نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۸۸، پاییز ۱۳۸۹

همبستگی بین متیل جیوه تجمع یافته در اندام های کلیه و کبد و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه فیل ماهیان جوان (*Huso huso*)

• **احمد قرایی** (نویسنده مسئول)
پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، گروه شیلات دانشگاه زابل
• **مصطفی غفاری**
پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، گروه شیلات دانشگاه زابل
تاریخ‌دریافت: دی ماه ۱۳۸۸ تاریخ‌پذیرش: آبان ماه ۱۳۸۹
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۵۴۷۷۰۱۵
Email : agharaei551@gmail.com

چکیده

در این تحقیق همبستگی متیل جیوه تجمع یافته در اندام کلیه و کبد و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه فیل ماهیان جوان شامل آسپارتات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase) AST؛ آلکالین فسفاتاز (Alkaline phosphatase) ALP؛ آلانین آمینوترانسفراز (Alanine aminotransferase), ALT؛ لاکتات دهیدروژناز (Lactate dehydrogenase), LDH؛ گلوکز (Glucose, GLU) و کورتیزول (Cortisol) مورد بررسی قرار گرفت. به همین منظور بچه فیل ماهیان جوان با میانگین وزنی ۴±۸۶ گرم با دو نوع جیره غذایی حاوی متیل جیوه در دو گروه تیماری با چهار تکرار شامل گروه شاهد با ۰/۰۴ و گروه غلظت پایین با ۰/۷۶۶ میلی گرم در کیلوگرم طی ۳۲ روز تحت تیمار قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میزان کلیه فاکتورها شامل AST, ALT, LDH, GLU و کورتیزول به استثنای آنزیم ALP در سرم خون بچه ماهیان تحت تیمار نسبت به گروه کنترل در طی دوره آزمایش روند افزایشی معنی داری ($P<0.01, P<0.05$) داشته است. بررسی همبستگی بین میزان متیل جیوه تجمع یافته در اندام های کلیه و کبد با فاکتورهای بیوشیمیایی مختلف سرم خون بچه فیل ماهیان تحت تیمار نیز نشان داد که در کلیه بیشترین میزان همبستگی مربوط به فاکتورهای خونی ALT، GLU، کورتیزول و در کبد مربوط به ALT و AST می باشد. همچنین کمترین میزان همبستگی بین میزان تجمع متیل جیوه و میزان فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در اندام کلیه و کبد مربوط به آنزیم LDH بدست آمد. براساس نتایج این تحقیق به نظر می رسد که فاکتورهای بیوشیمیایی سرمی مورد بررسی می توانند به عنوان بیو مارکرهای آنزیمی برای تشخیص القاء سمیت توسط جیوه مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: فاکتورهای بیوشیمیایی خون، سرم، فیل ماهی، متیل جیوه، دریای خزر.

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 88 pp: 34-39

Correlation between methylmercury accumulation in the kidney and liver and some biochemical parameters of blood sera in juvenile beluga (*Huso huso*)

By: Ahmad Gharaei, (Corresponding Author; Tel: +989125477015), Mostafa Ghaffari Department of Fisheries, Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Sistan & Balouchestan, Iran.

In this study, correlation between Methylmercury (MeHg) accumulation in the kidney and liver and several blood biochemical parameters juvenile beluga (Huso huso) including aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), glucose (GLU), and Cortisol was investigated. To do this, juvenile beluga were fed with two different diets containing MeHg (control: 0.04 mg kg-1 and 0.76 mg kg-1 low treatment) for 32 days. The results showed significant increase ($P<0.01$, $P<0.05$) in all biochemical parameters except ALP level compared with the control group during the experiment. A survey of correlation between MeHg accumulation in the two organs (kidney and liver) and the biochemical parameters of blood sera showed that the levels of ALT, GLU and Cortisol parameters in kidney and ALT and AST in liver were highly correlated with accumulation of MeHg, whereas LDH enzyme level was the lowest correlation in both organs. The results suggested that the sera biochemical parameters under investigation can be used as enzyme biomarkers to assess toxicity induction by MeHg.

Key words: Blood biochemical parameters; Serum; Beluga (*Huso huso*); Methylmercury (MeHg); Caspian Sea.

