مجله علوم و فنون شیلات
نسخه ویژه خلیج فارس
دوره ۱۰، شماره ۲، بهار ۱۴۰۰، صفحات ۱۴۰-۱۳۱

# تغییرات سطوح آنزیم‌های کبدی تحت تاثیر غلظت‌های تحت کشنده دی‌کرومات پتاسیم در هامور ماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*, Day 1875)

پروین صادقی*[۱]، اسماء اسماعیل‌زاده آشینی[۱]
۱-گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

## چکـــیده

هدف از این مطالعه بررسی میزان تغییرات آنزیم‌های کبدی در پلاسمای هامورماهی لکه زیتونی منقوط دریای عمان *Epinephelus stoliczkae* تحت القای غلظت‌های مختلف دی‌کرومات پتاسیم در طی ۲۱ روز در شرایط آزمایشگاهی بود. ۲۰۰ قطعه هامورماهی لکه زیتونی منقوط با میانگین طول کل ۲/۲±۲۹/۶ سانتی‌متر و میانگین وزن کل ۹۲/۴±۳۸۹/۵ گرم از دریای عمان صید گردید. جهت اجرای آزمایش سمیت تحت کشنده سه تیمار ۳/۶، ۷/۳۱ و ۱۴/۶ میلی‌گرم بر لیتر کروم (سه تکرار و یک شاهد) انتخاب گردید. ماهی‌ها به مدت ۲۱ روز در معرض کروم قرار گرفتند و در فاصله زمانی ۰/۵، ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از شروع آزمایش، به‌منظور اندازه‌گیری سطح آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینوتراسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP)، از ساقه دمی ماهی‌ها نمونه خون تهیه شد. سنجش میزان آنزیم‌ها با استفاده از روش فتومتری انجام و مقادیر سنجیده شده برحسب U/L بیان شد. بیشترین و کمترین میزان آنزیم‌های کبدی در هامورماهی لکه زیتونی منقوط به ترتیب برابر بود با: آسپارتات آمینو ترانسفراز ۱۰/۲۸±۲۹۸-۶/۲۱±۱۹۸، آلانین آمینوترانسفراز ۲/۱۹±۸۱-۲/۵۶±۳۸، آلکانین فسفاتاز ۲/۷۶± ۱۷۷-۴/۲۱± ۱۱۸ یونیت بر لیتر. باگذشت زمان، میزان آنزیم‌های کبدی در تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد افزایش و اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد ($P<0.05$). در مورد هر سه آنزیم کبدی بیشترین میزان در تیمار سوم و روز ۲۱ و کمترین میزان در تیمار اول و زمان ۰/۵ روز ثبت شد. در این آزمایش، آنزیم‌های کبدی در پاسخ به افزایش غلظت کروم و مدت‌زمان در معرض بودن، افزایش یافتند که علت آن می‌تواند آسیب به سلول‌های کبدی و درنتیجه آزاد شدن آنزیم‌های کبدی در پلاسما باشد. به‌طورکلی می‌توان آنزیم‌های کبدی را به‌عنوان نشانگر زیستی آلودگی در محیط‌های طبیعی استفاده نمود.

**کـــلید واژه‌ها:** آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، کبد، ماهی، دریای عمان

## نوع مقـاله

**مقاله پژوهشی اصیل**

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۸**

**تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۰**

**تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۳/۱۰**

***نویسنده مسول:**
parvin.sadeghi@gmail.com

آدرس: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

## مقدمه

ورود انواع آلاینده‌ها به‌صورت طبیعی و یا از طریق صنایع به محیط‌های آبی، یکی از معضلات زیست‌محیطی بوده که می‌تواند حیات موجودات آبزی را با مخاطره مواجه کند [۱]. یکی از انواع آلاینده‌ها فلزات سنگین هستند که حضور بیش‌ازحد مجاز آن‌ها در محیط سبب ایجاد آشفتگی و عوارض مختلف محیطی در اکوسیستم می‌شود. فلزات سنگین با تأثیرات مختلف بر آبزیان همچون کاهش رشد، تغییرات رفتاری و ژنتیکی و افزایش مرگ‌ومیر ازجمله مهم‌ترین آلاینده‌های ورودی به دریا محسوب می‌شوند که از طریق ورود به جریان خون ماهی به درون بافت های مختلف ازجمله کبد راه‌یافته و در آن تجمع می‌یابند [۲]. کروم ۶ ظرفیتی به دلیل خاصیت جهش‌زا و سرطان‌زا بودن به‌عنوان یکی از آلاینده‌های

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]

سمی زیست‌محیطی شناخته‌شده است که به دلیل سمیت بالا سبب بروز تغییر در فاکتورهای بیوشیمیایی، خونی و همچنین آسیب به ساختارهای بافتی در گونه‌های مختلف ماهیان می‌گردد [۳، ۴]. میزان این فلز در رسوبات خلیج چابهار و دریای عمان نسبتاً بالا گزارش‌شده است [۵، ۶].

