۹). هدف از این مطالعه تاثیر کوتاه‌مدت نانوذره اکسید مس بر تغییرات آنزیم‌های متابولیک و آسیب‌شناسی بافتی در دو بافت شاخص (کبد و کلیه) در بچه ماهی کپور معمولی می‌باشد.

آنالیز فعالیت آنزیم‌های بافت کلیه در بچه کپور ماهیان مورد بررسی نیز نشان داد که فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تنها در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ mg/l از نانوذره اکسید مس، پس از ۷۲ و ۹۶ ساعت افزایش معناداری با گروه شاهد نشان داد ($p < 0/05$)، همچنین در تیمار با غلظت ۲۰۰ mg/l در تمامی بازه‌های زمانی تفاوت معنی‌داری با فعالیت آنزیم در نمونه شاهد مشاهده شد ($p < 0/05$) (شکل ۵).

بررسی فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در بافت کلیه در معرض غلظت ۱۰۰ mg/l از نانوذره اکسید مس پس از ۷۲ و ۹۶ ساعت افزایش معنی‌داری با شاهد نشان داد ($p < 0/05$). به علاوه در فعالیت آنزیم‌های بافت کلیه در معرض غلظت ۲۰۰ mg/l در تمامی بازه‌های زمانی افزایش معناداری نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده شد ($p < 0/05$) (شکل ۶). فعالیت آنزیم گلوتامات اگزالواسات ترانس آمیناز (GOT) در بافت مذکور و در غلظت ۵۰ mg/l از نانوذرات، پس از ۴۸ و ۹۶ ساعت افزایش معناداری نسبت به نمونه شاهد نشان داد ($p < 0/05$) و در تیمار با غلظت ۱۰۰ mg/l نانوذره اکسید مس در تمامی بازه‌ها به جز ۲۴ ساعت، تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد ثبت شد. همچنین در تیمار با غلظت ۲۰۰ mg/l نیز در تمامی بازه‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد مشاهده شد ($p < 0/05$) (شکل ۷). در ادامه، طی بررسی فعالیت آنزیم گلوتامات پیرووات ترانس آمیناز (GPT) بافت کلیه در غلظت ۵۰ mg/l در بازه‌های زمانی مورد نظر، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای حاوی نانوذره با نمونه شاهد پس از ۴۸ و ۹۶ ساعت مشاهده گردید ($p < 0/05$) و در غلظت ۱۰۰ mg/l نیز در تمامی بازه‌های زمانی به جز ۷۲ ساعت، تفاوت معنی‌داری را با شاهد نشان داد ($p < 0/05$). همچنین در تیمار غلظت ۲۰۰ mg/l نیز فعالیت این آنزیم در تمامی بازه‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نشان داد ($p < 0/05$) (شکل ۸).

نتایج آسیب‌شناسی اثرات نانوذره اکسید مس بر بافت کبد و کلیه بچه ماهی کپور معمولی

اثرات حاد نانوذره اکسید مس بر بافت کبد بچه ماهی کپور

آنالیز تیمارهای حاد بافت کبد بروز عوارضی چون پرخونی، خونریزی، نکروز سلولی، آتروفی سلولی و دژنراسانس چربی را در بیشتر نمونه‌های در معرض بویژه در غلظت ۲۰۰ mg/l و ساعات ۷۲ و ۹۶ پس از آغاز (در مقایسه با شاهد) به شدت نشان داد. همچنین برخی عوارض مانند واکوئل شدن و هیپرتروفی با شدت کمتر در برخی نمونه‌ها مشاهده گردید. جدول ۱ نوع و میزان این عوارض را در بازه‌های زمانی متفاوت و غلظت‌های مختلف نشان می‌دهند.

اثرات حاد نانوذره اکسید مس بر بافت کلیه بچه ماهی کپور معمولی

آنالیز تیمارهای حاد بافت کلیه، بروز عوارضی چون پرخونی، خونریزی، نکروز سلولی، کاهش یا تخریب کپسول بومن، انبساط گلوامرولی، رسوبات هموسیدرین، نکروز مجاری و تخریب یا بسته شدن مجاری کلیوی را در بیشتر نمونه‌های در معرض (در مقایسه با شاهد) به شدت نشان داد. همچنین برخی عوارض مانند واکوئل شدن مجاری کلیوی و ملانوفاز با شدت کمتر در برخی نمونه‌ها مشاهده گردید. آسیب‌های بافتی کلیه بعد از ۹۶ ساعت قرارگیری ماهی کپور معمولی در معرض غلظت‌های متفاوت

شده است. اختلاف بین داده‌ها و مقایسه میانگین نمونه‌ها در تیمارهای مختلف با آنالیز واریانس یک‌طرفه یا استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۸ انجام و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها، از پس‌آزمون چند دامنه دانکن استفاده شد. اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵٪ ($p < 0/05$) در نظر گرفته شد. نمودارها در نرم‌افزار Excel ۲۰۱۳ رسم گردید.

نتایج

تعیین میزان سمیت کشنده نانوذرات اکسید مس در بچه ماهیان

کپور معمولی

تنها تلفات مشاهده شده بچه ماهیان در تمامی غلظت‌های مورد بررسی نانو ذره اکسید مس (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰) طی ۹۶ ساعت، تعداد دو قطعه ماهی در یک تکرار با غلظت ۱۰۰ mg/l در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت بود. بنابراین باتوجه به این نتایج بخش دوم آزمایش اجرا شد.

قابل ذکر است که میزان فعالیت و به ویژه حرکت باله‌ی دمی ماهی‌های در معرض غلظت‌های مختلف نانوذره (به ویژه غلظت‌های بالاتر) در مقایسه با نمونه‌های آکواریوم شاهد در حد قابل توجهی کم شد.

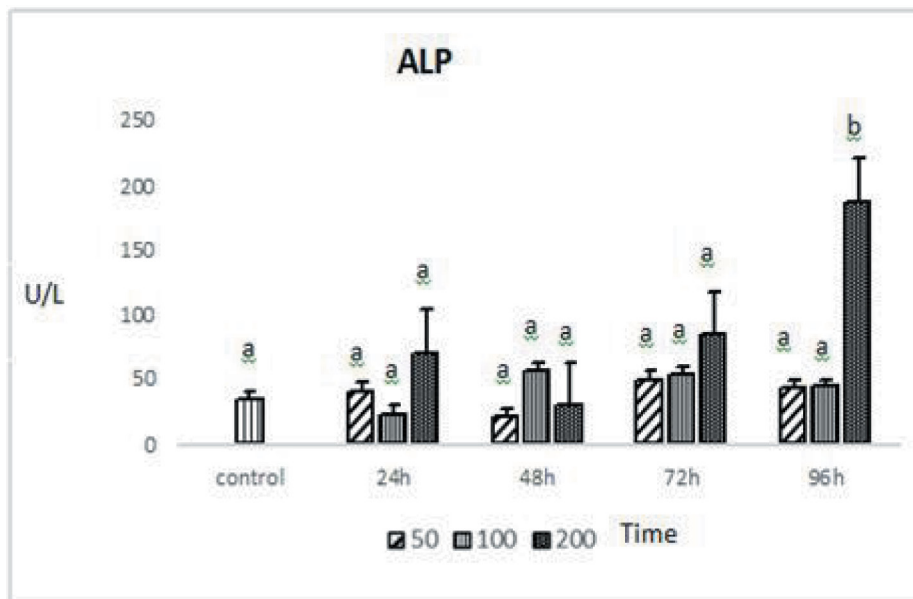
تغییرات رفتاری

این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات هیستوپاتولوژیک ایجاد شده توسط غلظت تحت کشنده نانوذره اکسید مس بر بچه ماهی کپور معمولی انجام شد. طی ۹۶ ساعت دوره آزمایش در همه گروه‌های مورد مطالعه هیچ مرگ و میری مشاهده نشد. تغییرات رفتاری شاخص حساسی برای بررسی اثرات سمی بالقوه مواد است. الگوی رفتاری و شنای ماهیان در گروه کنترل نرمال بود اما در گروه‌های تیمار شده رفتار شنای غیرمعمول با پرش‌های ناگهانی همراه با افزایش غلظت اکسید مس طی دوره مواجهه افزایش پیدا کرد. بویژه شنای نزدیک سطح، سستی و بیحالی و حالت سرگردانی کاملاً قابل تشخیص بود. در خصوص پارامتر وزن و طول ماهی پس از ۹۶ ساعت از آغاز آزمایش تفاوت معناداری در مقدار طول و وزن ماهیان تیمار اکسید مس نسبت به ماهیان شاهد در هر سه غلظت مورد بررسی مشاهده نشد ($p > 0/05$).

