

آسیب‌شناسی بافتی غلظت‌های مختلف ترکیب نفتی پایرن (pyrene) در برخی اندام‌های حیاتی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شرایط آزمایشگاهی

سیده رویا علیایی^۱، عیسی شریف‌پور^{۲*}، علیرضا ریاحی بختیاری^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۲- دانشیار پژوهشی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران

۳- دانشیار، گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۵

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۴

*نویسنده مسئول مقاله: isharifpour@yahoo.com

چکیده:

تأثیر ترکیب نفتی پایرن بر اندام‌های آبشش، کلیه و کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با قرار دادن ۳۰ عدد ماهی (140 ± 10 گرم) در غلظت‌های تحت‌کشنده ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر در یک دوره ۳۵ روزه بررسی شد. از بافت‌های آبشش، کلیه و کبد ماهی‌ها نمونه‌برداری و در محلول بوئن تثبیت شدند. سپس نمونه‌ها مطابق روش استاندارد بافت‌شناسی آبیگری، شفاف‌سازی و پارافینه شده و با استفاده از میکروتوم از آنها مقاطع میکروسکوپی تهیه و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. آسیب‌های بافتی عمده در آبشش شامل، پرخونی، هایپرپلازی، S شکل شدن، چماقی شدن تیغه‌ها و در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ $\mu\text{g/l}$ هم‌جوشی و نکروز تیغه‌های آبششی مشاهده گردید. در بافت کبد واکوئولاسیون سلول‌های کبدی، پرخونی سینوزوئیدها، حضور ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین و در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ $\mu\text{g/l}$ سلول‌های کبدی حاوی هسته‌های پیکنوزه، کاریولیز شده و نکروزه مشاهده شدند. در بافت کلیه در غلظت ۱۰ $\mu\text{g/l}$ کست‌های ادراری، پرخونی، دژنره شدن توپول‌ها و در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ $\mu\text{g/l}$ ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین، دژنره شدن توپول‌ها با شدت بیشتر و نکروز در بخش‌های مختلف مشاهده گردید. نتایج بیانگر آثار منفی پایرن بر هوموستازی، سلامت ماهی و فعالیت اندام‌های حیاتی به‌واسطه تغییرات بافت‌شناسی می‌باشد که در بلند مدت و غلظت‌های بیشتر اثرهای شدیدتری را به‌وجود می‌آورد.

کلید واژگان: ماده نفتی پایرن، ماهی کپور معمولی، آسیب‌شناسی، آبشش، کبد، کلیه

مقدمه

پایرن با فرمول شیمیایی $C_{16}H_{10}$ یکی از مهم‌ترین هیدروکربن‌های آروماتیک چهار حلقه‌ای است که در محیط‌های آبی به‌طور گسترده یافت می‌شود و به‌عنوان آلاینده‌های زیست محیطی در مصب‌ها، مناطق ساحلی و تالاب‌ها یافت می‌شود (Oliveira et al., 2012). ترکیبات Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) منشأ گرفتن از هر دو منبع طبیعی و انسانی در همه محیط‌ها یافت می‌شوند. از مهم‌ترین منابع تولید این ترکیب در اکوسیستم‌های آبی می‌توان به نشت نفت خام در مراحل مختلف پالایش، انتقال و تولید سوخت‌های فسیلی، تخلیه آب توازن کشتی‌ها، پساب فاضلاب‌ها، خروجی صنایع و ته نشست‌های اتمسفری اشاره کرد (Effimoff, 2000). ارگانسیم‌های مختلف، از جمله ماهی، این غلظت‌های زیستی در محیط طبیعی را به‌طور مستقیم از آب جذب بدن می‌کنند (Vuorinen et al., 2006).

نکته مهم در اکثر مطالعات آن است که پایرن مانند دیگر آلاینده‌های آلی می‌تواند خطری جدی بر سلامت انسان و آبزیان داشته باشد. برای مثال این ترکیبات مختل‌کننده سیستم درون‌ریز بدن هستند (Costa et al., 2011)، اثرهای منفی روی سطوح زنجیره غذایی و شبکه‌های غذایی داشته (Navarro et al., 2012) و بر بافت اندام‌های درگیر در فعالیت‌های حیاتی بدن ماهی از قبیل آبشش، کبد و کلیه تأثیرهای مخربی می‌گذارند (Couillard et al., 2009).

ترکیبات PAH با وزن مولکولی بیشتر به‌دلیل افزایش میزان آب‌گریزی و تمایل به چربی دوستی، قابلیت تجمع بیشتری در بافت‌های بدن نسبت به ترکیبات با وزن مولکولی پایین‌تر که آبدوست‌تر هستند، دارند؛ در نتیجه آثار

بافت‌شناسی آنها بارزتر از ترکیبات با وزن مولکولی کمتر است (Aas et al., 2000).

آلاینده‌های مختلف باعث ایجاد آسیب‌های بافتی در اندام‌های ماهی‌ها می‌شوند که با تعیین این نوع آسیب‌ها، از آنها می‌توان به‌عنوان نشانگر زیستی برای بررسی وجود آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی استفاده کرد (Ribeiro et al., 2002). یکی از روش‌های کاربردی و معمول تعیین اثرهای آلاینده بر موجود زنده، مطالعات آسیب‌شناسی بافتی موجود زنده قرار داده شده در معرض آلاینده است که به درک واکنش‌های بیولوژیک رخ داده کمک می‌کند (Silva and Martinez, 2007). یکی از مزایای استفاده از شاخص‌های آن، مطالعه و بررسی اختصاصی اثرهای آلاینده بر اندام‌های هدف خاص مثل آبشش، کلیه و کبد است که مسئول اعمال حیاتی از جمله تنفس، دفع، تجمع و نقل و انتقال ترکیبات مضر (Xenobiotic) در ماهی می‌باشند (Gernhofer et al., 2001) و در اثر مواجهه با آلاینده‌های محیطی دچار آسیب‌های حاد و اغلب جبران ناپذیر می‌شوند. به همین دلیل نشانگرهای آسیب‌شناسی بافتی، روش علمی برای ارزیابی خطر زیست محیطی و به‌عنوان یک ابزار کارآمد و حساس برای نظارت بر سلامت ماهی‌ها و آلودگی محیط زیست طبیعی پیشنهاد می‌گردد (Stentiford et al., 2003).

به‌علت خطرهای بالایی که هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (به‌ویژه ترکیبات با تعداد حلقه بالاتر مانند پایرن) برای سلامت اکوسیستم دارد، برآورد اثرهای مخرب و آسیب‌های این ماده بر روی ماهیان اهمیت به‌سزایی دارد. بنابراین تلاش شده است تا تأثیر غلظت‌های تحت کشنده پایرن در طولانی مدت بر روی برخی اندام‌های حیاتی ماهی کپور معمولی بررسی شود.

مواد و روش‌ها

ماهی

۳۰ عدد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، با وزن تقریبی 140 ± 10 گرم از مزرعه پرورش ماهیان گرمابی واقع در فریدونکنار تهیه شد. ماهیان ابتدا به کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان واقع در دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس، واقع در شهرستان نور منتقل شدند. طی گذراندن دو هفته سازگاری، ماهیان هر روز یک نوبت به صورت دستی غذادهی شدند. ماهیان در مخازن ۳۰۰ لیتری فایبرگلاس حاوی ۱۰۰ لیتر آب شهری کلرزدایی و هوادهی شده با دمای $26 \pm 2^\circ\text{C}$ و $\text{pH } 7.6-8.3$ قرار داده شدند و طول دوره روشنایی به تاریکی ۱۲ به ۱۲ ساعت در نظر گرفته شد.

