

مقایسه هیستوپاتولوژیکی تأثیرات غلظت‌ها و تعداد دفعات مختلف حمام آب نمک در روند

بهبود زخم جلدی ماهی کپور دریایی، *Cyprinus carpio*

*شهپور پاپی^۱، عبدالمجید حاجی مرادلو^۲ و رسول قربانی^۲

^۱دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۲گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی روند ترمیم زخم ایجاد شده به صورت خطی به طول ۱ و عمق ۰/۵ سانتی‌متر در زیر باله پشتی ماهی کپور دریایی انجام شد. برای بهبود روند ترمیم زخم‌های پوستی، ماهیان تحت شرایط آزمایشگاهی در دمای ۱۸-۱۳ درجه سانتی‌گراد در ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ روز متوالی پس از ایجاد زخم به مدت ۱۵ دقیقه در حمام‌های آب نمک ۱، ۲ و ۳ درصد قرار گرفتند. ماهیان (به وزن $20.3 \pm 5/2$ گرم) به ۱۵ گروه تقسیم شدند. بلافاصله پس از ایجاد زخم همه ماهیان در حمام آب نمک قرار گرفتند و تیمارها به طور عمده به سه گروه تقسیم شدند. یک گروه در آب نمک با غلظت ۱ درصد، گروه دوم در آب نمک با غلظت ۲ درصد و گروه سوم در آب نمک با غلظت ۳ درصد قرار گرفتند. هر کدام از این گروه‌ها به ۵ زیرگروه تقسیم شدند و تفاوت زیر گروه‌ها در تعداد دفعات حمام آب نمک بود. به این ترتیب که از یک تا ۵ روز متوالی پس از ایجاد زخم تحت حمام آب نمک قرار گرفتند. یک گروه هم بدون حمام آب نمک به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. از هر تیمار از بافت زخمی در زمان‌های ۳، ۷، ۱۰، ۱۴، ۱۷، ۲۱ و ۲۸ روز پس از ایجاد زخم به صورت جداگانه نمونه‌گیری صورت گرفت. طی دوره ۲۸ روز، ترمیم زخم در تیمارهای با آب نمک ۲ و ۳ درصد بهتر از تیمار با آب نمک ۱ درصد بود و این اختلاف در روزهای سوم، دهم و بیست‌وهشتم، معنی‌دار بود. همچنین بین تیمارهای با آب نمک ۲ و ۳ درصد در کل دوره اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. از بین تعداد دفعات مختلف حمام آب نمک، ۵ بار حمام آب نمک، نتایج بهتری داشت، اما تنها در انتهای دوره با سایر دفعات دارای اختلاف معنی‌دار بود. به نظر می‌رسد حمام آب نمک ۲ و ۳ درصد تحت شرایط این مطالعه در روند بهبود زخم دارای تأثیر بهتری داشت.

واژه‌های کلیدی: ترمیم زخم، حمام آب نمک، کپور دریایی

مقدمه

پوست ماهی و سایر آبزیان سازگاری ویژه‌ای یافته که قابلیت تماس با مواد شیمیایی، فیزیکی و زیستی محیط زندگی خود را پیدا کرده است (۱۲). پوست و عضله، ماهی را در مقابل عفونت‌ها محافظت می‌نماید (۱۳). وظایف متعددی در آبزیان دارد

که به عنوان مثال می‌توان از عملکرد آن به عنوان یک سد فیزیکی بین اندام‌های داخلی و محیط، تنظیم اسمزی آب و مایعات بدن و همچنین در ایجاد ایمنی نام برد (۱۸). زخم‌های پوستی در ماهیان امری شایع بوده و عوامل زیادی از جمله عفونت‌های باکتریایی، ویروسی، ضایعات ناشی از انگل‌ها، آفتاب‌سوختگی، جراحات ناشی از ادوات صید و پرندگان شکاری،

کشاوری و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید و به مدت ۱ هفته جهت سازگار شدن با محیط جدید در ونیرو نگهداری شد. این ماهیان در دوره آزمایش با بیومار تغذیه شدند و در طول اجرای آزمایش، pH و دمای آب به صورت روزانه با pH متر و دماسنج جیوه‌ای اندازه‌گیری شد. در طول دوره آزمایش دمای آب بین ۱۸-۱۳ درجه سانتی‌گراد و pH ۷/۹-۸/۵ بود.

