

مطالعه هیستومورفولوژی و بررسی تغییرات بیوشیمیایی کلیه ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) مواجه شده با نانوذرات اکسید آهن و اسپیرولینا پلاتنسیس

امید کوهکن^۱، حسن مروتی^{۲*} و علی طاهری میرقائد^۳

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی بافت‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۳ استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶

پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۴

چکیده

استفاده روزافزون از نانوذراتی مانند اکسید آهن و کاربردهای فراوان آن منجر به تخلیه و ورود آن‌ها به محیط‌های آبی شده و ممکن است با تداخل در فرآیندهای فیزیولوژیک برای ارگانسیم‌های آبی خطر ایجاد کند. از طرف دیگر اسپیرولینا با دارا بودن خواص آنتی-اکسیدانی و درمانی فراوان، به عنوان یک مکمل غذایی در آبی پروری کاربرد دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات مصرف خوراکی نانوذرات اکسید آهن و اثرات درمانی جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر هیستومورفولوژی کلیه و سطوح سرمی اوره، کراتینین، اسیداوریک در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بود. تعداد ۷۲ قطعه ماهی کفال خاکستری با میانگین وزن (۱۱/۱۴ ± ۲۲/۷۹ گرم) و طول (۱۹۴ ± ۰/۱۲۲۲ سانتیمتر) پس از دو هفته سازگاری، به طور تصادفی در ۱۱ آکواریم ۴۰ لیتری تقسیم شدند. تیمارها شامل گروه‌های ۳ روزه (کوتاه مدت) و ۶۰ روزه (بلند مدت) دریافت کننده ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات اکسید آهن، ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و ترکیب هر دو باهم بود. مطالعات هیستولوژیک و هیستوموفومتیک کلیه شامل اندازه قطر دهانه داخلی لوله‌های دور و نزدیک، ارتفاع سلول‌های جداره لوله‌های دور و نزدیک، قطر جسمک کلیوی، قطر کلافه مویرگی و اندازه فضای ادراری (کپسول بومن) انجام شد. سپس سطح سرمی اوره، اسیداوریک و کراتینین مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصله با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و آزمون یک طرفه ANOVA و آزمون تکمیلی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. نتایج نشان داد که مصرف نانوذرات اکسید آهن به مدت ۶۰ روز منجر به تغییرات معنی‌داری در تمام فاکتورهای مورد بررسی به جز جسمک کلیوی در مقایسه با گروه کنترل شد. در مقابل جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس باعث کاهش معنی‌دار در قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور و نزدیک و افزایش ارتفاع سلول‌های جداره لوله‌های پیچیده دور و نزدیک شد که این افزایش در لوله‌های دیستال معنی‌دار بود. در مورد فضای ادراری نیز اسپیرولینا پلاتنسیس باعث کاهش اندازه فضای ادراری شد که این کاهش معنی‌دار نبود. نتایج نشان داد که عملکرد اسپیرولینا دقیقاً در جهت عکس اثرات القا شده توسط نانوذرات اکسید آهن بود و به عبارتی می‌تواند صدمات و ضایعات ایجاد شده توسط نانوذرات را خنثی کند. در مورد اوره نیز مشاهده می‌شود که نانوذرات اکسید آهن باعث کاهش جزئی در سطح سرمی اوره می‌شود اما جلبک میزان اوره سرم را افزایش می‌دهد که در هیچ کدام این تغییرات معنی‌دار نبود. جلبک از افزایش زیاد سطح سرمی کراتینین و کاهش زیاد اسید اوریک ناشی از نانوذرات جلوگیری کرده و به نحوی دارای عملکرد جبرانی بود.

کلمات کلیدی: اسپیرولینا پلاتنسیس، نانوذرات، اکسید آهن، کفال خاکستری، بافت‌شناسی

مقدمه

رشد سریع جمعیت و استفاده روز افزون از مواد و ترکیبات جدید منجر به افزایش آلودگی آب‌ها و تخریب محیط زیست شده است. به دلیل برخی ویژگی‌های منحصر به فرد مانند ابعاد بسیار کوچک، سطح تماس زیاد، تحرک

* نویسنده مسئول: حسن مروتی، استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

al, 1999). اسپیرولینا، یک جلبک میکروسکوپی سبز-آبی است (Ciferri, 1983) که به عنوان یک منبع غذایی غنی مورد استفاده قرار گرفته است (Ravi et al, 2010). اهمیت اولیه این جلبک مربوط به میزان پروتئین بالا، ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه ضروری، مواد معدنی و اسیدهای چرب ضروری آن است. اسپیرولینا متشکل از ۶۰-۷۰ درصد پروتئین، منبع غنی از ویتامین‌ها به ویژه ویتامین B₁₂ و پیش‌ساز ویتامین A (بتاکاروتن)، مواد معدنی مانند آهن و یکی از معدود منابع خوراکی γ لینولینیک اسید (GLA) است. پودر اسپیرولینا به دلیل وجود اسید لینولینیک نقش مهمی در رشد لارو ماهی و میگو دارد. همچنین دارای اسیدهای فنولیک، توکوفرول‌ها و بتاکاروتن است که به آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌دهد (Belay, 2002). ماهی‌ها به عنوان یکی از سطوح اصلی غذایی اکوسیستم‌های آبی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند و به دلیل داشتن محتوای غنی از مواد معدنی ضروری، ویتامین‌ها و اسیدهای چرب اشباع نشده از منابع مهم پروتئین برای انسان است (Zaza et al, 2015). به همین دلیل مطالعه اثر نانوذرات اکسید آهن بر روی بافت‌های ماهی مهم به نظر می‌رسد. ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) از نظر شیلاتی با اهمیت-ترین گونه خانواده کفال ماهیان بوده و با توجه به مقاومت زیاد در برابر عوامل محیطی از قبیل دما و شوری و رشد مناسب دارای ارزش اقتصادی بالایی است (Saleh, 2006). کلیه‌ها وظایف متعددی بر عهده دارند که عبارتند از: دفع مواد زاید متابولیک و مواد شیمیایی خارجی، تعادل آب و الکترولیت، تنظیم اسمولالیت مایعات بدن و غلظت الکترولیت‌ها، تنظیم فشار شریانی، تنظیم تعادل اسید-باز، ترشح متابولیسم و دفع هورمون، گلوکوکورتیزول (Mirali et al, 2013). کلیه دارای نقش مهمی در سیستم ایمنی، خون-سازی، تشکیل ادرار و تنظیم اسمزی می‌باشد (Rumiani et al, 2010). نقش اصلی کلیه در ماهیان دریایی دفع یون-های چند ظرفیتی است که موجودات دریایی دوباره آن‌ها را از طریق انتشار روده‌ای جذب می‌کنند (Chenari et al, 2011). کلیه راه اصلی برای دفع فرآورده‌های زاید