قرار گرفتن ماهی‌ها در معرض پایرن

تیمارهای آزمایشی در ۵ گروه به ترتیب شامل ۰/۰۰۵ درصد استون (کنترل حلال)، آب کلرزدایی شده (کنترل آب) و ۳ گروه تیمار شامل غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر پایرن طبقه‌بندی شده و در هر مخزن ۶ عدد ماهی با ۳ تکرار قرار داده شد. ۴۸ ساعت پیش از شروع دوره آزمایشی، غذادهی قطع گردید و در طی دوره آزمایشی غذادهی انجام نشد. طول زمان قرارگیری ماهی‌ها در معرض پایرن، ۳۵ روز در نظر گرفته شد. تعویض آب هر ۴۸ ساعت یکبار صورت پذیرفت و پس از هر بار تعویض، غلظت‌های مورد نظر پایرن به مخازن افزوده شد.

بافت‌شناسی

در پایان آزمایش ۳۵ روزه، از هر مخزن ۴ عدد ماهی به صورت تصادفی انتخاب شد. پس از بیهوش کردن با پودر گل میخک (غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر)، بافت‌های آبشش، کلیه و کبد ماهیان برداشته شده و به

مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن^۱ تثبیت شدند. پس از آن چندین مرتبه با الکل ۷۰ درصد شستشو شدند. سپس با سری‌های اتانول‌های ۸۵، ۹۵ و ۱۰۰ درصد و در نهایت با الکل بوتانول آبیگری شدند. نمونه‌ها پس از قرارگیری در گزیلن به مدت ۳ ساعت، پارافینه شدند و در نهایت نمونه‌ها با پارافین مرک قالبگیری شدند. سپس به روش استاندارد بافت‌شناسی، از قالب‌ها به وسیله میکروتوم دوار برش‌هایی به ضخامت ۳-۵ میکرون تهیه و روی لام قرار داده شدند. برای مطالعه ساختار بافت‌شناسی اندام‌های حیاتی لام‌ها به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری مدل (Nikon 3200) مطالعه و با دوربین (Olympus DP72) عکس‌برداری شدند (Khodabandeh and Ghanizadeh., 2010).

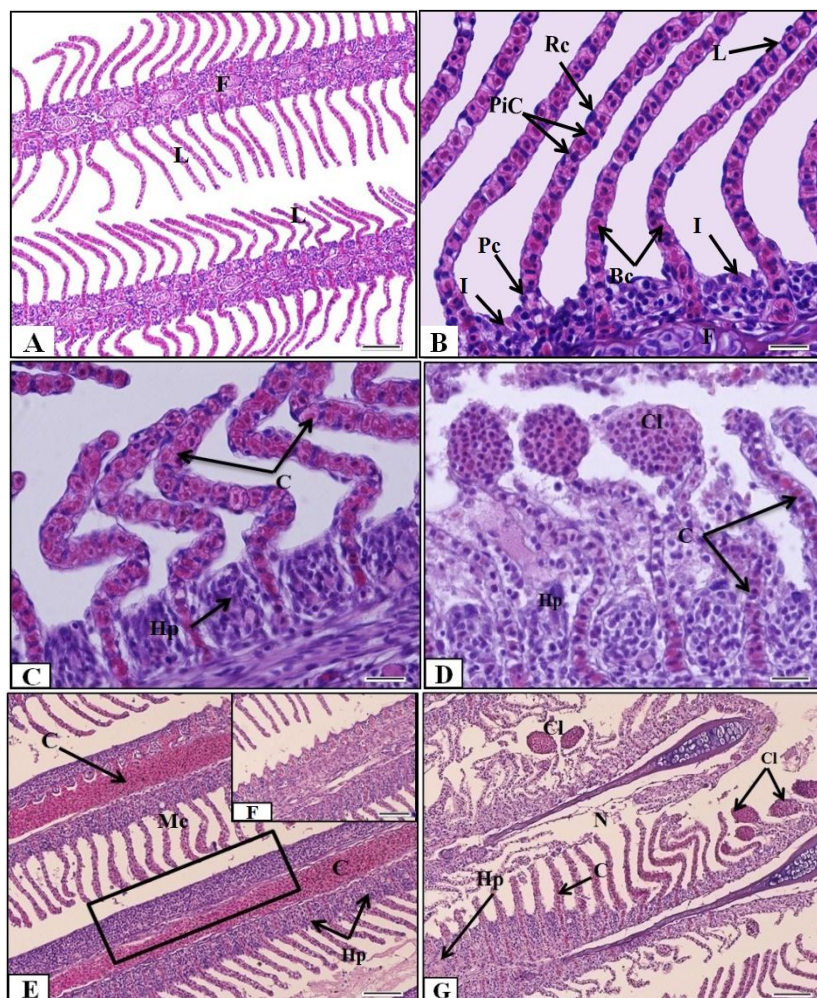
نتایج

نتایج هیستوپاتولوژی آبشش: در تیمار $10 \mu\text{g/l}$ پایرن، بیشترین علائم قابل ملاحظه شامل هایپرپلازی سلول‌های فیلامنت‌ها، پرخونی و S شکل شدن تیغه‌های ثانویه بود. در تیمار $50 \mu\text{g/l}$ هایپرپلازی سلول‌های فیلامنت‌ها همچنین ناهنجاری‌هایی همچون بدفرمی تیغه‌ها مشاهده گردید. پرخونی، هجوم و تجمع سلول‌های خونی به تیغه‌ها و چماقی شدن انتهای تیغه‌ها و هم‌جوشی تیغه‌های ثانویه دیده می‌شود. در تیمار $100 \mu\text{g/l}$ پرخونی رشته‌های اولیه و ثانویه با شدت بیشتری دیده می‌شود، کنده شدن و افتادن تیغه‌ها، چماقی شدن، کوتاه شدن طول تیغه‌ها، حضور سلول‌های موکوسی و هایپرپلازی سلول‌های پوششی

۱. این ترکیب شامل ۷۵ درصد اسید پیکریک اشباع شده، ۲۰ درصد فرمالدهید و ۵ درصد اسید استیک گلاسیال است.

فیلامنت‌ها و تیغه‌ها، که در نهایت موجب هم‌جوشی تیغه‌ها می‌شود، قابل مشاهده است. چماقی شدن، S شکل شدن تیغه‌های ثانویه، هایپرپلازی و هم‌جوشی قسمتی از تیغه‌ها، نکروز تیغه‌ها و به دنبال آن ریزش سلول‌ها به فضای بین

فیلامنت‌ها و تیغه‌ها، که در نهایت موجب هم‌جوشی تیغه‌ها می‌شود، قابل مشاهده است. چماقی شدن، S شکل شدن تیغه‌های ثانویه، هایپرپلازی و هم‌جوشی قسمتی از تیغه‌ها، نکروز تیغه‌ها و به دنبال آن ریزش سلول‌ها به فضای بین



شکل ۱ بخش‌های مختلف آبشش ماهی کپور معمولی (H&E)

فیلامنت، (c) پرخونی لاملاها و S شکل شدن لاملاها مشاهده شده است (40x). در شکل (D) آبشش در تیمار $50 \mu\text{g/l}$ ، چماقی شدن انتهای لاملاها (Cl)، هایپرپلازی فیلامنت‌ها (Hp)، پرخونی (C) قابل مشاهده است (40x). در شکل‌های (E و F) آبشش در تیمار $100 \mu\text{g/l}$ ، پرخونی شدید در رشته‌های اولیه و ثانویه،

در شکل‌های (A و B) نمونه شاهد و کنترل حلال شامل بخش‌های (L) تیغه، (F) فیلامنت، (PiC) سلول پیلار، (PC) سلول‌های پوششی، (I) یونوسایت یا سلول کلراید، (Rc) سلول‌های تنفسی و (Sc) سلول خونی دیده می‌شود. در شکل (C) آبشش تیمار شده با غلظت $10 \mu\text{g/l}$ پایرن، (Hp) هایپرپلازی سلول‌های

کنده شدن و افتادن لاملاها (مستطیل)، چماقی شدن، چماقی شدن، پرخونی لاملاها، S شکل شدن لاملاها، هایپرپلازی و هم‌جوشی قسمتی از لاملا و نکروز لاملا سلول‌های پوششی لاملا و کوتاه شدن طول لاملاها، (G) (N) قابل مشاهده است (40x).

