بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) در حضور آلاینده بنزوآلفاپایرن

زهرا شیبانی[1*]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

***مسئول مکاتبات:**
zshaibani73@pnu.ac.ir

کد مقاله: ۱۴۰۰۰۲۰۸۸۸
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۴
این مقاله پژوهشی و برگرفته از طرح پژوهشی است.

چکیده
نقش گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب اکسیداتیو ناشی از آن‌ها در بسیاری از پروسه‌های پاتولوژیک مشخص گردیده است. بنزوآلفاپایرن یک ترکیب هیدروکربنه حلقوی چند زنجیره معطر با وزن مولکولي بالا بوده که اثرات سرطان‌زایی بالایي دارد. لذا هدف این مطالعه در سال ۱۳۹۷ بررسي اثر بنزوآلفاپایرن بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه در ماهی هامور معمولی است. ۲۵ عدد ماهي با میانگین وزنی ۵۰±۴۰۰ گرم پس از انتقال به تانک‌های آب ۳۰۰ لیتری به مدت ۷ روز در پنج گروه آزمایشی شامل گروه کنترل، گروه شاهد (12 میکرو لیتر حلال دی متیل سولفواکسید) و سه گروه تیمار بنزوآلفاپایرن با غلظت کم (۰/۵ میکروگرم در لیتر)، غلظت متوسط (۱/۵ میکروگرم در لیتر) و غلظت بالا (۵ میکروگرم در لیتر) به ماهیان تزریق شد و پس از ۷ روز بافت کلیه جهت بررسی تست‌های آنتی‌اکسیدانی استخراج گردید. برای سنجش استرس اکسیداتیو، از سنجش غلظت مالون دی آلدئید (MDA) و میزان تیول استفاده شد. نتایج با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی تجزیه‌وتحلیل شدند. سطح معنی‌داری، P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تفاوت معنی‌داری میان میزان مالون دی آلدئید و نیز غلظت تیول بین گروه‌های کنترل و شاهد در بافت کلیه مشاهده نشد. افزایش معنی‌داری بین میزان فعالیت MDA کلیوی در ماهیاني که در معرض ۰/۵، ۱/۵، ۵ نانوگرم در لیتر بنزوآلفاپایرن قرارگرفته بودند نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). از طرفی میزان تیول در این غلظت‌ها نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌دار کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). مقادیر به‌دست‌آمده در این مطالعه می‌تواند به‌عنوان معیاری جهت ارزیابی استرس اکسیداتیو در بافت کلیه ماهی هامور در معرض بنزوآلفاپایرن و همچنین مانیتورینگ آلودگی‌های محیطی اکوسیستم‌های آبی مورداستفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: استرس اکسیداتیو، بافت کلیه، ماهی هامور معمولی، بنزوآلفاپایرن.

مقدمه

افزایش سریع فعالیت‌های آنتروپوژنیک (ناشي از فعالیت‌های انساني) به‌ویژه ورود آلاینده‌های آلي به اکوسیستم آبي افزایش-یافته و منجر به گسترش این آلاینده‌ها به‌ویژه در مناطق ساحلي از طریق تخلیه و استفاده مستقیم آن‌ها، آب‌های سطحي، باران، انتقال از طریق زنجیره غذایي و ... شده است. (Reynaud and Deschaux, 2006) احتمالاً آلودگي محیطزیست دریایي یکي از دلایل اصلي شیوع بیماری‌ها در موجودات آبزی، مي‌باشد. مطالعات فراواني، احتمال وجود ارتباط میان زنوبیوتیک‌های مختلف و ایجاد بیماری، در موجودات را گزارش نموده‌اند (Reynaud and Deschaux, 2006). قرار گرفتن موجودات آبزی در معرض آلاینده‌های مختلف موجب ایجاد تغییرات بافتي در بافت‌های مختلف آن‌ها مي‌شود (Mohamed, 2009). آلودگی نفتی به‌خصوص در مناطق تولیدکننده نفت مانند خلیج‌فارس بسیار جدی و حاد می‌باشد. بیشترین تأثیر نفت به بخش آروماتیک آن به‌ویژه هیدروکربن‌های آروماتیک‌های چند حلقه‌ای (PAHs) نسبت داده می‌شود و از مهم‌ترین گروه-های مواد آلی پایدار در محیطزیست محسوب می‌شوند (Ghasemi and Abdi, 2020). این ترکیبات به دلیل خاصیت چربی‌دوستی بالا، قادر به عبور از غشای پلاسمایی انواع سلول‌ها بوده و با برقراری پیوند کووالانسی با ماکرو مولکول‌های سلول (پروتئین‌ها، DNA و RNA) منجر به آسیب‌های سلولی، جهش و انواع سرطان می‌شوند (Holt *et al*., 2005). سرعت توزیع یا انتشار آلاینده‌ها در بافت‌های خاص، توسط سرعت جریان خون موضعي آن بافت تعیین مي‌شود. در اندام‌هایي مانند