کبد به‌عنوان اندام اصلی مسیرهای مختلف متابولیکی در بدن ماهی می‌باشد و نقش تشخیصی مهمی در مطالعات سم‌شناسی ناشی از آلاینده‌های مختلف دارا است [۷]. آنزیم‌های متعددی در سلول‌های کبدی ساخته و ذخیره می‌شود که نقش مهمی در افزایش سرعت فرآیندهای زیستی ضروری در بدن دارند. ازجمله مهم‌ترین آنزیم‌های کبدی می‌توان به آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) اشاره کرد. AST به‌طور طبیعی در سیتوپلاسم و میتوکندری سلول‌های قلب و کبد وجود دارد که در صورت آسیب به بافت، سطح آن افزایش‌یافته و وارد سرم می‌شود. تغییرات ALT نیز به‌موازات AST صورت می‌گیرد که میزان آن در بافت کبد بیشتر از سایر آنزیم‌هاست و اختصاصی‌ترین آنزیم برای کبد محسوب می‌شود [۸]. جایگاه ALP در غشای سلول بوده و در انتقال متابولیت‌ها از طریق غشای سلولی و چرخه اسید کربوکسیلیک برای تولید انرژی نقش ایفاء می‌کند. آنزیم ALP هیدرولیز طیف گسترده‌ای از استرهای اسید فسفریک را در محیط قلیایی (pH بهینه ۱۰) کاتالیز می‌کند [۹]. همچنین در ارزیابی نحوه عملکرد سلول‌های کبدی به‌عنوان تست‌های استاندارد مورداستفاده قرار می‌گیرد [۱۰]. این آنزیم‌ها در شرایط طبیعی درون سلول‌های کبدی جای دارند، اما با بروز آسیب در ناحیه کبد از سلول‌ها خارج و به جریان خون راه می‌یابند [۱۱]. فاکتورهای خونی ازجمله آنزیم‌ها از نشانگرهای زیستی حساس به عوامل آلاینده بوده و ابزار مهمی در تشخیص وضعیت سلامت فیزیولوژیک موجودات زنده هستند [۱۲]. امروزه بررسی پروفایل آنزیمی به‌طور گسترده‌ای برای تشخیص زودهنگام مسمومیت با فلزات سنگین مورداستفاده قرارگرفته می‌گیرد [۱۳]. هامورماهی لکه زیتونی منقوط با نام علمی *Epinephelus stoliczkae,* و نام عمومی epaulet grouper یکی از گونه‌های خانواده هامورماهیان است و پراکنش قابل‌ملاحظه‌ای در مناطق گرمسیری دارد [۱۴]. این‌گونه جزء ماهیان گوشت‌خوار است [۱۵] و در آب‌های دریای عمان در تمام طول سال به فراوانی یافت می‌شود. از گونه‌های مقاوم در شرایط آزمایشگاهی است و میزان مرگ‌ومیر این ماهی در شرایط تحت کنترل بسیار پایین است. بااینکه مطالعات متعددی در موردبررسی پروفایل آنزیم‌های کبدی ماهیان تحت تأثیر آلاینده‌های مختلف انجام‌شده است، اما میزان آنزیم‌های کبدی در گونه هامورماهی لکه زیتونی منقوط تاکنون گزارش نشده است. لذا تحقیق حاضر باهدف بررسی میزان تغییرات آنزیم‌های کبدی در پلاسمای هامورماهی لکه زیتونی منقوط دریای عمان تحت القای غلظت‌های مختلف دی‌کرومات پتاسیم در طی ۲۱ روز در شرایط آزمایشگاهی انجام پذیرفت. در این پژوهش تغییرات آنزیم‌های کبدی تحت تأثیر کروم موردبررسی قرار گرفت. تماس کبد با آلودگی‌ها برعکس آبشش مستقیم نبوده و از طریق جریان خون به کبد می‌رسند و اثری غیرمستقیم بر آن می‌گذارند. به دلیل نقش مهم کبد در ذخیره‌سازی و بیوترانسفرماسیون ترکیبات سمی و خنثی نمودن سمیت این ترکیبات و همچنین حساسیت بالای آن در اکثر مطالعات این اندام به‌عنوان اندام هدف موردبررسی قرار می‌گیرد [۱۶].

## مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام این آزمایش هامورماهی لکه زیتونی منقوط (۲۰۰ قطعه، طول کل ۲/۲±۲۹/۶ سانتی‌متر و وزن کل ۹۲/۴±۳۸۹/۵ گرم) به‌وسیله قلاب توسط صیادان محلی از دریای عمان صید گردید (شکل ۱). ماهیان صیدشده با استفاده از مخازن آب مجهز به پمپ هواده دستی به آزمایشگاه منتقل شدند و جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی به مدت ۱۴ روز در تانک‌های حاوی آب دریای فیلتر شده نگهداری شدند. در طی این مدت روزانه دو نوبت و به میزان دو درصد وزن بدن مورد تغذیه قرار گرفتند. برای انجام آزمایش‌های مربوطه از دی‌کرومات پتاسیم ($K_2Cr_2O_7$) ساخت شرکت مرک آلمان با درجه خلوص ۹۹/۷٪ استفاده شد. پس از انجام آزمایش تعیین غلظت کشندگی حاد ($LC_{50}$) برای فلز کروم[۱۷]، جهت اجرای آزمایش سمیت تحت کشنده سه تیمار از فلز کروم معادل ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد غلظت کشندگی حاد انتخاب گردید (تیمار اول= ۳/۶، تیمار دوم= ۷/۳۱، تیمار سوم=۱۴/۶ میلی‌گرم بر لیتر کروم). برای هر غلظت سه تکرار و یک شاهد در نظر گرفته شد (شکل ۲). فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب هر مخزن دو بار در طول روز بررسی شد تا شرایط موجود در مخازن ثابت باقی بماند. میانگین فاکتورهای شیمیایی در مخازن برابر بود با: شوری ۰/۰۵±۳۷ ppt، دما ۵ درجه سانتی‌گراد، pH ۸/۱ و اکسیژن محلول ۰/۰۵ ± ۶/۵ میلی‌گرم بر لیتر. شوری سنج چشمی مدل ATAGO، دماسنج دیجیتالی مدل Thermoworks و pH متر دیجیتالی مدل WTW 2A جهت اندازه‌گیری فاکتورهای مربوطه به کار گرفته شد. سی

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]

درصد آب مخازن، یک روز در میان جهت کنترل تجمع آمونیاک و مواد متابولیت دیگر با آب تازه تعویض گردید [۱۸]. ماهی‌ها به مدت ۲۱ روز در معرض کروم قرار گرفتند و در فاصله زمانی ۰/۵، ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از شروع آزمایش، به‌منظور اندازه‌گیری سطح آنزیم‌های کبدی (AST, ALT, ALP) از ساقه دمی ماهی‌ها نمونه خون تهیه شد. نمونه‌های خون به ظروف فاقد ماده ضد انعقاد انتقال داده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه جهت جداسازی سرم قرار گرفتند. سرم به لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد و تا زمان سنجش آنزیم‌ها در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سنجش میزان آنزیم‌های کبدی هامورماهی لکه زیتونی منقوط با استفاده از روش فتومتری و کیت تشخیص آنزیم پارس آزمون انجام شد. مقادیر هر آنزیم برحسب یونیت بر لیتر (U/L) گزارش گردید [۱۹]. داده‌های مربوط به هر اندازه‌گیری به‌صورت میانگین±خطای استاندارد بیان شد. مقایسه میانگین داده‌ها در هر تیمار با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA)و بررسی وجود اختلاف آماری معنی‌دار با استفاده از تست توکی در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام پذیرفت. اختلاف آماری بین داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵٪ ($P<0.05$) بررسی شد. نمودارهای مربوط به هر آنزیم در برنامه Microsoft Office Excel 2016 رسم گردید.

**شکل ۱: تصویر گونه هامورماهی لکه زیتونی منقوط (*Epinephelus stoliczkae*) در مطالعه حاضر**

**شکل ۲- نمایی از تانکهای فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری محل نگهداری ماهیها در آزمایش تست سمیت تحت کشنده**

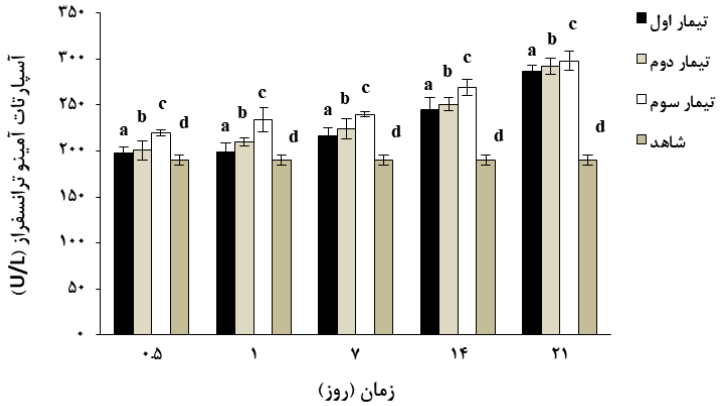
## نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های کبدی در هامورماهی لکه زیتونی منقوط تحت القای کروم در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که میزان آنزیم‌های کبدی باگذشت زمان از شروع آزمایش در تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است. به‌طوری‌که کمترین میزان آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) در تیمار اول و زمان ۰/۵ روز با مقدار ۶/۲۱U/L ±۱۹۸ ثبت شد. بیشترین مقدار آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]