جدول ۱ خلاصه اثرهای آسیب بافتی پیرن در بافت آبشش ماهی کپور معمولی

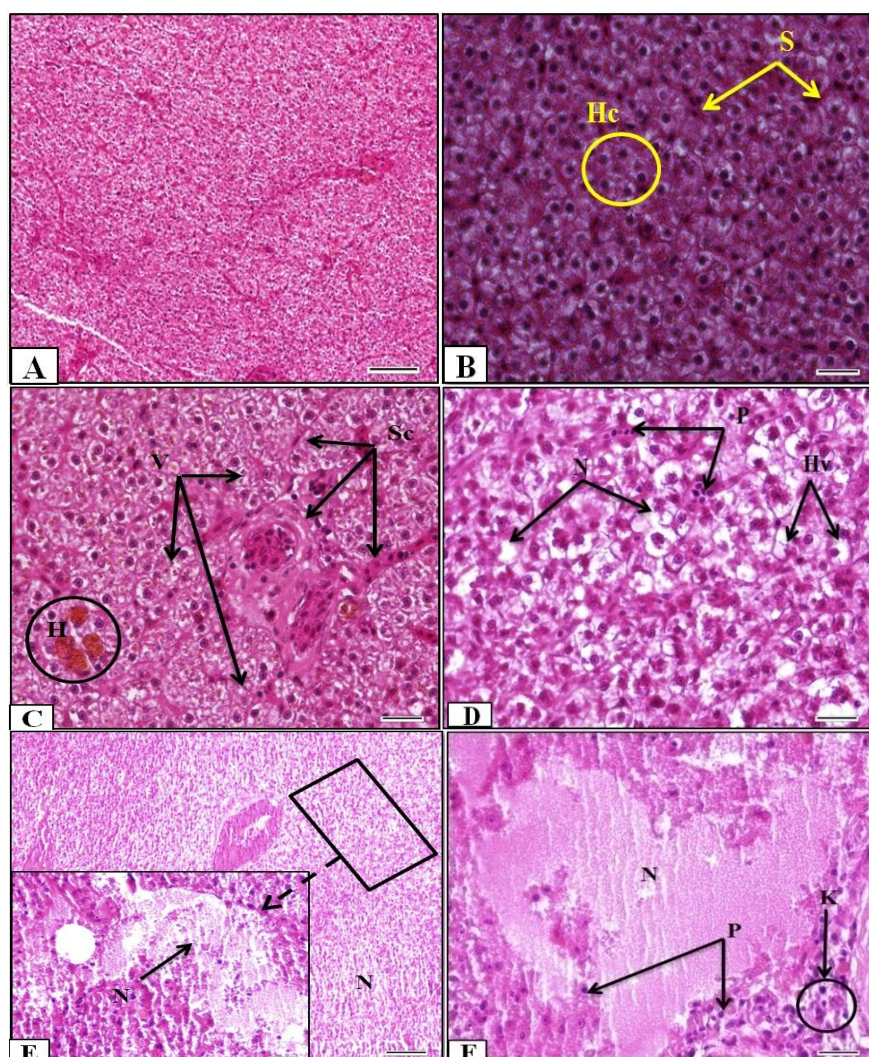
آسیب	پر خونی رشته‌های اولیه و ثانویه	هایپرپلازی	S شکل شدن لاملای ثانویه	چماقی شدن	چسبیدگی لاملاهای ثانویه	افتادگی و کوتاه شدن لاملا	نکروز لاملا	تیمار
شاهد	+	+	-	-	-	-	-	
کنترل	+	+	-	-	-	-	-	
۱۰ µg/l	++	++	+	+	-	-	-	
۵۰ µg/l	++	+++	+	++	+	-	-	
۱۰۰ µg/l	+++	+++	++	+++	++	++	++	

نبود اثرهای آسیب بافتی (-)، کم (+)، متوسط (++)، زیاد (+++)

سینوزوئیدها (S) (10X) (40X). شکل (C) کبد تیمار شده با غلظت ۱۰ µg/l پیرن، ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین (H)، واکوئولاسیون سلول‌های کبدی (V) و پرخونی سینوزوئیدها (Sc) دیده می‌شود. در شکل (D) کبد تیمار شده با غلظت ۵۰ µg/l پیرن واکوئولاسیون شدید، حضور هسته‌های پیکنوزه (P) و نکروز (N) مشهود است (40X). در شکل‌های (E و F) کبد تیمار شده با غلظت ۱۰۰ µg/l پیرن واکوئولاسیون و دژنراسیون شدید هپاتوسیت‌ها، ازهم گسیختگی بافت‌ها، پیکنوزه شدن (P) و کاریولیز هسته‌های هپاتوسیت‌ها (K) و نکروز (N) شدید بافت دیده می‌شود (10X) (40X).

نتایج هیستوپاتولوژی کبد: در تیمار ۱۰ µg/l پیرن، رنگ‌دانه هموسیدرین، پرخونی بافت کبدی در نتیجه تجمع خون در فضای سینوزوئیدی و وریدهای کبدی و نیز واکوئولاسیون سلول‌های کبدی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد. در تیمار ۵۰ µg/l ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین نیز افزایش یافته (تصاویر بزرگ‌نمایی شده در این تیمار) علاوه بر واکوئولاسیون شدید، حضور هسته‌های پیکنوزه و نیز نکروزه شدن بافت کبد مشاهده شد. در تیمار ۱۰۰ µg/l پیرن، واکوئولاسیون و دژنراسیون شدید هپاتوسیت‌ها، ازهم گسیختگی بافت‌ها، پیکنوزه و کاریولیز شدن هسته سلول‌ها و نکروز کامل هپاتوسیت‌ها مشاهده گردید (شکل ۲). خلاصه علائم مشاهده شده در جدول ۲ آمده است.

در شکل‌های (A و B) بخش‌های مختلف کبد در ماهی کپور شاهد و کنترل حلال شامل هپاتوسیت‌ها (Hc) و



شکل ۲ تصاویر بخش‌های مختلف کبد ماهی کپور معمولی (H&E)

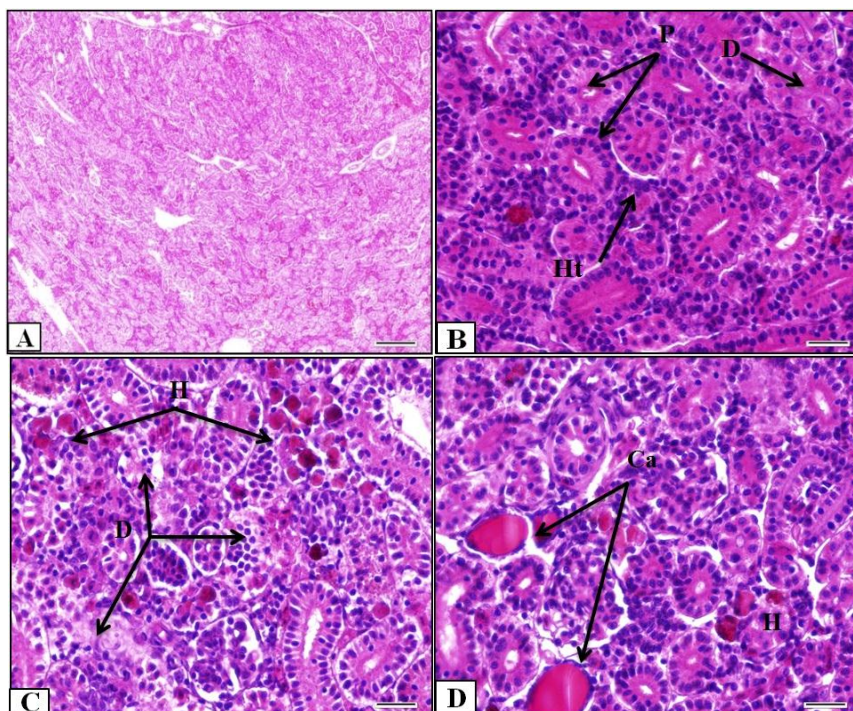
جدول ۲ خلاصه اثرهای آسیب بافتی پیرن در بافت کبد ماهی کپور معمولی