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

کبد، کلیه و طحال که جریان خون بالایي دارند، تمایل آلاینده‌ها برای تجمع بیشتر است. به‌علاوه فاکتورهای دیگری از قبیل اتصال پروتئین‌های پلاسما، فرایندهای متابولیسمي و عمل دفع نیز بر الگوی توزیع، بقا و سمیت آلاینده‌ها تأثیر مي‌گذارد (Gesto *et al.*, 2008). بنزوآلفاپایرن (BaP) ایمنوتوکسیک‌ترین و سرطان‌زاترین PAHهاست (Salamat and Derakhshesh, 2020). آنتی‌اکسیدان‌ها ساختارهای آنزیمی و غیر آنزیمی هستند که از طریق روش‌های مختلف سبب کاهش استرس‌های اکسیداتیو شده و به‌نوعی نقش پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد را در سلول ایفا می‌کنند (Almedia *et al.*, 2007). رادیکال‌های آزاد به‌واسطه چندین مکانیسم در بدن موجود زنده ایجاد می‌شوند. این عوامل با گرفتن الکترون یا با از دست دادن اتم هیدروژن از ترکیبات شیمیایی تشکیل می‌شوند (Gao *et al.*, 2014). نقش گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب اکسیداتیو ناشی از آن‌ها در بسیاری از پروسه‌های پاتولوژیک مشخص گردیده است. اختلالات متعددی از قبیل بیماری‌های انگلی، بیماری‌های عفونی و مسمومیت‌ها، می‌توانند به دلیل تولید مقادیر زیادی گونه‌های فعال اکسیژن موجب القای استرس اکسیداتیو در ماهی شود. در شرایط فیزیولوژیک نرمال، گونه‌های فعال اکسیژن به‌سرعت توسط آنتی‌اکسیدان‌های بدن ماهی حذف می‌شوند؛ اما به دنبال تولید بیش‌ازحد این مواد، سیستم آنتی‌اکسیدان بدن قادر به از بین بردن آن‌ها نبوده و استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد. استرس اکسیداتیو سبب آسیب ماکرو مولکول‌ها از قبیل چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌گردد (Valavanidis *et al.*, 2006). مالون‌دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون چربی‌هاست که اندازه‌گیری آن در بافت‌ها یکی از حساس‌ترین روش‌های بررسی آسیب اکسیداتیو است (Halliwell, 1993). از طرف دیگر گروه‌های تیول از طریق واکنش با رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیدهای لیپیدی و خنثی نمودن آن‌ها در جلوگیری از آسیب بافتی ناشی از استرس اکسیداتیو نقش دارند (Moran *et al.*, 2001).

به‌علاوه بسیاری از سموم مواد شیمیایی و فلزات سنگینی که محیط‌های آب را آلوده می‌کنند از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو باعث آسیب‌رسانی به موجودات آبزی ازجمله ماهی‌ها می‌شوند؛ بنابراین استفاده از شاخص‌های استرس اکسیداتیو نه‌تنها برای تشخیص آسیب‌های ناشی از این عوامل در ماهی‌های انفرادی، بلکه به‌منظور مانیتورینگ میزان آلودگی محیط آبی با این عوامل و میزان خطر ناشی از آن نیز مفید خواهد بود. در حقیقت انتخاب رهیافت و روش‌های دقیق برای بررسی تعادل بین آنتی‌اکسیدان‌ها و آسیب‌های اکسیداتیو یک مرحله اساسی برای ارزیابی اثرات توکسیک عوامل استرس‌زا در اکوسیستم آبی است (Livingstone, 2003). ازجمله رایج‌ترین شاخص‌های استرس اکسیداتیو مورداستفاده می‌توان به‌اندازه گیری مقادیر مالون‌دی‌آلدئید در بافت کلیه ماهی اشاره نمود.

