Archive of SID

تغییرات هورمون‌های تیروئیدی ماهی کپور معمولی در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده کادمیوم

عسکری حصنی، م.[1،*]

[1] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
Email: mahesni @gmail.com

کادمیم فلز سنگینی می‌باشد که از طریق منابع مختلف طبیعی و غیرطبیعی وارد اکوسیستم‌های آبی می‌گردد و باعث مسمومیت، اختلال در سیستم اندوکرینی و درنهایت باعث اختلال در فعالیت‌های حیاتی آبزیان می‌شود، به همین علت اثرات آن می‌تواند به‌عنوان شاخص زیستی تعیین آلاینده‌ها بکار رود. در مطالعه حاضر اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم (۱، ۴، ۸ و ۱۲میلی‌گرم بر لیتر) بر هورمون‌های تیروئیدی ماهی کپور معمولی در بازه زمانی ۲۱ روز مطالعه شد. خون‌گیری از ماهیان در روزهای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ انجام و پس از استخراج پلاسما؛ میزان هورمون‌های تیروئیدی پلاسما به روش رادیوایمونواسی سنجش شد. نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده کاهش معنی‌داری در سطوح $T3$ و همچنین افزایش معنی‌دار $T4$پلاسمای ماهیان تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل بود و همچنین میزان $T3$ با گذشت زمان کاهش و همچنین افزایش معنی‌دار $T4$ مشاهده گردید؛ بنابراین هورمون‌های تیروئیدی می‌توانند به‌عنوان شاخص زیستی تعیین سلامت محیط آبی معرفی گردند.

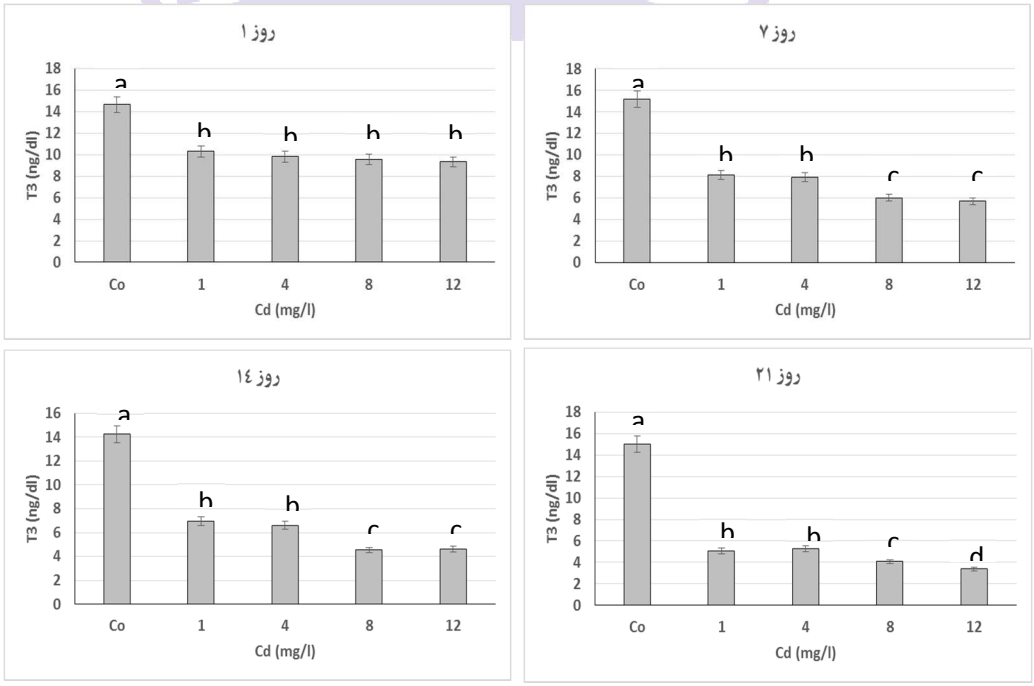
کلمات کلیدی: هورمون‌های تیروئیدی، شاخص زیستی، فلزات سنگین، ماهی کپور معمولی.

