



Evaluation of Environmental Pollution on Liver Tissue of *Pomadasys kaakan* and *Lutjanus johnii* in the Oman Sea

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Sadeghi P.^{*1} PhD,
Toutouni M.M.¹ PhD,
Molaei S.¹ MSc

How to cite this article

Sadeghi P, Toutouni M.M, Molaei S. Evaluation of Environmental Pollution on Liver Tissue of *Pomadasys kaakan* and *Lutjanus johnii* in the Oman Sea. Journal of Fisheries Science and Technology. 2019;8(4):221-228.

¹Marine Biology Department, Marine Sciences Faculty, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

*Correspondence

Address: Marine Biology Department, Marine Science faculty, Chabahar Maritime University, Shahid Rigi Boulevard, Chabahar- Shilat Square, Chabahar, Sistan and Baluchestan, Iran. Postal code: 9971756499
Phone: +98 (54) 31272252
Fax: +98 (54) 35324264
parvin.sadeghi@gmail.com

Article History

Received: December 9, 2019
Accepted: April 13, 2020
ePublished: June 10, 2020

ABSTRACT

Aims Histopathological study is one of the most appropriate ways to evaluate the effects of contaminants in aquatic organisms. The aim of the present study was to evaluate the histopathological changes and histopathological alternation index (HAI) in liver tissue of *Pomadasys kaakan* and *Lutjanus johnii* in the Oman Sea.

Materials & Methods In this study, 18 number *Pomadasys kaakan* and *Lutjanus johnii* were captured from 3 stations including Ramin, Konarak, and Haft-Tir by gillnet in winter 2016. In order to study the type and severity of tissue lesions, fixation stages in Bowen's solution, tissue processing in tissue processing device, paraffin impression, tissue sections 4-5 microns thickness with microtome, stained with hematoxylin and eosin were done for liver tissue of both fish species.

Findings Tissue lesions observed in fish livers included hepatocyte vacuolization, enlargement of sinusoid, adipose cell accumulation, blood congestion, nuclear pyknosis, hemorrhage, and necrosis. In addition, these tissue lesions were higher in Haft-Tir station and lower in Ramin station than in other stations. In Haft-Tir station, histopathological alternation index in liver tissue of both fish species were higher than other two stations.

Conclusion Due to the high traffic of the Haft-Tir dock and its close proximity to other docks in the area, the accumulation of pollutants at this station is high and lead to more severe tissue lesions in fish.

Keywords Liver; *Pomadasys kaakan*; *Lutjanus johnii*; Oman Sea

CITATION LINKS

[1] Heavy metal induced histopathological alterations in liver, muscle and kidney of ... [2] Organosomatic indices, haematological and histological assessment as biomarkers of ... [3] Determination of heavy metal (Nickel and Cadmium) concentrations in muscle and ... [4] Effect of heavy metal pollutants on fish population in two Egyptian ... [5] Trace metal concentration and fish size: Variation among fish species in a Mediterranean ... [6] Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and ... [7] Biochemical and (ultra) structural hepatic perturbations of *Brachydanio rerio* ... [8] An investigation of some biological aspects of, Javelin grunter, *Pomadasys kaakan*, in ... [9] The biological and morphological characteristics of southern fishes of ... [10] Geochemical investigation on the sources and influences of heavy metal pollution in ... [11] A GIS-based approach for detecting pollution sources and bioavailability of metals in ... [12] Polychaeta density changes in Chabahar Bay subtidal area with emphasis on the ... [13] Trace element concentrations, ecological and health risk assessment in sediment ... [14] Histopathological study and heavy metal lead and chromium bioaccumulation in gills ... [15] Histopathological effects by the accumulation of heavy metals copper and zinc in the ... [16] Histopathological study of the liver in abu mullet, Liza abu, and tigertooth croaker ... [17] assessment of contaminants effects on livers of yellowfin sea bream ... [18] Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney ... [19] Antioxidant responses, hepatic intermediary metabolism, histology and ultrastructure ... [20] Fish gills a monitor of sublethal and chronic effects of ... [21] The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution ... [22] Histopathological analysis of liver in fish (*Barbus meridionalis petenyi* Heckel) in ... [23] Impact of diffused pollution on histological and hematological properties of *Mugil cephalus* ... [24] Histopathological alterations of the gills, liver and kidneys in *Anabas testudineus* (Bloch) ... [25] Histopathological studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake ... [26] Histopathological study of gill and liver of Epaulet grouper ... [27] Some biochemical and pathological investigations on monosex ... [28] Accumulation of heavy metals in *Tilapia* fish (*Oreochromis niloticus*) from ...

بررسی اثرات آلودگی محیطی بر بافت کبد ماهیان سنگسر معمولی (*Pomadasys kaakan*) و سرخوی معمولی (*Lutjanus johnii*) در دریای عمان

پروین صادقی* PhD

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

محمدمنصور توتونی PhD

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

سیما مولایی MSc

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

چکیده

اهداف: مطالعه آسیب‌شناسی بافتی یکی از مناسب‌ترین راه‌های ارزیابی اثرات ناشی از آلاینده‌ها در موجودات آبی است. مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات بافتی و شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک (HAI) بافت کبد ماهیان سنگسر معمولی (*Pomadasys kaakan*) و سرخوی معمولی (*Lutjanus johnii*) در دریای عمان انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۱۸ قطعه ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی از سه ایستگاه رمین، کنارک و هفت تیر با استفاده از تور گوشگیر در زمستان ۱۳۹۵ صید شد. به‌منظور بررسی نوع و شدت ضایعات بافتی، بافت کبد هر دو گونه ماهی مراحل تثبیت بافتی در محلول بوئن، عمل‌آوری بافت در دستگاه عمل‌آوری بافت، قالب‌گیری با پارافین، برش‌گیری مقاطع بافتی به ضخامت ۵-۴ میکرون با میکروتوم و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین را گذراندند.

یافته‌ها: ضایعات بافتی مشاهده‌شده در کبد ماهیان شامل واکوئول‌شدن، هیپاتوسیت‌ها، اتساع سینوزوئیدها، تجمع سلول‌های چربی، احتقان خون، پیکنوزیس هسته، خونریزی و نکروز بودند. همچنین این ضایعات بافتی در ایستگاه هفت تیر بیشتر و در ایستگاه رمین کمتر از سایر ایستگاه‌ها مشاهده شد. شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد در ایستگاه هفت تیر در هر دو گونه ماهی بیشتر از دو ایستگاه دیگر بود.

