

بررسی تأثیر نانوذرات اکسید آهن و روی بر بافت کبد و عضله در ماهی قزل‌آلای

رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

اکرم حاجی‌رحیمی^{۱*}، فرح فرخی^۱ و امیر توکمه‌چی^۲

^۱ ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

^۲ ارومیه، دانشگاه ارومیه، پژوهشکده آرتیمیا و آبزیان

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۵

چکیده

با توجه به تولید روزافزون نانوذرات روی و اکسید آهن و کاربردهای مفید آنها در سیستم‌های زیستی، تاکنون مطالعات کمی در زمینه اثرات جانبی این مواد بر بدن جانداران صورت گرفته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات تغذیه‌ای نانوذرات روی و اکسید آهن بر بافت‌های کبد و عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. برای این منظور تعداد ۴۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (با میانگین وزن اولیه $45 \pm 4/7$ گرم) از یکی از مزارع پرورش ماهی تهیه و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. بلافاصله ماهیان ضد عفونی و به مدت ۱۰ روز با شرایط آزمایشگاهی سازش یافتند. سپس ماهیان بصورت تصادفی به هفت گروه تقسیم شدند، گروه اول بعنوان شاهد در نظر گرفته شد و سایر گروه‌ها بترتیب مقادیر ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم از نانوذرات روی و اکسید آهن را در هر گرم غذا به مدت ۶۰ روز دریافت کردند. جهت بررسی‌های بافتی نمونه-برداری در روزهای ابتدایی، ۳۰، ۶۰ و ۷۵ (۱۵ روز پس از قطع تغذیه با نانوذرات) انجام شد. نتایج حاصل از مطالعه بافت کبد و عضله با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین در گروه‌هایی که نانوذرات روی و اکسید آهن را دریافت کرده بودند نشان دهنده آسیب‌های جدی در هپاتوسیت‌های کبدی از جمله: لیپیدوز، التهاب و برهم ریختن نظم لوپول کبدی بود. با توجه به نتایج موجود می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد نانوذرات روی و اکسید آهن در آزمایش بر روی موجودات زنده حتی در مقادیر کم در کبد اثرات سوء بافتی دارند در حالیکه سبب بهبود شاخص‌های رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، نانوذره روی، اکسید آهن، کبد، عضله

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۶۰۱۰۹۶۹۸، پست الکترونیکی: akramhajirahimi@yahoo.com

مقدمه

دریایی تمام آمینواسیدهای لازم را در اختیار بدن قرار می‌دهند و در ساختمان بافت‌ها و بازسازی آنها نقش بسزایی دارند. غذاهای دریایی براحتی قابل هضم می‌باشند، زیرا بافت‌های پیوندی کمی دارند، به همین دلیل در برخی از رژیم‌های غذایی، خوردن گوشت ماهی توصیه می‌شود. غذاهای دریایی نسبت به غذاهای دیگر از لحاظ پروتئینی غنی‌تر بوده و چربی‌های آنها نیز بی‌ضرر می‌باشند. همچنین غذاهای دریایی حاوی مقداری آهن، روی و مس می‌باشند.

امروزه فرآورده‌های دریایی نقش قابل توجهی در تأمین غذای بشر دارند، با شناسایی ارزش و برتری غذایی این فرآورده‌ها بر دیگر مواد پروتئینی، روز به روز بر مصرف آنها افزوده می‌شود (۱۴ و ۲۵). مزایای تغذیه از پروتئین‌های دریایی باعث شده که آبزیان بعنوان مهمترین ماده غذایی تأمین کننده احتیاجات غذایی جوامع بشری مورد توجه قرار گیرند (۱۸). غذاهای دریایی بعلاوه کیفیت بالای پروتئین، از اهمیت بسیار زیادی برخوردار هستند. غذاهای

مس در گروه عناصر ضروری قرار می‌گیرند چرا که آنها نقش مهمی در سیستم‌های زیستی ایفا می‌کنند (۲۷). اهمیت و نقش عناصر ضروری در تشکیل و پایداری بافتها، تنظیم فرایندهای مختلف حیاتی، شرکت در جذب مواد غذایی از لوله گوارش و ورود مواد غذایی به داخل سلولها، حفظ PH (potential of hydrogen) خون و مایعات بدن در محدوده فیزیولوژیک و... موجب شده که پژوهش پیرامون نقش و اهمیت این عناصر در حوزه‌های علوم زیستی و تغذیه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد. کمبود عناصر ضروری در بدن که ممکن است ناشی از عدم وجود مقادیر کافی این عناصر در رژیم غذایی و یا منابع طبیعی محل زندگی، عوامل عفونی، بعضی از بیماری‌های کاهش دهنده جذب، دفع بیش از اندازه و یا شرایط فیزیولوژیک خاص باشد که در طی آن نیاز بدن به عناصر ضروری افزایش می‌یابد می‌تواند موجب بروز اختلالات فیزیولوژیک و علائم بالینی گوناگونی شود (۳).

البته عناصر ضروری زمانی که دریافت بیش از حدی داشته باشند، می‌توانند اثرات سمی ایجاد کنند (۲۷). کمبود آهن و روی، یکی از مشکلات تغذیه‌ای شایع در کشور ما و بسیاری از کشورهای توسعه یافته به شمار می‌رود. در این میان کودکان و مادران باردار در معرض خطر بیشتری قرار دارند، زیرا کودکان و نوزادان برای حفظ رشد و تکامل مطلوب، به ریز مغذی‌های بیشتری نیازمند هستند (۷). در مورد کمبود ریزمغذی‌ها، آنچه کمتر مورد توجه و قابل مشاهده است، کاهش معنی‌داری است که کمبود ریزمغذی‌ها در رشد و نمو بدنی و ذهنی کودک پدید می‌آورد (۳۹). روی نیز یکی از عناصر مورد نیاز آبریان است که در بسیاری از سیستم‌های آنزیمی موثر بر متابولیسم مواد غذایی، بعنوان کوفاکتور (کوفاکتورها اجزای غیر پروتئینی برخی آنزیم‌ها هستند و برخی از آنزیم‌ها برای اینکه بتوانند نقش کاتالیزوری خود را انجام دهند به این کوفاکتورها نیاز دارند) عمل می‌کند (۲۳). موجودات دریایی خصوصاً ماهی منبع بسیار خوبی برای تأمین عناصر معدنی مورد نیاز بدن

این مواد به آنزیم‌ها و پروتئین‌ها در فعالیت‌های بیوشیمیایی بدن کمک می‌کنند (۱۱). همگام با رشد تقاضا، افزایش روند آلودگی زیست بوم‌های دریایی بشکلی جدی، احتمال بروز مشکلات کیفی در این منبع ارزشمند غذایی را تشدید کرده است (۴۲). فناوری نانو حوزه نسبتاً جدید و در حال تکامل است. نانو مواد عموماً رفتاری متفاوت نسبت به هم نوع خود در مقیاس بزرگتر از نانو دارند. در مقیاس نانو، مساحت سطح ذرات بسیار افزایش می‌یابد که می‌تواند منجر به واکنش‌پذیری بیشتر مواد شود، چرا که در این شرایط، اتم‌ها سطح کنترل خواص فیزیکی و شیمیایی ماده را تحت الشعاع قرار می‌دهند. همچنین خواص نوری، گرمایی و الکتریکی مواد تغییر می‌کند و اثرات کوانتومی مهم می‌شود (۱۹). نانوذرات دارای ویژگی‌های خاص شیمیایی و فیزیکی از نظر اندازه، شکل و نسبت بالای سطح به حجم می‌باشند. این صفات کاربرد آنها را در بسیاری از موارد پزشکی و زیست‌شناسی مناسب ساخته است. گاهی اندازه آنها کوچکتر و یا در حد ساختارهای سلولی، ویروس، پروتئین و یا یک ژن می‌باشد. این مواد پس از تزریق به جانوران بسرعت در اکثر اندام‌ها و بافت‌ها توزیع شده و پدیده جذب سلولی آنها بسیار شدید می‌باشد (۲۱). نانو-ذرات اکسید آهن دارای کاربردهای زیست پزشکی زیادی از قبیل بازسازی بافتی، ایمنی سنجی، رفع مسمومیت مایعات زیستی، گرما درمانی سلول‌های سرطانی و... می‌باشند (۲۸). نانوذرات اکسید آهن بعنوان عنصر ایجاد کننده تضاد در MRI (Magnetic Resonance Imaging) استفاده می‌شوند. امروزه از نانوذرات اکسید آهن جهت نشانه‌گذاری سلول‌های بنیادی و ردیابی آنها استفاده می‌شود (۶). نانوذرات اکسید آهن بدلیل خواص فیزیکوشیمیایی که دارند بعنوان حامل‌های دارویی در درمان سلول‌های سرطانی در محیط‌های زنده نیز استفاده‌های گسترده‌ای دارند (۳۲). مواد معدنی بسته به نقش زیستی خود می‌توانند در گروه‌های مختلفی همچون عناصر ضروری، غیرضروری و سمی طبقه‌بندی شوند (۲۶). در این طبقه‌بندی، فلزاتی مثل آهن، روی و