مقدمه:

www.SID.ir

Archive of SID

توسعه صنایع مختلف ازجمله نفت، گاز، پتروشیمی، مجتمع‌های صنعتی و سایر صنایع تولیدی و اقتصادی طی چند دهه اخیر موجب بروز آسیب‌های زیست‌محیطی زیادی در اکوسیستم‌های آبی و خشکی گردیده است. یک گروه از آلاینده‌های بسیار مهم محیطی فلزات سنگین می‌باشند که اثرات زیان باری بر فرآیندهای زیستی و فیزیولوژی موجودات دارند. منابع اصلی ورود فلزات شامل منابع طبیعی و غیرطبیعی ازجمله معادن، مواد نفتی و ترکیبات استخراجی آن‌ها در صنایع مختلف می‌باشند *[7]*. مطالعات آزمایشگاهی در مورد اثرات فلزات سنگین مشخص نموده‌اند که این آلاینده‌ها با آسیب رساندن به عملکرد فیزیولوژیک و اختلال



در سیستم هورمونی در غلظت‌های بالا و دوره‌های طولانی‌مدت سبب مرگ ماهیان می‌شوند. مسمومیت بلندمدت با دزهای پایین این آلاینده‌ها نیز باعث آسیب رساندن به سیکل زندگی و افزایش توانایی ماهی در ابتلا به بیماری‌های عفونی و تغییر فاکتورهای فیزیولوژیکی و بافتی ماهی شده و تغییرات در این فاکتورها می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های زیستی آلودگی محیطی در نظر گرفته شوند *[10]*.

یکی از فلزات سنگین مضر واردشده به اکوسیستم‌های آبی کادمیم می‌باشد که غلظت آن در آب دریا در لایه‌های سطحی ۳ تا ۱۰ نانوگرم در لیتر، در قسمت‌های عمیق تا ۳۵۰۰ نانوگرم در لیتر، در آب‌های شیرین ۰/۱ میکروگرم در لیتر و در مناطق خیلی آلوده تا ۲۳۰ میکروگرم در لیتر دیده می‌شود (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱). بر اساس قوانین اتحادیه اروپا حداکثر میزان مجاز برای کادمیم ۰/۰۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن‌تر و بر اساس گزارش سازمان خشکبار و مواد غذایی جهانی ۰/۵ میکروگرم در هر گرم وزن‌تر بدن ماهی گزارش‌شده است *[8]*. کادمیم به عنوان یک آلاینده صنعتی، می‌تواند اثرات سمی بر فرایندهای گوناگون بیولوژیکی در ماهی داشته باشد ازجمله اختلال در بافت اینترنال و تغییر در کورتیکوتروپین ها *[5]*، تغییر در رفتار *[13]* تغییر در بافت آبشش *[12]* ، تأخیر و تعلل در رشد، کاهش در توانایی تخم گشایی، افزایش ناهنجاری‌های ریخت‌شناسی و حتی ممکن است مرگ مستقیم جاندار را سبب شود *[3]*. این فلز، در مقادیر فراوان ممکن است بر عملکرد گوارش، ایمنی و اندام‌های تولیدمثلی نیز تأثیر بگذارد *[12]*؛ بنابراین، می‌توان با اندازه‌گیری تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در خون ماهی‌هایی که در معرض این فلز قرارگرفته‌اند موجبات پیشرفت متدهایی به‌منظور پیش‌بینی اثرات این آلاینده بر رشد، تولیدمثل و یا حتی چگونگی تحمل استرس را ایجاد کرد *[2]* . هورمون‌های تیروئیدی (*T3* و *T4*) در فرآیندهای فیزیولوژیکی متعددی درطی رشد، نمو، رفتار و استرس درگیر هستند. مطالعات نشان می‌دهد که تولید و عملکرد هورمون‌های تیروئیدی از مهم‌ترین اهداف ترکیبات

www.SID.ir

Archive of SID

مختل‌کننده‌های اندوکرینی است *[4]*. لذا به نظر می‌رسد مشخص کردن آلاینده‌های فلزی ازجمله کادمیم و اثرات آن‌ها بر موجودات آبزی و همچنین تعیین شاخص‌ها و فاکتورهای مناسب برای تخمین و تعیین ظرفیت آلودگی‌ها در اکوسیستم‌های آبی امری مهم و اجتناب‌ناپذیر باشد.