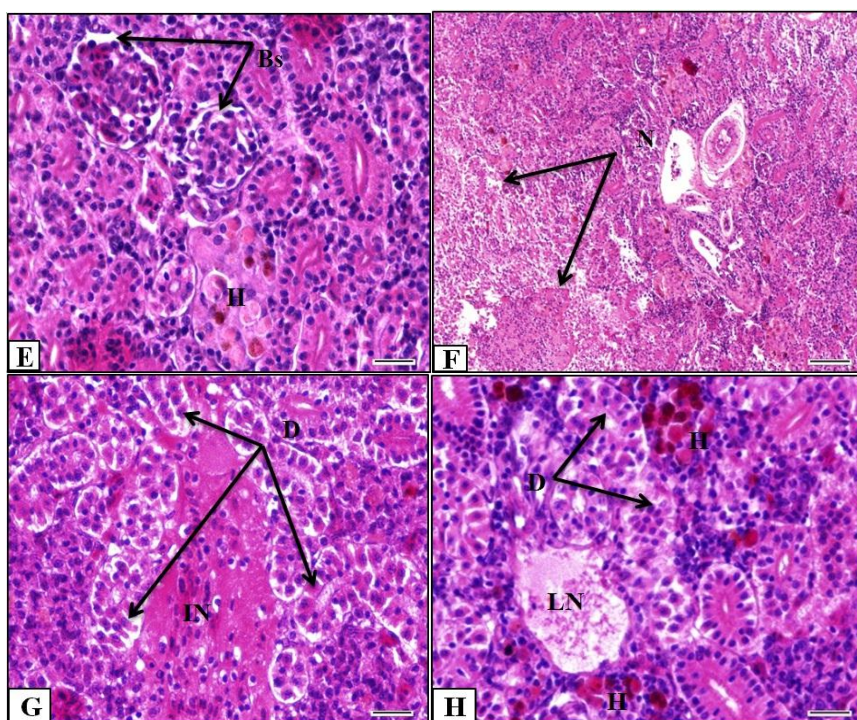
آسیب تیمار	پرخونی عروق کبدی	اتساع سینوزوئیدها	تجمع ملانوماکروفاژها	واکوئل شدن هپاتوسیت‌ها	پیکنوزه شدن	کاریولیز	نکروز
شاهد	+	-	-	+	-	-	-
کنترل	+	-	-	+	-	-	-
۱۰ µg/l	+++	++	++	++	-	-	-
۵۰ µg/l	+	-	++	+++	++	-	++
۱۰۰ µg/l	-	-	-	+++	+++	++	+++

نمود اثرهای آسیب بافتی (-)، کم (+)، متوسط (++)، زیاد (+++)

شدید، دژنره شدن سلول‌های اپیتلیال توبول‌های کلیوی با شدت بیشتری دیده شد و در برخی قسمت‌ها، نکروزه شدن بافت کلیه نیز مشاهده گردید. در تیمار $100 \mu\text{g/l}$ خونریزی شدید، دژنره شدن لوله‌های کلیوی و اتساع فضای بومن، علاوه بر ملانوماکروفاژهای حاوی هموسیدرین، نکروز بافت بینابینی و نکروز کانونی در این تیمار آزمایشی مشاهده گردید (شکل ۳). خلاصه علائم مشاهده شده در جدول ۳ آمده است.

نتایج هیستوپاتولوژی کلیه: در تیمار $10 \mu\text{g/l}$ پراکندگی ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین و دژنراسیون لوله‌های کلیوی، پرخونی در ناحیه بینابینی کلیه در بعضی قسمت‌ها و حضور کیت‌های ادراری که در واقع تجمع مواد پروتئینی در لوله‌های ادراری است، در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد. در تیمار $50 \mu\text{g/l}$ پرخونی گلودرول‌ها، اتساع فضای بومن، مراکز تجمع ملانوماکروفاژهای حاوی هموسیدرین و پرخونی





شکل ۳ بخش‌های مختلف کلیه ماهی کپور معمولی (H&E)

تیمار شده با غلظت $50 \mu\text{g/l}$ پیرن، اتساع فضای بومن، مراکز تجمع ملانوماکروفاژهای حاوی هموسیدرین، نکروزه شدن بافت کلیه مشهود است ($40\times$). در شکل‌های (G و H) کبد تیمار شده با غلظت $100 \mu\text{g/l}$ پیرن، ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین، دژنره شدن لوله‌های کلیوی، نکروز بافت بینابینی (IN) و نکروز کانونی (LN) در تیمار قابل مشاهده است ($40\times$).

در شکل‌های (A و B) بخش‌های مختلف کلیه در ماهی کپور معمولی تیمار شاهد و حلال، لوله‌های پروگزیمال (P)، دیستال (D) و بافت خون‌ساز (Ht) ($10\times$) ($40\times$) دیده می‌شود. در شکل‌های (C و D) کبد تیمار شده با غلظت $10 \mu\text{g/l}$ پیرن، ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین (H) و دژنراسیون لوله‌های کلیوی (D) و کست‌های ادراری (Ca) مشاهده می‌شود ($40\times$). در شکل‌های (E و F) کبد

جدول ۳ خلاصه اثرهای آسیب بافتی پیرن در بافت کلیه ماهی کپور معمولی

تیمار	آسیب	ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین	دژنراسیون لوله‌های کلیوی	اتساع کپسول بومن	خونریزی	پرخونی	کست‌های ادراری	نکروز
شاهد	-	-	-	-	-	+	-	-
کنترل	-	-	-	-	-	+	-	-
$10 \mu\text{g/l}$	++	++	+	-	-	++	++	-
$50 \mu\text{g/l}$	+++	+++	+++	++	-	+++	-	+
$100 \mu\text{g/l}$	+++	+++	+++	++	+++	++	-	+++

نمود اثرهای آسیب بافتی (-)، کم (+)، متوسط (++)، زیاد (+++)

