مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

اثرات نانوذره اکسید روی و یون روی بر آسیب بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*)

برهان منصوری[۱،۲*]، سیّد علی جوهری[۳] ، لیلا دکانی[۳]، صبا اصغری[۳]

[۱] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج

[۲] مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج

[۳] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج

نوع مقاله:
کوتاه

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۴/۰۴/۰۹
اصلاح: ۹۴/۰۷/۱۰
پذیرش: ۹۴/۱۲/۲۵

کلمات کلیدی:
آسیب‌شناسی بافتی
سم شناسی
نانو ذره

چکیده

هدف این پژوهش، بررسی تاثیر نانوذرات اکسید روی و یون روی بر آسیب شناسی بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. در این مطالعه از دو غلظت غیرکشنده نانوذرات اکسید روی و یون روی (۰/۰۵ میکروگرم بر لیتر و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر) به همراه گروه شاهد استفاده گردید. پس از ۱۴روز رویارویی با نانوذرات اکسید روی و یون روی، بافت روده خرچنگ نمونه برداری شد. آسیب هایی نظیر افزایش سلول‌های جامی و انحطاط اپیتلیوم، ادم، افزایش سلول‌های پلاسما و لنفوسیت و نکروز در بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین مشاهده شد.

مقدمــه

نانوذره اکسید روی (ZnO)، نوعی اکسید فلزی بوده که در کاربردهای مختلفی نظیر کاتالیست‌ها، نیمه رساناها، رنگ ها، LCD ها، فیبرهای شیمیایی، نساجی و همچنین در محصولات بهداشتی همچون کرم ضد آفتاب مورد استفاده قرار می گیرد (Herzog *et al.*, 2002). استفاده های روزافزون از این نانوذره، مواجهه انسان و دیگر جانداران را نیز بیشتر خواهد کرد. اگرچه فلز روی در مقادیر کم به عنوان ماده غذایی برای فعال‌سازی برخی آنزیم‌ها و پروتئین‌ها در بدن جانداران مورد نیاز می باشد، ولی غلظت‌های بالای آن برای بسیاری از گونه‌های آبزیان سمی بوده و موجب کاهش رشد و کاهش جمعیت پلانکتون‌ها نیز می‌شود (Sunda *et al.*, 1987; Miller *et al.*, 2012). نانوذرات اکسید روی نیز به دلیل رهاسازی تدریجی یون روی از خود، می‌توانند موجب سمیت برای آبزیان شوند (Keller *et al.*, 2010). بر اساس برخی مطالعات، نانوذره اکسید روی و یون روی جزو مواد سمی برای برخی آبزیان می‌باشد (Bondarenko *et al.*, 2013).

با توجه به استفاده بیش از پیش از نانومواد حضور آن‌ها در محیط زیست اجتناب ناپذیر به نظر می‌رسد. بدیهی است که با ورود فاضلاب یا پساب حاصل از محصولات نانوفناوری شده به محیط‌زیست و زمین‌های کشاورزی، زیستگاه‌های آبزیان و خشکی‌زیان در

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: borhanmansouri@yahoo.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.14.2]

معرض نانوذرات تولید شده قرار خواهند گرفت. وقتی که بوم‌سازگان‌های آبی در معرض نانومواد قرار می‌گیرند، اولین مسئله مطرح این خواهد بود که نانومواد بر روی ماهی‌ها و سایر آبزیان و محیط‌زیست آن‌ها چه اثری خواهند گذاشت (Handy and Shaw, 2007; Kool *et al.*, 2011). مواجهه موجودات زنده با مواد سمی در محیط، تغییراتی در ساختار بافت‌ها و سلول‌ها به همراه خواهد داشت، به طوری‌که آسیب‌های بافتی در بعضی مواقع نهایتاً منجر به مرگ و میر موجودات می‌شود. تغییرات و آسیب‌های بافتی در بافت‌هایی نظیر آبشش، روده، کبد و کلیه در گونه‌های مختلفی از آبزیان گزارش شده است (Shukla *et al.*, 2011; Borenstein *et al.*, 2010; Fanta *et al.*, 2003).