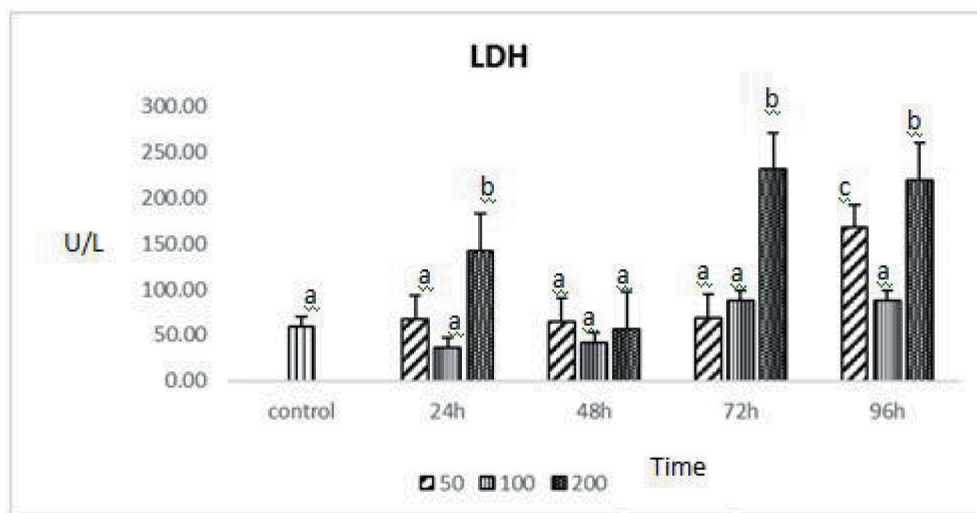
نتایج آنالیز آنزیم‌های GOT، GPT، LDH، ALP در بافت‌های کبد و

کلیه بچه ماهی کپور معمولی

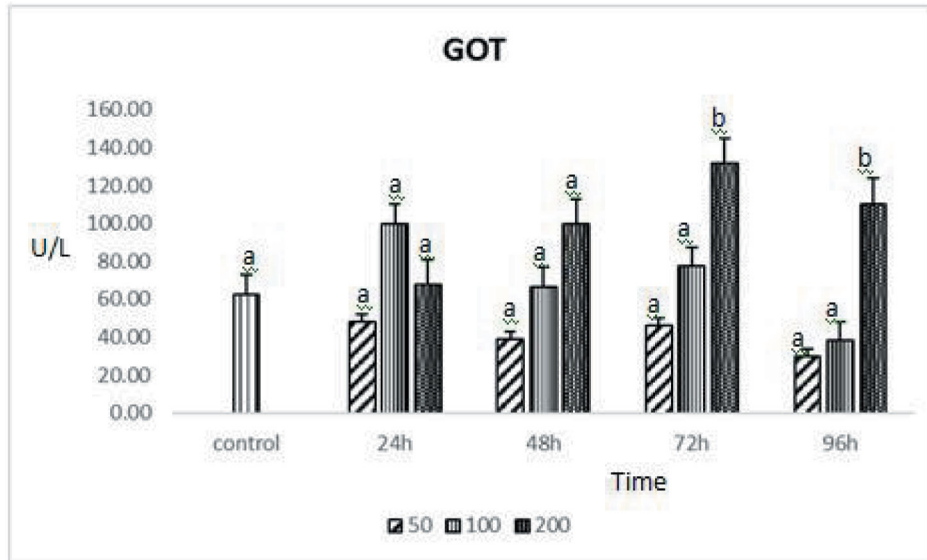
آنالیز فعالیت آنزیم‌های بافت کبد در بچه کپور ماهیان مورد بررسی نشان داد که فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تنها در غلظت ۲۰۰ mg/l از تیمار ۹۶ ساعت افزایش معناداری در مقایسه با شاهد نشان داد ($p < 0/05$) (شکل ۱). در فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در غلظت ۵۰ mg/l پس از مدت ۹۶ ساعت اختلاف معناداری مشاهده شد و در تیمار با غلظت ۲۰۰ mg/l نیز پس از مدت زمان ۲۴، ۷۲ و ۹۶ ساعت افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم نسبت به شاهد مشاهده شد ($p < 0/05$) (شکل ۲). همچنین فعالیت آنزیم گلوتامات اگزالواسات ترانس آمیناز در غلظت ۲۰۰ mg/l پس از ۷۲ و ۹۶ ساعت اختلاف معناداری با شاهد نشان داد ($p < 0/05$) (شکل ۳). بررسی فعالیت آنزیم گلوتامات پیرووات ترانس آمیناز در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/l پس از ۷۲ و ۹۶ ساعت نیز تفاوت معناداری با شاهد نشان داد ($p < 0/05$) (شکل ۴).



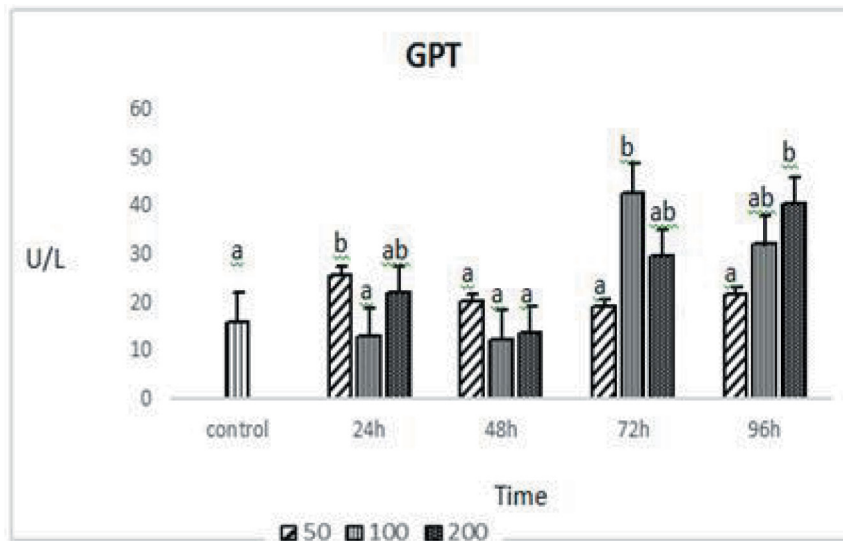
شکل ۱- میزان فعالیت آنزیم ALP بافت کبد در غلظت‌های مختلف از نانوذره‌ی اکسیدمس در بازه‌ی زمانی حاد. حروف متفاوت نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار در هر گروه است ($P < 0.05$).