ماهیان به‌طور تصادفی به ۱۶ گروه با ۳ تکرار تقسیم شدند که هر گروه شامل ۱۵ عدد ماهی بود. ابتدا با استفاده از ۱۰۰ پی‌پی‌ام پودر گل میخک ماهیان را بی‌هوش نموده و با استفاده از اسکالپل استریل زخمی خطی به طول یک و عمق ۰/۵ سانتی‌متر در زیر باله پشتی در سمت راست بدن آنها ایجاد گردید به طوری که زخم ایجاد شده لایه پوستی و ابتدای لایه عضلانی را در بر گرفت. سپس ماهیان به صورت زیر در حمام آب نمک قرار گرفتند: ۵ گروه در آب نمک ۱ درصد، ۵ گروه در آب نمک ۲ درصد، ۵ گروه در آب نمک ۳ درصد و یک گروه هم بدون حمام آب نمک به عنوان شاهد.

در روز بعد (۴ گروه از هر ۵ گروه)، در ۳ روز بعد (۳ گروه از هر ۵ گروه)، در ۴ روز بعد (۲ گروه از هر ۵ گروه) و در ۵ روز بعد (۱ گروه از هر ۵ گروه) به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب نمک قرار گرفتند.

در این پژوهش که ۲۸ روز به طول انجامید از هر تیمار ۳ نمونه ماهی در زمان‌های ۳، ۷، ۱۰، ۱۴، ۱۷، ۲۱ و ۲۸ روز پس از ایجاد زخم نمونه، به صورت تصادفی صید شد. برای نمونه‌برداری بافت شناسی، ابتدا ماهیان با استفاده از گل میخک بی‌هوش شدند و سپس از ناحیه زخم ایجاد شده قطعه‌های بافتی با ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر برداشته و در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت محلول فرمالین هر نمونه تعویض گردید. نمونه‌ها به مدت حداقل ۴۸

مسمومیت‌های شیمیایی، کمبود تیامین و اسید چرب، کمبود ویتامین‌های C و A موجب ایجاد آنها می‌گردند.

اکثر تحقیقات روی روند ترمیم زخم در ماهیان در چند دهه اخیر بوده است (۵ و ۱۵). تغذیه (۱۱، ۱۶ و ۱۸) و درجه حرارت (۸) بر روند ترمیم زخم در ماهی نقش مؤثری دارند.

نمک طعام (NaCl) از ضد عفونی‌کننده‌های طبیعی است که سال‌ها برای درمان خارجی بیماری‌های ماهی مورد استفاده قرار گرفته است (۴ و ۷). این ماده ارزان قیمت و تقریباً بی‌خطر برای ماهیان می‌باشد و علیه برخی انگل‌های خارجی و عفونت‌های باکتریایی سطوح بدن و آبشش قابل استفاده است (۲). نمک طعام در کنترل عفونت ساپروولگنیایی تخم‌های کپور معمولی مؤثر واقع شده است (۱۷). همچنین می‌توان از نمک طعام برای کاهش استرس اسمزی ماهیان استفاده نمود (۲ و ۵).

محیط زندگی و سطح پوست ماهی دارای ارگانسیم‌های زیادی با قابلیت بیماری‌زایی می‌باشند و بیماری‌های پوستی بخش قابل ملاحظه‌ای از بیماری‌ها و مرگ و میر را در بین آبزیان دارند (۱۲). بنابراین بهبود سریع‌تر زخم‌های پوستی در ماهیان و در نتیجه کاهش عفونت‌های ثانویه و مرگ و میر با استفاده از نمک از اهداف این مطالعه می‌باشد. بنابراین به دلیل نقش ضد عفونی‌کننده و ارزان بودن نمک، در این مطالعه تأثیر نمک در روند بهبود زخم ماهی‌کپور دریایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