بحث

نتایج حاکی از آن است که با افزایش غلظت پایرن، قطر تیغه‌ها و رشته‌های آبششی افزایش می‌یابد. این افزایش قطر ممکن است به چند دلیل عمده از جمله، هیپرتروفی لاملاهای ثانویه، هایپرپلازی سلول‌ها در سطح رشته و تیغه‌های آبششی، پرخون شدن رشته‌ها و تیغه‌های آبششی و رخداد آنیورسم باشد. تغییرات آبششی مشاهده شده در این تحقیق با آسیب‌های گزارش شده از سوی Spies و همکاران، در سال ۱۹۹۶، که اثر نشت طبیعی نفت بر ساختار آبشش دو گونه *Hypsursuscaryi* و *Rachochilus toxodes* را بررسی نمودند، مطابقت دارد. در بافت آبشش *Prochilodus lineatus* ساکن در جریان فاضلاب‌های شهری، آسیب‌هایی همچون هایپرپلازی روی اپیتلیوم تیغه‌های آبششی، چسبندگی و ادغام تیغه‌های آبششی مشاهده شده است (Camargo and Martinez, 2007). در تحقیقاتی دیگر از سوی Khan و همکاران در سال ۲۰۰۳، روی کفشک‌هایی که در معرض ترکیبات PAH بودند، تغییراتی از قبیل هایپرپلازی در اپیتلیوم تیغه‌ها که نتیجه آن هم‌جوشی تیغه‌ها و افزایش مواد موکوسی بوده است، مشاهده شد. Banaee و همکاران، در سال ۲۰۱۳، با افزایش غلظت در معرض‌گذاری ماهی قزل‌آلا با سم دیازینون، آسیب بافت‌های آبشش از جمله هایپرپلازی پوشش اپیتلیال تیغه‌های ثانویه، هم‌جوشی در لاملاهای ثانویه، اتساع مویرگ‌های خونی، چماقی شدن، کوتاه شدن لاملاهای ثانویه و نکروز را مشاهده کردند. در مشاهدات Sharifpour و همکاران در سال ۱۳۸۹ تمام آسیب‌های ذکر شده را روی ماهی سوف و ماهی آزاد مشاهده کردند که با نتایج ما در تیمار ۱۰۰ میکروگرم در لیتر مطابقت دارد. ترکیبات نفتی سبب افزایش حجم، تعداد و فعالیت سلول‌های موکوسی و اتصال لاملاهای ثانویه به هم می‌شود.

افزایش ترشح موکوس در بافت آبشش می‌تواند به رقیق‌سازی، خنثی‌سازی عوامل سمیت‌زای خارجی و پاتوژن‌ها کمک کند، اما در مقابل تبادل گازی را دچار مشکل می‌کند (Riou et al., 2012). هایپرپلازی رشته‌های آبششی بیشتر یک پاسخ بلند مدت سلول‌های سنگ‌فرشی است که اغلب در پاسخ به میزان کم عوامل آسیب‌رسان اتفاق می‌افتد (Roberts, 2001). هایپرپلازی ایجاد شده در اثر تماس با آلانده‌هایی همچون هیدروکربن‌های نفتی و فلزهای سنگین، در سلول‌های پوششی آبشش ناشی از ناتوانی سلول‌ها در تفکیک شدن است که در نتیجه به افزایش تقسیم سلولی یا میتوز می‌انجامد. همچنین چماقی شدن تیغه‌ها نیز دلیلی بر تغییرات مزمن ایجاد شده در تیغه‌های ثانویه آبشش است (Sharifpour et al., 2011a)، که در هر ۳ تیمار آزمایشی این تحقیق مشاهده شده است. هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای می‌توانند با غشاهای پلاسمایی باند شده و با اتصال به غشاهای سلولی، سبب افزایش نفوذپذیری این غشاها و در نتیجه خروج یون‌ها و ورود آب به سلول شوند (Tuvikene, 1995). تجمع آلانده در آبشش اسمولالیه را افزایش داده و سبب ورود آب به آبشش می‌شود که برای جبران این پدیده، تعداد سلول‌ها در رشته‌ها و تیغه‌ها افزایش می‌یابد و از طریق اتصال تیغه‌ها، سطح تماس اپیتلیوم با جریان آب کاهش می‌یابد تا عملکرد تنظیم اسمزی حفظ شود. اتصال لاملاها و تغییر شکل فیلامنت و لاملا در ماهی *Salmo trutta* تحت تأثیر فاضلاب مشاهده شده است (Bernet et al., 2004). بسیاری از پدیده‌هایی که در بافت آبشش قابل مشاهده است، می‌تواند بازتابی از افزایش نفوذپذیری در سطح سلولی و بافتی باشد (Roberts, 2012). وجود نکروز در سلول‌های اپیتلیوم آبشش می‌تواند به دلیل فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم پایرن در بافت آبشش باشد.

فعال شدن آنزیم میکروزومال P450 در آبشش ماهی، عاملی برای متابولیزه کردن ترکیبات PAH و ایجاد متابولیت‌های فعال‌تر از خود ترکیبات اصلی است که می‌تواند عامل صدمات مشاهده شده در سلول‌های آبششی باشد. Lien و McKim، در سال ۱۹۹۳، بیان داشتند که جذب پایرن و انواع ترکیبات چربی دوست در آب توسط آبشش و پوست صورت می‌گیرد، ولی Namdari و Law در سال ۱۹۹۶ به این نتیجه رسیدند که جذب پایرن در آب از طریق آبشش به مراتب بیشتر از پوست است و آبشش ترکیب نفتی پایرن را به صورت فعالی جذب می‌کند. آنزیم کاتالیزکننده اولین مرحله در پروسه متابولیسم ترکیبات PAH در سلول‌های سنگ‌فرشی و سلول‌های پیلار آبشش ماهی قزل‌آلا با روش ایمنوهیستوشیمی مشخص و مکانیابی شده‌اند و اهمیت این سلول‌ها در متابولیسم ترکیبات PAH اثبات شده است (Jiang et al., 2011).

کبد به عنوان بزرگ‌ترین و مهم‌ترین غده بدن، عضو ابتدایی و اساسی برای بیوترانسفورماسیون ترکیبات زنوبیوتیک است. کبد ماهی به دلیل عملکرد، موقعیت و جریان خونی که دریافت می‌کند، در مقابل آلاینده‌های زیست محیطی حساس بوده و به عنوان ارگانی برای پایشگری مناطق آلوده به انواع آلاینده‌ها مطرح می‌گردد (Au, et al., 2004).

تغییرات عمده مشاهده شده در کبد *Prochilodus lineatus* ساکن در رودخانه‌های مناطق آلوده شهری، شامل تغییر شکل و هایپرتروفی هسته، حضور گرانول‌های اتوزینوفیلیک در سیتوپلاسم، دژنره شدن سیتوپلاسم و هسته، حضور ملانوماکروفازها و نکروزه شدن سلول‌های کبدی است (Camargo and Martinez, 2007). به نظر می‌رسد افزایش اندامک میتوکندریایی پس از قرارگیری ماهی کفشک در معرض بنزو آپایرن، نشانگر

افزایش فعالیت هپاتوسیت‌هاست و از طرفی میزان مصرف ATP (شکل قابل دسترس انرژی در سلول‌ها) نیز مؤید این مطلب است. به عبارتی افزایش در تقاضای انرژی مصرفی از سوی هپاتوسیت‌ها در متابولیسم بنزو (a) پایرن، سبب افت شدید سطوح چربی و گلیکوژن در سلول‌ها می‌گردد (Au et al., 1999) و هپاتوسیت‌ها به صورت سلول‌های واکنش مشاهده می‌شوند. کاهش منابع گلیکوژنی و چربی در عمده هپاتوسیت‌هایی که در معرض بنزو (a) پایرن قرار می‌گیرند، مشاهده می‌گردد (Au et al., 2004). به عبارتی حضور هپاتوسیت‌های واکنش داده شده اغلب نشانگر عدم موازنه بین میزان ساخت انرژی (ATP) در دسترس سلول‌ها و میزان مصرف آن است. کاهش ذخایر گلیکوژنی پاسخ سازگاری غیراختصاصی سلول‌های هپاتوسیت در برابر انواع مختلفی از زنوبیوتیک‌هاست و به عنوان یکی از شاخصه‌هایی است که می‌تواند در بررسی استرس‌های مزمن و حاد وارد شده به جاندار به کار گرفته شود (Arnold et al., 1995). بروز نکروز در کبد ناشی از حضور رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نتیجه متابولیسم ترکیبات PAH و به ویژه بنزوآپایرن است که عامل دژنره شدن هپاتوسیت‌ها، پیکنوز و کاریولیز شدن هسته‌ها و در نهایت نکروز موضعی بافت پارانشیم کبد است (Hose et al., 1984). علاوه بر حضور رادیکال‌های آزاد در فضای هپاتوسیت‌ها، اختلال در فعالیت پمپ سدیم (موجود در غشای سلولی و همچنین غشای پلاسمایی)، در نتیجه فعالیت اکسیدانی متابولیت‌های ترکیبات PAH و دیگر آلاینده‌های آلی از قبیل PCBs (Polychlorinated biphenyl)، منجر به عدم توانایی سلولی در تبادلات میکرونوترینت‌ها می‌شود. سرانجام کاهش ذخایر انرژی، چربی و آمینواسیدهای سلول‌های هپاتوسیتی سبب از بین رفتن فعالیت‌های متابولیکی آنها شده و در نهایت سلول