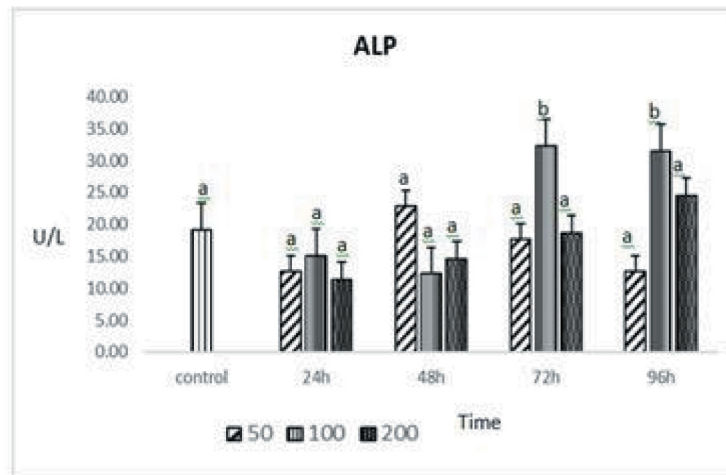
شکل ۲- میزان فعالیت آنزیم LDH بافت کبد در غلظت‌های مختلف از نانوذره‌ی اکسیدمس در بازه‌ی زمانی حاد. حروف متفاوت نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار در هر گروه است ($P < 0.05$).



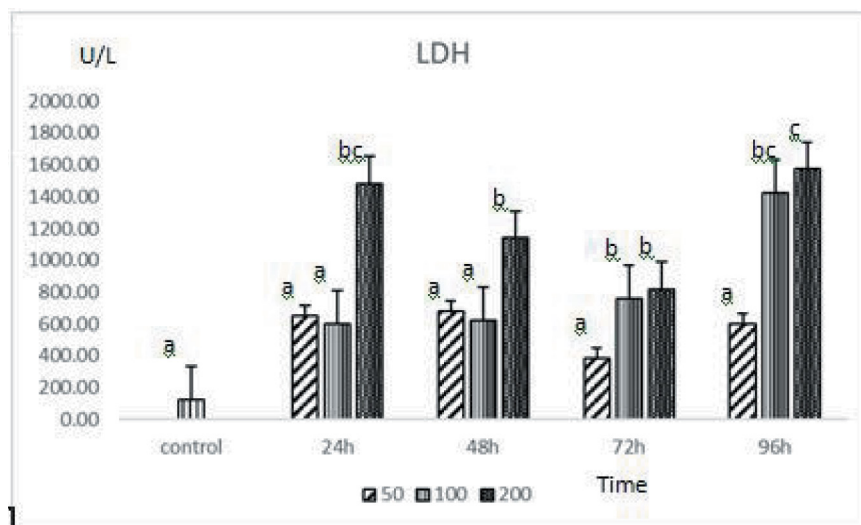
شکل ۳- میزان فعالیت آنزیم GOT بافت کبد در غلظت‌های مختلف از نانوذره‌ی اکسیدمس در بازه‌ی زمانی حاد. حروف متفاوت نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار در هر گروه است ($P < 0.05$).



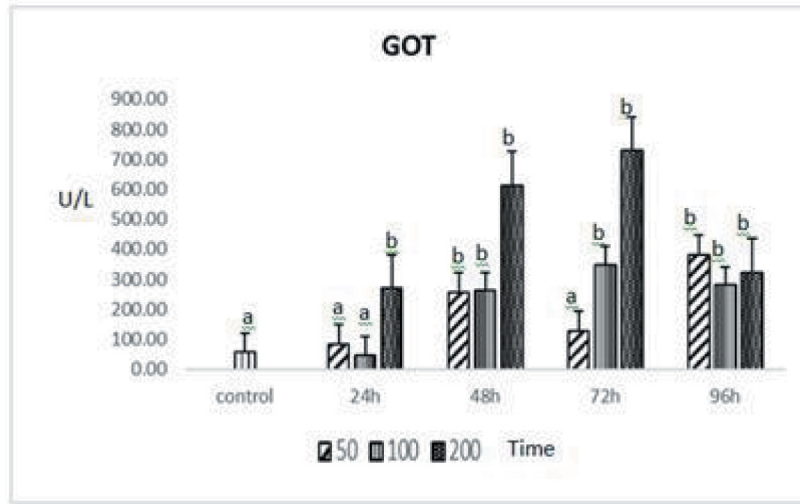
شکل ۴- میزان فعالیت آنزیم GPT بافت کبد در غلظت‌های مختلف از نانوذره‌ی اکسیدمس در بازه‌ی زمانی حاد. حروف متفاوت نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار در هر گروه است ($P < 0.05$).



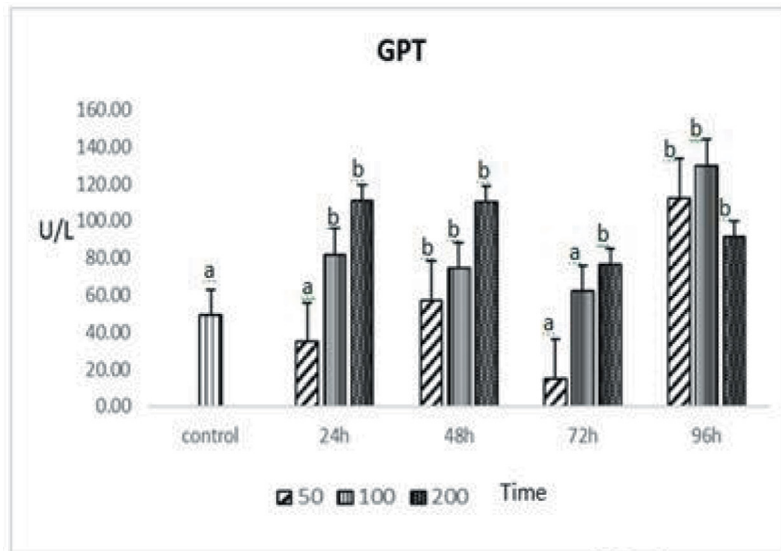
شکل ۵- میزان فعالیت آنزیم ALP بافت کلیه در غلظت‌های مختلف از نانوذره‌ی اکسید مس در بازه‌ی زمانی حاد. حروف متفاوت نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار در هر گروه است ($P < 0.05$).



شکل ۶- میزان فعالیت آنزیم LDH بافت کلیه در غلظت‌های مختلف از نانوذره‌ی اکسید مس در بازه‌ی زمانی حاد. حروف متفاوت نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار در هر گروه است ($P < 0.05$).



شکل-۷- میزان فعالیت آنزیم GOT بافت کلیه در غلظت‌های مختلف از نانوذره‌ی اکسیدمس در بازه‌ی زمانی حاد متفاوت نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار در هر گروه است ($P < 0.05$).



شکل-۸- میزان فعالیت آنزیم GPT بافت کلیه در غلظت‌های مختلف از نانوذره‌ی اکسیدمس در بازه‌ی زمانی حاد. حروف متفاوت نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنادار در هر گروه است ($P < 0.05$).

نانوذره اکسید مس در جدول ۲ آورده شده است.