نتیجه‌گیری: احتمال می‌رود به‌دلیل پرتددیون اسکله هفت تیر و فاصله نزدیک آن با اسکله‌های دیگر منطقه، میزان تجمع مواد آلاینده در این ایستگاه بالا بوده و سبب بروز عوارض شدیدتر بافتی در ماهیان شده است.

کلیدواژه‌ها: کبد، سنگسر معمولی، سرخوی معمولی، دریای عمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵

*نویسنده مسئول: parvin.sadeghi@gmail.com

مقدمه

سلامت اکوسیستم‌های آبی با ورود مجموعه‌ای از آلاینده‌ها به‌طور جدی در معرض خطر قرار دارد. فعالیت‌های ناشی از شیوه‌های مدرن کشاورزی، رشد سریع شهرنشینی و صنعتی‌شدن سبب افزایش میزان مواد شیمیایی مختلف در محیط‌های آبی می‌شود. آلاینده‌ها و سموم فاضلاب‌های صنعتی، آفت‌کش‌ها، فلزات سنگین و غیره در

نهایت به اکوسیستم‌های آبی می‌رسند و اثرات مخربی بر این محیط و موجودات آبی می‌گذارند و درنتیجه از طریق زنجیره غذایی به انسان منتقل و باعث ایجاد بیماری می‌شوند[1]. نشانگرهای زیستی معیارهای مهمی برای بررسی میزان تغییرات سلولی، بیوشیمیایی، مولکولی یا فیزیولوژیکی در یک موجود زنده هستند که می‌توانند قرارگرفتن در معرض آلاینده‌ها یا اثرات آلاینده‌های محیطی را نشان دهند[2].

دردسترس‌بودن محل زندگی و رژیم غذایی آبزیان، آنها را به‌عنوان شاخص‌های مطلوب برای غربالگری سلامتی اکوسیستم‌های آبی تبدیل کرده است. زیرا نمونه‌برداری، آماده‌سازی و آنالیز شیمیایی و بافتی نمونه‌ها برای موارد مختلف ساده‌تر و کم‌هزینه‌تر است[3]. ماهی به‌دلیل سرشاربودن از انواع مواد معدنی ضروری، ویتامین‌ها و اسیدهای چرب غیراشباع، از منابع مهم پروتئین برای انسان محسوب می‌شود و بنابراین کیفیت و سلامت آن حایز اهمیت است، چراکه ماهی می‌تواند با میزان وسیعی از آلاینده‌های شیمیایی پایدار در محیط‌زیست از جمله فلزات سنگین آلوده شود[4]. از آنجا که مواد آلاینده قابلیت تجمع در بافت‌های مختلف بدن ماهی را دارند، حضور آنها در محیط‌های آبی سبب تهدید پستانداران، پرندگان ماهی‌خوار و درنهایت انسان، از طریق زنجیره غذایی می‌شود[5].

تغییرات آسیب‌شناسی بافتی به‌عنوان نشانگر زیستی برای ارزیابی سلامت ماهیان در معرض آلاینده‌ها به کار می‌رود. مزیت عمده استفاده از چنین علایمی این است که می‌توان آنها را توسط اندام‌های خاصی مانند کبد، کلیه، روده و آبشش محیط‌زیست بررسی کرد. کبد به‌عنوان اندام سم‌زدا و به‌دلیل موقعیت، عملکرد و سیستم خون‌رسانی، یکی از اندام‌های آسیب‌پذیر در برابر انواع مختلف آلاینده‌ها است. روند تجمع و خنثی‌سازی در کبد به گونه‌ای است که تلاش می‌کند تا اثرات ناشی از مواد سمی را به حداقل برساند. تجمع آلاینده‌ها در کبد ماهی مکانیزم بسیار سریعی است که ممکن است علت آن وجود کانال یونی در کبد باشد که از طریق آن آلاینده‌ها می‌توانند به سلول‌ها وارد شوند و در آن تجمع یابند. از سوی دیگر جذب آلاینده‌ها مانند مس و کادمیوم به‌شدت با حضور پروتئین متالوتیونین در سیتوزول هیپاتوسیت‌ها مرتبط است. وقتی سنتز این پروتئین‌ها برای جداسازی تمام یون‌های فلز ورودی کافی نباشد، یون‌های آزاد می‌توانند آسیب کبدی ایجاد کنند و کمپلکس پروتئین فلزی با سیستم گردش خون به کلیه منتقل می‌شود[6]. کبد مهم‌ترین اندام بدن ماهیان از نظر فعالیت‌های سم‌زدایی در زمان مواجه‌شدن با آلاینده‌های محیطی است و بررسی فیزیولوژیکی و آسیب‌شناسی بافتی کبد یکی از مناسب‌ترین راه‌های مطالعه اثرات ناشی از آلاینده‌ها در آبزیان محسوب می‌شود[7].

ماهی سنگسر معمولی (*Pomadasys kaakan*) و ماهی سرخوی معمولی (*Lutjanus johnii*) از گونه‌های باارزش تجاری و اقتصادی در خلیج فارس و دریای عمان هستند. این دو گونه ماهی وابسته به بستر هستند و در آب‌های ساحلی گل‌آلود با بستر ماسه‌ای و گلی زندگی و از بی‌مهرگان کفزی و ماهی‌ها تغذیه می‌کنند[8,9].