تکرار بوده و پرورش در استخرهای بتنی با ابعاد (۵/۴×۰/۴۵ متر مربع) که تا ارتفاع ۰/۳ متر آبیگری شدند، با تراکم ۲۰ قطعه در هر استخر صورت گرفت. گروه اول بعنوان شاهد در نظر گرفته شد و با غذای تجاری بدون افزودن هر گونه نانوذره تغذیه شدند. سایر گروه‌ها بترتیب با غذای تجاری حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات مورد تغذیه قرار گرفتند. در بررسی حاضر، نانوذرات مورد استفاده توسط آزمایشگاه شیمی تجزیه پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه تهیه و در غلظت‌های مختلف بر حسب میکروگرم در هر گرم غذا مورد استفاده قرار گرفتند. طول دوره آزمایش ۶۰ روز بود و سپس ۱۵ روز دیگر مطالعه ادامه یافت و در این مدت، ماهیان فقط با غذای گروه شاهد بدون افزودن نانوذرات تغذیه شدند. در طول دوره مطالعه برای بررسی پارامترهای فیزیوکوشیمیایی دما، PH (potential of hydrogen)، میزان اکسیژن محلول توسط دماسنج و pH متر (HANNA instrument, USA) و اکسیژن متر دیجیتالی (HANNA instrument, USA) اندازه‌گیری و ثبت شد.

نحوه سنتز زیستی نانوذرات: در بررسی حاضر، امکان سنتز زیستی کلونید نانوذرات روی و اکسید آهن با استفاده از گیاهان دارویی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور در مرحله اول، نانوذرات روی با استفاده از عصاره آبی گیاهان ترنجبین و ریشه گیاه چوبک تهیه شدند. در مرحله دوم، نانوذرات اکسید آهن با استفاده از عصاره آبی درخت بلوط (گزانبین) تهیه شدند. نانوذرات اکسید آهن مورد استفاده در این پژوهش در ابعاد ۳۵ نانومتر و نانوذرات روی در ابعاد ۵۰ نانومتر توسط آزمایشگاه شیمی تجزیه دانشگاه ارومیه تهیه شد (۱۳).

تهیه غذا و نحوه غذادهی ماهیان: جهت افزودن نانوذرات به غذای تجاری، ابتدا مقدار غذای روزانه هر گروه محاسبه و سپس مقدار مورد نیاز از نانوذره توسط ترازوی دیجیتالی وزن و در آب دیونیزه سوسپانسیون شده و برای

انسان مانند آهن و روی محسوب می‌گردند (۲۶). بافت-شناسی در حال حاضر بعنوان یکی از رشته‌های علمی، به مطالعه ساختمان‌های کوچک جانوران و گیاهان با استفاده از روش‌های ریزبینی می‌پردازد. اگر قرار باشد منابع و ذخایر آبریان حفظ و یا افزایش داده شود و در عین حال هدف توسعه روش‌های ماهی‌گیری فعلی باشد، لازم است اطلاعات و یافته‌های بیشتر و کامل‌تری از فیزیولوژی ماهی تهیه شود. تحقیقات بافت‌شناسی در اغلب موارد بطور مستقیم و یا غیرمستقیم سهم قابل ملاحظه‌ای در جهت کسب این نتایج، بوجود می‌آورد. به همین دلیل آسیب‌شناسی بافت اهمیت فراوانی در تشخیص، سبب‌شناسی و پیشگیری از بیماری‌ها دارد (۳۳). در این پژوهش برای ایجاد ماهی با کیفیت لاشه بالا که احتمالاً بتواند بعنوان منبع غذایی غنی از آهن و روی مورد استفاده قرارگیرد، نانوذرات اکسید آهن و روی در غلظت‌های مختلف جهت تعیین غلظت مفید این عناصر برای ماهی به جیره غذایی اضافه و اثرات بافتی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

تهیه و ذخیره‌سازی ماهی: برای این منظور تعداد ۴۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی $4/7 \pm$ گرم از یکی از مزارع پرورش ماهی میاندواب تهیه شد. سپس ماهیان به کمک تانکر مجهز به کپسول اکسیژن به سالن تکثیر و پرورش آبریان پژوهشکده آرتمیا و آبریان، دانشگاه ارومیه منتقل شدند. بلافاصله پس از انتقال، ماهیان با آب نمک (۳ گرم در لیتر) ضدعفونی شده و به مدت ۱۰ روز جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی و هر گونه آلودگی انگلی خارجی در حوضچه‌های ۱۰۰۰ لیتری مستطیل شکل، سفید پلی ونیل کلراید (Poly Vinyl Chloride) نگهداری شدند. در ضمن برای تغذیه ماهیان در دوره سازش فقط از غذای تجاری آماده (فردانه، ایران) استفاده شد. پس از اتمام دوره سازش ماهیان بصورت تصادفی به هفت گروه تقسیم شدند و هر گروه دارای سه

دقیق وضعیت سلامت ماهی و تجمع مواد آلاینده را بیش از حد نرمال در محیط زیست دریایی مشخص نماید (۴۱). از آنجا که کبد اندامی است که متابولیسم اولیه مواد غیرزیستی را انجام می‌دهد و با تغییر در ساختار ریخت-شناسی این مواد در برخی موارد سم‌زدایی می‌نماید (۳۵). تأثیر آلاینده‌گی فلزات بصورت افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و آسیب‌های بافتی کبد بروز می‌کند (۳۱). به همین دلیل بررسی آسیب‌های بافتی کبد، شیوه‌ای دقیق و مطمئن جهت ارزیابی تأثیر فلزات در محیط و شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. مقایسه بافت آبشش و کبد ماهی کپور می‌تواند بعنوان یک بیومارکر مناسب جهت سنجش آلودگی در استخرهای پرورش ماهی و یا محیط‌های طبیعی مانند رودخانه‌ها به کار رود که با هزینه کمی می‌توان آلودگی محیط و همچنین میزان تأثیر آلودگی را بر روی ماهیان مشخص نمود (۵).

بافت عضله ماهیان بدلیل نقش مهم در تغذیه انسان و لزوم اطمینان از سلامت آن مورد بررسی می‌باشند (۴۲).

در پژوهش حاضر تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید-آهن و روی بر ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی کبد و عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مطالعه شد و نتایج بدست آمده شامل موارد زیر می‌باشد. جهت سهولت در نامگذاری شکل‌ها از حروف لاتین جهت نامگذاری تیمارهای مختلف استفاده شد (جدول ۱).