۷۲۰ عدد ماهی کپور دریایی به ظاهر سالم با وزن $5/2 \pm 2/03$ گرم از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی واقع در کارگاه شهیدمرجانی تهیه و به مرکز تحقیقات آبزی پروری دانشکده شیلات دانشگاه علوم

افزایش غلظت آب‌نمک، ساختار اپیدرم بهتر بود و در ۷، ۱۰ و ۱۷ روز پس از ایجاد زخم این اختلاف بین تیمارها معنی‌دار بود ($P < 0.05$). اما تا پایان دوره اپیدرم کاملاً ساختار طبیعی نداشت.

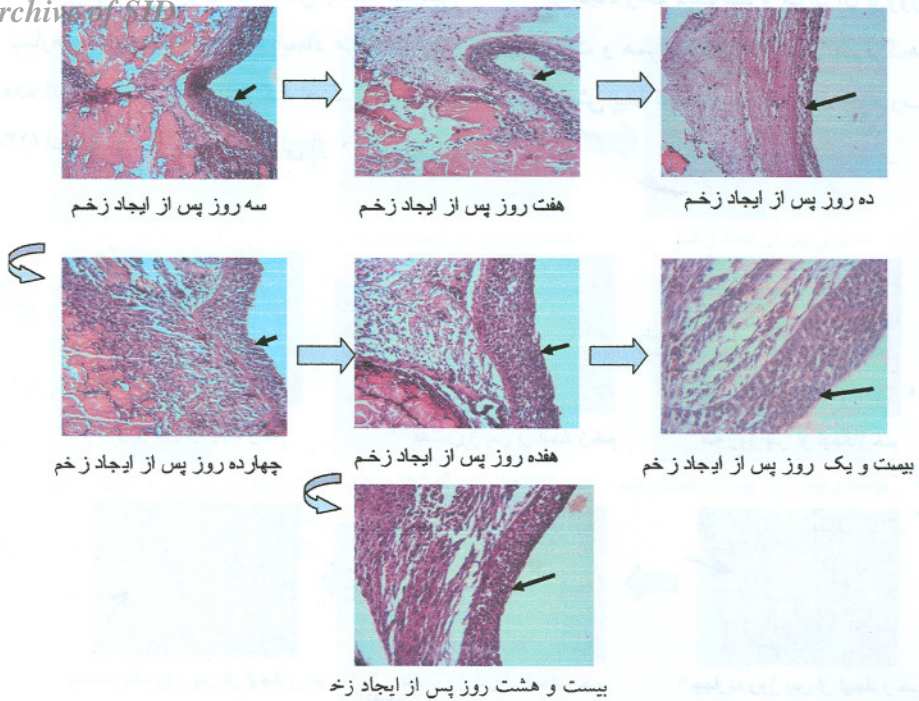
Jauncey و همکاران (۱۹۸۵) بیان نمودند که مهاجرت اپیدرم و پوشانده شدن محل زخم در ماهی تیلایا در همان ساعات اولیه در همه تیمارها روی داد. Erazo-Pagador (۲۰۰۱) بیان نمود که اپیدرم در همه تیمارها در ۱۴ روز پس از ایجاد زخم در گربه ماهی آفریقایی ساختار طبیعی داشت و دارای تعداد زیادی سلول‌های موکوسی و گرژی شکل بود.

Jauncey و Fontenet (۲۰۰۴) بیان می‌کنند که تکثیر سازماندهی و تمایز سلول‌های در حال ترمیم اپیدرم ۹ تا ۴۸ ساعت بعد از تشکیل مجدد اپیدرم کامل می‌شود و تکثیر با لایه سلولی اپیتلیال تمایز نیافته که طی تشکیل مجدد اپیدرم در محل زخم تشکیل شده آغاز می‌گردد. شریف‌پور (۱۳۸۳) نیز در مطالعاتش بر روی کپور آینه‌ای بیان نمود که سلول‌های گرژی شکل ۶۰ روز پس از ایجاد زخم به حد طبیعی خود رسیدند که ممکن است به دلیل نقش کمتر آنها در مکانیسم دفاعی و حفاظتی نسبت به سلول‌های موکوسی باشد. در این مطالعه بین بهبود اپیدرم و ظهور سلول‌های موکوسی ارتباطی برقرار نشد.