مقدمه

ماهیان خاویاری از نقطه نظر تنوع زیستی و ذخیره ژنتیکی در حقیقت جزء معدود فسیل های زنده از آبزیان محسوب می شوند که از میلیون ها سال پیش تا کنون همچنان به صورتی دست نخورده به حیات خود ادامه می دهند و از لحاظ اقتصادی از نظر فروش گوشت و خاویار بسیار قابل توجه هستند. (Gharaei و همکاران ۲۰۰۹) گونه های تجاری ماهیان خاویاری شامل فیل ماهی (*Huso huso*)، تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*)، ماهی ازون برون (*A. stellatus*) و تاسماهی ایرانی (*A. persicus*) هستند که بومی دریای خزر محسوب می شوند (Khodorevskaya و همکاران ۱۹۹۷). میزان صید ماهیان خاویاری در دریای آزوف و خزر که ۹۰ درصد از ذخائر جهانی را در خود جای داده اند در طی سال های ۱۹۸۵-۱۹۷۰ حدوداً ۲۵۰۰۰-۲۴۰۰۰ تن در هر سال بوده است که در سال ۱۹۹۹ به کمتر از ۲۰۰۰ تن کاهش یافت. این کاهش صید نتیجه صید بی رویه و تخریب محیط زیست آنها به دلیل احداث سدها در عرض رودخانه ها و آلودگی آب و رسوبات بواسطه آلاینده هایی است که باعث اختلال در مهاجرت و تولید مثل ماهیان خاویاری می شوند (Agusa و همکاران ۲۰۰۴).

آلودگی جیوه در اکوسیستم های آبی یک مشکل پیچیده اکولوژیک و جدی بشمار می رود. جیوه قابلیت تبدیل به اشکال معدنی و آلی در شرایط فیزیکوشیمیایی و زیست محیطی آب را داشته و از دیدگاه سم شناسی متیل جیوه اهمیت بسیار زیادی دارد (Armstrong ۱۹۷۹؛ Bloom, ۱۹۹۲؛Gharaei و همکاران ۲۰۰۸). در اکوسیستم های آبی موجودات آبزی به سرعت متیل جیوه را از ستون آب جذب می کنند و در موجودات بزرگتر هضم غذای حاوی جیوه باعث می شود تا جیوه از طریق لوله گوارش وارد بافت های بدن گردد (Gochfeld ۲۰۰۳).

اثرات جیوه و سمیت متیل جیوه می تواند در کلیه سطوح شبکه غذایی از کاهش فتوسنتز در فیتوپلانکتون ها تا اثرات نوروتوکسیک در مهره داران ظاهر شود(Gharaei و همکاران ۲۰۰۸). بزرگترین خطر، تجمع زیستی جیوه در شبکه غذایی آبزیان می باشد چرا که در سطوح غذایی بالاتر فرصت بیشتری برای تجمع زیستی جیوه و متیل جیوه فراهم می شود (Huckabee و همکاران ۱۹۷۹). اثرات سمی این فلز بر اکوسیستم های آبی دامنه ای از نابودی کامل بخش زنده آنها تا آثرات مزمن بر روی میزان تولید مثل جمعیت ها, رشد و مرگ و میر است (Peterle, ۱۹۹۱).

آنزیم های سرمی در حالت طبیعی در غشای سلولی، میتوکندری ها و سیتوپلاسم سلول های بافت های مختلف بدن فعالیت می کنند و در سرم خون به میزان ناچیزی وجود دارند. هنگامی که سلول دچار آشفتگی شود، آنزیم ها به مایعات بین بافتی و از آنجا به سرم خون و مایع مغزی- نخاعی وارد می شوند و باعث افزایش فعالیت این آنزیم ها در سرم می شوند (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۵).

Agusa و همکاران (۲۰۰۴) با بررسی غلظت ۲۱ عنصر کمیاب در بافت عضله ماهیان خاویاری دریای خزر (فیل ماهی، تاس ماهی روسی، تاسماهی ایرانی، شیپ و ازون برون) که از مناطق ساحلی آذربایجان، ایران، قزاقستان و ترکمنستان در سال های۲۰۰۰ و ۲۰۰۱ صید شده بودند، نشان دادند که عضله ۲۴ عدد از ۴۰ عدد فیل ماهی صید شده حاوی میزان جیوه بالاتر از حد مجاز است و میزان آن بطور میانگین ۰/۸۱ µg/g وزن مرطوب گزارش شد که تقریبا ۲/۷ برابر میزان حد مجاز خوراکی آن در کشور انگلستان [1](MAFF) است.

هدف از این مطالعه بررسی رابطه بین میزان تجمع متیل جیوه در

اندام کبد و کلیه با میزان برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان جوان در معرض متیل جیوه از طریق خوراکی در دوره طولانی مدت (۳۲ روز) است.