در بافت کبد نمونه‌های شاهد روز اول، در فضای پورت و بینابینی، دستجات سلولی کوچک و پراکنده و فضای بین سلولی وسیع و سینوزوئیدها بزرگتر بودند (شکل ۱، C1).

در بررسی‌های بافتی کبد نمونه‌های شاهد روز ۳۰ در در فضای پورت و بینابینی دستجات سلولی بزرگتر شده و سازمان یافته‌تر بودند (شکل ۱، C30). در این بازه ی زمانی از پژوهش در هپاتوسیت‌های اطراف فضای پورت و ناحیه بینابینی در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰ میکروگرم

اطمینان از اتصال نانوذره به غذا میزان ۰/۵ درصد ژلاتین به تمام قسمت‌های غذا اضافه شده و بمدت ۲ ساعت در داخل انکوباتور خشک گردید. در طول مطالعه جهت تغذیه ماهیان از غذاهای تجاری (FFT_2 , GFT_1 و GFT_2)، فرادانه، ایران) استفاده گردید. گروه اول بعنوان شاهد انتخاب و در طول مطالعه با غذای تجاری و بدون افزودن هیچ نانوذره‌ای تغذیه شدند و برای یکسان کردن شرایط همه تیمارها به غذای آنها ژلاتین اضافه گردید. ماهیان گروه ۲ تا ۴ بترتیب مقادیر ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در یک گرم غذا نانوذره اکسید آهن و ماهیان گروه ۵ تا ۷ بترتیب مقادیر ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در یک گرم غذا نانوذره روی را بمدت ۶۰ روز از طریق جیره‌ی غذایی دریافت کردند. میزان غذادهی براساس جداول غذادهی، بر حسب وزن بدن ماهیان و درجه حرارت آب پرورشی انجام گرفت. میزان کل غذای روزانه هر تیمار تعیین و سپس به سه قسمت تقسیم شد، بدین ترتیب که غذادهی در سه نوبت صبح، ظهر و شب (بین ۸ صبح تا ۸ شب) انجام شد.

نمونه‌برداری بافتی: در مطالعه حاضر بمنظور ارزیابی اثرات بافتی منابع مختلف آهن و روی نمونه‌برداری در روزهای ابتدایی، ۳۰، ۶۰ و ۷۵ انجام شد. برای این منظور در هر دوره پس از بیهوشی، ماهیان از سطح شکمی تشریح شدند و بافت‌های کبد و عضله برداشته شد و بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرارگرفتند. بعد از کامل شدن تثبیت، بافت‌ها از محلول فرمالین خارج و مقاطع بافتی تهیه و پس از رنگ‌آمیزی با هوماتوکسیلین و ائوزین با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج

تغییرات بافت‌شناسی در اثر محرک‌های داخلی و خارجی ایجاد می‌شود که در هر صورت در نتیجه آشفتگی در سطح مولکولی سازماندهی زیستی رخ می‌دهد. بنابراین بررسی بافت‌شناسی یک شاخص جامع بوده که می‌تواند بصورت

نانوذره اکسید آهن، لیپیدوز کبدی مشاهده شد (شکل ۱)، در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۵۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن، در فضای پورت اتساع عروقی و در هیپاتوسیت‌ها لیپیدوز کبدی، دیده شد (شکل ۱، Fe50). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن، علاوه بر لیپیدوز کبدی و اتساع عروقی در فضای پورت، پرخونی در کبد مشاهده شد (شکل ۱، Fe100). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰ و ۵۰ میکروگرم نانوذره روی، ساختار کبد طبیعی بود (شکل ۱، Zn50, Zn10). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم نانوذره روی، افزایش حجم سلول‌های کبدی و سلول‌های بیگانه خوار کوپفر، همچنین بهم‌ریختگی دستجات هیپاتوسیت‌ها و پرخونی در کبد دیده شد (شکل ۱، Zn100).

جدول ۱- نامگذاری مربوط به شکل‌های بافت کبد (L) و عضله (M)

غلظت ۱۰۰ میکروگرم روی	غلظت ۵۰ میکروگرم روی	غلظت ۱۰ میکروگرم روی	غلظت ۱۰۰ میکروگرم اکسید آهن	غلظت ۵۰ میکروگرم اکسید آهن	غلظت ۱۰ میکروگرم اکسید آهن	گروه شاهد (کنترل)	گروه‌های آزمایش روز
Zn100	Zn50	Zn10	Fe100	Fe50	Fe10	C1	روز اول
Zn100	Zn50	Zn10	Fe100	Fe50	Fe10	C30	روز ۳۰
Zn100	Zn50	Zn10	Fe100	Fe50	Fe10	C60	روز ۶۰
Zn100	Zn50	Zn10	Fe100	Fe50	Fe10	C75	روز ۷۵

گروه شاهد (کنترل): در طول دوره پژوهش توسط غذای تجاری تغذیه شدند و نانوذره‌ای را دریافت نکردند.

تیمار Fe10: گروهی که مقدار ۱۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن را دریافت کردند.

تیمار Fe50: گروهی که مقدار ۵۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن را دریافت کردند.

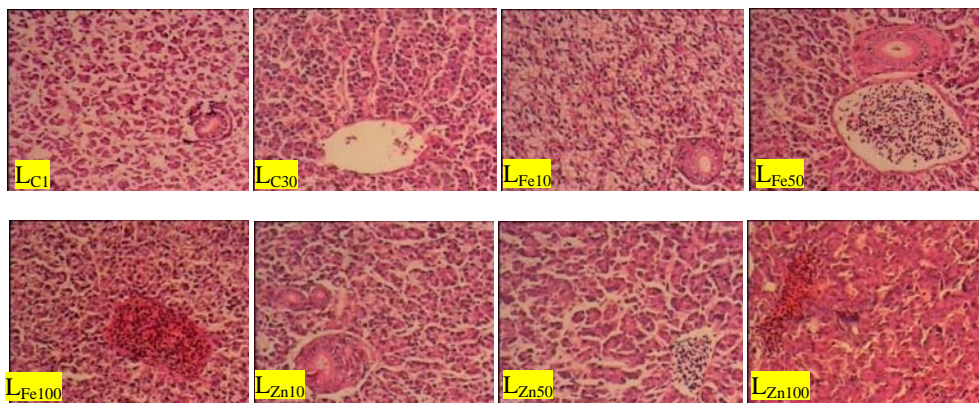
تیمار Fe100: گروهی که مقدار ۱۰۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن را دریافت کردند.

تیمار Zn10: گروهی که مقدار ۱۰ میکروگرم نانوذره روی را دریافت کردند.

تیمار Zn50: گروهی که مقدار ۵۰ میکروگرم نانوذره روی را دریافت کردند.

تیمار Zn100: گروهی که مقدار ۱۰۰ میکروگرم نانوذره روی را دریافت کردند.

نتایج مربوط به یافته‌های مطالعه بافت کبد در روز اول و ۳۰



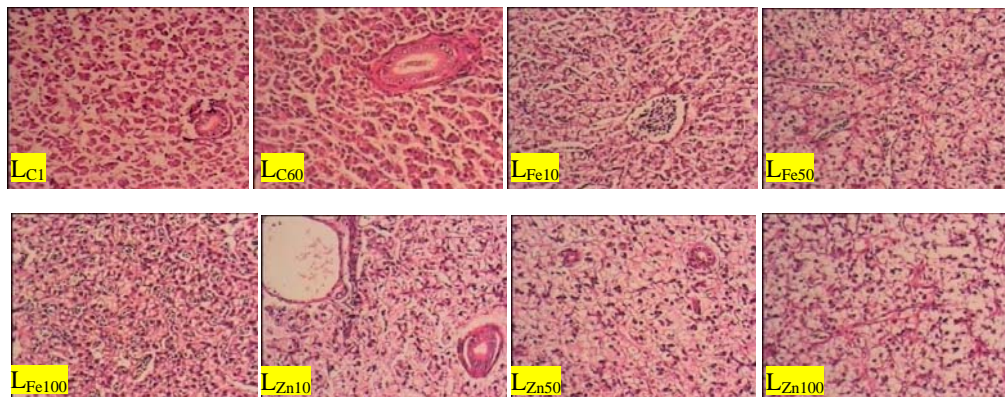
شکل ۱- مقاطع عرضی تهیه شده از بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز اول و ۳۰ تیمار با نانوذرات اکسید آهن و روی، بزرگنمایی $\times 100$.