ماهی کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* یکی از گونه‌های مهم پرورشی است که امروزه به‌طور گسترده در استخرهای تکثیر و پرورش، در نقاط مختلف کشور تکثیر می‌گردد و یکی از پرمصرف‌ترین ماهی‌های پرورشی می‌باشد. این ماهی به دلیل رشد سریع، امکان تکثیر مصنوعی و تغذیه و نگهداری به‌صورت متراکم و دارا بودن مقاومت بالا در مقابل عوامل فیزیکی و شیمیایی آب ازجمله مهم‌ترین ماهیان پرورشی جهان است.هدف از این مطالعه، بررسی میزان اثر غلظت‌های مختلف فلز کادمیم بر تغییرات هورمون‌های تیروئیدی می‌باشد تا از آن به‌عنوان شاخص زیستی تعیین آلودگی کادمیوم استفاده گردد.

مواد و روش‌ها:

ماهیان کپور موردنیاز آزمایش از استخرهای پرورش ماهی در حومه شهر لاله‌زار، استان کرمان تهیه شدند. از بین ماهیان صیدشده نه‌تنها ماهیان هم سایز، بلکه تنها ماهیانی که ازنظر خصوصیات ظاهری سالم بوده و در حین فرآیند صید آسیب‌ندیده بودند، انتخاب شدند. برای آزمایش‌های موردنظر ماهیان با وزن نسبتاً مشابه (میانگین وزن۱۰گرم) انتخاب و به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان منتقل شدند. ماهیان قبل از انجام آزمایش اصلی، جهت سازگاری با شرایط اسارت (در محیط مصنوعی) به مدت دو هفته درون وان ها نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها در ۱۵ تانک ۲۰۰ لیتری قرار گرفتند. به‌منظور قرار دادن ماهیان در معرض فلز کادمیم، ۱۸ قطعه ماهی در هر تانک، در ۴ تیمار با غلظت‌های تحت کشنده ۱، ۴، ۸ و ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر و یک گروه شاهد با سه تکرار به مدت ۲۱ روز در معرض تیمارهای فلز کادمیم قرار گرفتند.

ماهیان در طول دوره آزمایش با غذای پلت غذادهی می‌شدند. یک روز قبل از شروع آزمایش و همچنین یک روز قبل از خون‌گیری غذادهی صورت نگرفت. پارامترهای کیفی آب به‌طور روزانه کنترل می‌شد و سعی شد تا تمام شرایط در طول دوره آزمایش ثابت باقی بماند و تنها عامل متغیر دوزهای مختلف فلز باشد. شرایط آزمایش شامل میانگین دما، اسیدیته، اکسیژن و شوری به ترتیب در طول دوره آزمایش ۲۵/۵ درجه سانتی‌گراد، ۸/۲، ۶/۱ *mg/l* و ۹۹۳*µs/cm* بود. تمام فاکتورها به‌وسیله مولتی متر دیجیتال مدل هک (*Hach, HQd*). ساخت کشور آلمان به‌طور روزانه اندازه‌گیری شد. آب تانک‌ها در طول دوره آزمایش به‌صورت روزانه ۳۰ درصد تعویض می‌گردید. در روزهای ۱، ۷، ۱۴و ۲۱ از ناحیه ساقه دمی ماهیان خون‌گیری شد. پس از انجام خون‌گیری، نمونه‌های خونی بلافاصله وارد ویال شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و پلاسما جداسازی گردید. پلاسما به‌آرامی جداسازی و در ویال های ۲ میلی‌لیتری و در دمای ۸۰-°*C* تا زمان آنالیز هورمون‌های تیروئیدی نگهداری شدند.

سنجش پارامترهای هورمونی تری یودوتیرونین یا *T3* و تیروکسین یا *T4* با استفاده از دستگاه دیجیتال اتوآنالیزر *Hitachi911* ساخت کشور ژاپن و کیت تشخیصی *T_3, T_4 RIA (Radioimmunoassay Kit)* شرکت *Immunotech* کشور فرانسه در محدوده جذب ۴۶۰ نانومتری مطابق دستورالعمل کیت سنجیده شد *[9]*. درنهایت تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار *SPSS 20*و آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها، پس‌آزمون *Tukey* برای گروه‌بندی میانگین‌های دارای اختلاف معنی‌دار استفاده شد (*P*<۰/۰۵).