مواد و روش ها

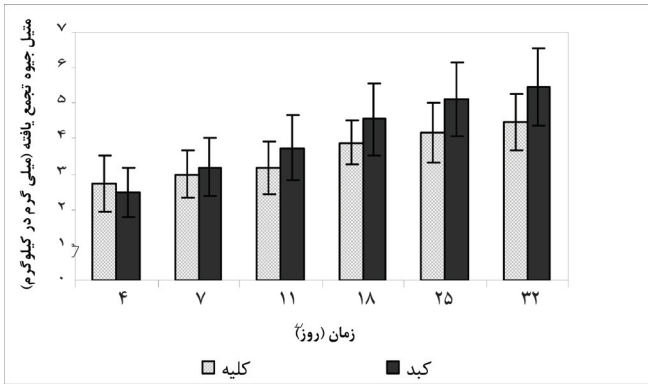
در ابتدا تعداد ۲۰۰ قطعه بچه فیل ماهی جوان با وزن تقریبی (۴ ± ۸۶) گرم از استخر های خاکی به حوضچه های فایبر گلاس منتقل شدند. بچه ماهیان به طور کاملا تصادفی در ۸ عدد ونیرو (دو گروه تیمار و چهار گروه تکرار) و به تعداد ۲۵ قطعه در هر ونیرو تقسیم شدند. برای بررسی و اطمینان از سلامت بچه ماهیان از لحاظ ظاهری و آسیب شناسی و همچنین سازگاری بچه ماهی ها با محیط جدید، آنها به مدت یک ماه با غذای شاهد تغذیه شدند. سعی شد تا کلیه عوامل و شرایط محیطی گروه ها در طول دوره یکسان نگه داشته شود بطوری که جریان آبی معادل ۲ لیتر در دقیقه به ازای هر و نیرو با درجه حرارت ۲۵±۲ درجه سانتی گراد بر قرار شد. اکسیژن دهی مناسب با استفاده از سنگ هوا و پمپ هوا در تمامی ونیرو ها مهیا شد و در هر هفته سه بار میزان اکسیژن محلول اندازه گیری شد که معادل mg/l ۷-۶ ثبت شد. در تمام طول مدت آزمایش میزان آمونیاک آب ناچیز و غیر قابل اندازه گیری و pH آب نیز بصورت هفته ای (با استفاده از اندیکاتور کاغذی) اندازه گیری و معادل ۸/۱-۷/۵ ثبت شد. مدت زمان تیمار با متیل جیوه ۳۲ روز و با دو گروه تیمار شامل: گروه تیمار شاهد با صفر و گروه تیمار غلظت پایین با ۰/۸ میلی گرم در کیلوگرم(معادل با آلودگی جیوه در دریای خزر، Agusa و همکاران ۲۰۰۴) در نظر گرفته شد. سپس میزان متیل جیوه پودری خالص با توجه به وزن جیره غذایی و غلظت جیوه مورد نظر توزین و در الکل مطلق کاملا حل شد. بعد از فراهم آوردن کلیه مواد اولیه جهت ساخت غذا، محلول متیل جیوه تهیه شده به آبی که قرار بود با جیره غذایی مخلوط شود، اضافه گردید. همچنین به منظور یکسان سازی تهیه پلت های غذایی به مواد اولیه غذای گروه شاهد فقط الکل مطلق اضافه شد. پلت های تهیه شده در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد در دستگاه خشک کن غذا به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. برای جلوگیری از تبخیر شدن متیل جیوه، پلت های غذایی تهیه شده در کیسه های ۳۰۰ گرمی پلاستیکی با استفاده از دوخت پلاست بسته بندی و در فریزر ۲۰°C- تا زمان مصرف نگهداری شدند (Houck و Cech, ۲۰۰۴). پس از تهیه غذا با غلظت های مفروض برای تست نهایی میزان جیوه موجود در غذاهای ساخته شده، نمونه برداری بطور تصادفی از پلت های غذایی مربوط به هر گروه تیمار در سه تکرار انجام شد و با استفاده از دستگاه Mercury Analyzer LECO AMA۲۵۴ با دقت ۱۰۵ – ۹۸ درصد، میزان جیوه درگروه شاهد با ۰/۰۴، غلظت پایین با ۰/۷۶ میلی گرم در کیلوگرم غذا قرائت شد. غذادهی بر اساس درصد وزن بدن، سه وعده در روز انجام گرفت. برای اندازه گیری تجمع زیستی جیوه در اندام کلیه و کبد در روزهای ۴، ۷، ۱۱، ۱۸، ۲۵ و ۳۲ تعداد ۸ قطعه بچه ماهی از هر گروه تیمار بطور تصادفی انتخاب و اندام کلیه و کبد آنها بطور کامل نمونه برداری و تا زمان آنالیز جیوه در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. به منظور اندازه گیری پارامترهای سرمی خون بچه ماهیان شامل گلوکز، کورتیزول، آلکانین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) پس از بیهوش کردن نمونه ها (۸ نمونه از هر گروه) با استفاده از عصاره گل میخک، با قطع ساقه دمی خونگیری توسط پیپت پاستور در لوله آزمایش انجام شد(Rajabipour و همکاران ۲۰۱۰) . سپس با قرار دادن نمونه های خون در داخل یخچال به مدت ۴۰ دقیقه و ایجاد فاز سرمی، به آرامی سرم آنها جداسازی و در محیط سرد به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه توسط دستگاه اتوآنالایزر (RA۱۰۰۰) آنزیم ALT به روش IFCC، ALP به روش DGKC، LDH به روش DGKC(P-L)(شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۶) ، گلوکز و کورتیزول نیز با استفاده از کیت های تشخیصی پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شدند. پس از جمع آوری داده های خام، برای مقایسه بین گروه ها از آزمون t- استیودنت در سطح ۹۵ درصد اطمینان و جهت تعیین ضریب همبستگی پیرسون و معادله رگرسیون بین میزان جیوه تجمع یافته در اندام های کبد و کلیه و فاکتورهای خونی اندازه گیری شده از نرم افزارهای SPSS (ویرایش دهم) و Excel استفاده شد.