استفاده از روش آسیب‌شناسی بافتی با کمک میکروسکوپ نوری یکی از راه های مفید در تشخیص میزان آسیب و صدمات ناشی از آلاینده‌های شیمیایی نظیر فلزات سنگین و نانومواد بر بافت‌های مختلف آبزیان می‌باشد. آسیب‌شناسی بافتی می‌تواند ارزیابی صحیحی از سلامت بافت هدف در موجود زنده فراهم کند و میزان اثرات مواجهه با آلاینده‌ها را منعکس نماید (Lee *et al.*, 2012). با وجود مطالعات گسترده‌ای که در رابطه با آسیب شناسی بافتی در مواجهه با فلزات و نانوذرات بر بافت های مختلفی نظیر کبد، کلیه و آبشش آبزیان صورت گرفته است، مطالعه بر روی بافت روده آبزیان کمتر مورد توجه قرار گرفته است و به ویژه در مورد اثر نانومواد بر بافت روده‌ی سخت‌پوستان گزارشی منتشر نشده است. این در حالی است که به ویژه در آبزیان ساکن بوم‌سازگان‌های آب شیرین به دلیل اختلاف فشار اسمزی با محیط پیرامون، آب تمایل دارد از طریق آبشش و سایر غشاهای بدن وارد بدن شود و بافت روده یکی از مسیرهای اصلی عبور طیف وسیعی از مواد سمی می‌باشد (Banerjee and Bhattachraya, 1995). از آنجا که تا به امروز مطالعه‌ای در مورد اثر نانو مواد بر بافت‌شناسی روده سخت‌پوستان مشاهده نشده است، هدف پژوهش حاضر بررسی اثرات نانوذرات اکسید روی و یون روی بر آسیب شناسی بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) در شرایط آزمایشگاهی می باشد.

مواد و روش‌ها

خرچنگ های دراز آب شیرین بلافاصله بعد از صید توسط صیادان محلی در منطقه مجاور رودخانه ارس جمع‌آوری شده و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند. به منظور سازگاری با شرایط آزمایشگاه، خرچنگ‌ها به مدت ١٠ روز پیش از شروع آزمایشات در مخازن فایبرگلاس ٥٠٠ لیتری همراه با هوادهی نگهداری گردیدند. در طول این مدت میانگین دمای آب ثابت نگه داشته شد و خرچنگ‌های دراز روزانه ٢ بار و هر بار به میزان ١ درصد وزن بدن (میانگین وزن بدن حدود ١٥ گرم بود) با غذای مخصوص ماهی کپور تغذیه گردیدند. آب مورد استفاده برای نگهداری خرچنگ ها در طی دوره سازگاری و همچنین انجام آزمایشات سم‌شناسی، آب شرب شهر سنندج بود که برای کلرزدایی از آن به مدت حداقل ٢٤ ساعت هوادهی می‌گردید.

پودر نانو ذرات اکسید روی تولیدی شرکت US Research Nanomaterials با میانگین قطر حدود ٢٥ نانومتر از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان خریداری گردید (شکل ١). برای تهیه سوسپانسیون با غلظت ١٠٠٠ میلی‌گرم در لیتر از این پودر، ١ 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 به دست آمده توسط آب مقطر به ١٠٠٠ میلی‌لیتر رسانده شد و سوسپانسیون حاصله به مدت ٣٠ دقیقه در حمام سونیکاتور قرار گرفت. منبع روی یونی در این پژوهش نیز نمک سولفات روی هفت آبه ($ZnSO_4.7H_2O$) ساخت کارخانه Merck آلمان بود که از آن محلول ذخیره‌ای با غلظت ١٠٠٠ میلی‌گرم در لیتر تهیه گردیده بود. در این پژوهش از دو غلظت نانو ذرات اکسید روی و دو غلظت یون روی شامل ٠/٠٥ میکروگرم در لیتر و ٠/٥ میلی‌گرم در لیتر به همراه یک گروه شاهد (فاقد هرگونه ماده شیمیایی افزوده) استفاده شد. غلظت بالای این مواد (٠/٥ میلی‌گرم در لیتر) بر اساس یک سری آزمایشات اولیه برای تعیین محدوده کشندگی آن‌ها مشخص گردید. از طرفی غلظت پایین (٠/٠٥ میکروگرم در لیتر) به عنوان مقدار متناظر با غلظت نانوذرات اکسید روی در محیط‌زیست انتخاب گردید (Wu *et al.*, 2013). در هر تیمار از ١٠ عدد خرچنگ دراز آب شیرین