نتایج و بحث:

بر اساس نتایج مشاهده‌شده، میزان هورمون تری یدوتیرونین *(T3)* در گروه شاهد بالاتر از همه تیمارهای آزمایشی بود. در گروه‌های آزمایشی کاهش مشهودی در تمامی تیمارها داشت و این کاهش در زمان‌های مختلف دارای نوسان بود. کمترین میزان

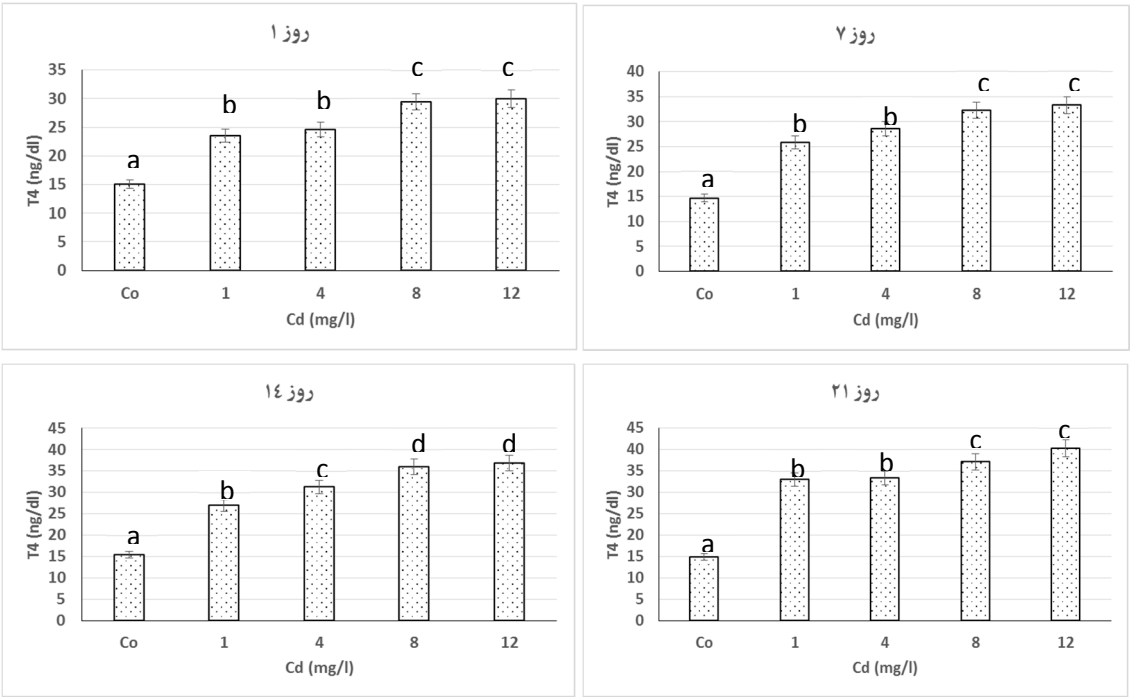
www.SID.ir

Archive of SID

این هورمون در تیمار ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم و در روز ۲۱ مشاهده شد. میزان هورمون *T3* در گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی برای همه زمان‌ها باهم اختلاف آماری معنی‌دار دارند ($P<0.05$). در روز اول اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های ۱ الی ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده نشد اما در روز ۷ و ۱۴ بین تیمار ۱ و ۴ با تیمار ۸ و ۱۲ اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($P>0.05$) اما در روز ۲۱ بین تیمار ۱۲ با تمام تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ($P<0.05$) (شکل-۱).

شکل-۱. تغییرات هورمون‌تری یدوتیرونین *(T3)* در ماهی کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* در معرض غلظت‌های مختلف فلز کادمیم.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، میزان هورمون تیروکسین *(T4)* در گروه شاهد پایین‌تر از همه تیمارهای آزمایشی بود. در گروه‌های آزمایشی افزایش قابل‌توجهی در تمامی تیمارها مشاهده گردید. بیشترین میزان این هورمون در تیمار ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم و در روز ۲۱ مشاهده شد. میزان هورمون تیروکسین در گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی برای همه زمان‌ها باهم اختلاف آماری معنی‌دار داشتند ($P<0.05$). در روز ۱ و ۷ اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های ۱ با ۴ و همچنین بین ۸ و ۱۲میلی‌گرم بر لیتر مشاهده نشد اما در روز ۱۴ بین تیمار ۱ و ۴ اختلاف معنی دار وجود داشت ($P<0.05$)؛ اما بین ۸ و ۱۲ اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($P>0.05$) اما در روز ۲۱ بین تیمار ۸ و ۱۲ با تمام تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ($P<0.05$) (شکل-۲).



شکل-۲. تغییرات هورمون تیروکسین *(T4)* در ماهی کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* در معرض غلظت‌های مختلف فلز کادمیم.