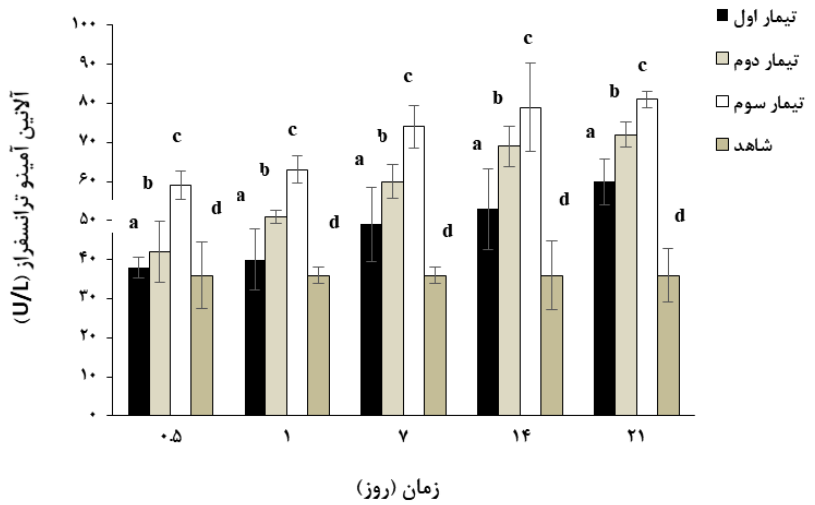
[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]

برابر با U/L ۱۰/۲۸±۲۹۸ ثبت شد که مربوط به تیمار سوم در روز ۲۱ آزمایش بود (شکل ۳). میزان این آنزیم در طول دوره القاء، در هر سه تیمار نسبت به گروه شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد (P<0.05).




**شکل ۳- سطوح آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) در سه تیمار تحت کشنده دی‌کرومات پتاسیم در طی مدت‌زمان ۲۱ روز در هامور ماهی لکه زیتونی منقوط**

نتایج مربوط به سنجش میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) نشان داد که بیشترین میزان این آنزیم در تیمار سوم و روز ۲۱ بوده است (۸۱±۲/۱۹U/L). همچنین کمترین میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در تیمار اول و زمان ۰/۵ روز ثبت شد (۳۸±۲/۵۶U/L). همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود میزان این آنزیم باگذشت زمان در هر سه تیمار نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است و نسبت به تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده گردید (P<0.05).

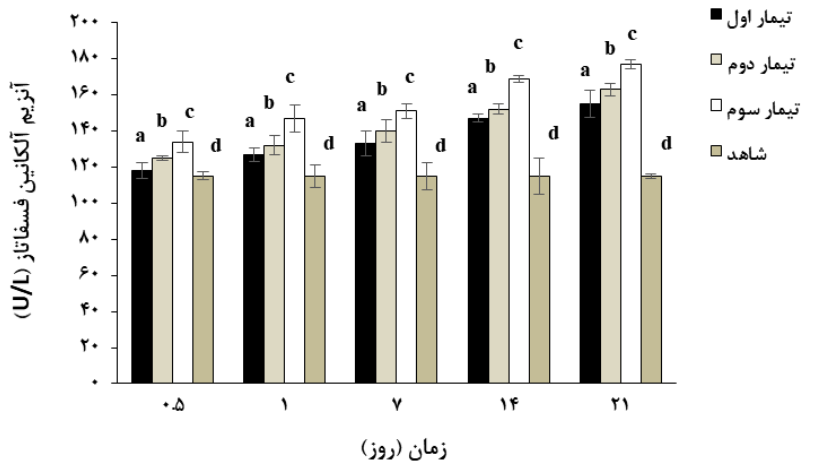



**شکل ۴- سطوح آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در سه تیمار تحت کشنده دی‌کرومات پتاسیم در طی مدت‌زمان ۲۱ روز در هامور ماهی لکه زیتونی منقوط**

نتایج حاصل از اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی در هامورماهی لکه زیتونی منقوط نشان داد که دامنه میزان آنزیم آلکانین فسفاتاز (ALP) در هامورماهی لکه زیتونی تحت القاء غلظت‌های تحت کشنده دی‌کرومات پتاسیم بین ۴/۲۱U/L± ۱۱۸ و ۲/۷۶U/L±

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]
[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]

۱۷۷ ثبت گردید که بیشترین میزان در تیمار سوم و روز ۲۱ و کمترین میزان در تیمار اول و ۰/۵ روز مشاهده شد (شکل ۵). میزان این آنزیم در طول دوره القاء، در هر سه تیمار نسبت به گروه شاهد افزایش یافت و اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد ($P<0.05$).