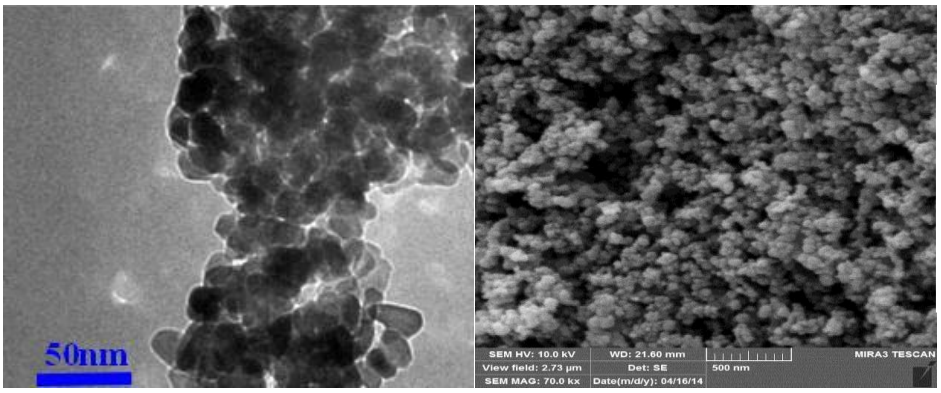
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.14.2]

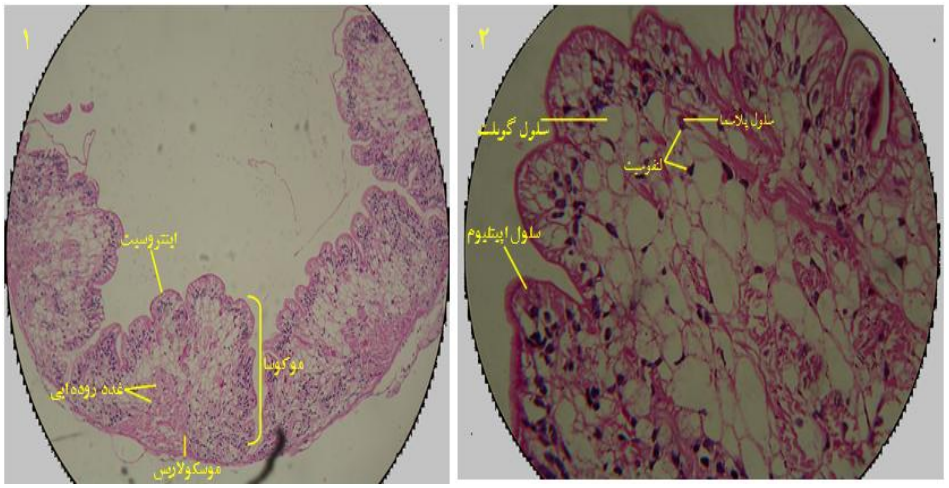
استفاده گردید که به مدت ۱۴ روز در معرض نانوذره اکسید روی و یا یون روی قرار گرفتند. در پایان روز چهاردهم، از هر تیمار ۳ عدد خرچنگ به صورت کاملاً تصادفی صید و از طریق قرارگیری در میان قطعات یخ خرد شده بی‌هوش گردیدند. سپس تلسون خرچنگ‌ها به میزان ۹۰ درجه حول محور عمودی بدن چرخانده شده و با بیرون کشیدن آن از بدن، اندام روده به صورت کامل و بدون کمترین آسیب فیزیکی از بدن خارج گردید. به منظور انجام مطالعات بافت شناسی کلاسیک، ابتدا روده‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن فیکس و سپس در الکل ۷۰ درصد نگهداری گردیدند. پس از طی مراحل آبگیری، شفاف سازی و پارافینه کردن بافت‌ها در دستگاه خودکار (Duplex processer, 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. رنگ آمیزی لام‌های حاصله به روش رایج هماتوکسیلین - ائوزین صورت گرفت و از هر نمونه ۳ لام سریالی با کیفیت مناسب تهیه و لام‌ها توسط میکروسکوپ نوری Nikon (eclipse- E200) در بزرگنمایی ۴۰ بررسی گردیدند.