بالا، نفوذپذیری و واکنش‌پذیری بالا (Sahooli et al, 2016; Khashan et al, 2012) نانوذرات فلزی در صنایع مختلف کارایی دارند (Prasad et al, 2019). توسعه و افزایش کاربرد فناوری نانو موجب ورود این محصولات به بخش‌های مختلف علمی، تجاری و صنعتی گردیده است (Dunphy et al, 2006). از کاربردهای نانوفناوری در کشاورزی می‌توان به استفاده از این تکنولوژی در کود و آفت‌کش‌ها، تبدیل ضایعات کشاورزی و مواد غذایی، حس-گرهای شیمیایی، تصفیه آب، پیش‌گیری از بیماری‌ها، بسته-بندی مواد غذایی، پیش‌بینی تغییرات آب و هوا اشاره کرد (Nair et al, 2010; Siddiqui et al, 2015). نانوذرات اکسید آهن (IONPs) به دلیل داشتن ویژگی‌های منحصر به فردی از جمله خصوصیات مغناطیسی و واکنش‌پذیری بالا، دارورسانی، سنجش پادتن و گرمادرمانی کاربردهای گسترده‌ای دارند (Singh et al, 2010; Stephan et al, 2008). کاربردهای فراوان از نانومواد مانند اکسید آهن منجر به تخلیه و ورود آن‌ها به محیط‌های آبی شده (Muller & Nowack, 2015) و ممکن است با تداخل در فرآیندهای فیزیولوژیک یک خطر بالقوه برای ارگانسیم‌های آبی ایجاد کند (Prasad et al, 2019). ذرات اکسید آهن حاصل از فوران آتشفشان‌ها، آتش‌سوزی‌ها و فعالیت‌های صنعتی همیشه در طبیعت و در تعامل با اکوسیستم‌های طبیعی وجود داشته‌اند. سمیت این ذرات در محیط‌های مختلف به ویژه محیط‌های آبی و تأثیر منفی آن بر عملکرد موجودات زنده ثابت شده است (Klaine et al, 2008; Bhatt, 2011). وجود آلاینده‌ها در آب دریا و محصولات دریایی نه تنها موجودات آبی را تهدید می‌کند بلکه ممکن است سلامت انسان را از طریق زنجیره غذایی تحت تأثیر قرار دهد (Scudiero et al, Gu et al, 2015). قرار گرفتن در معرض آلاینده‌های محیطی در محیط‌های دریایی موضوع زیست محیطی بسیار مهمی است، چرا که این آلاینده‌ها به راحتی می‌توانند از طریق مصرف تولیدات دریایی از قبیل ماهی، میگو و صدف در انسان نیز تجمع یافته و در نتیجه برای سلامتی ایجاد خطر کند (Bailey et

۱/۹۴ ± ۱۲۳/۲۲ میلی‌متر) از مؤسسه تحقیقات شیلات چابهار تهیه و بلافاصله به آزمایشگاه شیلات دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شدند. ماهیان به مدت دو هفته با شرایط جدید سازگار شدند. در طول آزمایش غذایی دو بار در روز به میزان ۵ درصد وزن انجام گرفت. در طول آزمایش دمای استاندارد آب (۲۶ ± ۱/۴) درجه سانتی‌گراد، شوری (۳۹/۸۵ ± ۰/۳۸)، غلظت اکسیژن محلول آب (۷۰ درصد) و pH (۷/۸ تا ۸/۲۴) حفظ شد.

ماهی‌ها به طور تصادفی در ۱۱ آکواریوم شیشه‌ای و با قابلیت هوادهی به صورت زیر تقسیم شدند:

گروه اول (G1): گروه شاهد منفی، تنها با رژیم غذایی پایه تغذیه شدند.

گروه دوم (G2): تیمار با ۱۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن نانوذرات اکسید آهن به مدت ۳ روز، علاوه بر رژیم غذایی به صورت روزانه نانوذرات اکسید آهن دریافت کردند.

گروه سوم (G3): تیمار با ۱۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن نانوذرات اکسید آهن به مدت ۶۰ روز، علاوه بر رژیم غذایی به صورت روزانه نانوذرات اکسید آهن دریافت کردند.

گروه چهارم (G4): تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن جلبک اسپیرولینا به مدت ۳ روز، علاوه بر غذای پایه روزانه جلبک اسپیرولینا دریافت کردند.

گروه پنجم (G5): تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن جلبک اسپیرولینا به مدت ۶۰ روز، علاوه بر غذای پایه روزانه جلبک اسپیرولینا دریافت کردند.

گروه ششم (G6): تیمار ۱۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن نانوذرات اکسید آهن به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن جلبک اسپیرولینا به صورت همزمان به مدت ۳ روز.

گروه هفتم (G7): تیمار ۱۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن نانوذرات اکسید آهن به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن جلبک اسپیرولینا به صورت همزمان به مدت ۶۰ روز.

گروه هشتم (G8): تیمار ۱۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن نانوذرات اکسید آهن به مدت ۲ هفته و سپس آغاز دریافت روزانه ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن جلبک اسپیرولینا به مدت ۳ روز.

متابولیسم هستند که دیگر مورد نیاز بدن نمی‌باشند. این فرآورده‌ها شامل اوره (ناشی از متابولیسم اسیدهای آمینه)، کراتینین (ناشی از کراتین عضله)، اسید اوریک (ناشی از اسیدهای نوکلئیک)، فرآورده‌های نهایی تجزیه هموگلوبین (مثل بیلی‌روبین) و متابولیت‌های هورمون‌های مختلف می‌باشند (Basir, 2016; Basir and Peyghan, 2020; (Gagnon et al, 2002; Rumiani et al, 2001).

بر این اساس با توجه به اثرات مثبت مختلف اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) در انسان و سایر جانوران و اثرات سمی نانوذرات اکسید آهن، در این مطالعه با کمک تکنیک‌های هیستولوژی و بیوشیمیایی به مطالعه اثرات بافتی نانوذرات اکسید آهن و اسپیرولینا پلاتنسیس در کلیه ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) پرداخته شد. همچنین به منظور مطالعه اثرات ثانویه نانوذرات و اثرات پیش‌گیرانه و درمانی جلبک اسپیرولینا به بررسی تغییرات سطوح سرمی کراتینین، اوره و اسید اوریک پرداخته شد.

مواد و روش کار

نانوذرات اکسید آهن از شرکت آرمینانو ایران تهیه شدند. نانوذرات قبل از آزمایش با میکروسکوپ الکترونی نگاره بررسی و مشخص شد خالص، عاری از ناخالصی بوده و ابعاد آن کم‌تر از ۲۰ نانومتر تعیین گردید. دوز آزمایشی نانوذرات (۱۵ mg/kg) بر اساس Chitra و Vidya (۲۰۱۹) انتخاب شد.

جلبک *Spirulina platensis* تولید شده توسط سیستم آکواریومی (کرج، ایران)، پس از فرآیند تولید، در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط استریل خشک و به صورت پودر آماده‌سازی گردید. دوز اسپیرولینا (۳۰۰ mg/kg) بر اساس Karadeniz و همکاران (۲۰۰۹) انتخاب شد.

تعداد ۷۲ قطعه ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) با میانگین وزن (۲۲/۷۹ ± ۱/۱۴) گرم و طول

عملکرد کلیوی (کراتینین، اسید اوریک و اوره) به آزمایشگاه منتقل و با دستگاه اسپکتروفتومتر سنجش‌ها صورت گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ و آزمون ANOVA یک‌طرفه با سطح معنی‌داری $p < 0.05$ و آزمون تک‌میلی Tukey مورد آنالیز قرار گرفته و به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شد.