بافتی مشاهده شده در کبد ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی از درجه صفر تا سه طبقه بندی شد (جدول ۲). درجه صفر، بدون تغییرات بافتی، درجه یک، تغییرات بافتی اندک، درجه دو، تغییرات بافتی متوسط و درجه سه تغییرات بافتی شدید را نشان می دهد [20]. در نهایت از رابطه ۱ برای تعیین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک (HAI) استفاده شد:

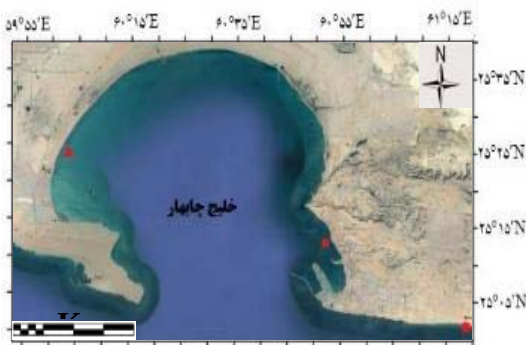
(۱)

$$HAI = (1 \times \Sigma I) + (10 \times \Sigma II) + (100 \times \Sigma III)$$

در این رابطه I، II و III نشان دهنده مراحل تغییرات بافتی و Σ گویای تعداد تغییرات بافتی هر مرحله است. مقادیر صفر تا ۱۰ شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک، عملکرد طبیعی اندام، ۱۱ تا ۲۰ آسیب اندک، ۲۱ تا ۵۰ آسیب متوسط، ۵۰ تا ۱۰۰ آسیب شدید و مقادیر بالای ۱۰۰ آسیب بسیار شدید و غیرقابل بازگشت اندام را نشان می دهند [20].

جدول ۱) مختصات جغرافیایی ایستگاه های نمونه برداری

ایستگاه	عرض جغرافیایی (N)	طول جغرافیایی (E)
رمین	۲۵°۲۰'۲۲"	۶۰°۱۶'۰۷"
کنارک	۲۵°۲۹'۵۵"	۶۰°۲۵'۱۳"
هفت تیر	۲۵°۱۸'۲۹"	۶۰°۱۶'۰۲"



شکل ۱) موقعیت ایستگاه های مورد مطالعه

جدول ۲) تغییرات هیستوپاتولوژیکی کبد؛ مرحله I: تغییرات بافتی اندک؛ مرحله II: تغییرات بافتی متوسط؛ مرحله III: تغییرات بافتی شدید [16]

مرحله آسیب	تغییرات هیستوپاتولوژیکی کبد
I	واکوئول شدن هپاتوسیت ها*، اتساع سینوزوئیدها*، افزایش سلول های ترشحی، تجمع سلول های چربی*، هیپرتروفی هسته
II	احتقان خون*، فساد ناحیه ای*، واکوئول شدن هسته، افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی
III	نکروز*، خونریزی*، پیکنوزیس هسته*

*آسیب های مشاهده شده در دو گونه مورد بررسی مطالعه حاضر

به منظور بررسی میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک و اختلاف این شاخص بین ایستگاه ها از نرم افزار SPSS 20 استفاده و اختلاف آماری در سطح اطمینان بالای ۹۵٪ بررسی شد ($p < 0.05$). نمودارها با استفاده از Excel 2010 رسم شدند.

دریای عمان به عنوان تنها دریای مرتبط با اقیانوس در ایران از اهمیت زیادی برخوردار است و به دلیل عبور و مرور کشتی های تجاری و همچنین افزایش توسعه صنایع در حوزه خلیج چابهار در معرض ورود انواع آلاینده ها قرار دارد. مطالعات متعددی که در سال های اخیر در این منطقه انجام گرفته، نشان دهنده افزایش میزان آلاینده هایی چون فلزات سنگین در این دریا است [10-13].

در خصوص بررسی محیطی تغییرات بافتی کبد ماهیان دریایی در آب های جنوبی ایران مطالعاتی انجام شده است که از جمله گونه های مورد بررسی می توان به ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) در خلیج چابهار [14]، خلیج پزم [15] و خلیج فارس [16]، ماهی بیاح (*Liza abu*) و شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) در خوربات ماهشهر (خلیج فارس) [17] اشاره کرد. اما اطلاعاتی در مورد آسیب شناسی بافت کبد ماهی سرخوی معمولی و سنگسر معمولی در دریای عمان وجود نداشت. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات بافت کبد ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی در ایستگاه های آلوده به فلزات سنگین در دریای عمان انجام شد.

مواد و روش ها

بر اساس مطالعات پیشین در مورد اندازه گیری میزان آلاینده های چون فلزات سنگین در خلیج چابهار و دریای عمان [10-13]، سه ایستگاه رمین، کنارک و هفت تیر با بار آلودگی نسبتاً بالا برای صید دو گونه ماهی سنگسر معمولی (میانگین طول کل $350 \pm 4/35$ سانتی متر و میانگین وزن کل $512/6 \pm 08/5$ گرم) و سرخوی معمولی (میانگین طول کل $22/5 \pm 3/4$ سانتی متر و میانگین وزن کل $205/6 \pm 22$ گرم) انتخاب شدند (جدول ۱). شکل ۱ موقعیت ایستگاه های نمونه برداری را نشان می دهد. ۱۸ قطعه از هر دو گونه مذکور با استفاده از تور گوشگیر در زمستان سال ۱۳۹۵ صید و نمونه ها بلافاصله پس از صید، برای مطالعات بافت شناسی به آزمایشگاه انتقال داده شدند. بافت کبد هر دو گونه ماهی در هر ایستگاه جداسازی و ابتدا در محلول بوئن تثبیت و پس از ۴۸ ساعت در الکل ۷۰٪ (تا زمان انجام آزمایشات بافت شناسی) ذخیره شد [18]. آماده سازی بافت به منظور مطالعات بافت شناسی (آبگیری، شفاف سازی و آغشتگی) به کمک دستگاه عمل آوری بافت مدل MK1420 (پویان؛ ایران)، تحت برنامه زمان بندی شده انجام شد. سپس از بافت کبد آماده شده دو گونه ماهی با استفاده از دستگاه میکروتوم مدل MK1110 (پویان؛ ایران) برش هایی با ضخامت ۵-۴ میکرون تهیه شد. به منظور تشخیص سلول ها و اجزای سلولی متمایز شده برای مطالعات میکروسکوپی، پس از قراردادن برش های بافتی روی لام میکروسکوپی، برش ها با روش هماتوکسیلین-اؤزین رنگ آمیزی شدند [19]. لام های تهیه شده از بافت کبد هر دو گونه ماهی با میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکس برداری دیجیتال Nikon Eclipse 50i (نیکون؛ ژاپن) با بزرگ نمایی $40\times$ مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور ارزیابی نتایج پاتولوژیک، تغییرات