نتایـج

قسمت‌های مختلف بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین گروه شاهد در شکل ۲ نشان داده شده است. همچنین بافت روده خرچنگ‌ها پس از مواجهه با نانوذرات اکسید روی و یون روی به ترتیب در شکل های ۳ و ۴ ارائه شده است. در این پژوهش آسیب‌هایی نظیر افزایش سلول‌های جامی (Goblet Cells) و انحطاط اپیتلیوم، ادم، افزایش سلول‌های پلاسما و لنفوسیت و حالت نکروز در بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین مشاهده گردید.



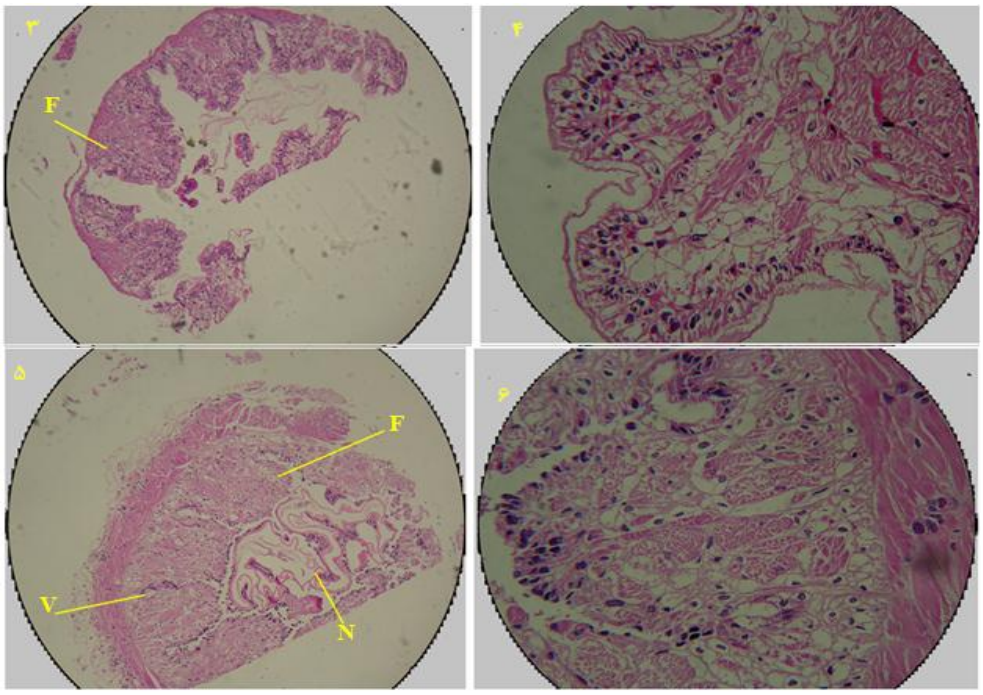
شکل ۱. عکس SEM (سمت راست) و TEM (سمت چپ) نانوذرات اکسید روی.