نتایج

هیچ گونه تغییرات رفتاری در ماهیان مشاهده نشده و وضعیت شناوری و حرکات ماهیان کاملاً طبیعی بوده و هیچ گونه تلفاتی در آن‌ها رخ نداد. تغییرات ظاهری قابل توجهی در اندام‌های خارجی و داخلی ماهیان مشاهده نشد. وضعیت ظاهری ماهیان کاملاً طبیعی بوده و در کالبدگشایی آن‌ها نیز هیچ گونه آثاری از علائم غیرطبیعی نظیر خون-ریزی اندام‌های داخلی، تورم و التهاب، تخریب بافتی یا سایر ضایعاتی که ناشی از عکس‌العمل به یک ماده خارجی باشد ملاحظه نگردید. در برش‌های بررسی شده از ماهیان گروه‌های مختلف تیمار و شاهد، به طور کلی هیچ گونه آسیب بافتی جدی در بافت بینابینی، گلومرول‌ها و لوله‌های کلیوی مشاهده نگردید (Figure 1). تنها در برخی نمونه‌های ماهیان مربوط به گروه تیمار ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن مواردی از چروکیدگی گلومرول و اتساع فضای بومن (Figure 2) و همچنین افزایش مراکز ملانوماکروفاژی (Figure 3) مشاهده شد.

در بررسی هیستومتریکی کلیه، قطر داخلی دهانه لوله‌های پیچیده دور در تیمارهای ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن، ۶۰ روزه میکروجلبک اسپیرولینا، ۳ روزه و ۶۰ روزه ترکیب همزمان نانوذرات اکسید آهن و میکروجلبک اسپیرولینا با گروه شاهد و سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌دار نشان دادند. قطر داخلی دهانه لوله‌های پیچیده نزدیک تیمار ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌ها افزایش معنی‌دار نشان داد. همچنین گروه ۶۰ روزه میکروجلبک اسپیرولینا و تمام تیمارهای ترکیبی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار داشتند اما نسبت به هم تغییر معنی‌داری نداشتند.

گروه نهم (G9): تیمار ۱۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن نانوذرات اکسید آهن به مدت ۲ هفته و سپس آغاز دریافت روزانه ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن جلبک اسپیرولینا به مدت ۶۰ روز.

گروه دهم (G10): تیمار با ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن جلبک اسپیرولینا به مدت ۲ هفته و سپس آغاز دریافت ۱۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن نانوذرات اکسید آهن به مدت ۳ روز. گروه یازدهم (G11): تیمار با ۳۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن جلبک اسپیرولینا به مدت ۲ هفته و سپس آغاز دریافت ۱۵ میلی‌گرم به کیلوگرم وزن نانوذرات اکسید آهن به مدت ۶۰ روز.

نمونه‌برداری در روزهای ۳ و ۶۰ پس از مواجهه صورت گرفت (Vidya and Chitra, 2019). ماهی‌ها ابتدا توسط پودر گل میخک (۵ گرم بر لیتر) بیهوش و پس از خون‌گیری بافت کلیه جداسازی و به قطعات کوچک تقسیم و در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت شدند. پس از پردازش بافتی (الکل‌های ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۹۶، ۱۰۰ درصد) و شفاف‌سازی، نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری و با استفاده از میکروتوم برش‌های ۵-۶ میکرونی تهیه شد (Morovvati et al, 2012). مقاطع با استفاده از هماتوکسلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شده و به منظور رنگ‌آمیزی اختصاصی برش‌ها توسط پرئودیک اسید شیف (PAS) و تری‌کروم ماسون (TCM) جهت بررسی تغییرات بافتی رنگ‌آمیزی شدند. به منظور مطالعات هیستومتریکی از هر نمونه ۵ مقطع و از هر مقطع تصویر ۵ میدان دید با بزرگنمایی $\times 400$ به صورت تصادفی توسط لنز دیجیتال Dinolite تهیه گردید (Morovvati et al, 2012). قطر جسمک کلیوی، قطر کلافه مویرگی، اندازه فضای اداری (میانگین اندازه فضای بومن)، اندازه قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور و نزدیک و ارتفاع سلول‌های جداره لوله‌های پیچیده دور و نزدیک در تصاویر تهیه شده به وسیله نرم‌افزار Dinocapture بررسی شدند.

به منظور مطالعات بیوشیمیایی نمونه‌های خونی از ساقه دمی در لوله‌های آزمایشگاهی جمع‌آوری و بلافاصله به مدت ۱۰ دقیقه و در 4000 rpm سانتریفیوژ شدند. سرم جداسازی و جهت آنالیزهای بیوشیمیایی به منظور بررسی

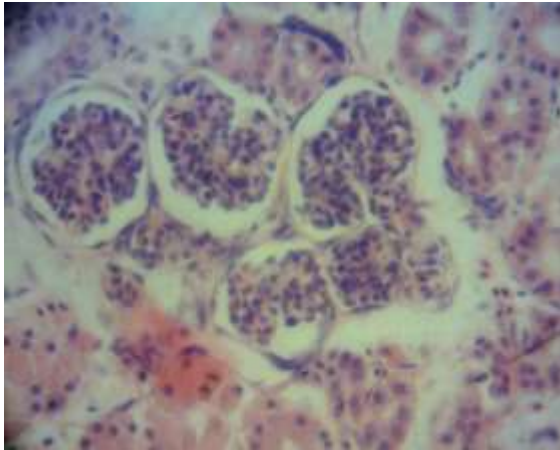


Figure 2: Microscopic view of kidney of *Mugil cephalus* exposed to 15mg/kg IONPs after 60days (X40, H&E). Notice the shrinkage of the glomeruli and dilation of the Bowman's space

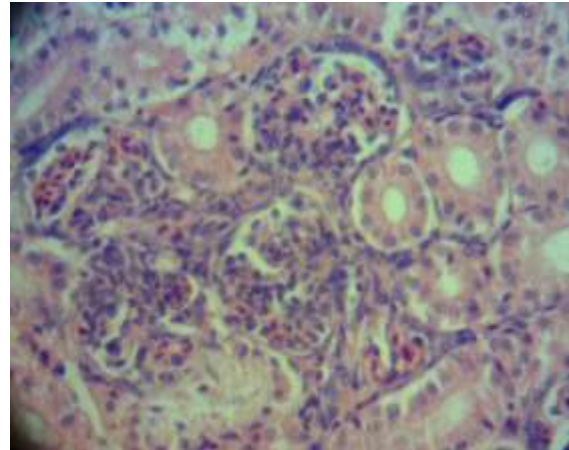


Figure 1: Microscopic view of kidney of *Mugil cephalus*. Normal structure of glomeruli in control group (X40, H&E)

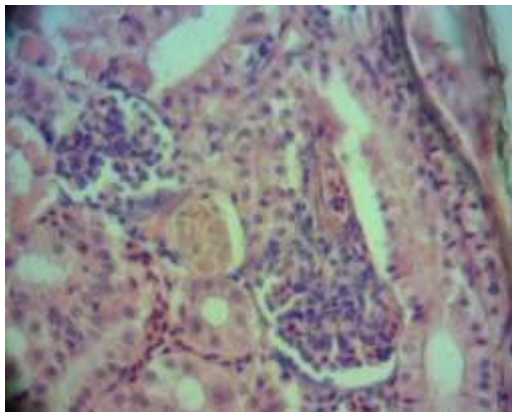
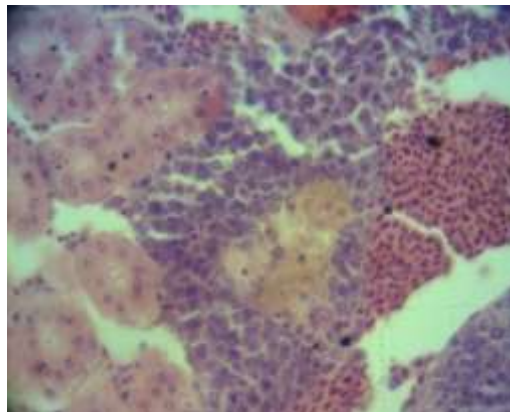


Figure 3: Microscopic view of kidney of *Mugil cephalus* exposed to 15mg/kg IONPs after 60days (X40, H&E). melanomacrophage centers increased obviously.