هورمون‌های تیروئیدی در متابولیسم، رشد و بقای زیستی، تنظیم اسمزی و بروز رفتارهای تولیدمثلی نقش دارند *[9]*. اختلال در فعالیت هورمون‌های تیروئیدی به‌وسیله آلاینده‌ها می‌تواند در مراحل مختلف ساخت هورمون، انتقال به سلول‌های هدف، اتصال به گیرنده‌های هورمون و متابولیسم آن‌ها رخ دهد درنتیجه عملکرد این هورمون‌ها را دچار اختلال نماید *[1]*. نتایج تحقیق حاضر

www.SID.ir

Archive of SID

نشان‌دهنده کاهش معنی‌داری در سطوح T_3 و همچنین افزایش معنی‌دار $T4$پلاسمای ماهیان تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل بود؛ که با تحقیقات سایر محققان بر روی ماهی کپور *Gobiocypris rarus [6]* و ماهی آب شیرین *Sarotherodon mossambicus [11]* مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری کلی:

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه گرفت که ورود هرگونه ماده آلاینده ازجمله فلزات سنگین می‌تواند تأثیر مستقیم بر سیستم اندوکرینی ماهیان بگذارد و شرایط فیزیولوژیکی و حیاتی آنان را دچار اختلال کند. با توجه به نقش مهم هورمون‌های تیروئیدی در متابولیسم، رشد و نمو، تولیدمثل و تنظیم اسمزی، عدم توجه به اثرات مخرب ناشی ازاین‌گونه آلاینده‌ها می‌تواند تأثیر شدیدی بر سلامت آبزیان و همچنین تنوع زیستی اکوسیستم‌های آبی بگذارد. لذا ازاین‌گونه تغییرات ناشی از آلاینده‌ها، می‌توان در جهت تعیین شاخص‌های زیستی اختصاصی آلاینده‌های مختلف در برنامه‌های ارزیابی‌های زیست‌محیطی استفاده کرد.

منابع:

1. *Boas M., Feldt-Rasmussen U., Skakkebaek N.E., Main K.M., 2006. Environmental chemicals and thyroid function. European Journal of Endocrinology, 154: 599-611.*
2. *Goodwin, G.M. 2003. Evidence-based guidelines for treating bipolar disorder: recommendations from the British Association for Psychopharmacology. Journal of Psychopharmacology, 17: 149–173.*
3. *Jezierska, B., Sarnowski, P., Witeska, M. and Lugowska, K., 2009. Disturbances of early development of fish ceased by heavy metals (A review). Electronic Journal of Ichthyology, 2: 76 - 96.*
4. *Jugan M.L., Levi Y., Blondeau J.P. 2010. Endocrine disruptors and thyroid hormone physiology. Biochemical Pharmacology. 79:939–947.*
5. *Lacroix, A. and Hontela, A., 2004. A comparative assessment of the adrenotoxic effects of cadmium in two teleost species, Oncorhynchus mykiss, and yellow perch, Perca flavescens. Aquatic Toxicology, 67: 13–21.*
6. *Li, Z-H., Chen, L., Wu, Y-H., Li, P., Li, Y-F., Ni, Z-H., 2014. Effects of waterborne cadmium on thyroid hormone levels and relatedgene expression in Chinese rare minnow larvae. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 161: 53–57.*
7. *Reichmuth, J. M., Weis P. and Weis, J. S., 2010. Bioaccumulation and depuration of metals in blue crabs (Callinectes sapidus Rathbun) from a contaminated and clean estuary. Environmental Pollution, 158: 361–368.*
8. *Saei-Dehkordi, S. S. and Fallah, A. A., 2011. Determination of copper, lead, cadmium and zinc content in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis. Microchemical Journal, 98: 156–162.*
9. *Schnitzler, J. G., Koutrakis, E., Siebert, U., Thome, J. P. and Das, K., 2008. Effects of persistent organic pollutants on the thyroid function of the European sea bass (Dicentrarchus labrax) from the Aegean sea, is it an endocrine disruption? Marine Pollution Bulletin, 56: 1755–1764.*
10. *Siakpere, O.K., Ake, J. E. G. and Anworo, U. M., 2006. Sublethal effects of cadmium on some selected haematological parameters of Heteroclarias (A hybrid of Hererobranchus bidorsalis and Clarius gariepinus). International Journal of Zoology Research, 2(1): 77-83.*

www.SID.ir