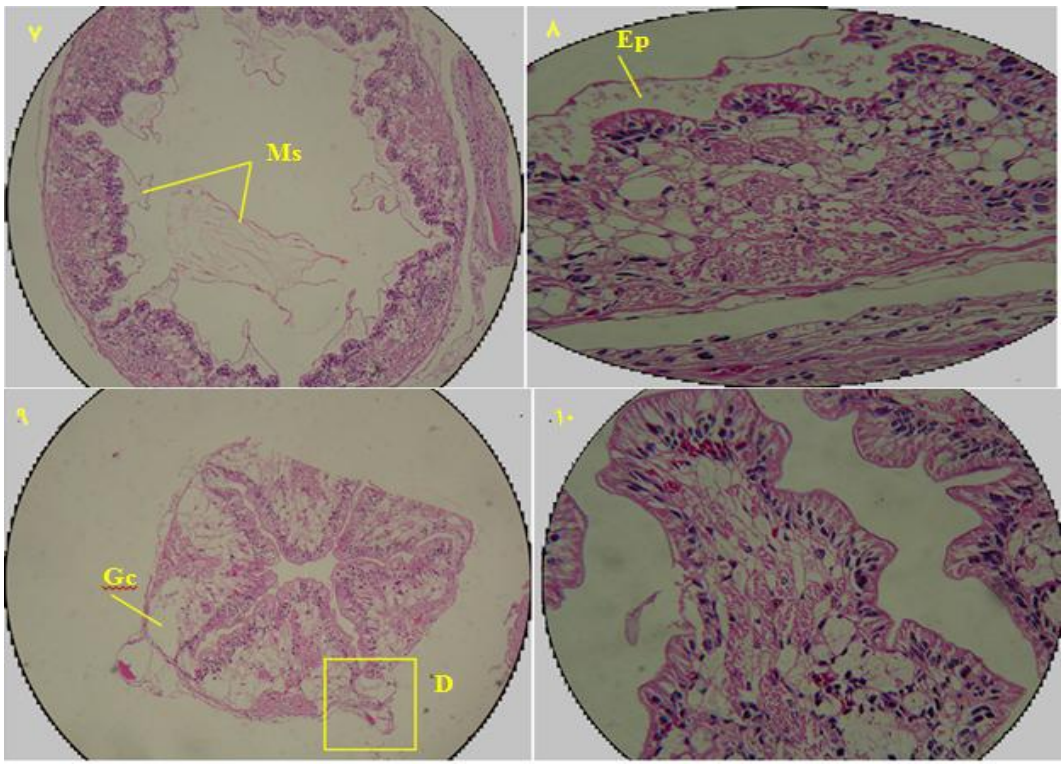
شکل ۲. نمایی از بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین گروه شاهد؛ ۱ (x۱۰) و ۲ (x۴۰)

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.14.2]



شکل ۳. مواجهه بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین با نانوذرات اکسید روی در مدت ۱۴ روز؛ نانوذرات اکسید روی در غلظت ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر ۳ (x۱۰) و ۴ (x۴۰)؛ و در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر ۵ (x۱۰) و ۶ (x۴۰)؛ (F: جوش‌خوردگی بافت روده؛ V: تشکیل واکوئل؛ N: نکروز).



[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.14.2]

شکل ۴. مواجهه بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین با یون روی (۱۴ روز)؛ یون روی در غلظت ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر ۷ (x۱۰) و ۸ (x۴۰)؛ و در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر ۹ (x۱۰) و ۱۰ (x۴۰). (Ms: ترشح موکوس؛ Ep: بزرگ شدن اپیتلیوم؛ Gc: بزرگ شدن سلو های گوبلت؛ و D: پارگی بخش اپیتلیوم).