در مورد اندازه قطر جسمک کلیوی تغییرات ایجاد شده در هیچ یک از گروه‌های مختلف معنی‌دار نبود. قطر کلافه مویرگی تنها در تیمار ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد. اندازه فضای ادراری در گروه ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارها افزایش معنی‌دار داشت. اثرات هیستومتریک مصرف جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و نانوذرات اکسید آهن در گروه‌های مختلف تیمار در Table 1 نشان داده شده است.

همچنین ارتفاع سلول‌های جداره لوله‌های پیچیده دور در تیمار ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن کاهش معنی‌دار و ۶۰ روزه میکروجلبک اسپیرولینا افزایش معنی‌دار نسبی به گروه شاهد داشتند. ارتفاع سلول‌های جداره لوله‌های پیچیده نزدیک تنها در تیمار ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن و ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن پس از مواجهه با میکروجلبک اسپیرولینا به مدت ۲ هفته با گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشتند. نتایج حاصل از بررسی هیستومتریک کلیه در تیمارهای مختلف در Table 1 نشان داده شدند.

Table 1: (Mean ± SEM) results of some histomorphometrical parameters of *Mugil cephalus* in the tested groups

size of the urinary (µm)space	diameter of the glomeruli (µm)	diameter of the renal corpuscle (µm)	the height of epithelium of proximal (µm) tubules	diameter of the lumen of proximal tubules (µm)	the height of epithelium of distal tubules (µm)	diameter of the lumen of distal I tubules (µm)	parameter	group
3.34±0.269 ^a	33.03±1.450 ^{ad}	39.74±0.782 ^{abc}	9.95±0.270 ^a	7.69±0.507 ^a	7.23±0.152 ^a	14.75±0.339 ^a		G1
4.10±0.190 ^a	31.17±0.554 ^{acd}	39.97 ± 0.794 ^{ab}	10.77±0.255 ^a	7.33±0.560 ^a	6.74±0.263 ^a	12.72±0.876 ^a		G2
5.55±0.243 ^b	28.46±0.677 ^{bcd}	37.23±0.691 ^{abc}	11.88±0.273 ^b	10.30±0.442 ^b	4.48±0.343 ^b	17.51±0.380 ^b		G3
4.25±0.269 ^a	33.63±1.447 ^{ad}	38.81±0.818 ^{abc}	9.28±0.224 ^a	6.98±0.263 ^a	7.58±0.140 ^{ac}	12.98±0.461 ^a		G4
2.58±0.377 ^{a,c}	29.65±1.836 ^{acd}	35.62±1.693 ^{ac}	11.05±0.460 ^{ab}	3.91±0.265 ^c	8.21±0.137 ^c	10.04±0.407 ^c		G5
2.01±0.173 ^c	33.04±1.219 ^{ad}	37.10±1.391 ^{abc}	11.29±0.390 ^{ab}	3.86±0.325 ^c	6.83±0.196 ^{ad}	7.88±0.409 ^d		G6
3.72±0.246 ^a	35.34±0.676 ^a	40.38±0.492 ^{ab}	9.55±0.446 ^{ae}	4.68±0.298 ^c	7.21±0.194 ^{ade}	7.21±0.368 ^d		G7
2.10±0.147 ^c	27.99±0.787 ^{bcd}	36.03±0.675 ^{ac}	8.93±0.208 ^{ac}	4.76±0.293 ^c	5.96±0.156 ^b	9.84±0.381 ^c		G8
1.78±0.110 ^c	33.00±1.406 ^{ad}	38.37±1.002 ^{abc}	10.64±0.341 ^{ad}	4.430±0.329 ^c	7.37±0.144 ^{adef}	8.25±0.304 ^d		G9
2.20±0.137 ^c	30.62±0.918 ^{ad}	35.38±0.721 ^{ac}	8.20±0.091 ^{ce}	3.50±0.237 ^c	6.00±0.112 ^{ab}	7.61±0.144 ^d		G10
1.85±0.223 ^c	32.01±1.352 ^{ad}	35.52±1.253 ^{ac}	12.18±0.321 ^b	3.63±0.198 ^c	7.27±0.148 ^{adef}	6.87±0.284 ^d		G11

Dissimilar letters show a significant difference (p<0.05)

عبارتی چه نانوذره و جلبک و چه مدت زمان مواجهه، تغییرات قابل توجهی در میزان اوره ایجاد نکرده بود (Figure 4).

بررسی میزان اوره سرم در گروه‌های مختلف، تغییرات آماری معنی‌داری نشان نداد و تنها گروه یازدهم (G11) نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار داشت (P<0.05). به

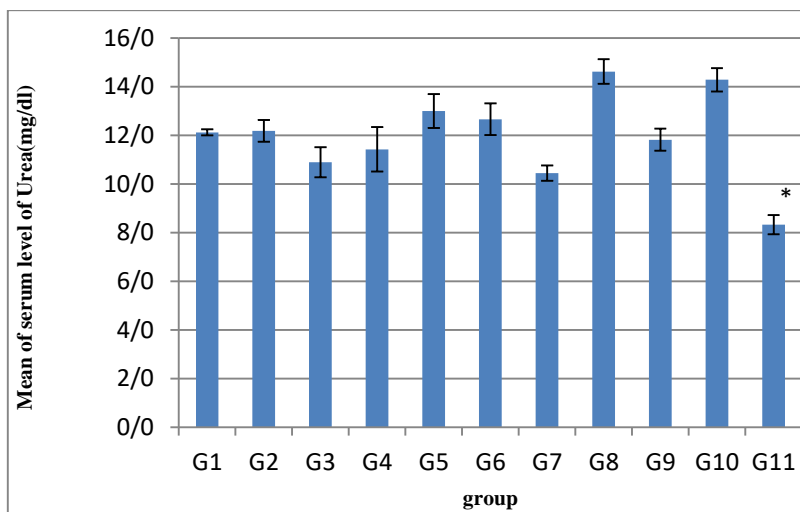


Figure 4: Change of serum level of Urea in *Mugil cephalus*
* show a significant difference (p<0.05)

نانوذرات (G8) نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار نشان دادند اما نسبت به هم تغییر معنی‌داری نشان ندادند (Figure 5).