ماهی هامور معمولی از خانواده *Serranidae*، یک‌گونه یوری‌هالین می‌باشد که بیشتر در مناطق استوایی و نیمه استوایی زندگی می‌کند (Heemstra and Randall, 1993). هامور ماهیان در اکثر کشورهای جنوب شرق آسیا جز ماهیان مهم پرورشی محسوب می‌شوند و به دلیل داشتن گوشت لذیذ و غنی، دارای ارزش اقتصادی بالایی هستند. هامور معمولی ساکن آب دریا می‌باشد، بنابراین نسبت به محیط خود هیپواسمتیک است. در این شرایط مکانیسم‌های هایپواسمورگولاتوری (*Hypoosmoregulatory*) روش‌های جبرانی برای جبران از دست رفتن آب و تهاجم یون‌ها می‌باشند. قابلیت تنظیم اسمزی و یونی در جانوران آبزی آن‌ها را برای تطابق با شرایط مختلف محیط ازجمله تغییرات شوری توانمند ساخته است (Pulster *et al.*, 2020). در این شرایط به‌واسطه نوشیدن آب از دهیدراته شدن شدید جلوگیری می‌شود و آب توسط روده جذب‌شده و یون‌های اضافی هم توسط آبشش‌ها و کلیه‌ها دفع می‌شوند (Hawkings *et al.*, 2004). حفظ تعادل پایدار محیط درونی برای زندگی در محیط‌های گوناگون توسط مهره‌داران ضروری به نظر می‌رسد. در پاسخ به این تغییر شرایط محیطی اپی‌تلیوم انتقال‌دهنده نقش مهمی را در انتقال یون‌ها ایفا می‌کند. تنظیم اسمزی در تلئوست‌ها به‌واسطه یک سری از بافت‌ها و اندام‌ها شامل آبشش، کلیه و روده انجام می‌شود (Marshall and Grosell, 2006). کلیه یک نقش مهم در تنظیم اسمزی هر دو گروه ماهیان آب‌شور و شیرین ایفا می‌کند که البته این ایفای نقش در این دو محیط دارای تفاوت‌هایی نیز می‌باشد (Myazaki *et al.*, 2002). کلیه یکی از اولین اندام‌هایی است که در مواجهه با آلاینده‌های محیطی، تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Thophon *et al.*, 2003). با توجه به اهمیت کلیه، در تنظیم اسمزی آب و نمک از طریق دفع مواد نیتروژن دار زائد از بدن موجودات

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

(Mohamed, 2009) اختلال در عملکرد آن، می‌تواند موجب اختلال در هومئوستاز بدن گردد. لذا تحقیق حاضر باهدف بررسي اثر بنزوآلفاپایرن بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه در ماهی هامور معمولی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر بنزوآلفاپایرن بر کلیه ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) در آزمایشگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات دانشگاه پیام نور واحد اهواز در سال ۱۳۹۷ صورت پذیرفت .در این مطالعه ۲۵ عدد ماهي ماهور با میانگین وزنی ۵۰±۴۰۰ گرم به مدت هفت روز در آکواریوم‌های 14 لیتري، دماي ثابت 26 درجه سانتی‌گراد، شوري ۳۷ گرم در لیتر، از ایستگاه تحقیقاتی بندر امام خمینی تهیه گردید و در تانک‌های ۶۰۰۰ لیتری (پرشده با آب تیمار شده با اشعه UV) نگهداری شدند. در ادامه، این ماهیان به ۷ تانک ۳۰۰ لیتری (پرشده با ۲۰۰ لیتر آب فیلتر شده و هوادهی شده دریا) منتقل شدند. در پنج گروه آزمایشي شامل گروه کنترل (هیچ تزریقی انجام نشد)، گروه شاهد (حلال دی متیل سولفواکسید دریافت کردند) و سه گروه تیمار در معرض غلظت‌های بنزوآلفاپایرن ۱/۰،۵/۵ و ۵ میکروگرم در لیتر قرار داده شدند. در این روش آب حیط نگهداري ماهیان به‌صورت دوره‌اي تعویض گردید. ازآنجاکه میزان حلالیت ترکیب بنزوآلفاپایرن در آب کم است از حلال دی‌متیل سولفواکسید (DMSO: Dimethyl sulfoxide) برای حل کردن بنزوآلفاپایرن در آب استفاده گردید. گروه شاهد (۱۲ میکرولیتر حلال دی‌متیل‌سولفواکسید) حلال دریافت کردند. تعویض آب در روز سوم انجام گردید. همچنین ماهیان در طي دوره آزمایش غذادهي نشدند و پس از ۷ روز بافت کلیه جهت بررسی تست‌های آنتی‌اکسیدانی (سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدئید و میزان تیول) استخراج گردید (Bagheri and Koyama., 2016).