رنگ‌آمیزی H&E، تعداد نمونه $n=8$

بهم ریختگی دستجات سلول‌های کبد) مشهودتر از آسیب‌های ایجاد شده توسط غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن بود (شکل ۲، Fe100). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰ میکروگرم نانوذره روی، آسیب‌های بافتی مشاهده شده در کبد عبارت بود از: واکنش‌دار شدن هپاتوسیت‌ها، اتساع ورید مرکزی و بهم‌ریختگی دستجات سلول‌های کبدی (شکل ۲، Zn10). با افزایش غلظت نانوذره روی به ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در هر گرم غذای ماهیان، آسیب‌های بافتی مشاهده شده در غلظت کم این نانوذره (۱۰ میکروگرم در هر گرم غذای ماهیان) با شدت بیشتری بروز پیدا کردند (شکل ۲، Zn100, Zn50).

نتایج حاصل از مطالعه بافت کبد در روز ۶۰ بر روی تیمارهای شاهد نشان داد دستجات سلولی در فضای پورت و بینابینی نسبت به کبد نمونه‌های شاهد در روز اول و ۳۰ بزرگتر و سازمان یافته‌تر بودند (شکل ۲، C60) در بافت کبد ماهیان روز ۶۰، در هپاتوسیت‌ها، لیپیدوز و تا حدودی بهم ریختگی دستجات سلول‌های کبدی در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن مشهود بود (شکل ۲، Fe10). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۵۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن، شدت لیپیدوز و بهم ریختگی دستجات سلول‌های کبدی افزایش یافته بود (شکل ۲، Fe50). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن، آسیب‌های کبد (لیپیدوز و

نتایج مربوط به یافته‌های مطالعه بافت کبد در روز اول و ۶۰



شکل ۲- مقاطع عرضی تهیه شده از بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز اول و ۶۰ تیمار با نانوذرات اکسید آهن و روی، بزرگنمایی ۱۰۰×، رنگ‌آمیزی H&E، تعداد نمونه n=8

در کبد نمونه‌های شاهد در روز ۷۵ ساختار کبد نرمال بود (شکل ۳، C75). ۱۵ روز پس از قطع تغذیه ماهیان (روز ۷۵) توسط این نانوذرات، ترمیم بافت کبد در تمام گروه‌های تحت تیمار با نانوذرات اکسید آهن به طور قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد (شکل ۳، Fe100, Fe50, Fe10). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های کم و متوسط نانوذرات روی نیز ۱۵ روز پس از قطع تغذیه ماهیان (روز ۷۵) توسط این نانوذرات ترمیم بافت کبد مشهود بود (شکل ۳، Zn50, Zn10).

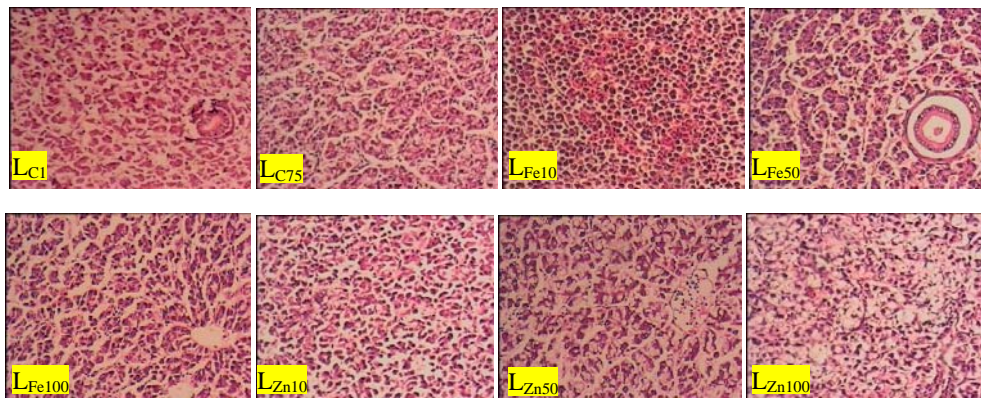
اما در نمونه‌های تیمار شده با غلظت بالای نانوذره روی حتی ۱۵ روز پس از قطع تغذیه ماهیان (روز ۷۵) توسط این نانوذره هیچگونه ترمیم و بهبودی در بافت کبد مشاهده نشد (شکل ۳، Zn100).

در بافت عضله نمونه‌های شاهد در تمام طول دوره سلول‌های عضلانی کوچک و تحلیل عضلانی دیده شد (شکل ۴، شکل ۵، شکل ۶، C75, C60, C30, C1). در نمونه‌های روز ۳۰ تیمار شده با غلظت ۱۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن،

مشاهده شد (شکل ۴، Zn10). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۵۰ میکروگرم نانوذره روی این ترمیم و رشد روند رو به رشدی را نشان میداد و در نهایت در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم نانوذره روی ترمیم و رشد سلول‌های عضلانی بسیار چشمگیر بود (شکل ۴، Zn100, Zn50).

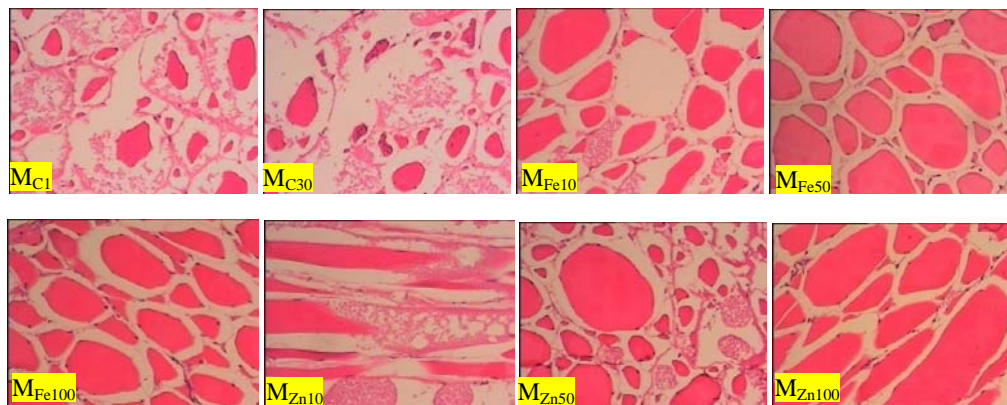
سلول‌های عضلانی نسبت به گروه شاهد رشد اندکی داشته و تحلیل عضلانی کمتر بود (شکل ۴، Fe10). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن ترمیم و رشد بافت عضله روند صعودی داشت (شکل ۴، Fe100, Fe50). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰ میکروگرم نانوذره روی نیز ترمیم و رشد

نتایج مربوط به یافته‌های مطالعه بافت کبد در روز اول و ۷۵



شکل ۳- مقاطع عرضی تهیه شده از بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز اول و ۷۵ (۱۵ روز پس از قطع تیمار با نانوذرات اکسید آهن و روی)، بزرگنمایی ۱۰۰×، رنگ‌آمیزی H&E، تعداد نمونه n=8