یافته‌ها

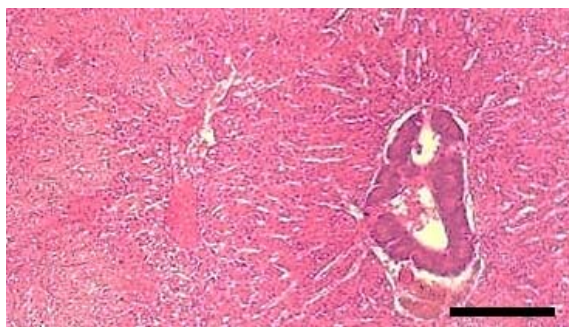
پس از بررسی میکروسکوپی مقاطع بافت کبد دو گونه ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی مشخص شد که نمونه‌های بافت کبد هر دو گونه ماهی در ایستگاه رمین نسبت به دو ایستگاه هفت‌تیر و کنارک عوارض کمتری را نشان دادند. بنابراین تعدادی از نمونه‌های بافت کبد هر دو گونه در ایستگاه رمین که بدون عارضه بودند به‌عنوان نمونه شاهد انتخاب شدند. در لام نمونه شاهد سلول‌های پارانشیم کبدی یا هپاتوسیت‌ها فضای سینوزوئیدی را احاطه و طناب‌های کبدی ایجاد می‌کنند. هپاتوسیت‌ها دارای اشکال و سیتوپلاسم یکنواخت بودند که هسته‌های نسبتاً گرد در مرکز آنها و هستک‌های مشخص در کنار هسته مشاهده شد (شکل ۲). در ادامه به شرح جزییات عوارض بافتی مشاهده‌شده در ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی در ایستگاه‌های مطالعاتی پرداخته می‌شود.

نتایج بررسی ضایعات بافتی کبد ماهی سنگسر معمولی در ایستگاه رمین عوارضی چون واکوئوله‌شدن هپاتوسیت‌ها، خونریزی و نکروز را نشان داد. همچنین اتساع سینوزوئیدها و فساد ناحیه‌ای به‌صورت تکه‌تکه در بافت مشاهده شد (شکل ۳). آسیب‌های بافتی مشاهده‌شده در بافت کبد ماهی سنگسر معمولی در ایستگاه رمین نسبت به ایستگاه هفت‌تیر کمتر بود. بررسی لام‌های بافتی کبد ماهی سرخوی معمولی در ایستگاه رمین ضایعات واکوئوله‌شدن هپاتوسیت‌ها، اتساع سینوزوئیدها، احتقان خون در سینوزوئیدها، فساد ناحیه‌ای و نکروز وسیع به همراه سلول‌هایی با پیکنوزیس هسته‌ای را نشان داد (شکل ۴). در این ایستگاه همانند ایستگاه هفت‌تیر نکروز وسیعی در بافت کبد سرخوی معمولی مشاهده شد. شدت ضایعات مشاهده‌شده در ماهی سرخوی معمولی در ایستگاه رمین بیشتر از ضایعات موجود در ماهی سنگسر معمولی در این ایستگاه بود.

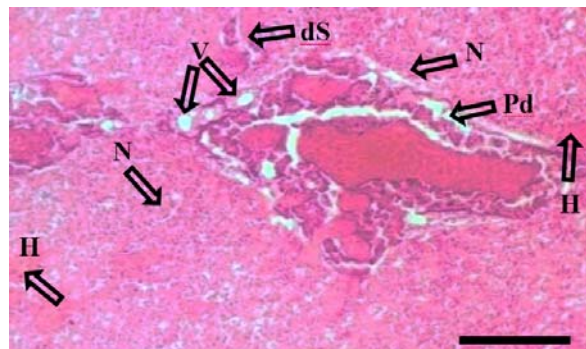
مقاطع بافتی تهیه‌شده از کبد ماهی سنگسر معمولی در ایستگاه کنارک ضایعاتی چون نکروز، خونریزی، واکوئوله‌شدن و سلول‌های چربی را نشان داد. تجمع سلول‌های چربی تنها در بافت کبد سنگسر معمولی در ایستگاه کنارک ثبت شد (شکل ۵). در بررسی مقطع بافتی تهیه‌شده از کبد ماهی سرخوی معمولی در ایستگاه کنارک آسیب‌های بافتی شامل نکروز به همراه سلول‌هایی با پیکنوزیس هسته‌ای، خونریزی و واکوئوله‌شدن هپاتوسیت‌ها بود. همچنین سینوزوئیدها دارای اتساع بودند و فساد ناحیه‌ای به‌صورت تکه‌تکه در بافت دیده شد (شکل ۶). شدت ضایعات بافت کبد ماهی در ایستگاه کنارک کمتر از ایستگاه هفت‌تیر و بیشتر از ایستگاه رمین بود.

مشاهدات میکروسکوپی بافت کبد ماهی سنگسر معمولی در ایستگاه هفت‌تیر ضایعاتی مانند نکروز وسیع به همراه سلول‌هایی با پیکنوزیس هسته‌ای و خونریزی را نشان داد. سینوزوئیدها دارای احتقان خون بودند و واکوئوله‌شدن هپاتوسیت‌ها و فساد ناحیه‌ای نیز مشاهده شدند. بافت کبد رو به نکروز پیش می‌رفت. در این

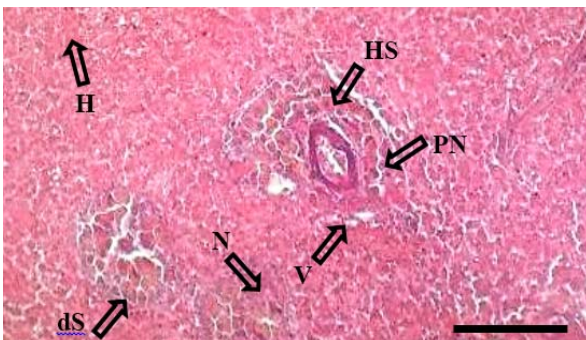
ایستگاه نکروز بیشتر از سایر ایستگاه‌ها در مقاطع بافتی وجود داشت و به دنبال آن پیکنوزیس هسته‌ای نیز به‌وفور مشاهده شد (شکل ۷). در بافت کبد ماهی سرخوی معمولی ایستگاه کنارک نیز ضایعاتی چون نکروز، خونریزی، پیکنوزیس هسته‌ای، اتساع سینوزوئیدها، احتقان خون، واکوئوله‌شدن هپاتوسیت‌ها و فساد ناحیه‌ای دیده شد (شکل ۸). بیشترین ضایعات در کبد ماهی سرخوی معمولی در ایستگاه هفت‌تیر بود که در این بین ضایعه نکروز بیشتر از بقیه ضایعات گزارش شد.