برای سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA: Malondialdehyde) از روش سنجش تیوباربیتوریک اسید استفاده شد: بدین ترتیب که به ازای هر ۱ گرم بافت، ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱/۱۵٪ KCL اضافه شد و به‌وسیله دستگاه هموژنایزر (ساخت شرکت IKA) هموژن گردید. از محلول هموژن شده، ۰/۵ میلی لیتر برداشته شد و ۲/۵ میلی لیتر ۳٪ TCA اضافه گردید و به‌مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه نگهداری شد، سپس ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد. ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی بعد از سانتریفوژ برداشته و به هریک ۳ میلی لیتر محلول ۱ درصد اسید فسفریک و ۱میلی لیتر محلول TBA (Thiobarbituric acid) ۰/۶۷ درصد اضافه گردید. درادامه، ۴۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند. لوله‌ها در ظرف یخ خنک شدند و به هریک ۴ میلی لیتر بوتانول افزوده شد. بعد از ورتکس‌کردن، ۲۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شده و در نهایت، جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید. در ادامه، پس از قراردادن اعداد حاصل از اسپکتروفتومتری و جذب در معادله خطی منحنی استاندارد، میزان غلظتMDA براساس نانومول برگرم بافت خشک مورد ارزیابی قرار گرفت (Gharaei *et al.*, 2020).

به منظور رسم منحنی استاندارد، ۰/۵ میلی لیتر از محلول استاندارد با غلظت‌های ۱، ۲،۴،۶، ۸ و ۱۰ میکرومولار برداشته شد، سپس ۳ میلی لیتر محلول ۱ درصد اسید فسفریک اضافه شد. مابقی مراحل، همچون مراحل سنجشMDA انجام گرفت (Gharaei *et al.*, 2020).

برای ارزیابی گروه تیول، از معرف المن (DTNB: Ellman's reagent (5,5′-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)) استفاده گردید. در یک لوله آزمایش، ۱ میلی لیتر از بافر تریس (PH=8/6) به ۵۰ میکرولیتر محلول هموژن بافت اضافه و جذب نوری آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری شد (A1). در مرحله بعد، به لوله‌ها ۲۰ میکرولیتر معرفDTNB افزوده و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند، سپس جذب آن‌ها در همان طول موج اندازه‌گیری شد (A2) و میزان جذب شاهد (حاوی بافر تریس و DTNB) نیز در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (B). مقادیرB, A2, A1 به دست آمده در رابطه زیر قرار گرفت و میزان گروه‌های تیول محاسبه گردید (Gharaei *et al.*, 2020).

میزان گروه های تیول (میلی مول) (mM) =(A2-A1-B) × 1/07/0/05 ×13/6

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

داده ها به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند. نتایج به کمک نرم افزارSPSS نسخه ۲۲، آزمون واریانس یکطرفه (برای بررسی نتایج در گروههای مختلف) و آزمون تعقیبی توکی آنالیز شدند. سطح معنی داری، P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

میزان غلظت مالون‌دی‌آلدئید بافت کلیه ماهی هامور در تیمارهاي مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. باتوجه به جدول ۱ مشاهده می‌شود. در این بررسی میزان شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه در گروه کنترل و شاهد تفاوت معناداری را نشان نداد. نتایج حاصله مشخص ساخت افزایش معني‌داري بین میزان غلظت مالون دی آلدئید کلیوی در ماهياني که در معرض ۰/۵ نانوگرم در لیتر بنزوآلفاپایرن قرار گرفته بودند نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). همچنین میزان غلظت مالون دی آلدئید کلیوی در ماهياني که در معرض ۱/۵ نانوگرم در لیتر بنزوآلفاپایرن قرار گرفتند نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری یافت (P<۰/۰۰۱). از طرفی میزان فعالیت مالون دی آلدئید کلیوی ماهياني که در معرض ۵ نانوگرم در لیتر بنزوآلفاپایرن قرار گرفتند نیز نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری را نشان داد (P<۰/۰۰۱). تحزیه و تحلیل آماري با استفاده از آنالیز واریانس يك‌طرفه و آزمون توكي نشان داد که میزان تیول ماهیانی که در معرض ۰/۵ نانوگرم در لیتر بنزوآلفاپایرن قرار گرفته بودند نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). همچنین قرار گرفتن در معرض ۱/۵ نانوگرم در لیتر بنزوآلفاپایرن سبب کاهش میزان تیول نسبت به گروه کنترل گردید. نتایج نشان داد که میزان تیول در بافت کلیه ماهیانی که در معرض ۵ نانو گرم در لیتر بنزوآلفاپایرن قرار گرفتند در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱).