نتایج مربوط به یافته‌های مطالعه بافت عضله در روز اول و ۳۰



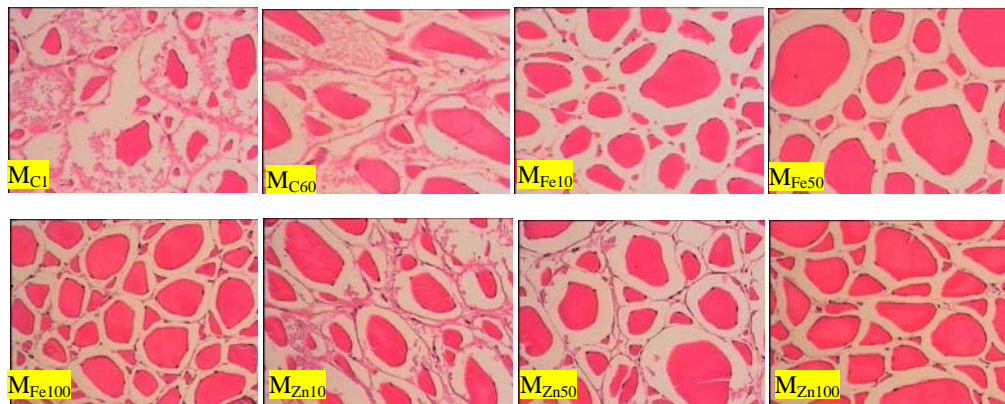
شکل ۴- مقاطع عرضی تهیه شده از بافت عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز اول و ۳۰ تیمار با نانوذرات اکسید آهن و روی، بزرگنمایی ۱۰۰×، رنگ‌آمیزی H&E، تعداد نمونه n=8

قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد که این ترمیم و رشد در غلظت بالا بیشتر بود (شکل ۵، Zn100, Zn50, Zn10).

۱۵ روز پس از قطع تغذیه ماهیان (روز ۷۵) توسط نانو-ذرات، بافت عضله که به مرور زمان و افزایش غلظت هر کدام از نانوذرات رشد چشمگیری را از خود نشان داده بود و تحلیل عضلانی جای خود را به سلول‌های یکدست و منسجم داده بود، ساختار طبیعی خود را از دست داده و تحلیل عضلانی در همه گروه‌های آزمایش مشاهده شد (شکل ۶، Zn100, Zn50, Zn10, Fe100, Fe50, Fe10).

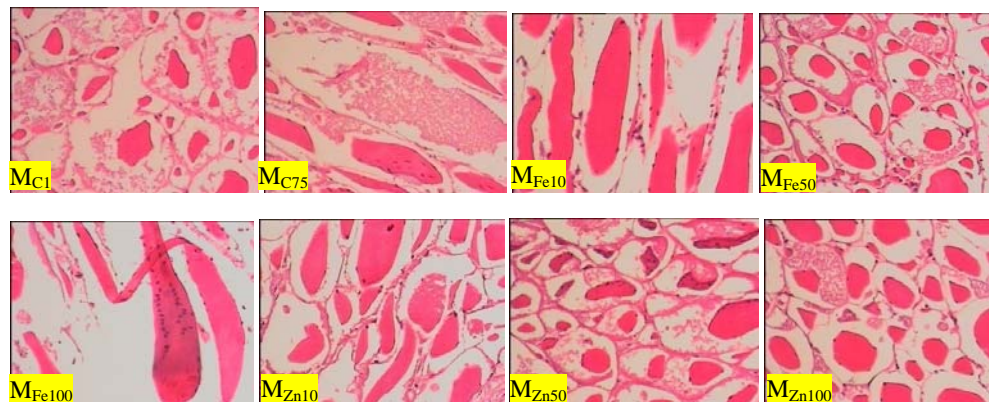
پس از ۶۰ روز، در نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید آهن، ترمیم و رشد سلول‌های عضلانی بدون کوچکترین اثری از تحلیل عضلانی مشاهده شد (شکل ۵، Fe100, Fe50, Fe10). در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۱۰ میکروگرم نانوذره روی در عین حال که رشد مناسبی در سلول‌های عضلانی به چشم می‌خورد مقداری تحلیل عضلانی نیز مشهود بود اما در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم نانوذره روی ترمیم و رشد

نتایج مربوط به یافته‌های مطالعه بافت عضله در روز اول و ۶۰



شکل ۵- مقاطع عرضی تهیه شده از بافت عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز اول و ۶۰ تیمار با نانوذرات اکسید آهن و روی، بزرگنمایی $\times 100$ ، رنگ آمیزی H&E، تعداد نمونه $n=8$

نتایج مربوط به یافته‌های مطالعه بافت عضله در روز اول و ۷۵



شکل ۶- مقاطع عرضی تهیه شده از بافت عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز اول و ۷۵ (۱۵ روز پس از قطع تیمار با نانوذرات اکسید آهن و روی)، بزرگنمایی $\times 100$ ، رنگ آمیزی H&E، تعداد نمونه $n=8$

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه میکروسکوپی بافت کبد و مقایسه گروه‌های تیمار شده با نانوذرات با گروه‌های شاهد نشان داد که با مصرف نانوذرات آسیب‌های بافتی در کبد ایجاد و با افزایش غلظت نانوذرات شدت این آسیب‌ها بیشتر می‌شود اما سلول‌های بافت کبد در تمام غلظت‌های نانوذره اکسید آهن و غلظت کم و متوسط نانوذره روی با برداشتن عامل القایی می‌توانند دوباره فعالیت فیزیولوژیک خود را از سر بگیرند و ساختار بافت کبد ترمیم پیدا می‌کند و آسیب‌های بافتی ایجاد شده برگشت پذیر بودند در حالی که بعد از قطع نانوذره روی در بالاترین غلظت خود این ترمیم در بافت کبد دیده نشد و آسیب بافتی ایجاد شده برگشت پذیر نبود.

مطالعه میکروسکوپی بافت عضله و مقایسه گروه‌های تیمار شده با نانوذرات با گروه‌های شاهد نشان داد که استفاده از نانوذرات در غذای ماهی جهت ترمیم عضلات مفید بوده و احتمالاً ماهیان روز اول و همچنین ماهیان گروه شاهد که هیچ نانوذره‌ای را دریافت نمی‌کردند به دلیل تحلیلی که در سلول‌های عضلانی مشاهده شد دچار کمبود عناصر آهن و روی بودند که مصرف نانوذرات باعث ترمیم و رشد سلول‌های عضلانی شد. همچنین این مطالعه نشان داد که نانوذره اکسید آهن نسبت به نانوذره روی تغییرات سریعتری در بافت ایجاد می‌کند. این پژوهش نشان داد که تأثیر نانو-ذره آهن در بافت فقط وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت تأثیرات بیشتر و سریعتری در بافت دارد و تأثیر نانوذره روی در بافت هم وابسته به غلظت و هم وابسته به زمان است به گونه‌ای که با افزایش غلظت و گذشت زمان تأثیرگذاری بیشتری از این نانوذره مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

در گزارشی توسط شوپایر و همکاران مشخص شد که مهمترین علت عدم تأثیرات سمی نانوذرات اکسید آهن بر جانوران، حذف سریع آنها از جریان خون توسط ماکروفاژ-