میزان اسید اوریک سرم در گروه ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن (G3) و تمام گروه‌های ۶۰ روزه تیمارهای ترکیبی (G7, G9, G11)، گروه ۳ روزه جلبک و نانوذرات هم‌زمان (G6) و ۳ روزه جلبک بعد مواجهه ۲ هفته‌ای با

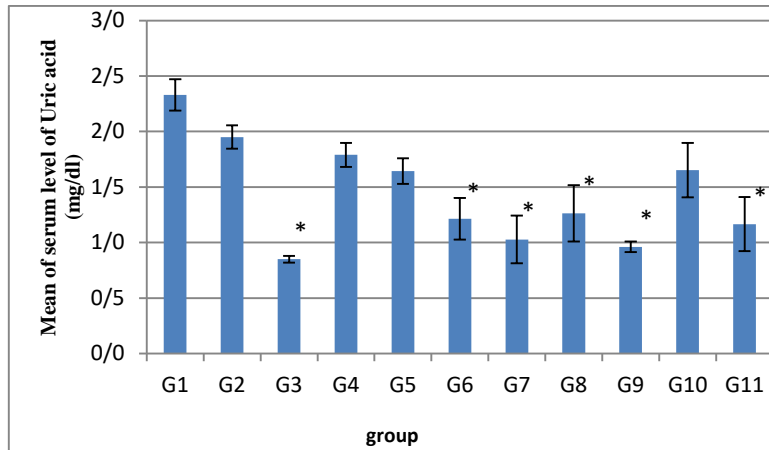


Figure 5: Change of serum level of Uric acid in *Mugil cephalus*
* show a significant difference ($p<0.05$)

(G6) نسبت به گروه شاهد و همچنین گروه ۳ روزه خود افزایش معنی دار داشتند، اما نسبت به هم تغییر معنی داری نشان ندادند (Figure 6).

همچنین بررسی کراتینین نشان داد که گروه های ۶۰ روزه نانوذرات اکسید آهن (G3)، ۶۰ روزه گروه نهم (G9) و یازدهم (G11) و ۳ روزه جلبک و نانوذرات همزمان

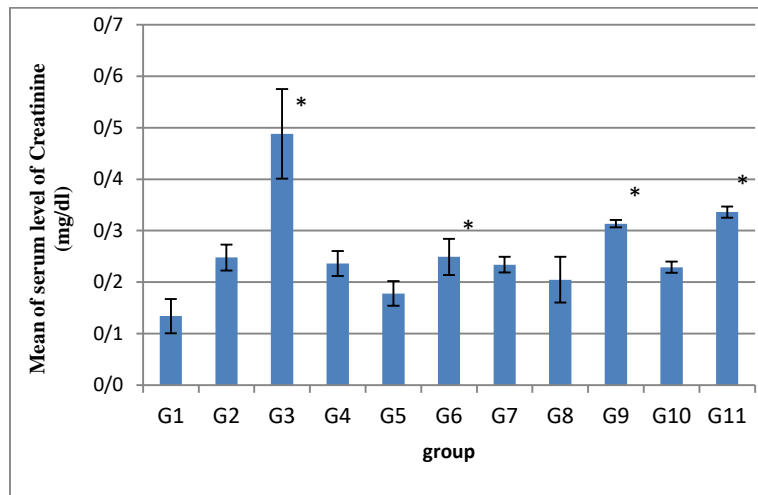


Figure 6: Change of serum level of Creatinine in *Mugil cephalus*
* show a significant difference ($p<0.05$)

گیرد هنوز تعریف نشده است. علاوه بر این، برای بهبود کنترل استفاده از نانوذرات اکسید آهن در مواد غذایی یا بسته بندی مواد غذایی، نیاز است که فوراً تعریف شود. قرار گرفتن در معرض نانوذرات بسیار مهم است زیرا آنها مواد خطرناکی هستند و قرار گرفتن انسان در معرض نانوذرات اکسید آهن ممکن است کوتاه مدت یا طولانی باشد. در این تحقیق مواجهه کوتاه مدت و طولانی مدت برای

امروزه همراه با رشد سریع صنایع و افزایش ورود آلاینده ها به اکوسیستم آبی، نیاز به توسعه آبرزی پروری و گسترش منابع غذایی نیز وجود دارد، بنابراین شناسایی منابع غذایی مکمل که علاوه بر صرفه اقتصادی اثرات مضر آلاینده ها را نیز خنثی کند، روز به روز بیش تر احساس می شود. دوز روزانه مجاز نانوذرات اکسید آهن یا به طور کلی همه نانوذراتی که انسان ممکن است در معرض آنها قرار

بحث

با نانوذرات اکسید آهن به غلظت ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم به روش خوراکی بر سلامت کلی حیوانات تأثیری ندارد زیرا هیچ نشانه‌ای از سمیت یا مرگ و میر مشاهده نشد. علاوه بر این، اثر پاتولوژیک شاخصی در بافت کلیه ماهی‌ها مشاهده نشد. با این وجود، با توجه به مطالعه حاضر، IONP های تجویز شده از راه خوراکی به طور قابل توجهی شاخص‌های هیستومتریک کلیه را تغییر دادند و برخی تغییرات هیستوپاتولوژیک مانند افزایش مراکز ملانوماکروفاژ، چروکیدگی گلومرول و اتساع کپسول بومن را القا کردند. این تغییرات نشان‌دهنده عملکرد سیستمیک نانوذرات آهن است و ممکن است منعکس کننده سمیت بالقوه این نانوذرات باشد. Abdelhalim و Jarrar (۲۰۱۲) بر روی اثرات NPs طلا (GNPs) بر روی کبد موش کار کردند و گزارش کردند که تحلیل سیتوپلاسمی و تخریب هسته‌ای سلول‌های کبدی ممکن است نتیجه تعامل GNPs با پروتئین‌ها و آنزیم‌های بافت کبدی باشد. این تعامل منشأ بی‌ثباتی هموستاز اکسیداتیو و تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) است که به نوبه خود ممکن است باعث ایجاد استرس و در نهایت آتروفی و نکروز گردد. این فرآیند ممکن است همان مکانیسمی باشد که توسط آن تغییرات مشاهده شده در مطالعه ما انجام می‌شود. در مطالعه حاضر ساختار بافت کلیوی در گروه‌های آزمایشی ۶۰ روزه مواجه شده با نانوذرات اکسید آهن با غلظت ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم از نظر قطر کلافه مویرگی، اندازه فضای ادراری (میانگین اندازه فضای بومن) (کاهش)، اندازه قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور و نزدیک (افزایش)، ارتفاع سلول‌های جداره لوله‌های پیچیده دور و نزدیک (کاهش)، غلظت سرمی اسیداوریک (کاهش) و کراتینین (افزایش)، نسبت به گروه کنترل دارای تغییرات و آسیب معنی‌دار بود ($P < 0/05$). در مقابل جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس باعث کاهش معنی‌دار ($P < 0/05$) در قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور و نزدیک و افزایش ارتفاع سلول‌های جداره لوله‌های پیچیده دور و نزدیک شد که این افزایش در لوله‌های دیستال معنی‌دار بود ($P < 0/05$). در مورد فضای