جدول ۱: میزان شاخص های استرس اکسیداتیو بافت کلیه پس از در معرض قرارگیری با بنزوآلفاپایرن در ماهی ماهور معمولی (*Epinephelus coioides*) در سال ۱۳۹۷.

	کنترل (سالم)	شاهد	۰/۵ بنزوآلفاپایرن	۱/۵ بنزوآلفاپایرن	۵ بنزوآلفاپایرن
مالون دی آلدئیدد(نانومول برگرم)	۰/۹±۹/۳	۱/۱±۸/۸	***۳/۹±۳۹/۳	***۳/۱±۴۱	***۳/۱±۵۳
تیول (میلی مول)	۰/۰۳±۰/۴۶	۰/۰۲±۰/۴۸	***۰/۰۲±۰/۳۳	***۰/۰۱±۰/۲۱	***۰/۰۱±۰/۱۹

آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) و تست پشتیبان توکی (P<۰/۰۰۱)، علامت * روی ستون‌ها اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل

بحث و نتیجه‌گیری

کلیه، اندامی حیاتی است که نقش بسیار مهمی در تنظیم الکترولیت‌ها و آب بدن و همچنین حفظ و نگهداری هموستاز بدن موجودات ایفا می‌کند (Thophon *et al*., 2003). کلیه اندام بسیار حساس به آلودگی است و به سرعت تحت تاثیر آلاینده‌ها قرار می‌گیرد. به‌طوري که بر عملکرد آن اثر می‌گذارد. از طرفی کلیه اندامی دفاعی هم محسوب می‌شود که در سم‌زدایی و دفع آلاینده‌ها کمک می‌کند و تغییرات در اندازه و ساختار سلول‌هاي اپیتلیوم و انسداد فضاي لومن بازدارنده این عملکردها است (Teh *et al*.,1997). در پژوهش حاضر میزان فعالیت مالون دی آلدئید در بافت کلیه در ماهياني که در معرض ۰/۵، ۱/۵ و ۵ نانوگرم در لیتر بنزوآلفاپایرن قرار گرفته بودند نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. مطالعات نشان می‌دهد که قرارگیری ماهیان در معرض سطوح بالای مواد شیمیایی، سبب ایجاد و افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی در اندام‌های مختلف از قبیل کلیه می‌شود. وجود این تجمعات به عنوان یک شاخص غیراختصاصی قرارگرفتن در معرض محیط‌های آبی آلوده محسوب می‌گردد (Giari *et al*., 2008). میزان پراکسیداسیون لیپید در ماهیان اغلب برای ارزیابی اثر تنش های محیطی تعیین می شود. افزایش غلظت الون‌دی‌آلدئید سلول‌هایی که در معرض استرس اکسیداتیو قرار دارند، نشان‌دهنده اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی است که افزایش پراکسیداسیون لیپدهای غشا در شرایط بنزوآلفاپایرن