اپیدرم در هموستازی موجوداتی که در محیط اسمزی متفاوت قرار دارند، مهم می‌باشد. مطالعه حاضر نشان داد که در کپور دریایی مهاجرت اپیدرم و پوشانده شدن محل زخم به سرعت روی داده است، به طوری که در اولین نمونه‌گیری در ۳ روز پس از ایجاد زخم، محل زخم توسط سلول‌های اپیدرمی به طور کامل پوشیده شده است (شکل ۱). مهاجرت سریع اپیدرم در این تحقیق با نتایج تحقیقات Abraham و Iger (۱۹۹۰) و شریف‌پور (۱۳۸۳) روی ماهی کپور آینه‌ای (*Cyprinus carpio*)، حسن‌آبادی‌زاده و همکاران (۱۳۸۷) روی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، Jauncey (۱۹۸۵) روی ماهی تیلایا، Erazo-Pagador و (*Oreochromis niloticus*) (۲۰۰۱) روی گربه ماهی آفریقایی، (*Clarias gariepinus*) مطابقت دارد.

اپیدرمی که محل زخم را پوشانده است با گذشت زمان ساختار طبیعی خود را پیدا می‌کند. در این مطالعه در روز سوم و هفتم اپیدرم در همه تیمارها ساختار نرمالی نداشت. در روزهای بعدی ساختار اپیدرم رو به بهبود بود و ۲۸ روز پس از ایجاد زخم، در همه گروه‌ها فضای داخل سلولی در اپیدرم کم بود و ادم کمتری مشاهده شد و تیمارهای با آب‌نمک ۲ درصد در ۲ و ۴ بار حمام و تیمارهای با آب‌نمک ۳ درصد در ۲، ۴ و ۵ بار حمام به ساختار بهتری رسیدند. طی روند ترمیم زخم تقریباً در کل دوره با

Archives of SID



شکل ۱- روند ترمیم اپیدرم کپوردریایی در طول تحقیق (x200,400)

(۱۳۸۷) روی کپور معمولی انجام داد مشاهده نمود که در ۳۰ روز پس از ایجاد زخم، درم در منطقه صدمه دیده شکل کاملاً طبیعی خود را باز نیافته بود. Wahli و همکاران (۲۰۰۳) نیز مشاهده نمودند که درم تا پایان دوره نمونه برداری ساختار طبیعی نداشت.