هموسیدرین پس از تخریب بیش از حد گلبول‌های قرمز به دنبال خونریزی در اثر آسیب، تجمع خون به صورت مزمن، اختلالات همولیتیک، عفونت‌های انگلی و قرارگیری در معرض برخی از مواد شیمیایی سمی دیده می‌شود. در مطالعه روی ماهی *Winter flounder* (Pleurone americanus) آغشته به مواد نفتی رسوب هموسیدرین گزارش شده است (Khan, 1995).

کلیه اندامی حیاتی است که مهم‌ترین فعالیت آن تنظیم و نگهداری هوموستازی بدن جاندار است؛ ارگان مختلطی که شامل عناصر خون‌ساز، ترشحاتی، بیگانه‌خوار و نیز بافت دفعی است. بنابراین یکی از اولین اندام‌هایی است که به وسیله آلودگی‌های موجود در آب تأثیر می‌پذیرد (Roberts, 2001). کلیه برای بسیاری از فلزهای سنگین و نیز مواد آلی که نسبت به سیستم بیولوژیک ماهی بیگانه محسوب می‌شوند (زئوبیوتیک‌های آلی)، یک اندام هدف است. بیشترین آسیب‌های رخ داده در کلیه ماهیان در معرض آب‌های آلوده، دژنره شدن توبول‌ها و تغییر در جسمک کلیوی شامل اتساع مویرگ‌ها در گلومرول و کاهش فضای بومن گزارش شده است (Igbal et al., 2004). از جمله آسیب‌های بافت‌شناسی غیراختصاصی کلیه می‌توان به تغییرات دژنره کننده در اپیتلیوم توبول، اتساع مجاری توبول‌ها، کست‌های سلولی یا Proteinaceous داخل مجاری توبول‌ها، نکروز توبولی یا پوسته پوسته شدن اپیتلیال و نکروز بافت‌های خون‌ساز بینابینی اشاره کرد که پس از قرار گرفتن ماهی در معرض ارگانوکلره‌ها، ترکیبات نفتی، ارگانوفسفره، علف کش‌ها و فلزهای سنگین مشاهده شده‌اند (Au et al., 2004).

اپیتلیوم توبولی کلیه علاوه بر جذب مجدد گلوکز و نمک، نقش مهمی در دفع یون‌های دوزپرفیتی و کاتیون‌ها و آنیون‌های آلی دارد، که این روش مهمی برای دفع

می‌میرد (Tan et al., 2004). تغییرات دژنراسیونی (پیکنوز هسته‌ای، قطعه قطعه شدن هسته، از بین رفتن مجاری صفراوی، نکروز و غیره) که در بافت کبد رخ می‌دهد، مهم‌ترین بخش آسیب‌ها به شمار می‌آیند و پاسخ فیزیولوژیک نبوده و اغلب قابل برگشت نیز نیستند و ممکن است تداوم و پیشرفت آنها در بافت منجر به از بین رفتن کارکرد حیاتی قسمتی از بافت یا تمامی آن گردد. پرخونی در کبد ماهیان آزاد از سوی Sharifpour و همکاران (2011b) تشخیص داده شد که می‌تواند یک واکنش دفاعی، در اثر تماس با ماده نفتی باشد. این نوع آسیب‌ها می‌تواند بر متابولیسم‌های هپاتوسیت‌های درگیر در واکنش‌های بیوشیمیایی مهم مانند ذخیره نوترینت‌ها و سم‌زدایی آلاینده‌ها اثرگذار باشد (Akaishi et al., 2004). هایپرتروفی هپاتوسیت‌ها در بافت پاراناشیمی کبد در بسیاری از مطالعات سم‌شناسی فلزهای سنگین، ترکیبات PCB و PAH مشاهده می‌شود. افزایش حجم هپاتوسیت‌ها می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت اندامک‌های درون سیتوپلاسم هسته از قبیل میتوکندری‌ها، اجسام گلژی و شبکه آندوپلاسمی باشد که برای افزایش در فعالیت سم‌زدایی زئوبیوتیک‌ها مطابق با مطالعات (Au et al., 1999) است. در بعضی از موارد افزایش حجم سلول می‌تواند ناشی از افزایش حجم لیپیدها در فضای سیتوپلاسمی باشد (Fernandez et al., 2007).

حضور ملانوماکروفاژها در دوز ۱۰ میکروگرم در لیتر، شاخص اثر سمیت در ماهیان بوده و می‌تواند به عنوان شاخص زیستی مواجه شدن موجود با هیدروکربن‌ها استفاده شود. ملانوماکروفاژها در ماهیان از رنگ‌دانه‌های فراوان و سلول‌های فاگوسیت تشکیل شده‌اند و مسئول پاکسازی کاتابولیت‌ها، پسماندهای طبیعی سلول و مواد بیگانه خارجی هستند (Akaishi et al., 2004). رسوب

که با پیشرفت این مرحله دژنره شدن هیالین در توبول رخ می‌دهد. در موارد شدیدتر پروسه ممکن است منجر به نکروز بافت شود (Pal et al., 2011). تحلیل رفتن و چروکیده شدن گلومرول‌ها منتج به افزایش فضای بومن و در نتیجه اختلال در فرایند فیلتراسیون و افزایش حجم ادرار دفعی از ماهیانی که در معرض پیرن قرار داشته‌اند، می‌گردد. در واقع افزایش تولید رادیکال‌های آزاد احتمالاً می‌تواند نقش مهمی در پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی، کاهش تعداد نفرون، ایجاد ضایعات گلومرولی، کاهش سرعت فیلتراسیون گلومرول و ضایعات پارانشیمال و لوله‌های کلیوی داشته باشد (Trachman et al., 1992). نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، نتایج Gabriel و همکاران، ۲۰۰۷ و Pal و همکاران، ۲۰۱۱ که عنوان نمودند میزان و شدت جراحات وارد شده به اندام‌های ماهی در معرض هیدروکربن‌های نفتی، با افزایش غلظت آلاینده و افزایش مدت زمان در معرض قرارگیری، افزایش می‌یابد، را تأیید می‌کند.

با مطالعه ضایعات بافتی ایجاد شده در بخش پشتی کلیه ماهی *Astyanax altiparanae* ساکن رودخانه آلوده به پساب‌های پالایشگاه نفت، ضایعات آسیب‌شناسی بافتی از جمله، تخریب توبولی، تخریب سلول‌ها، انسداد لومن لوله‌ها و خونریزی را در بافت کلیه گزارش نمودند (Silva and Martinez, 2007). Pal و همکاران در سال ۲۰۱۱، در کلیه ماهی کپور معمولی پس از قرارگیری در معرض نفت سنگین به مدت دو هفته آسیب‌هایی همچون دژنره شدن توبول‌ها، دژنره شدن قطره‌های هیالین، اتساع مویرگ‌های گلومرولی و نکروز در سلول‌های اپیتلیال توبول را مشاهده کردند که با تحقیق حاضر مطابقت دارد.