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

نشان داد که سرکوب رادیکال‌های آزاد اکسیژن خارج از توان ماهی بوده و به طورکلی تجزیه بنزوآلفاپایرن می‌تواند با تولید اکسی رادیکال‌های آزاد از جمله یون‌های سوپراکساید آنیون و رادیکال قوی هیدروکسیل موجبات افزایش سطح مالون دی آلدئید را فراهم آورد (Slaninova *et al.*, 2009). Sadeghi و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای بیان نمودند که بنزو آلفاپایرن و باکتری *Vibrio alginolyticus* قادر به بروز آسیب‌های مختلف در بافت کلیه ماهیان هامور معمولی می‌باشند که نتایج بدست آمده از تیمارهای ترکیب نشان داد که این دو استراسور دارای اثرات سینرژیسم هستند که بنزو آلفاپایرن با تضعیف سیستم ایمنی ماهیان هامور معمولی منجر به بروز عفونت در این ماهیان می‌شود، باکتری *Vibrio alginolyticus* نیز پس از فعال شدن، موجب تشدید عوارض بنزو آلفاپایرن گردید. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که بنزوآلفاپایرن سبب القا پاسخ‌های فیزیولوژیکی و فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در هامور معمولی شده است. با استناد به نتایج پژوهش حاضر، قرار گرفتن در معرض بنزوآلفاپایرن به مدت ۷ روز سبب افزایش شاخص استرس اکسیداتیو در بافت کلیه ماهور معمولی نسبت به گروه کنترل شد. به علاوه بسیاری از سموم شیمیایی و فلزات سنگینی که محیط های آبی را آلوده می‌کنند از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو باعث آسیب رسانی به موجودات آبزی از جمله ماهی‌ها می‌شوند؛ بنابراین استفاده از شاخص‌های استرس اکسیداتیو نه تنها برای تشخیص آسیب‌های ناشی از این عوامل در ماهی‌های انفرادی بلکه به منظور مانیتورینگ میزان آلودگی محیط آبی با این عوامل و میزان خطر ناشی از آن مفید خواهد بود (livingstone Derakhshesh و همکاران در سال ۲۰۱۹ در مطالعه‌ای گزارش کردند قرار گرفتن در معرض کشت سلول‌های کبدی از هامور خالدار نارنجی *Epinephelus coioides*، به بنزوآلفاپایرن و نور منجر به آسیب اکسیداتیو می‌شود که توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری می‌شود. نتایج آن‌ها نشان داد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (SOD، CAT و GPx) و آنزیم‌های کبدی (ALT، AST، ALP، LDH) به طور قابل توجهی افزایش یافت، اگرچه مقدار LPO، قدرت آنتی‌اکسیدانی کل و پروتئین کل به‌طور وابسته باعث کاهش دوز در سلول‌های در معرض BaP می شود.

از جمله رایج‌ترین شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو مورد استفاده می‌توان به اندازه‌گیری مقادیر مالون دی آلدئید و گروه تیول در بافت کلیه ماهی اشاره نمود. استرس اکسیداتیو شرایطی است که در اثر افزایش تولید مولکول‌های اکسیدان در سلول ایجاد می‌شود. رادیکال‌های آزاد فعال می‌توانند باعث اکسیداسیون و تغییر شیمیایی در بیومولکول‌ها شامل پروتئین‌ها، لیپیدها و نوکلئوتیدها شوند. این خسارت می‌تواند ارگان‌های مختلف موجود زنده را درگیر کند و باعث اشکال و نارسایی در ارگان‌های مختلف شود و اثرات مضر این رادیکال‌های آزاد را در بیماری‌های مختلف مشاهده می‌کنیم. استرس اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود؛ به عبارت دیگر، در سیستم بیولوژیک هوازی به منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، مکانیسم های دفاع آنتی‌اکسیدانی طراحی شده است تا اثرات زیان بار این عوامل مهاجم را خنثی نموده یا به حداقل برساند. نتایج این پژوهش نیز نشان داد میزان تیول ماهیانی که در معرض ۰/۵، ۱/۵ و ۵ نانوگرم در لیتر بنزوآلفاپایرن قرار داده شد نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت. مطالعات نشان می‌دهد که فرایند بسیاری از بیماری‌های مزمن و بعضی سرطان ها به واسطه ی رادیکال‌های آزاد و در نتیجه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها آغاز می‌شود (Halliwell, 1991). گروه تیول نسبت به صدمات استرس اکسیداتیو حساس هستند و کاهش آن‌ها نشانه مهمی از استرس-اکسیداتیو است. اندازه‌گیری گروه‌های تیول می‌تواند شاخص بسیار خوبی از وضعیت تاثیر استرس‌اکسیداتیو بر روی پروتئین-ها باشد (Halliwell, 1993). مطالعات نشان داده‌اند اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بدن موجودات آبزی در مقایسه با سایر مارکرها از قبیل تغییرات هیستوپاتولوژی شاخص‌های مناسب‌تری جهت تشخیص آسیب‌های اولیه ناشی از آلودگی‌های محیطی هستند و میتوان از آن‌ها برای مانیتورینگ آلودگی محیط‌های آبی با مواد شیمیایی و صنعتی مانند سموم و فلزات سنگین استفاده نمود (Lushchak, 2011). Cui و همکاران در سال ۲۰۱۹ بیان کردند که قرار گرفتن در معرض بنزوآلفاپایرن با تولید غلظت‌های پایدار فیزیولوژیکی ROS، مسیر NF-κB را مهار می‌کند (Cui *et al.*, 2019). برخی از مطالعات قبلی در مدل‌های رده سلولی پیشنهاد کرده‌اند که اثرات عصبی بنزوآلفاپایرن به دلیل میزان شدید استرس اکسیداتیو است. در طی متابولیسم سلولی، بنزوآلفاپایرن می تواند تحت واسطه‌های بیولوژیکی درون سلولی به دلیل فعال شدن متابولیک به diol-epoxides توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 (CYP) منجر به تولید ROS شود (Das and Patri, 2019). در