بحث

براساس نتایج به دست آمده در این مطالعه متعاقب رویارویی خرچنگ دراز آب شیرین با نانوذرات اکسید روی یا یون روی، آسیب‌هایی نظیر افزایش سلول های جامی شکل، ادم، افزایش سلول های پلاسما و لنفوسیت و حالت نکروز در بافت روده مشاهده شد. همچنین میزان آسیب‌های ناشی از مواجهه با نانوذرات اکسید روی نسبت به یون روی بر بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین بیشتر بوده است. نتایج سمیت نانوذرات اکسید روی و یون روی بر دیگر موجودات آبزی نیز گاهی نشان از سمیت بیشتر نانوذرات اکسید روی نسبت به یون روی داشته و گاهی نیز نتایج عکس به دست آمده است (Bondarenko *et al.*, 2013). همچنین مطالعاتی بر روی بافت روده دیگر سخت‌پوستان در مواجهه با آلاینده‌های محیطی در نقاط دیگر دنیا صورت گرفته است. به عنوان مثال نتایج تحقیقات Ates و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که در غلظت‌های مشابه، سمیت نانوذرات روی نسبت به نانوذرات اکسید روی در گونه آرتیما بیشتر بوده است، به طوری‌که این میزان سمیت به اندازه کوچکتر نانوذرات روی (۴۰-۶۰ نانومتر) در مقابل اکسید روی (۸۰-۱۰۰ نانومتر) بیان شده است.

در طی مطالعه‌ای Mandal و Kulshrestha (۱۹۸۰)، بیان داشتند که بافت روده ماهی *Clarias batrachus* در مواجهه با ماده فنیتروتیون، موجب تشکیل ضایعه در پرزهای این بافت شده است. همچنین در مطالعه‌ی Kumari و Kumar (۱۹۹۷)، تجزیه و تحلیل آسیب شناسی بافت روده دو گونه *Striatus Channa* و *Heteropneustes fossilis* در آب‌های آلوده نشان داد که این ماده باعث تغییراتی نظیر آسیب دژنراتیو در سروز، مخاط و لایه زیر مخاطی، نکروز کانونی و تکثیر و پوسته ریزی قطعات سطحی پرزهای بافت روده می‌شود. مطالعه‌ی دیگری نشان داده است که تغییر در پوشش اپیتلیال بافت روده در مواجهه با آلاینده‌های محیطی نظیر اندوسولفان، اختلال در جذب روده ای را به دنبال خواهد داشت (Braunbeck and Appelbaum, 1999). همچنین Cengiz و همکاران (۲۰۰۱)، آسیب‌هایی نظیر ادم، انحطاط بافت روده، تجمع لنفوسیت در آستر روده، حالت پکنوتیک در هسته و نکروز در بافت روده ماهی *G. affinis* را در مواجهه با اندوسولفان گزارش کردند. اگرچه نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده‌ی آسیب‌پذیری بافت روده خرچنگ دراز آب شیرین در مواجهه با یون روی و نانوذرات اکسید روی می‌باشد، مطالعات تکمیلی بیشتر در رابطه با مکانیسم آسیب‌های ایجاد شده و همچنین برگشت پذیری این آسیب‌ها ضروری می‌باشد. همچنین بررسی اثر این مواد بر سایر بافت‌های این سخت پوست آبزی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله، از جناب آقای دکتر بهرام نیکخو متخصص پاتولوژی، خانم‌ها فاطمه تقدمی و پژوین کارگر و آقای محمد خالد رزاق طلب، سرپرست و کارکنان بخش پاتولوژی بیمارستان توحید سنندج به خاطر همکاری در انجام این پروژه قدردانی می‌نمایند.

منابـع

Ates, M., Demir, V., Adiguzel, R., Arslan, Z. 2013. Bioaccumulation, subacute toxicity, and tissue distribution of engineered titanium dioxide nanoparticles in goldfish (*Carassius auratus*). Journal of Nanometer. 2013: 1-6.

Banerjee, S., Bhattacharya, S. 1995. Histopathological changes induced by chronic nonlethal levels of elsan, mercury, and ammonia in the small intestine of *Channa punctatus* (Bloch). Ecotoxicology and Environmental Safety. 31: 62-68.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.14.2]

Bondarenko, O., Juganson, K., Ivask, A., Kasemets, K., Mortimer, M., Kahru, A. 2013. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. Archive Toxicology. 87: 1181-1200.