شکل ۲) نمونه شاهد بافت کبد ماهی سرخوی معمولی حاصل از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (مقیاس: ۱۰ میکرومتر)؛ سلول‌های کبدی سالم با هسته مرکزی و سیتوپلاسم یکنواخت مشاهده می‌شود (بزرگ‌نمایی ۴۰X).



شکل ۳) تصویر کبد سنگسر معمولی در ایستگاه رمین حاصل از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (مقیاس: ۱۰ میکرومتر) با بزرگ‌نمایی ۴۰X؛ N: نکروز؛ dS: اتساع سینوزوئیدها؛ H: خونریزی؛ Pd: فساد ناحیه‌ای؛ V: واکوئوله‌شدن



شکل ۴) بافت کبد سرخوی معمولی در ایستگاه رمین حاصل از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (مقیاس: ۱۰ میکرومتر) با بزرگ‌نمایی ۴۰X؛ N: نکروز؛ dS: اتساع سینوزوئیدها؛ H: خونریزی؛ PN: پیکنوزیس هسته‌ای؛ V: واکوئوله‌شدن؛ HS: احتقان خون در سینوزوئیدها

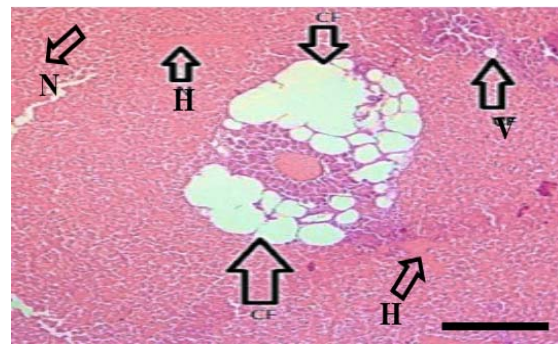
شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در نمونه‌های بافت کبد ماهیان سنگسر معمولی و سرخوی معمولی در ایستگاه‌های مختلف بررسی شد. نتایج این بررسی نشان داد که این شاخص در بافت کبد هر دو گونه ماهی در ایستگاه رمین، کنارک و هفت تیر با توجه به جدول دسته‌بندی از نوع ضایعات درجه سه و غیرقابل ترمیم و برگشت‌ناپذیر است که می‌تواند عملکرد طبیعی بافت و اندام را تحت تاثیر قرار دهد (نمودار ۱). در برخی از نمونه‌های بافت کبد هر دو گونه ماهی ایستگاه رمین ضایعات در حد بسیار کم و از دسته اول و برگشت‌پذیر مشاهده شد. آنالیز آماری شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک نشان داد که مقدار این شاخص در ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی در ایستگاه رمین و کنارک اختلاف آماری معنی‌داری ندارد ($p > 0.05$)، اما بین ایستگاه هفت تیر با دو ایستگاه رمین و کنارک اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$). الگوی شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد هر دو گونه ماهی در ایستگاه‌های مختلف به صورت رمین > کنارک > هفت تیر ثبت شد.



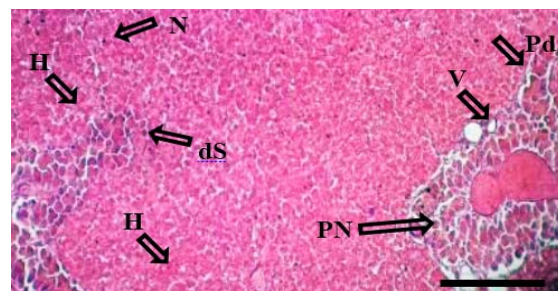
نمودار ۱ میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی در ایستگاه‌های نمونه‌برداری؛ حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار هستند ($p < 0.05$).

بحث

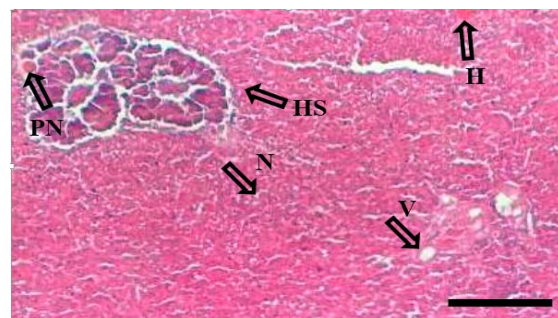
طی دو دهه گذشته انواع تغییرات هیستوپاتولوژیک در ماهی به عنوان شاخص‌های زیستی در نظارت بر آلودگی محیطی مورد استفاده قرار گرفته است. نشانگرهای زیستی قابلیت تشخیص تاثیرات ناشی از آلاینده‌های محیطی بر سیستم‌های زیستی موجودات زنده را دارند. برای شناسایی تاثیر مواد شیمیایی خاص در پیامدهای زیست‌محیطی اطلاعاتی در مورد تغییرات مولکولی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، هیستوپاتولوژیکی و پاسخ‌های جمعیتی به کار برده می‌شود. به طور کلی پاسخ‌ها در سطوح بیولوژیکی مثل واکنش‌های مولکولی و بیوشیمیایی خاص‌تر، حساس‌تر، قابل تکرارتر و آسان‌تر هستند. از سوی دیگر پاسخ‌ها در سطح بیولوژیکی بالاتر مثل جمعیت و پاسخ‌های اجتماعی به طور مستقیم نشان‌دهنده سلامت اکوسیستم‌ها هستند و از این رو از نظر مدیریت زیست‌محیطی اهمیت بیشتری دارند [21].