بحث

محیط‌های آبی معمولاً در معرض ورود نانوذرات قرار دارند و این مواد بسادگی توسط موجودات آبی از قبیل نرم‌تنان، سخت‌پوستان و ماهی‌ها جذب می‌شوند (۵ و ۷). از آن جایی که نانوذرات در حین تولید و در زمان استفاده در وسایل گوناگون امکان جدایی و نشت را دارند، لذا همیشه محیط‌های آبی در معرض خطرات ناشی از آلودگی این مواد قرار داشته که در دراز مدت منجر به افزایش مرگ و میر بین آبزیان مقیم در آن‌ها خواهد گردید (۲۵). طبق نتایج حاصل از تحقیق پیش رو تلفات بسیار پایین طی دوره آزمایش سمیت حاد در غلظت‌های مختلف (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ mg/l) ملاحظه گردید. این امر نشان می‌دهد که نانوذرات اکسیدمس برای ماهی کپور معمولی تا غلظت ۲۰۰۰ mg/l دارای سمیت کشنده حاد نمی‌باشد. زآو و همکارانش در سال ۲۰۱۱ اثر نانوذره اکسیدمس را در غلظت‌های ۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ بر بچه‌ماهیان کپور معمولی بررسی نمودند که آنها نیز در غلظت‌های مورد بررسی هیچ مرگ و میری را مشاهده نکردند. طبق این تحقیق آنها پیشنهاد نمودند که این نانوذره اثر سمیت کشنده کمی بر آبزیان دارد، اما با این وجود می‌تواند وارد بدن آبزیان شود و در اندام‌ها و بافت‌ها تجمع یابد. از سوی دیگر، به دلیل خاصیت چسبندگی و ته‌نشینی نانوذرات در کف آکواریوم، غلظت واقعی که ماهی طی ۹۶ ساعت در معرض آن قرار می‌گیرد از غلظت در نظر گرفته شده در آزمایش کمتر است. چرا که حدود نیمی از غلظت در نظر گرفته شده با گذشت ۴۸ ساعت از آغاز آزمایش و با وجود هوادهی در کف آکواریوم رسوب می‌کند و از دسترس ماهی خارج می‌شود. البته بخشی از این مواد مجدداً با حرکت و شنای ماهی در بستر بصورت معلق در می‌آید. ذکر این نکته ضروری است که میزان pH و سختی آب نیز بر میزان سمیت مس موثر است. سختی بالا سبب کاهش سمیت مس در هر pH می‌گردد (۲۵). بنابراین باتوجه به میزان سختی آب استفاده شده در مطالعه حاضر می‌توان گفت که سختی حدود ۲۳۰ mg/l می‌تواند سبب کاهش سمیت نانوذره اکسیدمس و در نتیجه کاهش قابل توجه مرگ و میر در این مطالعه گردد. خبازی و همکاران سال ۲۰۱۵ طی بررسی میزان سمیت حاد (غلظت کشنده) نانوذره اکسیدمس در غلظت‌های یک تا ۱۰۰ mg/l روی ماهی قزل آلی رنگین کمان، هیچ مرگ و میری را در غلظت‌های مورد بررسی ملاحظه نکردند (۱۳). در مطالعه دیگری عبدالخالک و همکاران در سال ۲۰۱۵ مقدار غلظت کشنده میانی نانوذره اکسید مس را در ماهی تیلاپیا گونه‌ی (*Oreochromis niloticus*) بررسی نمودند، و مقدار آن را ۱۵۰ mg/l گزارش دادند (۱).

سنجش آنزیم‌هایی از قبیل آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، گلوتامات اکزالواستات ترانس آمیناز (GOT) و گلوتامات پیرووات ترانس آمیناز (GPT) به عنوان تست‌های آزمایشگاهی استاندارد شناخته می‌شوند که اختلالات و ناهنجاری‌ها را در جانوران مشخص می‌کنند (۲).

در این مطالعه فعالیت این آنزیم‌ها تحت تاثیر نانو ذره اکسید مس در هر دو بافت کبد و کلیه در بیشتر موارد دچار افزایش شد. بیشترین میزان فعالیت نیز در غلظت‌های بیشتر، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/l و در بازه‌های زمانی بالاتر (۷۲ و ۹۶ ساعت) که زمان مواجهه بطول انجامید، مشاهده شد. هرچه که مدت زمان

-: عدم مشاهده عارضه * مشاهده کم عارضه **: مشاهده زیاد عارضه *** مشاهده خیلی زیاد عارضه

تیمارها عوارض	control	۵۰ ppm ۲۴h	۱۰۰ ppm ۲۴h	۲۰۰ ppm ۲۴h	۵۰ ppm ۴۸h	۱۰۰ ppm ۴۸h	۲۰۰ ppm ۴۸h	۵۰ ppm ۷۲h	۱۰۰ ppm ۷۲h	۲۰۰ ppm ۷۲h	۵۰ ppm ۹۶h	۱۰۰ ppm ۹۶h	۲۰۰ ppm ۹۶h
پر خونی	-	*	*	*	***	*	*	**	*	*	**	*	***
خونریزی	-	**	*	***	***	-	***	-	*	**	**	**	**
دژنراسی چربی	-	-	*	-	-	-	-	**	-	-	-	*	-
واکوله شدن	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تکروز سلولی	-	*	**	**	-	*	**	-	**	**	**	*	*
آتروفی سلولی	-	**	*	*	-	-	-	***	**	*	-	*	**
هیپر تروفی	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	*

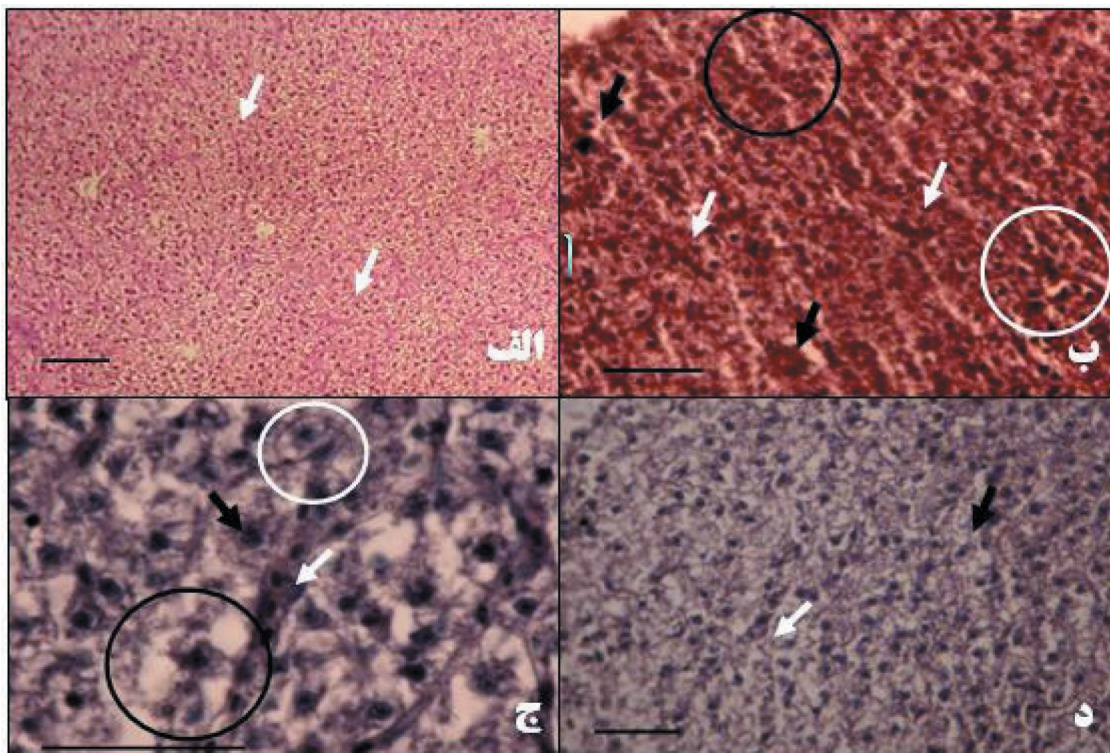
جدول ۱- نوع و شدت عوارض بافتی مشاهده شده در کبد ماهی کپور معمولی در بازه‌های زمانی متفاوت و غلظت‌های مختلف

این آنزیم در خون، آسیب‌های احتمالی وارده به بافت‌های مختلف از جمله کبد و کلیه باشد و کاهش این آنزیم‌ها نیز به دلیل اختلال در سیستم انتقالی غشا باشد (۹).