**شکل ۵- سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در سه تیمار تحت کشنده دی‌کرومات پتاسیم در طی مدت‌زمان ۲۱ روز در هامور ماهی لکه زیتونی منقوط**

## بحث

آنزیم‌ها یکی از نشانگرهای زیستی مهم هستند و اندازه‌گیری آن‌ها به‌عنوان یکی از ساده‌ترین و کم‌هزینه‌ترین روش‌های بررسی میزان آلاینده‌های مختلف در محیط‌زیست موجودات آبزی محسوب می‌شود [۲۰]. در این مطالعه به بررسی تغییرات سطوح آنزیم‌های کبدی در هامورماهی لکه زیتونی منقوط تحت تیمار سه غلظت متفاوت از دی‌کرومات پتاسیم پرداخته شد. نتایج نشان داد آنزیم‌های کبدی در مقابل افزایش غلظت دی‌کرومات پتاسیم و همچنین افزایش مدت‌زمان در معرض بودن، در پلاسمای ماهی افزایش می‌یابند. ازآنجاکه کبد عضو اصلی در سم‌زدایی بدن محسوب می‌شود، تجمع مواد آلاینده ازجمله فلزات سنگین سبب آسیب به سلول‌های کبدی شده و آزاد شدن آنزیم‌های کبدی در پلاسما را به دنبال دارد. تحقیقات متنوعی بر روی تأثیرات آلاینده‌ها و فلزات سنگین مختلف بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهیان انجام‌گرفته است و بیانگر این مطلب بوده‌اند که تغییر سطوح آنزیم‌ها در کبد می‌تواند به دلیل تخریب بافت کبد براثر استرس‌های ناشی از فلزات سنگین باشد به‌طوری‌که آلاینده‌ها می‌توانند سبب اختلالات اولیه در فعالیت آنزیم و درنهایت منجر به مرگ موجود شوند. Singh و همکاران (۲۰۱۲) [۲۱] میزان آنزیم‌های کبدی ماهی *Channa punctatus* را تحت القای سولفات مس در طول ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز بررسی کردند و بیان نمودند که میزان آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز باگذشت زمان از شروع القاء نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است. صادقی و همکاران (۱۳۹۵)[۲۲] با بررسی اثرات غلظت‌های تحت کشنده کلرید روی بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در شرایط آزمایشگاهی افزایش میزان آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینو ترانسفراز را به‌صورت معناداری با افزایش میزان غلظت کلرید روی مشاهده کردند و دریافتند طولانی شدن زمان در معرض گذاری سبب افزایش بیشتر هریک از این آنزیم‌ها به‌صورت معناداری نسبت به گروه کنترل می‌شود. نتایج پژوهش فوق با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. بررسی سطوح آنزیم‌های کبدی دارای ارزش تشخیصی مهمی است چراکه در شرایط طبیعی سطوح کمتری از این آنزیم‌ها در سرم خون وجود دارند اما در شرایط استرس همچون افزایش

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]
[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]