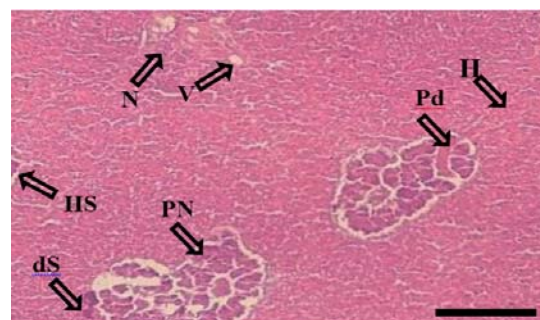
شکل ۵ بافت کبد سنگسر معمولی در ایستگاه کنارک حاصل از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (مقیاس: ۱۰ میکرومتر) با بزرگ‌نمایی ۴۰X؛ N: نکروز؛ CF: تجمع سلول‌های چربی؛ H: خونریزی خفیف؛ V: واکوئول‌شدن



شکل ۶ بافت کبد سرخوی معمولی در ایستگاه کنارک حاصل از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (مقیاس: ۱۰ میکرومتر) با بزرگ‌نمایی ۴۰X؛ PN: پیکنوزیس هسته‌ای؛ dS: اتساع سینوزوئیدها؛ Pd: فساد ناحیه‌ای؛ H: خونریزی خفیف؛ V: واکوئول‌شدن



شکل ۷ بافت کبد سنگسر معمولی در ایستگاه هفت تیر حاصل از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (مقیاس: ۱۰ میکرومتر) با بزرگ‌نمایی ۴۰X؛ PN: پیکنوزیس هسته‌ای؛ HS: احتقان خون در سینوزوئید؛ H: خونریزی خفیف؛ V: واکوئول‌شدن



شکل ۸ بافت کبد سرخوی معمولی در ایستگاه هفت تیر حاصل از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (مقیاس: ۱۰ میکرومتر) با بزرگ‌نمایی ۴۰X؛ PN: پیکنوزیس هسته‌ای؛ HS: احتقان خون در سینوزوئید؛ dS: اتساع سینوزوئیدها؛ Pd: فساد ناحیه‌ای؛ H: خونریزی؛ V: واکوئول‌شدن

معمولی و سرخوی معمولی با آلاینده‌های موجود در محیط این تغییرات در بافت کبد آنها ایجاد شده است. بلوچ^[15] اثرات هیستوپاتولوژیک ناشی از تجمع فلزات سنگین مس و روی را در کبد ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) در خلیج پُرم دریای عمان بررسی کرد که ضایعات هیستوپاتولوژیک مشاهده شده شامل افزایش مراکز ملانوماکروفاژی، پیکنوزیس هسته‌ای، نکروز و واکووله شدن هیاتوسیت‌ها بود. در این مطالعه مشخص شد ماهیانی که در ایستگاه‌های نزدیک به ساحل حضور دارند دارای ضایعات بافتی بیشتری در کبد هستند که این امر به دلیل آلودگی بیشتر این ایستگاه‌ها گزارش شد. نتایج این بررسی با مطالعه حاضر همخوانی دارد.

با توجه به اینکه نقش کبد در ماهی محلی، سم‌زدایی انواع سم‌ها و مواد شیمیایی است، ممکن است واکووله شدن هیاتوسیت‌ها بیانگر از بین رفتن تعادل بین سنتز مواد در این سلول‌ها و آزاد شدن آنها در سیستم گردش خون باشد^[27]. آسیب‌هایی مانند نکروز هیاتوسیت‌ها، پیکنوزیس هسته‌ای و خونریزی که در بافت کبد ماهی ثبت شده است، می‌تواند با غلظت آلاینده‌ها و مدت زمان طولانی قرارگرفتن ماهی در محیط با آلاینده‌ها بالا ارتباط مستقیمی داشته باشد. این آسیب‌ها در صورت وجود استرس ایجاد می‌شوند. اتساع رگ‌های خونی، خونریزی داخل این رگ‌ها، لخته در آنها با توقف جریان خون می‌توانند باعث دژنراس در سلول‌های کبدی و نکروز در بافت کبد شوند^[25]. در آسیب‌شناسی کبد، واکووله شدن هیاتوسیت‌ها در اثر دیستروپی لیپیدها به طور معمول ایجاد می‌شود. اعتقاد بر این است که ذخیره چربی کبدی یک مرحله پیش از نکروز است که در کبد ماهیانی که در معرض آلاینده‌های فلزات، عصاره‌های نفت خام و سایر آلاینده‌ها هستند، مشاهده شده است^[28].

بررسی بافت کبد ماهیان در مطالعه حاضر نشان داد که میزان ضایعات بافتی در ایستگاه هفت تیر در هر دو ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی بیشتر از سایر ایستگاه‌ها بود و در ایستگاه‌های کنارک و رمین تقریباً ضایعات هیستوپاتولوژیک به میزان برابر مشاهده شد. الگوی شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد هر دو گونه ماهی در ایستگاه‌های مختلف به صورت رمین > کنارک > هفت تیر بود. همچنین میانگین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در ایستگاه هفت تیر اختلاف آماری معنی‌داری با دو ایستگاه دیگر داشت ($p < 0.05$). با توجه به مطالعه وضعیت میزان حضور فلزات سنگین در منطقه خلیج چابهار و دریای عمان که طی سالیان اخیر انجام شده، افزایش میزان این آلاینده‌ها در دریای عمان رو به افزایش است^[10, 12, 13]. /قمانی^[12] در بررسی میزان تجمع فلزات سنگین در خلیج چابهار، بیشترین میزان تجمع فلزات سنگین را به ترتیب در اسکله‌های هفت تیر و شهید کلانتری گزارش کرد و دلیل آن را ساختار اسکله‌ها، بسته‌تربودن، تردد بالای کشتی‌ها و قایق‌های صیادی در این دو اسکله بیان کرد. همچنین حمزه و همکاران^[10] بیان کردند که آلاینده‌های مهم رمین می‌تواند

در بررسی بافت کبد ماهی‌های سنگسر معمولی و سرخوی معمولی در ایستگاه‌های کنارک، هفت تیر و رمین ضایعات هیستوپاتولوژی در بافت کبد به طور گسترده دیده شد که از جمله آنها نکروز، خونریزی، پیکنوزیس هسته‌ای، اتساع سینوزوئیدها، احتقان خون، فساد ناحیه‌ای، واکووله شدن و تجمع سلول‌های چربی بود. بیشترین ضایعات مشاهده شده در هر دو نوع ماهی مورد مطالعه در ایستگاه هفت تیر و کمترین ضایعات در بافت کبد آنها در ایستگاه رمین ثبت شد. همچنین بیشترین ضایعه نکروز و خونریزی بود که در همه ایستگاه‌ها مشاهده شد. بعد از آن واکووله شدن هیاتوسیت‌ها ثبت شد که غیر از ماهی سنگسر معمولی صید شده از ایستگاه کنارک در بقیه ایستگاه‌ها قابل مشاهده بود. ضایعه تجمع سلول‌های چربی تنها در بافت کبد ماهی سنگسر معمولی در ایستگاه کنارک گزارش شد. در مطالعه‌ای با بررسی اثر آلاینده‌های شهری روی کبد ماهی *Barbus meridionalis petenyi*، آسیب‌های پاتولوژیکی شامل نکروز سلول‌های پارانشیمی همراه با خونریزی در بافت کبد مشاهده شد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد^[22].