در مطالعه‌ی حاضر، تغییر و افزایش در سطوح آنزیم‌های AST، LDH، ALP و ALT در بافت‌های کبد و کلیه ماهیانی که در معرض مسمومیت تجربی با نانوذره اکسیدمس بودند در مقایسه با گروه کنترل بررسی و به وضوح مشاهده شد. مطالعات نشان داده که در بیماری‌های حاد کبدی که منجر به ایجاد صدمات غشایی یا نکروز سلولی می‌شوند، فعالیت آلانین آمینوترانسفراز در سرم خون بطور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۶). در مطالعه‌ای که توسط احمدی و همکاران در سال ۲۰۱۶ صورت گرفت، غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/l از نانوذره اکسید مس طی مدت ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های LDH، ALP، AST و ALT در پلاسما خون ماهی کپور معمولی گردید (۳). همچنین در تحقیق دیگری نانوذره اکسید مس در

حاد مواجهه و همچنین غلظت نانوذره افزایش یافت، تغییر در فعالیت این آنزیم‌ها نیز مشهودتر بود. افزایش در فعالیت این آنزیم‌ها در اندام ماهیانی که در معرض نانوذره مذکور قرار گرفته‌اند ممکن است به علت صدمه به آن باشد که منجر به آزادسازی آنزیم‌های درون سلولی و در نتیجه سبب افزایش سطح آنها در بافت می‌گردد.

سلوهای موجود در بافت‌های بدن موجودات دارای آنزیم‌های مختلف است که در ارتباط با کارکرد خاص سلول مربوط فعالیت می‌کنند و تمام واکنش‌های بیوشیمیایی داخل سلول‌ها توسط آنها کاتالیز می‌شوند. وقتی که سلولی دچار آسیب شود، آنزیم‌ها به مایعات بین بافتی وارد می‌شوند. تغییر در فعالیت آنزیم در ماهی‌های آب شیرین که در معرض آلایندگی‌های مختلف قرار گرفته‌اند در مطالعات گوناگون گزارش شده است. بررسی‌ها نشان داده است مقدار افزایش این آنزیم‌ها با تعداد سلول‌های آسیب دیده رابطه مستقیمی دارد (۱). به نظر می‌رسد که یکی از مهم‌ترین دلایل افزایش سطح فعالیت



شکل ۹- تغییرات هیستوپاتولوژیکی کبد ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوذره اکسیدمس پس از ۲۴ ساعت (H&E).

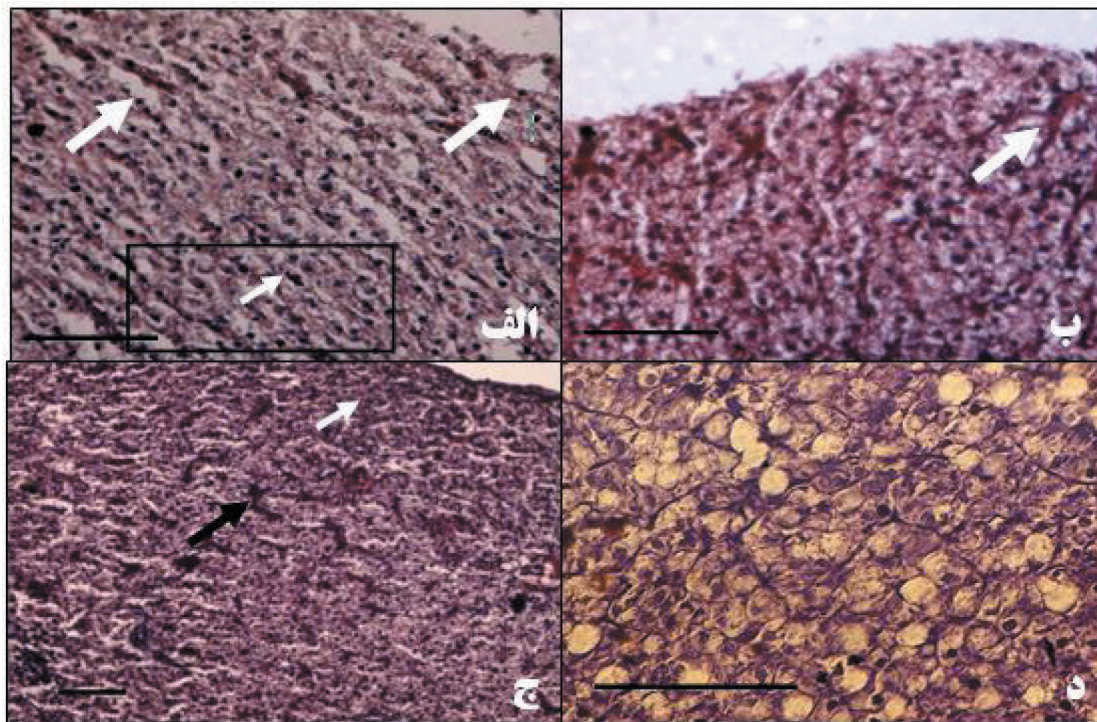
الف- بافت کبد سالم در نمونه شاهد. هپاتوسیتها (پیکان سفید). ب- مقاطع بافت کبد پس از ۲۴ ساعت و غلظت ۵۰ mg/l (X۴۰۰)؛ خونریزی (پیکان سفید)، پرخونی (پیکان سیاه) و نکروز خفیف (دایره سفید) و آتروفی هپاتوسیتها (دایره سیاه). ج- مقاطع بافت کبد در تیمار ساعت ۲۴ و غلظت ۱۰۰ mg/l (X۱۰۰۰)؛ مشاهده خونریزی (پیکان سفید)، نکروز سلولی (پیکان سیاه)، واکنش شدن (دایره سفید) و دژنراسانس چربی (دایره سیاه). د- مقاطع بافت کبد در تیمار ساعت ۲۴ و غلظت ۲۰۰ mg/l (X۴۰۰)؛ مشاهده خونریزی (پیکان سفید)، نکروز سلولی (پیکان سیاه). خط مقیاس: ۵۰ μm.

ماهی، انجام شده است. همچنین استفاده از این تحقیقات به عنوان ابزاری حساس جهت شناسایی اثرات مستقیم ترکیبات شیمیایی روی اندام‌های هدف، در تجارب آزمایشگاهی، بارها به اثبات رسیده است (۱۸).

کبد اندام اصلی برای فرایند سم‌زدایی و تغییر فرم زیستی است. همچنین باتوجه به وظیفه، موقعیت و منبع خون بودن آن، یکی از آسیب‌پذیرترین اندام‌ها در برابر آلاینده‌های آبی محسوب می‌شود. بنابراین کبد ماهی می‌تواند به عنوان یک اندام هدف آلاینده‌ها مطرح باشد. تغییرات ساختمانی کبد در ارزیابی سلامتی ماهی قابل توجه است و اثرات آلاینده‌های مختلف زیست محیطی را نشان می‌دهد (۲).