بنایی و همکاران در سال ۱۳۹۰، با بررسی اثر سم دیازینون بر کلیه ماهی کپور معمولی، ضایعات بافتی از

موادشیمیایی خارجی است. بنابراین آلودگی با فلزهای سنگین و هیدروکربن‌های نفتی به احتمال زیاد سلول‌های اپیتلیوم توبولی کلیه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Au et al., 2004). تصاویر بافت‌شناسی در این تحقیق نشان داد که از بین توبول‌های ادراری، توبول‌های پروگزیمال به‌شدت تحت تأثیر ترکیب نفتی پیرن قرار گرفته‌اند. سلول‌های اپیتلیوم توبولی کلیه به‌دلیل نقش دفع‌کننده مواد شیمیایی خارجی و خصوصیت اجزای تشکیل‌دهنده نفت مانند هیدروکربن‌های غیرقطبی، می‌توانند به‌راحتی در غشای دو لایه سلول حل شده و از آن عبور کنند و به درون سلول زنده راه یابند (Di Toro و همکاران، ۲۰۰۰) و به‌شدت در برابر آلودگی هیدروکربن‌های نفتی، آسیب می‌بینند. Silva و Martinez در سال ۲۰۰۷، عنوان نمودند که آسیب‌های سلولی ممکن است باعث کاهش سطح ATP داخل سلول شود و با اختلال در عملکرد پمپ کاتیونی سلول سبب نفوذ یون‌های سدیم، کلسیم و آب به داخل سلول شده که سبب افزایش حجم سلول و آسیب به غشای سلول و در نتیجه ترشح پتاسیم، آنزیم و پروتئین به خارج از آن می‌شود. حذف گلبول‌های قرمز آسیب دیده در پی پراکسیداسیون لیپیدی و تجمع متابولیت‌های آنها در مراکز ملانوماکروفاژی ماهیان کپور، موجب انباشتگی پروتئین‌های حاوی آهن نظیر هموسیدرین و فریتین می‌گردد. شکل‌گیری مراکز ملانوماکروفاژ واکنش دفاعی این اندام در برابر ماده خارجی تحریک کننده است. طی این واکنش رنگ‌دانه‌ها از سلول‌های رنگ‌دانه‌ای آزاد شده و در برابر عامل مزاحم از اندام دفاع می‌کنند، سپس با ماکروفاژها بلعیده شده، در این مراکز تجمع یافته و از بدن دفع می‌شوند (شاهسونی و موثقی، ۱۳۸۱). تجمع گرانول‌ها منجر به نکروز می‌شوند که آسیبی برگشت‌ناپذیر است. پدیده تورم ابری اولین مرحله در پروسه دژنره شدن است

exposure: a laboratory experiment with Atlantic cod. *Aquatic Toxicology*, 51(2): 241-258.

Akaishi, F. M., Silva de Assis, H. C., Jakobi, S. C. G., Eiras-Stofella, D. R., St-Jean, S. D., Courtenay, S. C., Lima, E. F., Wagener, A. L. R., Scofield, A. L. and Oliveira Ribeiro, C. A. 2004. Morphological and Neurotoxicological Findings in Tropical Freshwater Fish (*Astyanax* sp.) After Waterborne and Acute Exposure to Water Soluble Fraction (WSF) of Crude Oil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(2): 244-253.

Arnold, H., Pluta, H. J. and Braunbeck, T. 1995. Simultaneous exposure of fish to endosulfan and disulfoton in vivo: ultrastructural, stereological and biochemical reactions in hepatocytes of male Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 33(1): 17-43.

Au, D. W. T., Wu, R. S. S., Zhou, B. S. and Lam, P. K. S. 1999. Relationship between ultrastructural changes and EROD activities in liver of fish exposed to Benzo[a]pyrene. *Environmental Pollution*, 104 (2): 235-247.

Au, D. W. T. 2004. The application of histocytopathological biomarkers in marine pollution monitoring areview. *Marine Pollution Bulletin*, 48(9): 817-834.

Banaee, M., Mirvaghefi, A. R., Mojazi Amiri, B., Rafiee, G. R. and Nematdost, B. 2011. Hematological and Histopathological effects of Diazinon Poisoning in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries, Iranian Journal of Natural Resources*, 64(1): 1-13. (Abstract in English)

Banaee, M., Sureda, A., Mirvagefei, A. R. and Ahmadi, K. 2013. Histopathological Alterations Induced by Diazinon in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Environmental Research*, 7(3): 735-744.

Bernet, D., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T. and Burkhardt-Holm, P. 2004. Evaluation of two

جمله از بین رفتن و تحلیل سلول‌های اپیتلیال مجاری کلیوی، نکروز مجاری کلیوی، تحلیل گلومرول‌ها و افزایش فضای کپسول بومن را مشاهده کردند. Sharifpour و همکاران در سال 2011b، آسیب‌شناسی بافتی برخی اندام‌های مهم ماهی سوف و آزاد دریای خزر را با تأکید بر آلاینده‌ها (سموم، فلزهای سنگین، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای) بررسی کردند. ضایعات مشاهده شده در کلیه شامل پرخونی، خونریزی، دژنراسیون لوله‌های کلیوی، نکروز لوله‌های ادراری، گلومرول و بافت بینابینی را گزارش نمودند، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. به نظر می‌رسد که ضایعات بافتی در بین ماهی‌ها بیشتر غیراختصاصی هستند و نوع و طبقه‌بندی ماده سمی را به‌ندرت می‌توان از طریق ضایعات مشاهده شده شناسایی کرد (Mallatta, 1985). بنابراین گروهی از تغییرات آسیب‌شناسی در بافت کلیه ماهیان در معرض انواع آلاینده‌ها می‌تواند مشاهده شود که تفکیک آنها بر حسب آلاینده به‌واسطه عمومی بودن آنها امکان‌پذیر نیست، اما در آزمایش‌هایی از نوع تحقیق حاضر که ماهیان در معرض آلاینده معینی قرار می‌گیرند بروز عوارض مشاهده شده را می‌توان ناشی از آن آلاینده دانست. لازم به ذکر است میزان آسیب وارد شده به هر یک از تیمارها با گروه شاهد مقایسه شده است. استفاده انسان از آبزیان آلوده به هیدروکربن‌های نفتی می‌تواند ضایعات و عوارض زیادی در پی داشته باشد. بنابراین مطالعات آسیب‌شناسی و شرایط محیط زیست آبزیان از نقطه نظر سلامتی و بهداشت عمومی اهمیت زیادی دارد.

منابع

Aas, E., Baussant, T., Balk, L., Liewenborg, B. and Andersen, O. K. 2000. PAH metabolites in bile, cytochrome P4501A and DNA adducts as environmental risk parameters for chronic oil

trout alevins. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 13(6): 675-684.

Iqbal, F., Qureshi, I. Z. and Ali, M. 2004. Histopathological change in the kidney of Common Carp, (*Cyprins carpio*), following nitrate exposure. *Journal of Research (Science)*. 15(4), 411-418.

Jiang, Y., Zhou, X., Chen, G., Wang, Q. and Rao, K. 2011. Benzo (a) pyrene-induced mitochondrial dysfunction and cell death in P53-null Hep3D cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 726(1): 75-83.

Khan, R. A. 1995. Histopathology in Winter Flounder, *Pleuronectes americanus*, Following Chronic Exposure to Crude Oil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(2): 297-301.

Khan, R. A. 2003. Health of flat fish from localities in Placentia Bay, Newfoundland, contaminated with petroleum and PCBs. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44(4): 485-492.