میزان فلزات سنگین در محیط‌زیست موجود، افزایش میزان آنزیم‌های کبدی نشانه‌ای از وجود آسیب‌دیدگی بافت کبد است [۲۳]. میزان آنزیم‌های کبدی در ماهی *Chnna punctatus* تحت تأثیر دو تیمار مختلف از آرسنیک در طی ۱۴ روز در معرض گذاری، افزایش معناداری را تا روز ۷ دوره القاء نشان داد. نتایج این مطالعه بیانگر افزایش معنادار آنزیم‌های کبدی با افزایش غلظت آرسنیک و میزان تخریب بافت کبد بود. بهبود تدریجی بافت آسیب‌دیده کبد سبب شد تا میزان این آنزیم‌ها نسبت به زمان غلظت بالای آلاینده و آسیب به بافت کبد کاهش معناداری را نشان دهد [۲۴]. در مطالعه‌ای که بر روی ماهی *Oreochromis niloticus* انجام شد، مشخص گردید که میزان آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در طی تیمار با غلظت‌های تحت کشنده مس افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل داشته است. علت این امر تخریب بافت کبد ناشی از اثرات مس و آزاد شدن آنزیم‌های کبدی در خون عنوان گردید [۲۵]. Abdel-Hamid در سال ۲۰۰۹ [۲۶] ماهی (*Clarias gariepinus*) را تحت تأثیر دو تیمار مختلف از آرسنیک قرارداد و میزان آنزیم‌های کبدی را پس از ۲۰ روز از شروع آزمایش اندازه‌گیری نمود. نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار میزان آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در پلاسمای ماهی بود. Akbary و همکاران (۲۰۱۸) [۲۷] به مطالعه میزان آنزیم‌های کبدی در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) تحت القاء دو غلظت تحت کشنده اکسید مس در شرایط آزمایشگاهی پرداختند و نشان دادند که میزان آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در پلاسمای ماهی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت که علت آن را تخریب بافت کبد ذکر کردند. نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر در هامورماهی لکه زیتونی منقوط مطابقت دارد. علاوه بر آسیب سلول‌های کبدی که می‌تواند یکی از دلایل اصلی افزایش آنزیم‌های کبدی در سرم خون ماهی باشد، افزایش گلوکونئوژنز جهت افزایش میزان انرژی در شرایط استرس که یکی از وظایف آنزیم‌های آمینوترانسفراز است، نیز از دلایل دیگر افزایش آنزیم‌های کبدی در القای آلاینده‌ها است [۲۸]. طی مطالعه صحرایی و همکاران در سال ۱۳۹۵ بر روی تغییرات عضله و آنزیم‌های کبدی ماهی کپور ماهی معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه‌شده با نانو ذرات اکسید آهن و روی میزان فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز نسبت به گروه شاهد به‌طور معناداری افزایش یافت [۲۹]. همچنین طی بررسی‌های بیشتر توسط Christ-Crain *et al.,* 2004 [۳۰] مشاهده شد که نانو ذرات اکسید آهن در غلظت‌های بالای سبب افزایش معنادار غلظت آلانین آمینوترانسفراز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می‌شود که این آنزیم اختصاصی کبد بوده و آسیب به سلول‌های این اندام سبب افزایش ترشح این آنزیم می‌شود. در صورت آسیب شدید هپاتوسیت‌های کبدی میزان آنزیم‌های کبدی در حدود ۸ ساعت بعد از شروع استرس افزایش می‌یابد و در طی ۲۴ تا ۳۶ ساعت به حداکثر میزان خود می‌رسد. در صورت ایجاد شرایط طبیعی و حذف عامل استرس‌زا بعد از ۳ الی ۶ روز مجدداً آنزیم‌ها به سطح طبیعی خود برمی‌گردند [۳۱].

Jakim و همکاران در سال ۱۹۷۰ [۳۲] تأثیر فلزات سنگین (سرب، مس، جیوه، بریلیم، کادمیوم و نقره) را بر پنج آنزیم کبدی در ماهی killifish *(Fundulus heteroelitus)* موردبررسی قراردادند. تأثیرات هر یک از فلزات بر هریک از آنزیم‌های موردمطالعه متفاوت بود و نشانگر این بود که فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌تواند به‌عنوان شاخص میزان قرار گرفتن ماهی در برابر فلزات سمی مورداستفاده قرار گیرد. این مطالعه نشان داد که ماهی در شرایط رو به وخامت‌تر ممکن است تغییرات آنزیمی بیشتری را نشان دهد. نکته قابل‌توجه این است که مس، قوی‌ترین مهارکننده گزانتین اکسیداز در شرایط آزمایشگاهی، فعالیت آنزیمی را در داخل بدن افزایش می‌دهد. طی مطالعه firat و همکاران (۲۰۱۱) [۳۳] در خصوص اثر فلزات سنگین سرب، مس و روی بر روی آنزیم‌های کبدی ماهی *Oreochromis niloticus* افزایش معنادار میزان آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز بعد از دو روز القاء آلاینده در این ماهی مشاهده گردید.

## نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در پلاسمای هامورماهی لکه زیتونی منقوط تحت غلظت‌های تحت کشنده دی‌کرومات پتاسیم، با افزایش غلظت آلاینده و مدت‌زمان در معرض بودن افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است. لذا به نظر می‌رسد می‌توان از آنزیم‌های کبدی به‌عنوان نشانگر زیستی آلودگی در محیط‌های طبیعی استفاده نمود که نسبت به سایر نشانگرها هزینه کمتری داشته و با سرعت بیشتری وضعیت سلامت اکوسیستم را تعیین می‌کنند.

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]

**تأییدیه اخلاقی:** کلیه موارد بهداشتی و حفظ حقوق جانوران قبل از نمونه‌برداری و در حین انجام کار رعایت شده است. همچنین تمام نویسندگان در انتشار اطلاعات مقاله حاضر اتفاق نظر دارند.

**تعارض منافع:** هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان این تحقیق وجود ندارد.

**سهم نویسندگان:** پروین صادقی (نویسنده اول)، پژوهشگر اصلی، نگارنده مقاله، تحلیلگر آماری (۶۰٪)، اسماء اسماعیل‌زاده آشینی (نویسنده دوم)، پژوهشگر کمکی (۴۰٪)

**منابع مالی/ حمایت‌ها:** منابع مالی توسط دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی تامین شده است.

## منابع

1-Naja GM, Volesky B (2009) Toxicity and Sources of Pb, Cd, Hg, Cr, As, and radionuclides in the environment. In:Wang LK, Chen JP, Hung YT, Shammas NK (eds) Heavy metals in the environment. CRC Press LCL, Boca Raton, pp 13–61.