ارزیابی اثرات نانوذرات اکسید آهن بر ساختار کلیه و فیزیولوژی ماهی بررسی شد. لذا در تحقیق حاضر به بررسی نمونه‌های مربوط به کلیه در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در مواجهه با نانوذرات اکسید آهن (IONPs) و میکرو جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) و در نهایت مطالعه اثرات پیش‌گیری کننده و درمانی آن بر مصرف نانوذرات پرداخته شده است. در تحقیق حاضر، بررسی IONP های تجویز شده به ماهی نشان داد که نانوذرات اکسید آهن خالص هستند و اندازه آن‌ها کمتر از ۲۰ نانومتر بود. اثرات نانوذرات (NPs) موضوع چندین مطالعه سم‌شناسی *in vivo* بوده است. اثرات مختلف نانوذرات پس از تجویز برخی از انواع NPs مورد بررسی قرار گرفته است (Valdiglesias et al, 2016; Patel et al, 2017; Liu et al, 2018). به عنوان یک ماده معدنی، آهن در صورت تزریق داخل وریدی سمی‌تر شناخته شده است. تزریقات عضلانی سمیت کم‌تری دارند و آهن خوراکی کم‌ترین سمیت را دارد (Askri et al, 2019)، احتمالاً به این دلیل که میزان آهن جذب شده از راه خوراکی برابر با ۱۰۰ درصد دوز مصرفی نیست و در واقع، نانوذرات زمانی که مستقیماً با دستگاه گوارش در تماس باشند، می‌توانند در مدت کوتاهی توسط ارگانسیم متابولیزه یا پاک‌سازی شوند. با این حال، وقتی آهن به شکل نانوذرات باشد، به نظر می‌رسد تجویز خوراکی سمی‌ترین حالت مواجهه باشد (Askri et al, 2018). مطالعات یکپارچه با استفاده از IONP ها اخیراً توسط Villacis و همکاران، ۲۰۱۷ بر روی گورخر ماهی انجام شد. آن‌ها در مطالعه خود، روش‌های کلاسیک (سمیت ژنی، استرس اکسیداتیو) و مولکولی (ترانسکریپتومی) را ترکیب کردند (Villacis et al, 2017). در پروتکل تجربی، آن‌ها گورخر ماهی بالغ را به مدت ۹۶ ساعت در معرض پنج غلظت IONP تحت کشنده قرار دادند که از ۴/۷ تا ۷۴/۴ میلی گرم در لیتر متغیر بود. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که IONP ها اثرات ژنوتوکسیک قابل توجهی را در حالت ترکیبی ایجاد می‌کنند. مطالعه حاضر نشان داد که مواجهه

ادارای نیز اسپیرولینا پلاتنسیس باعث کاهش اندازه فضای ادارای شد که این کاهش معنی دار نبود ($P < 0/05$). نتایج نشان داد که عملکرد اسپیرولینا دقیقاً در جهت عکس اثرات القا شده توسط نانوذرات اکسید آهن بود و به عبارتی می-تواند صدمات و ضایعات ایجاد شده توسط نانوذرات را خنثی کند. مطالعه حاضر مواردی از جمله افزایش مراکز ملانوماکروفاژ، چروکیدگی گلمرولها و اتساع فضای بومن را نشان داد. شکل گیری مراکز ملانوماکروفاژ واکنش دفاعی این اندام در برابر ماده خارجی محرک می باشد (Gholami et al, 2018). طی این واکنش رنگ دانه ها آزاد شده و سپس توسط ماکروفاژها بلعیده شده، و از بدن دفع می شوند (Afzali et al., 2013). لکه های سیاه مشاهده شده در برخی نمونه ها همان مراکز ملانوماکروفاژ حاوی ملانین بوده و مکانیسم دفاعی فوق را در کلیه نشان می دهد، لذا عارضه پاتولوژیک جدی محسوب نشده و قابل اغماض می باشد. در مورد اوره نیز مشاهده می شود که نانوذرات اکسید آهن باعث کاهش جزئی در سطح سرمی اوره می شود اما جلبک میزان اوره سرم را افزایش می دهد که در هیچ کدام این تغییرات معنی دار نبود ($P < 0/05$). در مورد کراتینین و اسید اوریک نیز عملکرد جبرانی در گروه تیمار جلبک و گروه های ترکیبی مشاهده گردید. تغییر سطوح سرمی آنزیم ها و ترکیبات خون حاکی از اثر سیستمیک نانوذرات اکسید آهن پس از قرار گرفتن در معرض IONP است. با توجه به سنجش های بیوشیمیایی، تجویز IONP ها بسته به زمان مورد استفاده بدون تغییر هیستوپاتولوژیک مهمی، باعث ایجاد تغییر در فاکتورهای کلیوی می شود. در مطالعه Askri و همکاران (۲۰۱۹) میزانی از رسوب آهن در سلول های کوپفر و هسته سلول های کبدی مشاهده شد که این امر ثابت می کند که حتی پس از قرار گرفتن در معرض دوز بسیار پایین تر از دوز کشنده، IONP ها می توانند التهاب و نکروز ایجاد کنند و به صورت موضعی بدون افزایش قابل توجهی در غلظت آهن انباشته شوند. این یافته مربوط به کاهش سطح آهن پلازما در گروه های در معرض IONP است. Askri و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه ای به بررسی

اثرات مختلف نانوذرات اکسید آهن در موش رت و استار پرداختند. در این مطالعه، بررسی هیستوپاتولوژیک التهاب و نکروز کبد را به دنبال تجویز خوراکی حاد IONPs نشان داد. آن ها گزارش کردند که تیمار خوراکی نانوذرات به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم باعث آسیب لوله های کانونی در کلیه ها و کاهش معنی دار سطح اوره در سرم می-شود. در تحقیق حاضر میزان اوره در تمام تیمارهای دارای نانوذرات اکسید آهن کاهش یافت اما این کاهش معنی دار نبود که می تواند به دلیل غلظت پایین نانوذرات اکسید آهن (۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم) باشد. جلبک اسپیرولینا باعث پایین آمدن پراکسیداسیون لیپید، کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در کبد می شود. عملکرد آنتی اکسیدانی آنزیم های CAT، SOD، GSH و MDA شده و سطح MDA را کاهش می دهد (Chen and Wong, 2008; Gad et al, 2011; Hassan et al, Hwang et al, 2011; Ibrahim and Abdel-Daim, 2015; Kurd and Samavati, 2015). به صورت کلی گزارش شده است که عدم فعالیت یک سری از آنزیم های دفاعی بدن که دارای قدرت آنتی اکسیدانی در بافت کبد و کلیه هستند، می توانند باعث تخریب غشای پایه گلمرول های کلیوی و عامل اصلی آسیب به بافت کلیه شوند (Harris et al, 2005). در ماهیان کراتینین از طریق کلیه ها دفع می شود و بیش از نیمی از نیتروژن موجود در ادرار اغلب ماهیان را تشکیل می دهد. کراتینین نیز در ماهیان یافت می شود و در اثر حلقوی شدن غیر آنزیمی کراتینین به وجود می آید و زمانی که کراتینین تشکیل شد، دیگر متابولیزه نمی شود و به همان صورت از طریق کلیه ها دفع می شود (Morovvati et al, 2016). اما اسید اوریک که در ماهیان از نوکلئوتیدهای پورینی و همچنین کاتابولیسیم پروتئین ها از طریق پورین ها تولید می شود، در کبد و به مقدار کم تر در کلیه ها تبدیل به اوره شده و از طریق آبشش-ها دفع می شود (Mojabi et al., 2003). از این رو، در ماهیان استخوانی، تغییر در سطح اوره لزوماً شاخص بیماری کلیوی نبوده و به احتمال قوی با بیماری آبشش ها یا کبد در ارتباط است. بنابراین دلیل کافی برای افزایش کراتینین

به دلیل تبدیل بیش تر به اوره و افزایش دفع از طریق آبشش -
ها است (Mortazavi Tabrizi et al., 2010).