Khodabende, S. and Ganizadeh, E. 2010. Effects of ultraviolet radiation on skin structure and ultrastructure in Caspian Sea Salmon, *Salmotrutta caspius*, during alevin stage. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 92 (5): 903-914.

Lien, G. J. and McKim, J. M. 1993. Predicting branchial and cutaneous uptake of 2,2',5,5' tetrachlorobiphenylin fathead minnows (*Pimephales promelas*) and Japanese medaka (*Oryzias latipes*): Rate limiting factors. *Aquatic Toxicology*, 27(1): 15-32.

Mallatt, J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42(4): 630-648.

Namdari, R. and Law, F. 1996. Toxicokinetics of waterborne pyrene in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following branchial or dermal exposure. *Aquatic Toxicology*, 35(3): 221-235.

Navarro, V. C., Leppanen, M. T., Honkanen, J. O. and Kukkonen, J. V. K. 2012. Trophic transfer

monitoring approaches to assess effects of waste water disposal on histological alternations in fish, *Hydrobiologid*, 524(1): 53-66.

Costa, J., Ferreira, M., Rey-Salgueiro, L. and Reis-Henriques, M. A., 2011. Comparision of the waterborne and dietary routes of exposure on the effects of Benzo (a) pyrene on biotransformation pathway in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chemosphere*, 84(10): 1452-1460.

Couillard, C. M., Laplatte, B. and Pelletier, E. 2009. A fish bioassay to evaluate the toxicity associated with the ingestion of benzo(a)pyrene-contaminated benthic prey. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(4): 772-781.

Di Toro, D. M., McGrath, J. A. and Hansen, D. J. 2000. Echnical Basis for narcotic chemicals and polycyclic Aromatic Hydrocarbon criteria. water and tissue. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(8): 1951-1970.

Effimoff, I. 2000. The oil and gas resource base of the Caspian region. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 28(4): 157-159.

Fernandes, D., Porte, C. and Bebianno, M. J. 2007. Chemical residues and biochemical responses in wild and cultured European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*). *Environmental Research*, 103(2): 247-256.

Gabriel, U. U., Ezeri, G. N. O. and Amakiri, E. U. 2007. Liver and Kidney Histopathology: Biomarkers of No. 1 Fuel Toxicosis in African CatFish, *Clarias gariepinus*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(3), 379-384.

Gerenhofer, M., Pawet, M., Schramm, M., Muller, E. and Triebkorn, R., 2001. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 8(3): 241-260.

Hose, J. E., Hannaht, J. B., Puffer, H. W. and Landolt, M. L. 1984. Histologic and skeletal abnormalities in benzo (a) pyrene-treated Rainbow

of perch (*Sander lucioperca*) and salmon (*Salmo trutta caspius*) in the southern Caspian Sea with emphasis on pollutants. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 19(4): 77-86.

Silva, A. G. and Martinez, G. B. R. 2007. Morphological changes in the kidney of a fish living in an urban stream. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23(2): 185-192.

Spies, R. B., Stegeman, J. J., Hinton, D. E., Woodin, B., Smolowitz, R., Okihiro, M. and Shea, D., 1996. Biomarkers of hydrocarbon exposure and sublethal effects in embiotocid fishes from anatural petroleum seep in the Santa Barbara Channel. *Aquatic Toxicology*, 34(3): 195-219.

Stentiford, G. D., Longshaw, M., Lyons, B. P., Jones, G., Green, M. and Feist, S. W., 2003. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Marine Environmental Research*, 55(2): 137-159.

Tan, Y., Chen, C. H., Lawrence, D. and Carpenter, D. O. 2004. Orthosubstituted PCBs kill cells by altering membrane structure. *Toxicological Sciences*, 80(1): 54-59.

Tuvikene, A. 1995. Responses of fish to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Paper presented at the Annales Zoologici Fennici*, 32(3): 295-309.

Vuorinen, P. J., Keinanen, M., Vuontisjarvi, H., Barsiene, J. and Broeg, K., 2006. Use of biliary PAH metabolites as a biomarker of pollution in fish from the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 53(8): 479-487.

of pyrene metabolites and nonextractable fraction from Oligochaete (*Lumbriculus variegatus*) to juvenile brown trout (*Salmo trutta*). *Chemosphere*, 88(1): 55-61.

Oliveira, M., Gravato, C. and Guilhermino, L. 2012. Acute toxic effects of pyrene on *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae): Mortality, biomarkers and swimming performance. *Ecological Indicators*, 19(1): 206-214.

Oliveria Ribeiro, C. A., Schatzmann, M., Silva De Assis, H. C., Silva, P. H., Pelletier, E. and Akaishi, F. M. 2002. Evaluation of Tributyltin Subchronic Effects in Tropical Freshwater Fish (*Astyanax bimaculatus*, Linnaeus, 1758). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55(3): 161-167.

Pal, S., Kokushi, E., Cheikyula, J. O., Koyama, J. and Uno, S. 2011. Histopathological effects and EROD induction in common carp exposed to dietary heavy oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(3): 307-314.

Riou, V., Ndiaye, A., Budzinski, H. and Dugue, R. 2012. Impact of environmental DDT concentration on gill adaptation to increase salinity in tilapia *Sarotherodon melanotheron*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology and Pharmacology*, 156(1): 7-16.

Roberts R. J. 2001. Fish Pathology, 3rd ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA., USA. 472P.

Shahsavani, D. and Movasaghi, A. 2002. Systemic pathology of fish. *Ferdowsi university of mashhad*, 400 p. (In Persian)

Sharifpour, I., Abtahi, B., Heidary Jamebozorgi, F., Seyfabadi, S. J. and Taghizadeh, R. Z. 2011a. Experimental assessment of the histopathological effects of water-soluble fraction of crude oil on gill tissue of juvenile *Rutilus frisii kutum*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 20(1): 89-100.

Sharifpour, I., Rezvani Gilkolaei, S. and Kazemi, R. 2011b. Histopathology of some important organs

In vitro study of histopathological effects of Pyrene oil composition on some vital organs of carp (*Cyprinus carpio*)

Seyedeh Roya Olyaei¹, Issa Sharifpour^{2*}, Alireza Riahi Bakhtiari³

1-M.Sc. Graduated student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor

2-Research Associate Prof, Department of Aquatics Diseases and Health, Iranian Fisheries Research Organization, Karaj

3-Assistant Prof, Department of Environment, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor

Received: 25.6.2014

Accepted: 27.9.2014

*Corresponding Author: isharifpour@yahoo.com

Abstract:

The effects of pyrene on gill, liver and kidney of common carp (*Cyprinus carpio*) were examined by exposing 30 fish (140 ± 10 g) to pyrene at sublethal concentrations of 10, 50 and 100 $\mu\text{g/l}$ for 35 days. Samples were taken from the organs and fixed in bouin fixative; then, dehydrated, cleared, parafinized and cut by microtome according to the standard method. Afterwards, all sections were studied by light microscope. In gill tissue, lamella hyperemia, hyperplasia, S shaped, and clubbing were observed, while lamella fusion and necrosis were observed in higher concentration of pyrene. Hepatocytes vacuolation, congestion of sinusoids, macrophages loaded with hemosiderin were seen in the liver, while in higher concentrations of pyrene, picnotic and kariolized nuclei, and tissue necrosis were seen. Tubule casts, hyperemia, degenerating tubules were seen in kidney exposed to lower concentrations of pyrene, while hemosiderin-laden macrophages, degenerating tubules with greater intensity as well as necrosis was observed in higher concentrations. The results indicated that pyrene may have negative effects on homeostasis, fish health and vital organs in short time exposure due to histological changes, while it could have greater impacts in long term exposure and higher concentrations.

Keywords: Pyrene oil composition, Common carp (*Cyprinus carpio*), Histopathology, Gill, Liver, Kidney