2-Kaneko jj, Ralston NV. Selenium and mercury in pelagic fish in the central north pacific near Hawaii. Biological of Trace Element Research. 2007; 119(3): 242–254.

3-Subashini P, Manavalaramanujam R, Ramesh M, Geetha N. Changes in selected biomarkers in freshwater teleost fish*, Cyprinus carpio* var. communis exposed to sublethal concentrations of chromium sulphate toxicity. Journal of Environment Science Engineering. 2005; 47(3):65–68.

4-Velma V, Vutukuru SS, Tchounwou PB. Ecotoxicology of hexavalent chromium in freshwater fish: a critical review. Review on Environmental Health. 2009; 24(2): 129–145.

5-Sadeghi P, Kazerouni F, Savari A, Movahedinia A, Safahieh A, Ajdari D. Application of biomarkers in Epaulet grouper (*Epinephelus stoliczkae*) to assess chromium pollution in the Chabahar Bay and Gulf of Oman. Science of the Total Environment. 2015; 518: 554-56.

6-Hamzeh MA, Shah hosseini M, Naderi Beni A. Effect of fishing vessels on trace metal contamination in sediments of three harbors along Iranian Oman Sea coast. Environmental Monitoring and Assessment. 2013; 185:1791–1807.

7-Roy S. Bhattacharya S. Arsenic induced histopathology and synthesis of stress proteins in liver and kidney of *Channapunctatus.* Ecotoxicology and Environmental Safety. 2006; 65:218-229.

8-Battis Jr GN. The Enigma of Liver Enzymes: Transferases. Journal of Insurance Medecine. 1988; 20(2): 17-20.

9-Wright PJ, Plummer DT. The use of urinary enzyme measurement to detect renal damage caused by nephrotoxic compounds. Biochemical Pharmacology. 2005; 1974:12-65.

10-Pratt DS, Kapla MM. Evaluation of liver function In: Braunwald E, Kasper AS, Fauci AL (Eds). Harrison's principles of internal medicine, New York McGraw Hill. 2005; 1813-1817.

11-Orisakwe OE, Aaonne OJ, Chude MA, Obi E, Dioka CE. Subchronic toxicity studies of the aqueous extract of *Boerhavia diffusa* leaves. Journal of Health Science. 2003; 49(6):444-447.

12-Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2003; 13:57-149.

13-Mohamed AS, Gad NS, El Desoky MA. Liver Enzyme Activity of *Tilapia zillii* and *Mugil capito* Collected Seasonally from Qarun Lake, Egypt. Fisheries and Aquaculture Journal 2019; 10(1):1-5.

14-Paolo P. First record of the orange-sport the grouper *Epinephelus coioides* (Perciformes: Serranidae) in the northern Adriatic Sea. Cybium 2001; 25(3):281-284.

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]