در مواجهه با نانوذرات اکسید آهن، کاهش میزان دفع آن از
طریق ادرار می باشد. کاهش سطح اسید اوریک نیز می تواند

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند خصوصاً معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی تهران کمال
تشکر را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان این تحقیق هیچ بحثی بر سر منافع خود ابراز نکردند.

منابع مالی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری تخصصی آقای امید کوهکن در دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی می باشد.

منابع

- Abdelhalim, M.A.K., & Jarrar, B.M. (2012). Histological alterations in the liver of rats induced by different gold nanoparticle sizes, doses and exposure duration. *Journal of Nanobiotechnology*, 10: 5-14.
- Afzali, S.F., Sharifpour, I., Soltani, M., & Abtahi, B. 2013. Investigating tissue changes in the liver, kidney and gill of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) caused by bathing with Aquajerm disinfectant. Renewable natural resources research. 1: 63-70.
- Askri, D., Ouni, S., Galai, S., Chovelon, B., Arnaud, J., Sturm, N., Lehmann, S.G., Sakly, M., Amara, S., & Seve, M. (2019). Nanoparticles in foods? A Multiscale physiopathological investigation of Iron Oxide Nanoparticle effects on Rats after an acute oral exposure: trace element biodistribution and cognitive capacities. *Food & Chemical Toxicology*, 127:173-181.
- Askri, D., Ouni, S., Galai, S., Chovelon, B., Arnaud, J., Sturm, N., Lehmann, S.G., Sakly, M., Seve, M., & Amara, S. (2018). Sub-acute intravenous exposure to Fe₂O₃nanoparticles does not alter cognitive performances and catecholamine levels, but slightly disrupts plasma iron level and brain iron content in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50: 73-79.
- Bailey, S.E., Olin, T.J., Bricka, R.M. & Adrian, D.D. (1999): A review of potentially lowcost sorbents for heavy metals. *Water Research*, 33: 2469-2479.
- Basir, Z. (2016). The process of kidney gradual changes in, *Tenulosa ilisha* during migration from sea to the river. *Journal of the Persian Gulf*, 7 (26): 47-56
- Basir, Z., & Peyghan, R. (2020). Histomorphology of excretory kidney of, Common carp, *Cyprinus carpio* during different salinity adaptation. *Iranian Veterinary Journal*, 16(2): 22-28.
- Belay, A. (2002). The Potential Application of Spirulina (Arthrospira) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. *Journal of the American Nutraceutical Association*, (5): 27-48.
- Bhatt, I. (2011). Interaction of engineered nanoparticles with various components of the environment and possible strategies for their risk assessment. *Chemosphere*, 308-311.
- Chen, T., & Wong, Y.S., (2008). In vitro antioxidant and antiproliferative activities of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(12): 4352-4358.
- Chenari, F., Morovvati, H., Ghazilou, A., Savari, A., & Ronagh, M.T. (2001). Rapid variation in kidney histology in spotted scat *Scatophagus argus* on exposed to abrupt salinity changes. *Iranian Journal of veterinary research*, 12 (336): 256-261.
- Ciferri, O. (1983): Spirulina, the edible microorganism. *Microbiology Reviews*, 47: 551-578.

- Dunphy, K.A., Finnegan, M.P., & Banfield, J.F. (2006). Influence of surface potential on aggregation and transport of Titania nanoparticles. *Environmental Science and Technology*, 40:7688–7693.
- Sahooli, M., Sabbaghi, S., & Saboori, R. (2012). Synthesis and characterization of mono sized CuO nanoparticles. *Materials science*, 81: 161-172.
- Gad, A.S., Khadrawy, Y.A., El-Nekeety, A.A., Mohamed, S.R., Hassan, N.S., & Abdel-Wahhab, M.A. (2011). Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and Spirulina in rats. *Nutrition*, 27: 582-589.
- Gagnon, M., Maguire, M., MacDermott, M., & Bradford, A. (2002). Effects of creatine loading and depletion on rat skeletal muscle contraction. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, 29: 885-890.
- Gholami, A., Abdi, R., Shirali, S., & Basir, Z. (2018). Histophysiology of Head Kidney and Blood Lymphatic System in *Acipenser persicus* in Cold and Warm Seasons. *Journal of Oceanography*, 9 (33): 59-65.
- Gu, Y.G., Lin, Q., Wang, X.H., Du, F.Y., Yu, Z.L. & Huang, H.H. (2015): Heavy metal concentrations in wild fishes captured from the South China Sea and associated health risks. *Marine Pollution Bulletin*, 96: 508-512.
- Harris, C., Dixon, M., & Hansen, J.M. (2004) Glutathione depletion modulates methanol, formaldehyde and formate toxicity in cultured rat conceptuses. *Cell Biology and Toxicology*, 20: 133-145.
- Hassan, A.M., Abdel-Aziem, S.H., & Abdel-Wahhab, M.A. (2012). Modulation of DNA damage and alteration of gene expression during aflatoxicosis via dietary supplementation of Spirulina (*Arthrospira*) and Whey protein concentrate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 79: 294–300.
- Hwang, J.H., Lee, I.T., Jeng, K.C., Wang, M.F., Hou, R.C.W., Wu, S.M., & Chan, Y.C. (2011). Spirulina prevents memory dysfunction, reduces oxidative stress damage and augments antioxidant activity in senescence-accelerated mice. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 57: 186-191.
- Ibrahim, A.E., & Abdel-Daim, M.M. (2015). Modulating effects of Spirulina platensis against tilmicosin-induced cardiotoxicity in mice. *Cell Journal*, 17: 137-144.
- Karadeniz, A., Cemek, M. & Simsek, N. (2009): “The Effects of Panax Ginseng and Spirulina platensis on Hepatotoxicity Induced by Cadmium in Rats.” *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72 (1): 231-235.
- Khoshan, K.S., Sulaiman, G.M. & Abdulameer, F.A. (2016). Synthesis and Antibacterial Activity of CuO Nanoparticles Suspension Induced by Laser Ablation in Liquid. *Arabian Journal Science and Engineering*, 41, 301–310.
- Klaine, S.J., Alvarez, P.J.J., Batley, G.E., Fernandes, T.F., Handy, R.D., Lyon, D.Y., Mahendra, S., McLaughlin, M.J., & Lead, J.R. (2008). Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*. (27):1825–1851
- Kurd, F. & Samavati, V. (2015). Water soluble polysaccharides from Spirulina platensis: Extraction and in vitro anti-cancer activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74: 498-506.
- Liu, M., Lu, S., Wei, H., Zhang, L., Ma, M., Lv, P., Ma, M., Yu, W., Wang, J., Zhang, M., Zhang, Y., & Li, Y. (2018). ULK1-regulated autophagy: A mechanism in cellular protection for ALDH2 against hyperglycemia. *Toxicology Letters*, 283: 106.115.
- Mirali, A., Movahedinia, A., Abdi, R., & Salati, A. (2013). Histological structure of kidney in Sobaity, Sparidentex hasta. *Journal of Marine Biology*, 5 (2): 71-80.
- Mojabi, I., Nazifi Habibabadi, S. & Safi, Sh. 2003. Veterinary Clinic Biochemistry, Nourbakhsh Press, Tehran, pages: 385-393.
- Morovvati, H., Abdi, R., & Shamsi, M.M. (2016). Effect of different salinity concentration on kidney of benni, *Barbus sharpeyi*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 25 (5): 159-164.
- Morovvati, H., Mahabady, M.K., & Shahbazi, S. (2012). Histomorphological and anatomical study of kidney in berzem (*Barbus pectoralis*) *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 4 (11): 221-227.
- Mortazzavi Tabrizi, J., Sasani, F. & Jalali Jafari, B. 2010. Examination of serum levels of creatinine, urea and uric acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) suffering from nephrocalcinosis. *Veterinary clinical pathology*. 1(3): 209-216.
- Muller, N.C. & Nowack, B. (2015). Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environmental Science and technology*, (42), 4447-4453.