های موجود در کبد، طحال و گره‌های لنفاوی است که البته این حذف سریع پس از پدیده اپسونیزاسیون (تجمع پروتئین‌های خون در اطراف نانوذرات) رخ می‌دهد که باعث تحریک سیستم ایمنی و دفع نانوذرات می‌شود. بنابراین بسیاری از نانوذرات تزریق شده به سرعت از جریان خون خارج و فقط مقدار کمی از آنها فرصت نفوذ و ورود به اندام‌های مختلف بدن را پیدا می‌کنند و در نتیجه اثرات جانبی چندانی ایجاد نمی‌کنند (۳۸). در تحقیق حاضر تیمار ماهیان با نانو-ذرات اکسید آهن و روی در فواصل زمانی مختلف مورد تحقیق و پژوهش قرار گرفت تا در اثر تماس طولانی مدت ماهیان با این نانوذرات همچنین تأثیر این نانوذرات قابل بررسی و در صورت مشاهده اثرات سوء یا مفید بافتی نقطه‌ی عطفی برای انجام پژوهش‌های بعدی در زمینه‌ی این عناصر در سطح نانوذره باشد. اطلاعات نسبتاً کمی در مورد جذب و متابولیسم آهن در ماهی و سایر موجودات آبی وجود دارد بنظر می‌رسد که مکانیسم جذب آهن از لوله گوارش و ذخیره و ترشح آن در ماهیان مشابه سایر مهره‌داران باشد. اگر چه قسمت اعظم جذب آهن در موکوس روده صورت می‌پذیرد، بخشی نیز از طریق غشای آبشش‌ها جذب می‌شود، اما غذا منبع اصلی تأمین آهن برای متابولیسم است. در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان آهن از حفره صفاقی جذب شده و در غلظت‌های بالاتر در کبد، طحال و قسمت قدامی کلیه ذخیره می‌شود (۸). در تحقیق حاضر نیز جهت بررسی تأثیر نانوذرات اکسید آهن و روی این نانوذرات در غلظت‌های مختلف به غذای ماهیان افزوده شدند. بررسی‌های بیشتر نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید آهن در غلظت‌های بالا (۱۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم) باعث افزایش معنی‌داری در غلظت آنزیم ALT (Alanine Amino transferase) می‌شوند. این آنزیم برای کبد اختصاصی بوده و آسیب سلول‌های کبدی باعث افزایش آزاد شدن این آنزیم می‌گردد. از این رو ممکن است دلیل افزایش این آنزیم تأثیر تخریبی نانوذرات اکسید آهن روی سلول‌های کبدی باشد (۱۰). نانوذرات اکسید آهن در غلظت

اثرات سمیت بیشتری در حیوان ایجاد می‌شود. بررسی‌های آسیب‌شناسی نشان داد که طحال و کبد اندام‌های هدف برای نانوذرات نقره هستند. آسیب بافتی و ضایعات بزرگ در کبد و طحال موش‌هایی که در معرض غلظت بالاتر قرار گرفته بودند دیده شد. طحال کاهش وزن قابل توجهی ناشی از کاهش حجم خون و افزایش پالپ‌های سفید داشت و در کبد تحلیل سلولی، خونریزی و چربی در اطراف مراکز وریدی بافت کبد دیده شد. آسیب‌های ایجاد شده به اندازه، غلظت و نحوه ورود نانوذره بستگی دارد (۳۴). در بررسی‌های دقیق‌تر ثابت شد که سلول‌های کوپفر کبد نقش اصلی و مرکزی را در خارج کردن نانوذرات مختلف از جریان خون بر عهده دارند (۳۶). مطالعات بیشتر نشان داد در اثر تزریق سولفات روی در موش صحرائی اختلالاتی در ترشح آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین ترانسفراز دیده می‌شود، که این حاکی از آسیب سلول‌های کبدی است (۴۰). نتایج حاصل از مطالعه و بررسی بافت کبد در این تحقیق نیز تغییرات قابل ملاحظه‌ای در بافت کبد نشان داد. این تغییرات به شکل لیپیدوز، تورم، التهاب، برهم ریختن نظم لوپول کبدی و پرخونی در کبد بود که آسیب وارده به کبد با دوز مصرفی نانوذرات ارتباط مستقیم داشت. به عبارت دیگر آسیب‌های بافتی و ضایعات بزرگ در کبد ماهیانی که در معرض غلظت بالاتر قرار گرفته بودند دیده شد. نکته‌ی قابل توجه این‌که در راستای نتایج حاصل از کار سایر پژوهشگران در این پژوهش نیز با حذف نانوذرات اکسید آهن در تمام غلظت‌های مصرفی و نانوذرات روی در دو غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میکروگرم در هر گرم غذای ماهیان، ساختار بافت کبد ترمیم یافت. البته این تغییرات در طولانی مدت ممکن است برگشت‌پذیر نبوده و سلول‌ها و متعاقب آن بافت مورد نظر از بین برود. این در حالی بود که بعد از قطع نانوذره روی در بالاترین غلظت مصرفی (۱۰۰ میکرو-گرم در هر گرم غذا) ترمیم در کبد دیده نشد بنابراین در این پژوهش نیز مانند سایر کارهایی که در این زمینه انجام

های بالا (۱۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم) اثرات سمی بر فعالیت کبد و تیروئید دارند و فعالیت آنها را مهار می‌کنند و از آنجایی که سیستم هورمونی تیروئیدی نقش بسیار مهمی را در اعمال متابولیسمی بافت‌ها ایفا می‌کند و هرگونه اختلال در عملکرد این سیستم آندوکروینی خسارات جبران‌ناپذیری را به بافت‌ها وارد می‌کند به نظر می‌رسد تغییرات در میزان آنزیم‌های کبدی بدلیل اثرات نانوذرات اکسید آهن بر هورمون‌های تیروئیدی باشد (۱). براساس یافته‌های آگاه و همکاران (۲۰۰۹) در پنج گونه از ماهیان خلیج فارس مشخص شد که تجمع زیستی فلزات در کبد بیشتر از عضله می‌باشد (۲). عسکری ساری و ولایت زاده (۱۳۹۰) به بررسی غلظت سرب و روی در بافت‌های کبد و عضله دو گونه ماهی پرورشی کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین-کمان پرداختند. در این تحقیق مشاهده گردید که میزان روی در کبد بیشتر از عضله است (۴). روی بطور عمده در استخوان و پوست تجمع می‌یابد، گرچه کبد، آبشش و کلیه نیز میزان قابل توجهی از این عنصر را جمع می‌کنند (۲۰). مطالعات میکروسکوپی کلیه و طحال در موش صحرائی (در اثر تزریق سولفات روی) نشان داد که آسیب‌های بافتی در کبد بیشتر است اما تغییرات بافتی و سلولی بیشتر از نوع برگشت‌پذیر بودند. از جمله این تغییرات می‌توان به: متراکم شدن هسته سلول‌ها، افزایش سلول‌های التهابی (که با برداشتن عامل آسیب بافتی سلول‌ها می‌توانند دوباره فعالیت فیزیولوژیک خود را از سر بگیرند) اشاره کرد (۴۰). نانوذرات طلا و نقره اثرات سوء بر سلول‌های کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در غلظت‌های کم دارند (۱۲). القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و استرس اکسیداتیو بوسیله نانوذرات نقره در کبد گورخر ماهی (*zebrafish*) بالغ باعث ایجاد سمیت در کبد ماهی بالغ می‌شوند (۹). نانوذره اکسید روی نیز می‌تواند با ایجاد استرس اکسیداتیو به سلول‌ها آسیب برساند (۴۳). رضایی رنجبر سرداری (۱۳۸۹) سمیت نانوذره نقره را در رت‌ها مورد بررسی قرار داد. نتایج این پژوهشگر نشان داد که با افزایش غلظت،

شده تأثیر نانوذرات روی بر کبد بیشتر از عضله بود. مطالعات پیرامون نقش عناصر آهن و روی، نشان می‌دهند که تمرینات شدید موجب کاهش زیاد غلظت این عناصر در بدن می‌شود. کاهش غلظت این عناصر منجر به کاهش قدرت و استقامت عضلانی می‌شود (۳۰). گروهی از محققان نیز نقش این عناصر را در فعالیت‌های حرکتی بررسی و وجود این عناصر را در عضلات موجب افزایش قدرت و استقامت عضلانی (۲۲) و کمبود آن را موجب کاهش عملکرد حرکتی گزارش کرده‌اند (۱۶). نتیجه یک مطالعه نشان داد نوزادانی که با کمبود روی در خون بند ناف متولد می‌شوند در آینده کاهش رشد و تکامل عصبی، حرکتی و افزایش سایر عوارض را نشان می‌دهند (۱۵). در پژوهشی دیگر به اثبات رسیده که نیاز تغذیه‌ای و فیزیولوژیک به عناصر ضروری از جمله آهن، روی و مس در دوره بلوغ جنسی و بعد از آن که با جهش رشد همراه است بیش از دوره قبل از بلوغ است از این رو تأمین این عناصر در رژیم غذایی از طریق غنی سازی مواد اولیه در صنایع غذایی و یا تجویز داروهای مکمل ضروری به نظر می‌رسد (۳).