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

گزارش‌هایی Movahedinia و همکاران (۲۰۱۴) اثرات بنزوآلفاپایرن بر بافت‌های کلیوی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها حاکی از آن است که اندام کلیه در ماهی نسبت به غلظت‌هاي مختلف این آلاینده بسیار حساس و آسیب پذیر است. آلودگی شیمیایی محیط میتواند با کاهش پتانسیل فعالیت کلیه موجب کاهش بقاي جانور شود. نتیجه مطالعه نشان داد بنزو آلفاپایرن سبب افزایش میزان فعالیت مالون دی آلدئید و کاهش میزان تیول در کلیه ماهي هامور معمولی مي‌گردد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی در دانشگاه پیام نور اهواز بوده و بدین وسیله نویسنده این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور خوزستان تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع

Almedia, E. A., Loureiro, G. R., Martinez, S., Miyamoto J., Onuki, L. F. and Barbosa, C. C., 2007. Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian Marie environment: Antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 146: 588-600.

Bagheri, D. and Koyama, J., 2016. Effects of Benzo (a) Pyrene on Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) Activity and Genomic Damage in Java Medaka (*Oryzias javanicus*). Iran South Med J, 19(5): 787-798.

Cui, Q., Chen, F., Chen, H., Peng, H. and Wang, K., 2019. Benzo[a]pyrene (BaP) exposure generates persistent reactive oxygenspecies (ROS) to inhibit the NF-kB pathway in medaka (Oryziasmelastigma). Environ Poll 251: 502–509.

Derakhshesh, N., Salamat, N., Movahedinia, A., Hashemitabar, M. and Bayati, V., 2019. Exposure of liver cell culture from the orange-spotted grouper, Epinephelus coioides, to benzo[a]pyrene and light results in oxidative damage as measured by antioxidant enzyme. Chemospher, 226: 534-544**.**

Das, S. K. and Patri, M., 2019. Adolescence benzo[a] pyrene treatment induces learning and memory impairment and anxiolytic like behavioral response altering neuronal morphology of hippocampus in adult male Wistar rats. Toxicol Rep Oct, 16 (6): 1104-1113.

Gao, J., Koshio, Sh., Ishikawa, M., Yokoyama, S. and Mamauag, R., 2014. Interactive effects of vitamin C and E supplementation on growth performance, fatty acid composition and reduction of oxidative stress in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed dietary oxidized fish oil. Aquaculture, 568: 84-90.

Gesto, M., Soengas, J. L. and Migues, J. M., 2008. Acute and prolonged stress responses of brain monoaminergic activity and plasma cortisol level in rainbow trout are modified by PAH treatment. Aquatic Toxicology, 86: 341-351.

Giari, L., Simoni, E., Manera, M. and Dezfuli, B. S., 2008. Histo-cytological responses of Dicentrarchus labrax (L.) following mercury exposure. Ecotoxicology and environmental safety, 70(3): 400-410.

Ghasemi, A., Abdi, G., 2020. Gene expression pattern in different tissues of mudskipper (Boleophthalmus dussumieri) in normal and benzo(a)pyrene (BaP) exposure condition, 12 (2):107-115.

Gharaei, A., Bazmani, M., Mirdar Harijani, J. and Khosravanizadeh, A., 2020. Effect of lethal concentrations of indomethacin on the oxidative stress of common carp *Cyprinus carpio*. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous, 8(2): 60-66.