- Nair, R., Varghese, S.H., Nair, B.G., Maekawa, T., Yoshida, Y., & Kumar, D.S., (2010). Nanoparticulate materials delivery to plants. *Plant Science*, 179:154–163.
- Patel S, Jana S, Chetty R, Thakore S, Singh M, & Devkar R. (2019). Toxicity evaluation of magnetic iron oxide nanoparticles reveals neuronal loss in chicken embryo. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(1):1-8.
- Prasad, S., Kumar, D., Chandrakas, L., Nidhin, Dr. M., & Velayudhannair, K. (2019). Effects of Zerovalent Iron and Iron Oxide Nanoparticles on White Leg Shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone): A Comparative Study of Toxicity, Bioaccumulation and Oxidative Stress. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9: 71-79.
- Ravi, M., De, S.L., Azharuddin, S.F.D. & Paul, S. (2010): The beneficial effects of spirulina focusing on its immunomodulatory and antioxidant properties. *Nutrition and Dietary Supplements*, 2: 73–83.
- Rumiani, E., Abdi, R., Zolgharnein, H., Morovvati, H., & Savari, A. (2010). Histology of kidney tubules and Na^+K^+ ATPase immunolocalization of ionocyte cells in the tubules of grouper juveniles (*Epinephelus coioides*). *Journal of Marine Sciences and Technology*, 9 (1), 4-12.
- Rumiani, E., Abdi, R., Zolgharnein, H., Savari, A., & Morovvati, H. (2011). Ultra Structure of Excretory Organ (Kidney) in Juvenile Grouper, *Epinephelus coioides*. *Journal of the Persian Gulf*, 2 (6): 45-52.
- Saleh, M. (2006). Cultured Aquatic Species Information Programme (CASIP). Mugil cephalus. FAO Fisheries and Aquaculture Department; FAO: Rome, Italy.
- Scudiero, R., Creti, P., Trinchella, F. & Esposito, M.G. (2014): Evaluation of cadmium, lead and metallothionein contents in the tissues of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Campania coast (Italy): Levels and seasonal trends. *Comptes Rendus Biologies*, 337: 451-458.
- Siddiqui, M.H., Al-Wahaibi, M.H., Mutahhar, M.F., & Al-Khaishany, Y. (2015). Role of Nanoparticles in Plants. Springer *International Publishing Switzerland*. 2: 19-35.
- Singh, N., Jenkins, G.J.S., Asadi, R., & Doak, S.H. (2010). Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano Reveiws.*, 1:53-58.
- Valdiglesias, V., Fernandez-Bertolez, N., Kilic, G., Costa, C., Costa, S., Fraga, S., Bessa, M.J., Pasaro, E., Teixeira, J.P., & Laffon, B. (2016). Are iron oxide nanoparticles safe? Current knowledge and future perspectives. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 38: 53–63.
- Valdiglesias, V., Fernandez-Bertolez, N., Kilic, G., Costa, C., Costa, S., Fraga, S., Bessa, M.J., Pasaro, E., Teixeira, J.P., & Laffon, B. (2016). Are iron oxide nanoparticles safe? Current knowledge and future perspectives. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 38:53-63.
- Vidya, P.V. & Chitra, K.C. (2019): Irreversible Histopathological Modifications Induced by Iron Oxide Nanoparticles in the fish, *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852). *Biological Forum-an international journal*. 11(1): 01-06.
- Villacis, R.A.R., Filhoa, J.S., Pina, B., R.B., Azevedoa, Pic-Taylor, A., Mazzeu, J.F., & Grisolia, C.K. (2017). Integrated assessment of toxic effects of maghemite (γ -Fe₂O₃) nanoparticles in zebrafish, *Aquatic Toxicology*, 191: 219-225.
- Zaza, S, de Balogh, K., Palmery, M., Pastorelli, A., & Stacchini, P. (2015): Human exposure in Italy to lead, cadmium and mercury through fish and seafood product consumption from Eastern Central Atlantic Fishing Area. *Journal of Food Composition and Analysis*. 40: 148-153.

Received: 05.02.2022

Accepted: 05.03.2022

Histomorphological Study and biochemical changes in kidney of gray mullet (*Mugil cephalus*) exposed to iron oxide nanoparticles and *Spirulina platensis*

Omid Koochkan¹, Hassan Morovvati^{2*} and Ali Taheri Mirghaed³

¹ PhD Student of Comparative Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

² Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

³ Professor, Department of Aquatic Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 05.02.2022

Accepted: 05.03.2022

Abstract

Increasing uses of nanoparticles such as iron oxide and its many fields of applications, on the other hand, lead to their discharge into an aqueous environment and may interfere with physiological processes for aquatic organisms. On the other hand, *Spirulina* with antioxidant and therapeutic properties is used as a dietary supplement in aquaculture. The aim of the present study was to evaluate histomorphological effects of kidney and serum levels of urea, creatinine, uric acid of oral administration of iron oxide nanoparticles and the therapeutic effects of *spirulina platensis* in *Mugil cephalus*. After two weeks of adaptation, 72 fish gray mullet (*Mugil cephalus*) weighting (22.79 ± 1.14 g) and with length (12.322 ± 0.194 cm) were divided into 11 groups in 40-liter aquariums. Treatments included 3-day (short-term) and 60-day (long-term) groups receiving 15 mg/kg iron oxide nanoparticles, 300 mg/kg *spirulina platensis*, and a combination of both. Histological and histomorphometric changes were performed, including the diameter of the lumen of distal and proximal tubules, the height of epithelium of distal and proximal tubules, the diameter of the renal corpuscle, the diameter of the glomeruli, and the size of the urinary space (Bowman capsule). Serum levels of urea, uric acid, and creatinine were then measured. Statistical analyses were performed using SPSS version 26, One Way ANOVA and Tukey post test. The results indicated that iron oxide nanoparticles for 60 days led to significant changes in all factors (except for diameter of the renal corpuscle) compared with the control group. In contrast, *Spirulina platensis* caused a significant decrease in diameter of the lumen and an increase in height of epithelium of distal and proximal tubules, which was a significant increase in the distal tubules. *Spirulina platensis* decreased no significant diameter of urinary space. The results showed that spirulina acts against effects induced by iron oxide nanoparticles; in other words, it could neutralize the damage caused by the nanoparticles. It was observed that iron oxide nanoparticles cause a slight decrease in serum urea level, but spirulina increases the amount of serum urea, which was not significant. Spirulina prevented a large increase in serum creatinine and a large decrease in uric acid caused by nanoparticles and therefore had a compensatory function.

Key words: *Spirulina platensis*, Nanoparticles, Iron oxide, Gray mullet, Histology

* **Corresponding Author:** Hassan Morovvati, Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).