اُگینو و یانگ (۱۹۷۸) میزان نیاز روی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان را ۳۰-۱۵ میلی‌گرم در هر کیلو غذا بیان کردند. آنها اظهار داشتند که کمبود روی (۱ میلی‌گرم در هر کیلو غذا) باعث توقف رشد، کاهش هضم‌پذیری پروتئین و کربوهیدرات و به احتمال زیاد در نهایت سبب کاهش فعالیت آنزیم کربوکسی پپتیداز می‌شود (۲۹). ساتو و همکاران (۱۹۸۷) بیان کردند که افزودن ۴۰ میلی‌گرم روی در غذا به همراه پودر ماهی در جیره باعث بهبود عملکرد رشد ماهیان قزل‌آلا و کپور می‌شود (۳۷). نتایج حاصل از مطالعه و بررسی بافت عضله در این تحقیق نیز حاکی از تغییرات قابل ملاحظه در بافت عضله بود. با تغذیه ماهیان توسط نانوذرات ترمیم در بافت عضلانی اتفاق افتاد. ترمیم بافت عضله با افزایش دوز نانوذره ارتباط مستقیم داشت. در این پژوهش مشخص شد که تأثیر نانوذره آهن در ترمیم

عضله بیشتر و سریعتر از نانوذره روی است. در واقع نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از این است که تأثیر بافتی نانوذره اکسید آهن فقط وابسته به غلظت می‌باشد در صورتی که تأثیر بافتی نانوذره روی هم وابسته به غلظت و هم وابسته به زمان می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که ماهیان کپور و قزل‌آلا قادرند مقدار ۱۹۰۰-۱۷۰۰ میلی‌گرم روی در هر کیلو غذا را بدون نشان دادن علائم سمیت ظاهری تحمل کنند. میزان نیاز این دو ماهی به روی ۳۰-۱۵ میلی‌گرم گزارش شده است (۲۴). قابلیت دسترسی زیستی به عناصر ضروری متغیر است و بستگی به ترکیب جیره غذایی دارد (۱۷). ماهی مهمترین منبع آهن برای کودکان و بزرگسالان می‌باشد که کمبود این عنصر سبب کم خونی می‌گردد (۴۲).

براساس یافته‌های بدست آمده از این تحقیق نیز می‌توان نتیجه گرفت که جذب زیستی نانوذرات اکسید آهن و روی نیز تحت تأثیر مقادیر این عناصر در جیره قرار دارد. در مطالعه حاضر تغییرات بافتی در اثر استفاده از نانوذرات اکسید آهن و روی در بافت کبد بصورت تخریب بافت کبد و در عضله به صورت ترمیم و افزایش کارایی عضله ماهیان رخ داد و با قطع نانوذرات و گذشت ۱۵ روز به همین منوال تغییرات ایجاد شده برگشت‌پذیر بودند. تنها غلظتی که با قطع نانوذره تغییرات بافتی آن برگشت‌پذیر نبود تغییرات ایجاد شده در بافت کبد ماهیان تغذیه شده با غلظت بالای روی بود. در نهایت لازم به ذکر است که کاربرد نانوذرات مختلف، مطالعات دقیق و جامع‌تری را پیرامون تأثیرات این نانوذرات بر روی موجودات زنده می‌طلبد. استفاده از مدل‌های حیوانی و نحوه‌های مختلف تیمار و نانوذرات به دست آمده از قارچ‌ها و گیاهان با ترکیبات و قطره‌های مختلف، افق‌های نوینی را جهت بررسی کاربردهای فناوری نانو در زیست‌شناسی نمایان می‌کند.

تشکر و قدردانی

دانشگاه ارومیه بخاطر حمایت‌های مالی ابراز می‌دارند.

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از دانشکده علوم و پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبی

منابع

1. Afkhami Ardakani, M., Shirband, A., Golzadeh, J., Asadi Samani, M., Latifi, A., and Khylapur, M., Jafari, N., 2012. Effects of iron oxide nanoparticles on concentration liver enzymes, thyroid hormones and thyroid stimulating hormone in rat. *Journal of the Shahrekord University Medical Sciences*, Volume 14, Number 6, PP: 82-88.
2. Agah, H., Leermakers, M., Elskens, M., Fatemi, S.M.R., and Baeyens, W., 2009. Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five species from the Persian Gulf. *Journal of Environmental Monitoring and Assessment*, 157, PP: 499-514.
3. Alirezaee, M., Behnam-Rassouli, M., Mahdavi Shahri, N., and Chamsaz, M., 2013. Epidemiological study of trace elements (Iron, Zinc, Copper, Chromium and Cobalt) in nails of sexually premature and matured boys. *Journal of Iran Biology*, Volume 26, Number 1, PP: 136-142.
4. Askari Sary, A., and Velayatzadeh, M., 2011. Evaluation of lead and zinc concentrations in liver and muscle tissues of two fish species farmed common carp and rainbow trout bows. *Journal of Iran Veterinary*, Volume 7, Number 1, PP: 30-33.
5. Atabati, A., Keikhosravi, A., and Vatandost, J., 2009. Toxic Effects of various concentrations of zinc and copper on the liver and gills common carp (*Cyprinus carpio*). Twelfth National Conference on Environmental Health, Shahid Beheshti University, School of Public Health. Volume 23, Number 1, PP: 38-42.
6. Au, K.W., Liao, S.Y., Lee, Y.K., Lai, W.H., Ng, K.M., Chan, Y.C., and et al., 2009. Effects of iron oxide nanoparticles on cardiac differentiation of embryonic stem cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 379(4), PP: 898-903.
7. Branca, F., and Ferrari, M., 2003. Impact of Micronutrient Deficiencies on Growth. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 46(1), PP: 8-17.
8. Bury, N.R., and Grosell, M. 2003. Mechanistic study of waterborne iron acquisition by a freshwater teleost fish, zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Experimental Biology*, 260, PP: 3529-3535.
9. Choi, J.E., 2010. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. *Journal of Aquatic Toxicology*, 100, PP: 151-159.
10. Christ-Crain, M., Meier Cpuder, J., Staub, J., Huber, P., and Keller, U., 2004. Changes in liver function correlate with the improvement of lipid profile after restoration of euthyroidism in patients with subclinical hypothyroidism. *Excli Journal*, 3, 9p.
11. Emadi, h., Khoshkho, Z.h., and Behzadi, D., 2007. Sea foods and health. *Aquatic Academic Press*, PP: 1-85.
12. Farkas, J., 2010. Effects of silver and gold nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Journal of Aquatic Toxicology*, 96 (1), PP: 44-52.
13. Forough, M., and Farhadi, K., 2010. Biological green synthesis of silver nanoparticles. *Turkish journal Engineering Science*, 34, PP: 281-287.
14. Fowler, S.W., 1986. Trace metal monitoring of pelagic organisms from the open editerranean Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*, 7, PP: 59-78.
15. Gabrichidze, G., Kintrajia, P., and Eristvi, Z., 2001. Dynamic of zinc containing at physiological pregnancy. *Biomedical Research Education*, 1, PP: 248-250.
16. Golub, M.S., Takeuchi, P.T., keen, C.L., Hendricks, A.G., and Gershwin, M.E., 1996. Activity and attention in zinc-deprived adolescent monkeys. *American Journal of Clinical Nutrition*, 64, PP: 908-915.
17. Halver, J.E., and Hardly, R.W., 1989. The vitamins In: *Fish Nutrition*. Halver J.E., (ed.), Academic press, New York, USA, PP: 31-109.
18. Hardy, R.W., 2000. *Rainbow Trout, Oncorhynchus mykiss*, Webster, C.D and Lim, C.E., (eds.) *Nutrient requirements and feeding of Finfish for aquaculture*. CABI Press, Boca Raton, PP: 105-121.
19. Jahanshahi, M., and Myrnya, S., 2011. *Nanomaterials Toxicity, Health and environmental concerns*. Noshirvani Babol Industrial University Press, PP: 24-25.