تایل و همکاران^[23] ضایعات کبدی در دو گونه از کفال‌ماهیان در مصر را به صورت نکروز در هیاتوسیت‌ها، رسوب هموسیدین در کبد و همولیز، خونریزی، ادم و تجمع خون در سینوزوئیدها گزارش کردند و نتیجه گرفتند تغییرات هیستوپاتولوژیک در هر دو ماهی ممکن است به دلیل نتیجه در معرض قرارگرفتن ماهی با کود، فاضلاب و آب زه‌کشی که به دریا وارد می‌شود، باشد. در مطالعه‌ای دیگر، ضایعات کبدی شامل خونریزی، پرخونی و نکروز سلول‌های کبدی همراه با وجود سلول‌های تک‌هسته‌ای در کبد ماهیان *Anabas tesudieus* که در معرض آب آلوده قرار گرفته بودند گزارش شد که نشان‌دهنده اثر سوء آلاینده‌ها بر بافت کبد ماهی است^[24].

کبد نقش مهمی در عملکرد حیاتی بدن موجودات زنده دارد و محل اصلی تجمع زیستی و دفع آلودگی‌ها در ماهی است. این اندام دارای نقش حیاتی در خنثی‌سازی و حذف سموم است و به این دلیل در برابر ابتلا به آسیب‌های پاتولوژیکی و متابولیکی حساسیت زیادی دارد. نقش مهم کبد در سوخت‌وساز سبب اهمیت این اندام در جذب و ذخیره مواد سمی محیطی شده است^[25]. کامران‌زاده و همکاران^[16] به بررسی ساختار کبد ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) در مواجهه با آلاینده‌های محیطی خور موسی پرداختند و بیان کردند که شدت ضایعات ایجاد شده در بافت کبد به میزان آلودگی محیط بستگی دارد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. صادقی و کوهکن^[26] به مطالعه هیستوپاتولوژیک آبشش و کبد هامور ماهی لکه‌زیتونی منقوط دریای عمان (*Epinephelus stoliczka*) تحت تاثیر کروم پرداختند که نتایج این مطالعه در بافت کبد ضایعاتی را نشان داد و دریافتند که هر چه مدت‌زمان قرارگرفتن ماهی در معرض آلاینده بیشتر باشد شدت ضایعات نیز بیشتر می‌شود. با توجه به نتایج مطالعه حاضر از جمله نکروز و خونریزی مشاهده شده در هر سه ایستگاه کنارک، رمین و هفت تیر می‌توان نتیجه گرفت که به دلیل در تماس بودن ماهی سنگسر

cultured *Clarias gariepinus*. Afr J Biomed Res Inst. 2017;20(2):189-94.

3- Obeidi R, Pazira AR, Ghanbari F, Moghdani S. Determination of heavy metal (Nickel and Cadmium) concentrations in muscle and liver tissues of (*Pomadasys kaakan*) in Bushehr seaport. Iran Fish Sci Res. 2017;26(1):55-66. [Persian]

4- El-Morshedi N, Alzahrani I, Kizilbash NA, Abdeen A, El-Shebbly AA, El-Berri A. Effect of heavy metal pollutants on fish population in two Egyptian Lakes. Int J Adv Res. 2014;2(1):408-17.

5- Merciai R, Guasch H, Kumar A, Sabater S, García-Berthou E. Trace metal concentration and fish size: Variation among fish species in a Mediterranean river. Ecotoxicol Environ Saf. 2014;107:154-61.

6- Rašković BS, Stanković MB, Marković ZZ, Poleksić VD. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. J Agric Sci. 2011;56(1):87-100.

7- Paris-Palacios S, Biagianti-Risbourg S, Vernet G. Biochemical and (ultra) structural hepatic perturbations of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) exposed to two sublethal concentrations of copper sulfate. Aquat Toxicol. 2000;50(1-2):109-24.

8- Azhir MT, Valinassab T, Jamalzadeh H. An investigation of some biological aspects of, Javelin grunter, *Pomadasys kaakan*, in Oman Sea along Sistan-O-Baluchistan province for optimizing fishing season. J Mar Biol. 2012;4(13):63-75. [Persian]

9- Sadeghi N. The biological and morphological characteristics of southern fishes of Iran. 1st Edition. Tehran: Naghshemehr; 2000. [Persian]

10- Hamzeh MA, Mahmudi Gharaie MH, Baskaleh G. Geochemical investigation on the sources and influences of heavy metal pollution in fishing harbours of ramin and beris. J Oceanogr. 2014;5(17):21-31. [Persian]

11- Keshavarzi B, Ebrahimi P, Moore F. A GIS-based approach for detecting pollution sources and bioavailability of metals in coastal and marine sediments of Chabahar Bay, SE Iran. Geochemistry. 2015;75(2):185-95.

12- Loghmani M. Polychaeta density changes in Chabahar Bay subtidal area with emphasis on the role of heavy metals (Cooper and Zinc). J Aquat Ecol. 2016;6(3):10-21. [Persian]

13- Sadeghi P, Loghmani M, Afsa E. Trace element concentrations, ecological and health risk assessment in sediment and marine fish *Otolithes ruber* in Oman Sea, Iran. Mar Pollut Bull. 2019;140:248-54.