در تحقیق حاضر؛ ضایعات کبدی در مواجهه با آلاینده‌ها، توسط نکروز و انحطاط کبدی، هیپرتروفی هیپاتوسیت‌ها، دژنراسانس چربی، همولیز و رسوب هموسیدرین، خون‌ریزی و پرخونی، آتروفی هیپاتوسیت‌ها، پیکنوز شدن سلول‌های کبدی و واکنش شدن هیپاتوسیت‌ها مشخص گردید. در مطالعه‌ای که اثر نانوذره مس به مدت ۱۴ روز بر روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام

غلظت‌های (هفت و نیم و ۱۵ mg/l) و همچنین درشت ذره اکسید مس در غلظت‌های (۱۱۰/۲۵ و ۲۲۰/۵ mg/l) در مدت زمان دو هفته باعث افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP کبد ماهی تیلاپیا گردید و اختلال کاملاً مشخص و معناداری در عملکرد کبد و کلیه تیلپایی نیل ایجاد کرد (۱). در مطالعه‌ای که توسط حسینی و همکاران در سال ۲۰۱۶ به مدت ۱۴ روز بر روی ماهی کپور معمولی صورت گرفت، افزایش معنی‌داری در سطح آنزیم AST تحت تاثیر سولفات مس و آنزیم ALT تحت تاثیر نانوذره مس و سولفات مس نسبت به شاهد در پلاسمای خون این ماهی مشاهده شد (۹). آثار بافتی یکی دیگر از شاخص‌های ارزیابی سلامت آبزیان است. عوامل زیادی می‌توانند در ماهیان ایجاد ضایعه بافتی کنند که با توجه به شرایط بیولوژیکی و اکولوژیکی ماهی و محیط اطراف آن، ماهی مستعد ابتلا به انواع آلودگی می‌باشد. در مطالعات میدانی، از ماهی می‌توان به عنوان ابزار پایش کیفی اکوسیستم‌های آبی، استفاده کرد. مطالعات آسیب‌شناسی بافتی برای کشف روابط علت و معلولی بین مواجهه آلاینده‌های مختلف و پاسخ‌های بیولوژیکی



شکل ۱۰- تغییرات هیستوپاتولوژیکی کبد ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوذره اکسیدمس پس از ۹۶ ساعت (H&E)

الف- مقاطع بافت کبد پس از ۹۶ ساعت و غلظت ۵۰ mg/l (X۲۰۰)؛ مشاهده نکروز (پیکان سفید) و آتروفی (مستطیل سیاه). ب- مقاطع بافت کبد در تیمار ساعت ۹۶ و غلظت ۱۰۰۰ mg/l (X۴۰۰)؛ مشاهده خونریزی شدید (پیکان سفید). ج و د- مقاطع بافت کبد در تیمار ساعت ۹۶ و غلظت ۲۰۰ mg/l (به ترتیب X۲۰۰ و X۶۰۰)؛ پرخونی (پیکان سفید)، خونریزی (پیکان سیاه)، دژنراسانس چربی و نکروز با بیشترین شدت در این تیمار قابل رویت است. خط مقیاس: ۵۰ μ m.

جدول ۲- نوع و شدت عوارض باقی مشاهده شده در کلیه ماهی کپور معمولی در بازه های زمانی متفاوت و غلظت های مختلف

ppm ۲۰۰ ۹۶h	ppm ۱۰۰ ۹۶h	ppm ۵۰ ۹۶h	ppm ۲۰۰ ۷۲h	ppm ۱۰۰ ۷۲h	ppm ۵۰ ۷۲h	ppm ۲۰۰ ۴۸h	ppm ۱۰۰ ۴۸h	ppm ۵۰ ۴۸h	ppm ۲۰۰ ۲۴h	ppm ۱۰۰ ۲۴h	۵۰ ppm ۲۴h	control	تیمارها عوارض
**	***	**	***	**	**	***	**	**	***	**	**	-	پر خونی
**	***	**	***	**	**	***	*	**	***	*	**	-	خونریزی
**	**	**	***	**	**	***	-	**	***	-	**	-	کاهش یا تخریب کپسول بومن
**	*	-	***	-	-	***	-	-	***	-	-	-	انبساط گلو مری
**	***	**	***	***	**	***	***	**	***	***	**	-	نکروز سلولی
**	**	*	**	**	*	*	*	-	*	*	-	-	رسوبات هموسیدرین
**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	*	*	-	نکروز مجاری
**	*	-	**	-	-	**	-	-	*	-	-	-	واکنش شدن مجاری کلیوی
**	***	**	***	***	***	***	***	***	***	*	*	-	تخریب یا بسته شدن مجاری کلیوی
**	***	***	*	**	***	*	**	***	*	*	*	-	ملانوفاز

- عدم مشاهده عارضه

* مشاهده کم عارضه

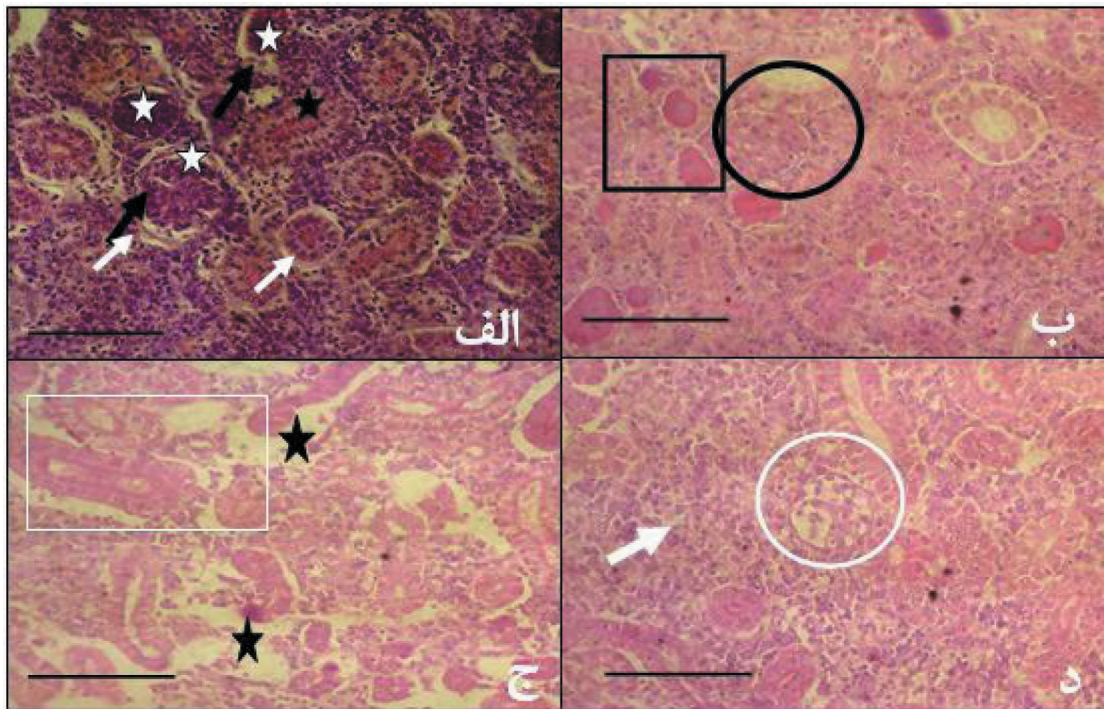
** مشاهده زیاد عارضه

*** مشاهده خیلی زیاد عارضه

شد، بافت کبد دچار آسیب‌های مشابهی از قبیل نکروز، پرخونی و واکوتله شدن هیپاتوسیت‌ها، پیکنوزه شدن هسته سلول‌های کبدی و افزایش مرکز ملانوماکروفاژ شد (۹). همچنین عبدالخالک و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند بافت کبد ماهی تیلپیا در معرض یک دهم و یک بیستم از LC50-96h از نانوذره و درشت ذره اکسید مس دچار عوارضی مانند نکروز، همولیز، خون‌ریزی و دژنراسیون هیپاتوسیت‌ها گردید (۲).