Borenstein, X., Fiszman, G.L., Blidner, A., Vanzulli, S.I., Jasnis, M.A. 2010. Functional changes in murine mammary cancer cells elicited by CoCl2-induced hypoxia. Nitric Oxidative. 23: 234-41.

Braunbeck, T., Appelbaum, S. 1999. Ultrastructural alterations in the liver and intestine of carp *Cyprinus carpio* induced orally by ultra-low doses of endosulfan. Diseases of Aquatic Organisms. 36(3): 183-200.

Cengiz, E.I., Unlu, E., Balci, K. 2001. The histopathological effects of thiodan on the liver and gut of mosquitofish, *Gambusia affinis*. Journal of Environmental Sciences Health B. 36 (1): 75-85.

Fanta, E., Rios, F.S.S., Rom, S., Vianna, S.C.C., Freiberger, S. 2003. Histopathology of the fish Corydoras paleatus contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. Ecotoxicology and Environmental Safety. 54: 119-130.

Handy, R.D., Shaw, B.J. 2007. Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: implications for public health, risk assessment and the public perception of nanotechnology. Health, Risk & Society. 9: 125-144.

Herzog, B., Mongiat, S., Deshayes, C., Neuhaus, M., Sommer, K., Mantler, A. 2002. In vivo and in vitro assessment of UVA protection by sunscreen formulations containing either butyl methoxy dibenzoyl methane, methylene bis-benzotriazolyl tetramethyl butylphenol, or microfine ZnO. International Journal of Cosmetic Sciences. 24: 170-185.

Lee, J.W., Kim, J.W., De Riu, N., Moniello, G., Hung, S.S.O. 2012. Histopathological alterations of juvenile green (*Acipenser medirostris*) and white sturgeon (*A. transmontanus*) exposed to graded levels of dietary Methylmercury. Aquatic Toxicology. 109: 90-99.

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. Environmental Sciences and Technology. 44: 1962-1967.

Kool, P.L., Ortiz, M.D., van Gestel, C.A.M. 2011. Chronic toxicity of ZnO nanoparticles, non -nano ZnO and ZnCl2 to *Folsomia candida* (Collembola) in relation to bioavailability in soil. Environmental Pollution. 159: 2713-2719.

Kumari, A.S., Kumar, N.S.R. 1997. Effect of water pollution on histology of intestine of two fresh water fishes from Hussainsagar Lake (A.P.). Indian Journal of Environmental Toxicology. 7(2): 68- 70.

Mandal, P.K., Kulshrestha, A.K. 1980. Histopathological changes induced by the sub-lethal sumithion in *Clarias batrachus* (Linn.). Indian Journal of Experiment Biology. 18: 547-552.

Miller, R.J., Bennett, S., Keller, A.A., Pease, S., Lenihan, H.S. 2012. TiO2 nanoparticles are phototoxic to marine phytoplankton. PLoS ONE. 7: 303-321.

Shukla, D., Saxena, S., Purushothaman, J., Shrivastava, K., Singh, M., Shukla, S., Malhotra, V.K., Mustoori, S., Bansal, A. 2011. Hypoxic preconditioning with cobalt ameliorates hypobaric hypoxia induced pulmonary edema in rat. European Journal of Pharmacology. 656: 101-109.

Sunda, W.G., Tester, P.A., Huntsman, S.A. 1987. Effects of cupric and zinc ion activities on the survival and reproduction of marine copepods. Marin Biology. 94: 203-210.

Wu, Q., Nouara, A., Li, Y., Zhang, M., Wang, W., Tang, M., Ye, B., Wang, D. 2013. Comparison of toxicities from three metal oxide nanoparticles at environmental relevant concentrations in nematode *Caenorhabditis elegans*. Chemosphere. 90: 1123-1131.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1395.6.1.14.2]