20. Jalali Jafari, b., and Aghazadeh Meshgi, M., 2007. Fishes toxicity of heavy metals in water and its importance in public health. Publication man book, 134 p.
21. Jong, W.H., Roszek, B., and Geertsma, R.E., 2005. Nanotechnology in medical applications: possible risks for human health. RIVM report, 26, PP: 500-1002.
22. Krotkiewski, M., Gudmundsson, M., Backstrom, P., and Mandroukas, K., 1982. Zinc and muscle strength and endurance. *Acta Physiologica Scandinavica*, 116, PP: 309-311.
23. Kucukbay, Z., Yazlak, H., Sahin, N., and Tuzcu, M., 2006. Zinc picolinate supplementation decreases oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 257, PP: 465-469.
24. Lah, S.P., 2000. Nutrition and health of fish. In: Cruz -Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapiá-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. Y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutricion Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutricion Acuicola*, PP: 19-22.
25. Lamanoso, R., Cheung, Y., and Chan, K.M., 1999. Metal concentration in the tissues of rabbitfish collected from Tolo Harbour in Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin*, 39: 123-134.
26. Mahmoudi, M., 2003. Mineral nutrition in deat. *Sfahan Medical Sciences University Press*, PP: 21-35.
27. Mendil, D., Uluozlu, O.D., Hasdemir, E., Tuzen, M., Sari, H., and Suicmez, M., 2005. Determination of trace metal levels in seven fish species in lakes in Tukat, Turkey. *Food Chemistry*, 90: 175-179.
28. Mirkovic, B., Turnsek, T.L., and Kos, J., 2010. Nanotechnology in the treatment of cancer. *Zdr Vestn*, 79(2), PP: 146-55.
29. Ogino, C., and Yang, G.Y., 1978. Requirement of rainbow trout for dietary zinc. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 44, PP: 1015-1018.
30. Ovesen, J., Moller-Madsen, B., Thomsen, J.S., Danscher, G., and Mosekilde, L., 2001. The positive effects of zinc on skeletal strength in growing rats. *Bone*, 29, PP: 565-570.
31. Paris-Palacios, S., Biagianti-Risbourg, S., Vernet, G., 2000. Biochemical and (ultra) structural hepatic perturbation of Brachydanio rerio (Teleostei, Cyprinidae) exposed to two sublethal concentrations of copper sulphate. *Aquatic Toxicology*, 50, PP: 109-124.
32. Prijic, S., Scancar, J., Romih, R., Cemazar, M., Bregar, V.B., and Znidarsic, A., et al. 2010. Increased cellular uptake of biocompatible superparamagnetic iron oxide nanoparticles into malignant cells by an external magnetic field. *The Journal of Membrane Biology*, 236 (1), PP: 167-79.
33. Pusti, A., and Sadiq Marvasti, A., 1999. Tissues of Atlas fish. *Tehran University Press*, PP: 30-190.
34. Rezae Ranjbar Sardari, R., 2010. Toxic Effects of nano particle of silver to the liver and spleen tissues in rats. *Nanoscience and Nanotechnology Conference*, Yazd province Payam Noor University, Volume 26, Number 4, pp: 1-4.
35. Rocha, E., and Monteiro, R.A.F., 1999. Histology and cytology of fish liver: A review, 321-344. In: Saksena, D.N. (ed.) *Ichthyology: Recent research advances*. Science Publishers, Enfield, New Hampshire.
36. Sadauskas, E., Wallin, H., Stoltenberg, M., Vogel, U., Doering, P., Larsen, A., and Danscher, G., 2007. Kupffer cells are cenremoval of tral in the nanoparticles from the organism. *Particle and Fibre Toxicology*, Oct 19, 4, 10 p.
37. Satoh, S., Takeuchi, T., and Watanabe, T., 1987. Availability to Rainbow Trout of Zinc in White Fish Meal and of Various Zinc Compounds. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53, PP: 595-599.
38. Shubayer, V.I., Pisanic, T.R., and Jin, S., 2009. Magnetic nanoparticles for theragnostics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, PP: 467-77.
39. Singh, M., 2004. Role of micronutrients for physical growth and mental development. *The Indian Journal of Pddiatrics*, 71(1), PP: 59-62.
40. Sohrabi, D., and Gholami, M., 2009. Effects of chronic zinc (zinc chloride) on the tissues liver, kidney and spleen in rats (RAT). *Journal of Developmental Biology*, First Year, Number 2, PP: 9-15.
41. Van der Oost, R.J., Beber, N.P.E., and Vermeulen, P., (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, PP: 57-149.
42. Velayatzadeh, M., Askary Sary, A., Beheshti, M., Mahjob, S., and Hoseini, M., 2013. Measurement of Heavy metals (Hg, Cd, Sn, Zn, Ni, Fe) in canned tuna fish product in central cities, Iran. *Journal of Iran Biology*, Volume 26, Number 4, PP: 498-499.

43. Wong, S.W., Leung, P.T., Djuricic, A.B., Leung, K.M., 2010. Toxicities of nano zinc oxide to five marine organisms: in fluencies of aggregate size

and ion solubility. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396, PP: 609-618.

Evaluate effects of Iron oxide and zinc nanoparticles on the liver and muscles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Hajirahimi A.¹, Farokhi F.¹ and Tukmechi A.²

¹ Biology Dept., Faculty of Science, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

² Pathobiology and Quality Control Dept., Artemia and Aquatic Research Institute, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

Abstract

According to production of Zinc and Iron oxide nanoparticles and useful application of them in biological systems, less studies on side effects of these materials has been carried out in animals. The purpose of this study was to evaluate the effect of zinc and Iron oxide nanoparticles on the liver and muscles tissues in rainbow trout. For in purpose four hundred and twenty rainbow trout (with initial weight 45 ± 4.7 g) were prepared from a local fish farm and immediately transferred to the laboratory. Immediately disinfect and acclimatized fish to the laboratory conditions for 10 days, then randomly distributed into seven groups. Group one selected as control group that received normal diet and other groups received different amount of 10, 50 and 100 $\mu\text{g/g}$ of nanoparticles a commercial pellet diet for 60 days. To evaluate the tissue sampling was scheduled at the day of primary, 30, 60 and 75 (after 15 days cessation of feeding with nanoparticles). The results of the liver and muscle histological studies with Hematoxilen and Eosine staining showed that in groups which received Zinc and Iron oxide nanoparticles, serious damages in liver hepatocytes including: lipidose, inflammation and disruption of hepatic lobules. Thus it can be concluded that the application of Zinc and Iron oxide nanoparticles in conditions *invivo*, even in small amounts, had adverse effects on the liver tissue, however the growth parameters were improved in rainbow trout.

Key words: rainbow trout, Zinc nanoparticles, Iron oxide, liver, muscle.