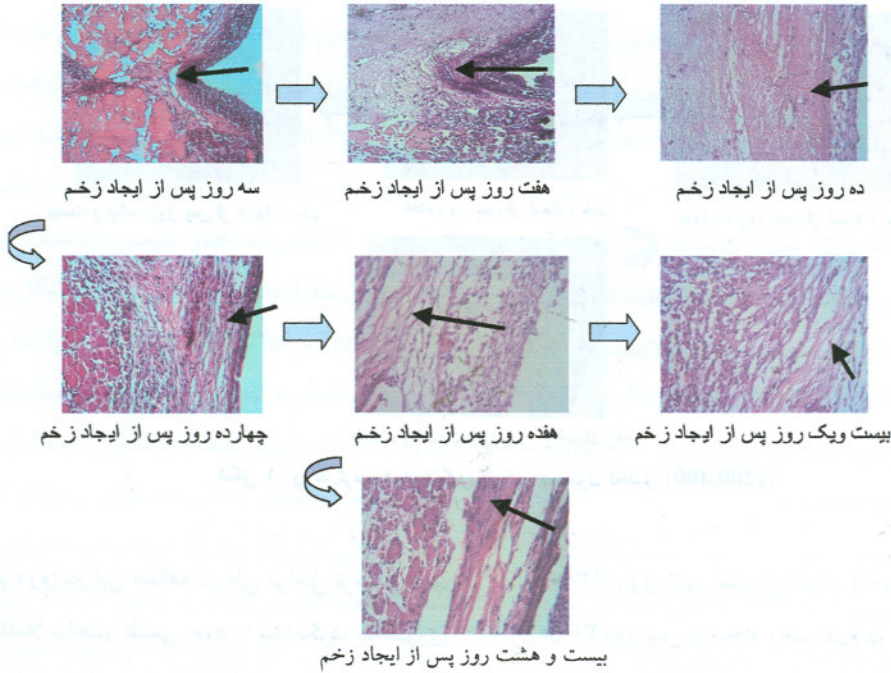
ظهور نسبتاً سریع مویرگ‌های خونی در منطقه زخم در ماهی نقش مهمی در سرعت بخشیدن به انجام مراحل بهبود زخم دارد. در این مطالعه ایجاد عروق خونی از ۳ روز پس از ایجاد زخم دیده شد و میزان آن تا روز ۱۴ افزایش یافت و همراه با بهبود زخم، مویرگ‌ها به تدریج کاهش پیدا کردند و به حد نرمال خود رسیدند. در میزان تشکیل عروق در ۱۷ روز پس از ایجاد زخم تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$). در مطالعه Wahli و همکاران (۲۰۰۳) روی ترمیم زخم در قزل‌آلای رنگین‌کمان، میزان تشکیل رگ در محل زخم در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد طی دوره آزمایش تا ۱۰ روز پس از ایجاد

ترمیم درم: در این مطالعه در طی مراحل ترمیم زخم، درم کاملاً ساختار طبیعی خود را پیدا نکرد، به طوری که ابتدا تعداد فیروبیلاست‌ها افزایش یافت که میزان زیادی تروفوکلاژن ترشح می‌کنند و در نهایت رشته‌های کلاژن و بافت همبند کلاژنی جای رشته‌های فیبرین را در محل زخم گرفت. در کل دوره بجز روز بیست و یک، ساختار درم در تیمار با آب نمک ۳ درصد از وضعیت بهتری برخوردار بود و در روزهای ۳، ۱۰ و ۲۸ این اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$) (شکل ۲).

در مطالعه‌ای که شریف‌پور (۱۳۸۳) روی کپور آینه‌ای انجام داد، مشاهده نمود که حتی در ۶۰ روز پس از ایجاد زخم، درم در منطقه صدمه دیده شکل کاملاً طبیعی خود را باز نیافته بود. ترمیم کامل و بازیافتن ساختار طبیعی درم ممکن است بیش از یک سال طول بکشد که این امر به درجه حرارت محیط بستگی دارد. همچنین در مطالعه‌ای که حسن‌آبادی‌زاده

از ایجاد زخم دیده شد و میزان آن تا روز ۱۵ افزایش یافت و همراه با بهبود زخم، مویرگ‌ها به تدریج کاهش پیدا کردند و به حد نرمال خود رسیدند.

زخم افزایش و سپس میزان آن کاهش یافت. همچنین بین تیمارها تفاوت معنی‌داری در ایجاد عروق خونی مشاهده نمودند. در مطالعه‌ای که حسن‌آبادی‌زاده (۱۳۸۷) انجام داد ایجاد عروق خونی از ۱۰ روز پس