کلیه ماهیان استخوانی یکی از نخستین اندام‌هایی است که تحت تاثیر آلاینده‌های موجود در محیط آب هستند و آسیب‌های وارد شده به بافت کلیه شاخص مناسبی برای آلودگی محیطی است (۲). شکل خارجی کلیه، در گونه‌های مختلف ماهی‌ها، متفاوت است. در ماهی‌های استخوانی حقیقی، کلیه شامل رأس و بدنه می‌باشد. رأس کلیه یا قسمت قدامی آن از بافت لنفاوی تشکیل شده است، در حالی که تعدادی زیادی نفرون و بافت لنفوئیدی بینابینی در قسمت بدنه کلیه قرار دارند. عملکرد اصلی کلیه در ماهی‌های استخوانی

حقیقی آب شیرین، دفع آب اضافی است که توسط آبشش‌ها به داخل بدن وارد شده است. به همین دلیل ادرار در ماهی‌های آب شیرین فراوان ولی از نظر غلظت الکترولیت‌ها بسیار رقیق می‌باشد (۲۲). کلیه یک اندام مهم برای حفظ هوموستازی از طریق تبادل یون‌ها و ترشح محصولات متابولیک و آب است و اختلال آن می‌تواند به فیزیولوژی و در نهایت بقای ماهی آسیب برساند (۱۲). میزان اثرات تخریبی آلاینده‌ها بر کلیه به میزان حساسیت گونه ماهی بستگی دارد. عمومی‌ترین عوارضی که در بافت کلیه ماهیان در معرض ایجاد می‌شود شامل تغییرات سلول‌های لوله‌های ادراری و تغییرات در کپسول بومن مثل اتساع مویرگ‌ها در گلومرول‌ها و کاهش فضای لومن است. در مطالعه حاضر کلیه بچه ماهی کپور معمولی پس از مواجهه مزمن با غلظت‌های متفاوتی از نانوذره اکسید مس و در بازه زمانی چهار روز، تغییرات بافتی از قبیل خونریزی، ظاهر شدن مراکز ملانوماکروفاژی، نکروز، در سلول‌های مجاری و بافت همبند و احتقان در فضای کپسول بومن



شکل ۱۱- تغییرات هیستوپاتولوژیکی کلیه ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوذره اکسید مس پس از ۲۴ ساعت (H&E)

الف- بافت کلیه سالم در نمونه شاهد. گلومرول (ستاره سفید)، کپسول بومن (پیکان سیاه)، مجاری ادراری (ستاره سیاه)، بافت همبند زمینه (پیکان سفید). ب- مقاطع بافت کلیه پس از ۲۴ ساعت و غلظت ۵۰ mg/l (X۲۰۰). ج- مقاطع بافت کلیه در تیمار ساعت ۲۴ و غلظت ۱۰۰ mg/l (X۴۰۰). د- مقاطع بافت کلیه در تیمار ساعت ۲۴ و غلظت ۲۰۰ mg/l (X۴۰۰). مشاهده خونریزی (پیکان سفید)، نکروز سلولی (ستاره سیاه)، تخریب گلومرولی (دایره سفید)، کاهش فضای بومن (دایره سیاه)، تخریب مجاری کلیوی (مستطیل سفید)، بسته شدن مجاری کلیوی و ظهور مراکز ملانوماکروفاژ (مستطیل سیاه) در این تیمارها. خط مقیاس: ۱۰۰ μ m.

سمیت کشنده نانوذره‌ی اکسیدمس، این آلاینده می‌تواند در غلظت‌های تحت کشنده و در مدت زمان کوتاه (۹۶ ساعت) سبب تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های متابولیکی بافت کبد و کلیه بچه ماهی کپور معمولی گردد و در ادامه آثار هیستوپاتولوژیک مشخص و چشمگیری در این دو بافت برجای بگذارد. همه این تغییرات غیرمطلوب که سلامت این موجود آبی را تحت تأثیر قرار داده می‌تواند نشان‌دهنده‌ی لزوم و ضرورت مدیریت صحیح ارگان‌های مربوط برای جلوگیری از ورود آلاینده‌هایی از این دست به محیط‌های آبی باشد.

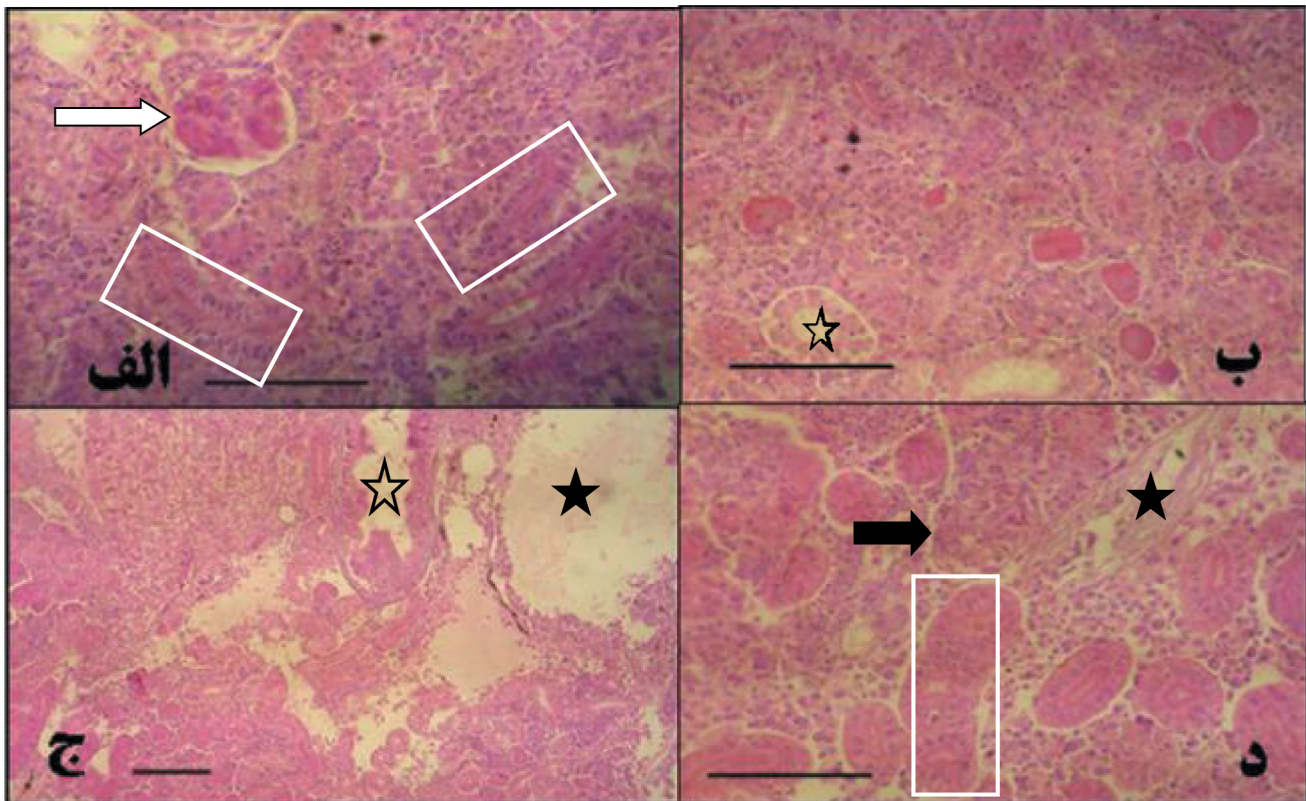
منابع مورد استفاده

1- Abdel-Khalek, A.A., M. A. M. Kadry, S. R. Badran and M. A. S. Marie. 2015. Comparative toxicity of copper oxide bulk and nano particles in *Nile Tilapia*; *Oreochromis niloticus*: Biochemical and

مشاهده شد. حسینی و همکاران (۲۰۱۶) طی بررسی غلظت‌های ۰/۲۵ و ۲۵ mg/l از سولفات مس و نانوذره مس بر روی بافت کلیه ماهی کپور معمولی تغییرات مشابهی از جمله پرخونی، افزایش مرکز ملانوماکروفاژ، نکروز در سلول‌های لوله‌های ادراری، ادم کپسول بومن و دژنراسیون گلومرولی مشاهده نمودند (۹). همچنین در تحقیق دیگری بافت کلیه ماهی تیلاپای نیل آثاری چون دژنراسیون و تغییر شکل سلول‌های لوله‌های ادراری، ادم، اتساع فضای بومن، هیپرپلاژی گلومرولی در مواجهه با نانوذره اکسید مس نشان داد (۲).