15-Bombeo Tuburan I, Coniza EB, Rodriguez EM, Agbayani RF. Culture and economics of wild grouper (*Epinephelus coioides*) Using three feed types in ponds. Aquaculture. 2001; 201: 229-240.
16-Banaee M, Sureda A, Mirvaghefi AR, Ahmadi K. Effects of diazinon on biochemichal parameters of blood in blood in ranbow trout (Oncorhynchusmykiss). Pesticide Biochemistry and Physiology. 2011; 99:1-6.
17-Sadeghi P, Savari A, Movahedinia AA, Safahieh A, Ajdari D. Determination the Lethal Concentration ($LC_{50}$) of Potassium Dichromate and Behavioral Responses in Epaulet Grouper (*Epinephelus stoliczkae)*. Journal of Oceanography. 2014; 17 (9): 1-9. [in Persian].
18-Kavitha C, Malarvizhi A, Kumaran SS, Ramesh M. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. Food and Chemical Toxicology. 2010; 48:2848-2854.
19-Barzegarzadeh Zarandi H., Dabidy Roshan V. Changes in some liver enzymes and blood lipid level following interval and continuous regular aerobic training in old rats. Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences. 2012; 14(5): 13-23. [in Persian].
20- Niknimma, M. An introduction to aquatic toxicology. Academic press. Elsevier. 2014: 252P.
21-Singh D, Katiya S, Verma A. Role of copper sulphate on oxidative and metabolic enzymes of freshwater fish; Channa punctatus. Journal of Environmental and Analytical Toxicology. 2012; 2:121: 1-5.
22-Sadeghi P, Attaran Fariman G, Kaslekheh N. Evaluation the effects of sub-lethal concentrations of zinc chloride on the activity of liver enzymes in *Mugil Cephalus* in vitro. Journal of Aquatic Ecology. 2017; 6(4): 123-127. [in Persian].
23-Javed M, Usmani N. An Overview of the Adverse Effects of Heavy Metal Contamination on Fish Health. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Science. 2019; 89:389–403.
24-Roy S, Bhattacharya Sh. Arsenic-induced histopathology and synthesis of stress proteins in liver and kidney of *Channa punctatus*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2006; 65:218–229.
25-Oner M, Atli G, Canli M. Change in serum biochemical parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposure. Environmental Toxicology and Chemistry. 2008; 27(2): 360-366.
26-Abdel-Hamid NAH. A protective effect of calcium carbonate against arsenic toxicity of the Nile catfish *Clarias gariepinus*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science. 2009; 9: 191-200
27-Akbary P, Sartipi Yarahmadi S, Jahanbakhshi A. Hematological, hepatic enzymes' activity and oxidative stress responses of gray mullet (*Mugil cephalus*) after sub-acute exposure to copper oxide. Environmental Science and Pollution Research. 2018; 25: 1800–1808.
28-Atli G, Canli M. Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and Physiology. 2007; 145: 282-287.
29-Sahraei H, Hedayati SA, Marivani A, Rezaei L, Rezaei Kh. Envestaigation changes in common carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 muscle tissue and liver enzymes fed with iron and zinc oxide nanoparticles. Journal of Applied Fisheries Research. 2017; 5(2): 79-96. [in Persian].
30-Christ Crain M, Meier Cpuder J, Staub J, Huber P, Keller U. Changes in liver function correlate with the improvement of lipid profile after restoration of euthyroidism inpatients with subclinical hypothyroidism. Experimental and Clinical Sciences: International online Journal for Advances in Science 2004; 3:1-9.

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]
[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]

31-Radghar N. Interpretation of clinical biochemistry. Eil Arman Publications. 2017; 740P. [in Persian].
32-Jackim E, Hamlin J. M, Sonis S. Effects of metal poisoning on five liver enzymes in the killifish (*Fundulus heteroclitus*). Journal of the Fisheries Board of Canada. 1970; 27(2): 383-390.
33-Firat O, Cogun H.Y, Yüzereroğlu T.A, Gök G, FıratO, Kargin F, KötemenY. A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish Physiology and Biochemistry. 2011; 37(3):657-66.

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]

Journal of Fisheries Science and Technology
Special issue on Persian Gulf ecosystem
Volume 10 Issue 2 Spring 2021
Pages: 131-140

# Changes in liver enzyme levels under sub lethal concentrations of potassium dichromate in *Epinephelus stolitzkae*, Day 1875, of Oman Sea

**Parvin Sadeghi [1*], Asma Esmaeilzade Ashini[1]**

1. Department of marine biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

## A B S T R A C T

The aim of this study was to investigate the rate of changes in liver enzymes in the plasma of *Epinephelus stoliczkae* under the exposure of different concentrations of potassium dichromate during 21 days in vitro. 200 pieces of *Epinephelus stoliczkae* with average total length 29.6±2.2 cm and average total weight 389.5±92.4 g were caught from the Oman Sea. Three treatments of 3.6, 7.31 and 14.6 mg/L chromium (three replications and one control) were selected to sub-lethal toxicity test. The fish were exposed to chromium for 21 days and at 0.5, 1, 7, 14 and 21 days after the start of the experiment to measure the levels of liver enzymes aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline Phosphatase (ALP), blood was obtained from tail stems of fish. The amount of enzymes was measured using photometric method and values were expressed in U/L. The highest and lowest levels of liver enzymes in *Epinephelus stoliczkae* were: aspartate aminotransferase 198.16±6.21-298±10.28, alanine aminotransferase 38±2.56-81±2.19, alkanin phosphatase 118±4.21- 177±2.7U/L .Over time, the amount of liver enzymes in different treatments increased compared to the control group and showed a statistically significant difference ($P<0.05$). For all three liver enzymes, the highest amount was recorded in the third treatment and 21 day and the lowest in the first treatment and time of 0.5 days. In this experiment, liver enzymes increased in response to an increase of chromium concentration and duration of exposure, which could be due to damage the liver cells and release of liver enzymes into the plasma. In general, liver enzymes can be used as biomarkers of pollution in natural environments.

**KEYWORDS:** Aspartate aminotransferase, Alanine aminotransferase, Alkaline phosphatase, Liver, Fish, Oman Sea

**ARTICLE TYPE**
Original Research

**ARTICLE HISTORY**
Received: 19 February 2021
Accepted: 21 April 2021
ePublished: 31 May 2021

* Corresponding Author:
Email address: parvin.sadeghi@gmail.com
Tel: +98 5431272252
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.6.8 ]