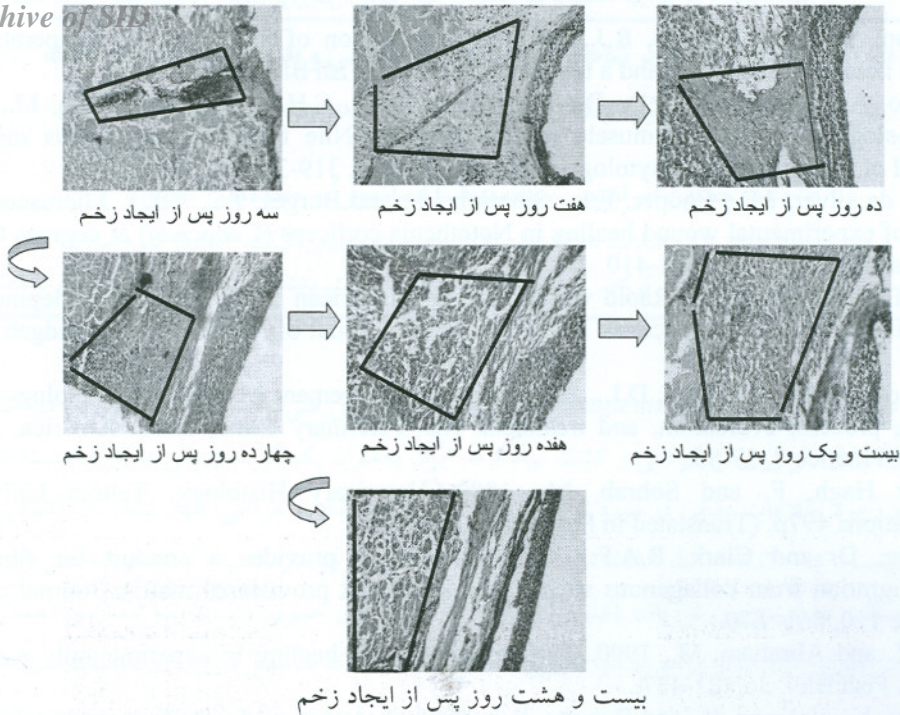


شکل ۲- روند ترمیم درم کپوردریایی در طول تحقیق (۴۰۰، X۲۰۰)

اطرفی هدایت می‌شود. در زخم‌های وسیع‌تر، ترمیم فاصله بوجود آمده بوسیله بافت همبند انجام می‌گیرد (۱۳). شریف‌پور (۱۳۸۳) مشاهده نمود که تشکیل جوانه‌های جدید عضلانی و ترمیم و بازسازی رشته‌های عضلانی آسیب دیده ۲ روز بعد از ایجاد زخم شروع گردید و ترمیم عضلانی منطقه زخم در ماهی کپور آینه‌ای ظرف ۱۶ روز کامل شد. میزان ترمیم عضلانی و درجه حرارت محیط کاملاً بهم مرتبط می‌باشند. در مطالعه‌ای که حسن‌آبادی‌زاده (۱۳۸۷) انجام داد تا ۳۰ روز پس از ایجاد زخم عضله ساختار طبیعی خود را به دست نیاورد.

ترمیم عضله: در این مطالعه در ۲۸ روز پس از ایجاد زخم، عضله ساختار کاملاً طبیعی خود را بدست نیاورد و محل زخم با بافت همبند پر شد و فیبرهای کوچک عضلانی که صدمه کمتری دیده بودند ترمیم شدند (شکل ۳). در کل دوره در تیمار با آب نمک ۲ درصد ساختار عضله از وضعیت بهتری برخوردار بود و در ۳ و ۷ روز پس از ایجاد زخم، این اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0/05$). به نظر می‌رسد که ترمیم زخم‌های وارده بر الیاف ماهیچه‌های مختلط چنانچه قسمتی از هسته و سیتوپلاسم سلول باقی مانده باشد عملی می‌گردد و ارتباط قسمت‌های قطع شده و ضایعه دیده از طریق سلول‌های مجاور بافت همبند

Archive of SID



شکل ۳- روند ترمیم عضله کپور دریایی در طول تحقیق (x100,200,400)

در روند بهبود زخم جلدی کپور دریایی دارای تأثیر معنی داری می باشد ($P < 0.05$).

در پایان دوره میزان بهبود زخم در شاهد (۷۵ درصد)، در تیمار یک (۸۱ درصد)، در تیمار دو (۹۳ درصد) و در تیمار سه (۹۰ درصد) بود. به نظر می رسد حمام آب نمک ۲ و ۳ درصد تحت شرایط این مطالعه

تشکر و قدردانی

از راهنمای‌های ارزشمند آقایان دکتر عیسی شریف پور و دکتر علیزاده کمال تشکر را داریم.