نتیجه گیری کلی

در این مطالعه علی‌رغم قرارگیری بچه‌ماهیان کپور معمولی در معرض غلظت‌های مختلف (تا ۲۰۰۰ mg/l) نانوذره‌ی اکسیدمس، مرگ و میر مشخصی در این تیمارها مشاهده نشد. اما نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که علیرغم عدم



شکل ۱۲- تغییرات هیستوپاتولوژیکی کلیه ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوذره اکسیدمس پس از ۹۶ ساعت (H&E)

الف- مقاطع بافت کلیه پس از ۹۶ ساعت و غلظت ۱-mg/l ۵۰ (X۲۰۰). ب- مقاطع بافت کلیه در تیمار ساعت ۹۶ و غلظت ۱-mg/l ۱۰۰ (X۴۰۰). ج و د- مقاطع بافت کلیه در تیمار ساعت ۹۶ و غلظت ۱-mg/l ۲۰۰ (X۴۰۰). نکروز سلولی (ستاره سیاه)، تخریب مجاری کلیوی (ستاره توخالی) و بسته شدن مجاری کلیوی (مستطیل سفید)، تخریب گلومرولی و کپسول بومن (پیکان سفید)، کاهش فضای بومن (پیکان سیاه) در این تیمارها. خط مقیاس: ۱۰۰ μm.

- oxidative stress. *Journal of Basic & Applied Zoology* 72: 43-57.
- 2- Abdel-Khalek, A.A., S. R. Badran and M. A. S. Marie. 2016. Toxicity evaluation of copper oxide bulk and nanoparticles in *Nile tilapia, Oreochromis niloticus*, using hematological, bioaccumulation and histological biomarkers. *Fish Physiology and Biochemistry* 42:1225-1236.
- 3- Ahmadi, H. 2016. Effects of copper oxide nanoparticles on some enzyme, hematological factors and gill tissue of common (*Cyprinus carpio*). MSc thesis. University of Guilan. Rasht, Iran.(In persian)
- 4- Colvin, V.L. 2003. The potential environment impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology* 21: 1166–1170.
- 5- Farre, M., K. Gajda-Schrantz, L. Kantiani and D. Barcelo. 2009. Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 393: 81–95.
- 6- Gaber, H. S., W. T. Abbas, M. M.N. Authman and S. A. Gaber. 2014. Histological and Biochemical Studies on Some Organs of Two Fish Species in Bardawil Lagoon, North Sinai, Egypt. *Global Veterinaria* 12: 01-11. DOI: 10.5829/idosi.gv.2014.12.01.76199
- 7- George, S., H. Gardner, E.K. Seng, H. Chang, C. Wang, C.S.Y. Fang, M., Richards, S. Valiyaveetil and W.K. Chan. 2014. Differential effect of solar light in increasing the toxicity of silver and titanium dioxide nanoparticles to a fish cell line and zebrafish embryos. *Environmental Science and Technology* 48: 6374–6382.
- 8- Griffith, R.J., R. Weil, K.A. Hyndman, N.D. Denslow, K. Powers, D. Taylor and D.S. Barber. 2007. Exposure to copper nanoparticles causes gill injury and acute lethality in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Science and Technology*, 41: 8178–8186.
- 9- Hoseini, S. M., A. Hedayati, A. Taheri Mirghaed and M. Ghelichpour .2016. Toxic effects of copper sulfate and copper nanoparticles on minerals, enzymes, thyroid hormones and protein fractions of plasma and histopathology in common carp, *Cyprinus carpio*. *Experimental and Toxicologic Pathology* 68: 493-503.
- 10- Howarth, R. S. and J.B. Sprague. 1978. Copper lethality to rainbow trout in waters of various hardness and pH. *Water Research* 12: 455-462.
- 11- Javahery, S., H. Nekoubi and A. Haji Moradlu. 2012. Effect of anesthesia with clove oil in fish (review). *Fish Physiology Biochemistry* 38:1545–1552.
- 12- Katuli, K.K., B.M. Amiri, A. Massarsky and S. Yelghi. 2014. Impact of a short-term diazinon exposure on the osmoregulation potentiality of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fingerlings. *Chemosphere* 108: 396–404.
- 13- Khabbazi, M., M. Harsij, S.A.A. Hedayati, H. Gholipour, M. H. Gerami and H. Ghafari Farsani. 2014. Effect of CuO nanoparticles on some hematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their potential toxicity. *Journal of Nanomedicine* 2: 67-73.
- 14- Kiaune, L. and N. Singhasemanon. 2011. Pesticidal copper (I) oxide: environmental fate and aquatic toxicity. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 213: 1-26.
- 15- Klaverkamp, J.F., W.A. MacDonald, D.A. Duncan and R. Wagemann. 1984. Metallothionein and accumulation to heavy metals in fish: a review. Contaminant Effects on Fisheries. pp: 99-113. In: V.W.Cairns, P.V.Hodson, and J.O. Nriagu, (ed.), Wiley, New York.
- 16- Marina, M. P., B. Camargo Claudia and R. Martinez. 2007. Histopathology of Gills, kidney And Liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology* 5: 227-236.
- 17- Moore, M.N. 2006. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment?. *Environment International* 32: 967–976.
- 18- Murali, M., P. Suganthi, P. Athif, A. Sadiq Bukhari, H.E. Syed Mohamed, H. Basu and R.K. Singhal. 2017. Histological alterations in the hepatic tissues of Al₂O₃ nanoparticles exposed freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 44: 125-131.
- 19- Murugan, S.S., R. Karuppasamy, K. Poongodi and S. Puvaneswari. 2008. Bioaccumulation Pattern of Zinc in Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch.) After Chronic Exposure. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 8: 55-59.
- 20- Mustafa, S.A., S.J. Davies and A.N. Jha. 2012. Determination of hypoxia and dietary copper mediated sub-lethal toxicity in carp, *Cyprinus carpio*, at different levels of biological organization. *Chemosphere* 87: 413-427.
- 21- Safaeian, N., M. Shokri and B. Jabaran Amiri. 2004. Environmental Impact Assessment of Development in the Southern Coast of the Caspian Sea (Northern Iran). *Polish Journal of environmental studies* 13: 45-50.
- 22- Sattari, M., D. Shahsavani and Sh. Shafiee. 2002. Systematic Ichthyology, Haghshenas publication, Tehran. (In Persian).
- 23- Yadav, A. K., R. Abbassi, N. Kumar, Sh. Saty, T.R. Sreekrishnan and B.K. Mishra. 2012. The removal of heavy metals in wetland microcosms: Effects of bed depth, plant species, and metal mobility. *Chemical Engineering Journal* 211-212: 501-507.
- 24- Zeitoun, M. M., and E. Mehana. 2014. Impact of Water Pollution with Heavy Metals on Fish Health: Overview and Updates. *Global Veterinaria* 12: 219-231.
- 25- Zhao, J., Z.Wang, X. Liu, X. Xie, K. Zhang, B. Xing. 2011. Distribution of CuO nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus Carpio*) and their potential toxicity. *Journal of Hazardous Materials* 197: 304-310.