14- Sadeghi P, Koohkan O, Khonyagar F. Histopathological study and heavy metal lead and chromium bioaccumulation in gills and liver of tigertooth croaker (*Otolithes ruber*) in the Gulf of Oman. Aquat Physiol Biotechnol. 2018;6(2):151-75. [Persian]

15- Balooch A. Histopathological effects by the accumulation of heavy metals copper and zinc in the liver of tigertooth croaker (*Otolithes ruber*) in Pozm Bay [Dissertation]. Chabahar: Chabahar Maritime University; 2018. [Persian]

16- Kamranzadeh F, Salamat N, Salari MA, Movahedinia A. Histopathological study of the liver in abu mullet, *Liza abu*, and tigertooth croaker, *Otolithes ruber*, from the Persian Gulf. J Exp Anim Biol. 2018;7(2):11-22. [Persian]

17- Soleymani Z, Salamat N. assessment of contaminants effects on livers of yellowfin sea bream (*Achantopagrus latus*) and Abu mullet (*Liza abu*) in Mahshahr creeks by

مربوط به تعمیر و نگهداری شناورهای صیادی در این اسکله نیمه‌بسته باشد که آلاینده‌های فلزات سنگین در این منطقه می‌تواند اثرات منفی متوسط تا شدیدی روی موجودات زنده داشته باشد. در مطالعه حاضر بیشترین مقدار آسیب‌های بافتی مربوط به ایستگاه هفت تیر بود که می‌تواند تاییدی بر مطالعات پیشین این منطقه در خصوص وجود آلاینده‌های محیطی باشد. اسکله هفت تیر محل تردد و پهلوگیری بسیاری از شناورهای تجاری و صیادی است و فاصله نزدیکی با دو اسکله مهم دیگر منطقه یعنی اسکله‌های شهید بهشتی و شهید کلانتری دارد. همین عوامل می‌تواند سبب بالارفتن میزان آلاینده‌ها در منطقه و به دنبال آن بروز اثرات مخرب زیستی در موجوداتی چون ماهیان شود.

نتیجه‌گیری

ضایعات بافتی کبد دو گونه ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی در ایستگاه هفت تیر بیشترین و در ایستگاه رمین کمتر از سایر ایستگاه‌ها بود. همچنین الگوی شاخص تغییرات هیستوپاتولوژیک در کبد هر دو گونه ماهی در ایستگاه‌های مختلف به‌صورت رمین <کنارک> هفت‌تیر ثبت شد. ضایعات هیستوپاتولوژیک در کبد گونه‌های مذکور احتمالاً به‌دلیل حضور آلاینده فلز سنگین که در مطالعات پیشین در این مناطق گزارش شده بود، است. از آنجایی که مطالعه کبد ماهی سنگسر معمولی و سرخوی معمولی برای اولین‌بار در دریای عمان انجام شده است، مطالعات بیشتر روی سایر ماهی‌ها و مقایسه نتایج به‌دست‌آمده با نتایج این مطالعه ضرورت دارد که از این طریق می‌توان به تاثیر آلاینده‌ها روی ماهی‌ها با تنوع تغذیه‌ای و زیستگاهی پی برد.

تشکر و قدردانی: از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار برای فراهم کردن شرایط انجام مطالعه حاضر در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد و همچنین از سرکار خانم مهندس ناصری مسئول آزمایشگاه اداره دامپزشکی چابهار تشکر و قدردانی می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

سهم نویسندگان: پروین صادقی (نویسنده اول)، نگارنده بحث/تحلیلگر آماری (۶۰٪)؛ محمد منصور توتونی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه (۲۰٪)؛ سیما مولایی (نویسنده سوم)، پژوهشگر اصلی (۳۰٪)

منابع مالی: این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار انجام شده است.

منابع

- 1- Kaur S, Khera KS, Kondal JK. Heavy metal induced histopathological alterations in liver, muscle and kidney of freshwater cyprinid, *Labeo rohita* (Hamilton). J Entomol Zool Stud. 2018;6(2):2137-44.
- 2- Adeniran A, Adeyemo OK, Emikpe BO, Alarape SA. Organosomatic indices, haematological and histological assessment as biomarkers of health status in feral and

diffused pollution on histological and hematological properties of *Mugil cephalus* and *Mugil capito* collected from lake Manzalah, Egypt. *Int J Environ Sci Eng*. 2014;5:51-67.

24- Saenphet S, Thaworn W, Saenphet K. Histopathological alterations of the gills, liver and kidneys in *Anabas testudineus* (Bloch) fish living in an unused lignite mine, li district, Lamphun province, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2009;40(5):1121-6.

25- Mohamed FA. Histopathological studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake Qarun, Egypt. *World J Fish Mar Sci*. 2009;1(1):29-39.

26- Sadeghi P, Koohkan O. Histopathological study of gill and liver of Epaulet grouper (*Epinephelus stoliczkae*) under the chromium effect. *J Aquat Physiol Biotechnol*. 2015;3(3):29-50. [Persian]

27- Soufy H, Soliman M, El-Manakhly E, Gaafa A. Some biochemical and pathological investigations on monosex *Tilapia* following chronic exposure to carbofuran pesticides. *Glob Vet*. 2007;1(1):45-52.

28- Al-Kahtani MA. Accumulation of heavy metals in *Tilapia* fish (*Oreochromis niloticus*) from AL-Khadoud spring, AL-Hassa, Saudi Arabia. *Am J Appl Sci*. 2009;6(12):2024-9.

Histopathological biomarkers. *J Mar Biol*. 2012;4(2):1-10. [Persian]

18- Velma V, Tchounwou PB. Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney of goldfish, *Carassius auratus*. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2010;698(1-2):43-51.

19- Liu XJ, Luo Z, Li CH, Xiong BX, Zhao YH, Li XD. Antioxidant responses, hepatic intermediary metabolism, histology and ultrastructure in *Synechogobius hasta* exposed to waterborne cadmium. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2011;74(5):1156-63.

20- Poleksic V, Mitrovic-Tutundzic V. Fish gills a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: Muller R, Lloyd R, editors. *Sublethal and chronic effects of pollutants of freshwater fish*. Oxford: Fishing News Books; 1994. pp. 339-52.

21- Au DW. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: A review. *Mar Pollut Bull*. 2004;48(9-10):817-34.

22- Velkova-Jordanoska LI, Kostoski G. Histopathological analysis of liver in fish (*Barbus meridionalis petenysi* Heckel) in reservoir Trebeništa. *Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici*. 2005;14(2):147-53.

23- Tayel SI, Ahmed NA, EL-Hossiny MA. Impact of