منابع

- ۱- پیغان، ر، عبدا... مشایی، م، ۱۳۸۰. در ترجمه آبنزی پروری برای دامپزشکان، براون، ل. (مؤلف). انتشارات دانشگاه شهید چمران، ۹۱۶ صفحه.
- ۲- پیغان، ر، ۱۳۸۲. بیماری‌های ماهی. انتشارات دانشگاه شهید چمران، ۲۸۱ صفحه.
- ۳- حسن آبادی زاده، ز، حاجی مرادلو، ع، قربانی، ر، خوش باور رستمی، ح، و سلیمانی، ن، ۱۳۸۷. مطالعه تأثیر تزریق ویتامین‌های A، C، A+C و AD_3E بر روند ترمیم زخم و برخی از پاسخ‌های خونی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، جلد ۱۵، شماره ۶.
- ۴- سناری، م، روستایی، م، ۱۳۷۸. در ترجمه بهداشت ماهی ۱، پست، ج. (مؤلف). انتشارات دانشگاه گیلان، ۲۸۴ صفحه.
- ۵- شریف پور، ع، ۱۳۸۳. مطالعه تجربی بافت شناسی کیفیت روند بهبود زخم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲، صفحات ۹۱ تا ۱۱۶.
- ۶- شریف روحانی، م، ۱۳۷۹. دامپزشکی آبزیان. تهران، شرکت سهامی شیلات ایران. ۱۵۱ صفحه.

۷- مخیر، ب.، ۱۳۸۱. بیماری‌های ماهیان پرورشی. چاپ چهارم. انتشارات دانشگاه تهران، ۵۹۵ صفحه.

8. Anderson, C.D. and Roberts, R.J., 1975. A Comparison of the effects of temperature on wound healing in a tropical and a temperate teleost. J. Fish Biol. 7, 173-182.
9. Camargo, A.A., Carvalho, R.F., Dal-Pai, V., Pellizzon, C.H. and Dal-Pai-silvia, M., 2004. Morphological aspects of muscle regeneration the Nile tilapia (*Oreochromis niloticu*). Journal of Submicroscopic Sytology and Pathology. 36, 319-32.
10. Cunha da silver, J.R., Cooper, E.L., Sihorini, I.L. and Borges, J.C., 2005. Microscopically study of experimental wound healing in *Notothenia coriiceps* (*Cabecuda*) at degrees C. Cell and tissue research 321, 401-410.
11. Erazo-Pagador, G., 2001. Rapid wound healing in African catfish, *Clarias gariepinus*, fed diets supplemented with ascorbic acid. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh 53(2), 69-79.
12. Fontenot, D.K. and Neiffer, D.L., 2004. Wound management in teleost fish: biology of the healing process, evaluation, and treatment. The Veterinary Clinic North America. Exotic Animal Practice 7, 57-86.
13. Golbaz Hagh, F. and Sohrab, M., 1980. Veterinary Histology. Tehran University Publications 497p. (Translated in Persian).
14. Greiling, D. and Clark, R.A.F., 1997. Fibronectin provides a conduit for fibroblast transmigration from collagenous stroma into fibrin clot provisional matrix. Journal of Cell Science 110, 861- 870.
15. Iger, Y. and Abraham, M., 1990. The process of skin healing in experimentally wounded carp. J. Fish Biol. 36:421-437.
16. Jauncey, K., Soliman, A. and Roberts, R.J., 1985. Ascorbic acid requirements in relation to wound healing in cultured tilapia *Oreochromis niloticus* (Trewavas). Aquaculture and fisheries management 16, 139-149.
17. Khodabandeh, S. and Abtahi, B., 2004. Effects of sodium chloride, formalin and iodine on the hatching success of common carp, *Cyprinus carpio*, eggs. J. Applied Ichthyology 22, 54-56.
18. Wahli, T., Verlhac, V., Girling, P., Gabaudan, J. and Aebischer, C., 2003. Influence of dietary vitamin C on wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 225, 371-386.