Halliwell, B., 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. Am J Clin Nutr, 57(5 Suppl):715S-724S; discussion 724S-725S.

Halliwell, B., 1991. Reactive oxygen species in living systems: Source biochemistry, role in human disease. American Journal of Medicine, 91: 14–22.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

Hawkings, G. S., Galvez, F. and Goss, G. G., 2004. Seawater acclimation causes independent alterations in Na/K- and H-ATPase activity in isolated mitochondria-rich cell subtypes of the rainbow trout gill. J. Exp. Biol, 207: 905-912.

Heemstra, P. C. and Randall, J. E., 1993. Groupers of the World (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). An Annotated and Illustrated Catalogue of the Grouper, Rock Cod, Hind, Coral Grouper Known to Date. FAO Fisheries Synopsis. Rome, FAO, 125 (16): 382.

Holt, J., Hothem, S., Howerton, H., Larson, R. and Sanford, R., 2005. 9, 10-Phenanthrenequinone photoautocatalyzes its formation from phenanthrene, and inhibits biodegradation of naphthalene. Journal of environmental quality, 34(2): 462-468.

Livingstone, D. R., 2003. Oxidative stress in aquatic organism in relation to pollution and agriculture. Revue de Medecine Veterinaire, 154: 427–430.

Lushchak, V.L., 2011. Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol,153(2): 175-90.

Marshall, M. S. and Grosell, M., 2006. Ion transport, osmoregulation, and acid–base balance. In: Evans DH, Claiborne JB (eds). The physiology of fishes. CRC Press, Boca Raton, 179–214.

Mohamed, F. A., 2009. Histopathological studies on Tilapia zillii and Solea vulgaris from Lake Qarun, Egypt. World Journal of Fish and Marine Sciences, 1(1): 29-39.

Moran, L. K., Gutteridge, J. and Quinlan, G. J., 2001. Thiols in cellular redox signalling and control. Current Medicinal Chemistry, 8: 763.

Movahedinia, A., Loghmani, M., Ghasemi, S. A., Kouchaknejad, E., Izadian, M. and Esfandiari, E., 2014. Study on the effects of Benzo(a) pyrene exposure on renal tissues in Common Carp, *Cyprinus carpio*. Aquatic Physiology and Biotechnology, 2(2): 31-45.

Myazaki, H., Kaneko, T., Uchida, S. and Sasaki, S., 2002. Kidney specific chloride channel, OmClC-K, predominantly expressed in the diluting segment of freshwater-adapted tilapia kidney. Proceedings of the National Academy of Sciences. USA, 99: 15782–15787.

Pulster , E. L., Gracia, A. and Armenteros, M., 2020. Chronic PAH exposures and associated declines in fish health indices observed for ten grouper species in the Gulf of Mexico. Sci Total Environ, 10;703:135551.

Reynaud, S. and Deschaux, P., 2006. **The effect of polycyclic aromatic hydrocarbon on the immune system of fish. Aquatic Toxicology 77: 229-238.**

Salamat, N. and Derakhshesh, N., 2020. Oxidative stress in liver cell culture from mullet, Liza klunzingeri, induced by short-term exposure to benzo[a]pyrene and nonylphenol. Fish Physiol Biochem, 46(4): 1183-1197.

Sadeghi, M. and Salamat, N., 2019. Histopathological changes of kidneys of Epinephelus coioides under the influence of Benzo-α-Pyren and bacteria (*Vibrio alginolyticus*). Bi-Quarterly Journal of Veterinary Histobiology, 7(1): 1-10.

Slaninova, A., Smutna, M., Modra, H. and Svobodova, Z., 2009. Reviews Oxidative stress in fish induced by pesticides. Neuroendocrinology Letters, 30(1): 2-8.

Teh, S. J., Adams, S. M. and Hinton, D. E., 1997. Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. Aquatic Toxicology, 37(1): 51-70.

Thophon, S., Kruatrachue, M., Upatham, E. S., Pokethitiyook, P., Sahaphong, S. and Jaritkhuan, S., 2003. Histopathological alterations of white sea bass, Lates calcarifer, in acute and subchronic cadmium exposure. Environmental Pollution, 121(3): 307-320.

Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. and Scoullos, M., 2006 Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms inrelation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety, 64: 178–189.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]