نتایج

بررسی میزان متیل جیوه طی مدت ۳۲ روز تغذیه بچه ماهیان در اندام کلیه و کبد نشان داد که تجمع متیل جیوه در وضعیت وابسته به زمان روند افزایشی داشته و میزان این تجمع در کبد بیش از کلیه می باشد (نمودار ۱).

اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه فیل ماهیان جوان و بررسی آماری نتایج نشان داد که میزان کلیه فاکتورها شامل AST,[۵] ALT,[۴] LDH,[۳] GLU[۲] و کورتیزول به استثنای آنزیم ALP[۶] در طی مدت آزمایش روند افزایشی داشته است (جدول ۱). به طوری که میزان آنزیم های AST و LDH در سرم خون بچه ماهیان گروه تیمار در روز سی و دوم بطور معنی داری ($P<0/05$) بیش از گروه شاهد بود. اما در مورد آنزیم ALT، افزایش قابل توجه این آنزیم در سرم خون بچه فیل ماهیان تحت تیمار از روز بیست و پنجم آزمایش نسبت به گروه شاهد ثبت گردید ($P<0/01$).

از طرف دیگر نتایج مشخص نمود که میزان دو فاکتور گلوکز و کورتیزول نسبت به دیگر فاکتورها بیشتر تحت تاثیر متیل جیوه قرار گرفتند به طوری که میزان آنها در سرم خون بچه فیل ماهیان گروه تحت تیمار افزایش قابل ملاحظه ای ($P<0/01$؛ $P<0/05$) را از روز هیجدهم نسبت به گروه شاهد نشان دادند (جدول ۱). ولی میزان آنزیم ALP سرم خون بچه ماهیان تحت تیمار از روز بیست و پنجم آزمایش کاهش معنی داری ($P<0/01$؛ $P<0/05$) را نسبت به گروه شاهد نشان داد. بررسی همبستگی بین میزان متیل جیوه تجمع یافته در اندام های کلیه و کبد با فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه فیل ماهیان تحت تیمار نیز نشان داد که در کلیه بیشترین میزان همبستگی مربوط به فاکتورهای خونی ALT، GLU، کورتیزول و در کبد مربوط به ALT و AST می باشد (جدول ۲). همچنین کمترین میزان همبستگی بین میزان تجمع متیل جیوه و میزان فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در اندام کلیه و کبد مربوط به آنزیم LDH بود.



نمودار ۱- میزان تجمع زیستی متیل جیوه در انـدام کلیه و کبد بچه فیل ماهیان طی مدت ۳۲ روز

بحث

نتایـج مربوط به میزان تجمع متیـل جیوه در بافت های کبد و کلیه نشـان داد که تجمع جیوه در بافت کبد به مراتب بیشـتر از کلیه اسـت. علت آن هم می تواند این باشد که کبد در ماهیان هم به عنوان یک اندام پالایـش کننده خون و هم به عنوان اندام تولید کننده برخی آنزیم ها که از جنس پروتئین هسـتند، عمل می نماید. بر همین اسـاس جیوه میل زیادی به برقراری پیوند با پروتئین های حاوی گروه تیول دارد (WHO, ۱۹۸۹) و از طرفـی بدلیـل متابولیسـم بالا در این اندام باعث می شـود میزان تجمع جیوه در آن نسـبت به کلیه بیشتر باشد. تجمع متیل جیوه در کبد باعث می شـود ذخیره چربی در درون سیتوپلاسـم سـلول های هپاتوسیت به شدت کاهش یابد و همچنین افزایش میزان هتروکروماتین در هسته، نکروز خفیف و کاهش اندازه هسته سلول ها را به همراه داشته باشـد (Gharaei و همکاران ۲۰۰۹, Oliviera Robeiro و همکاران

جدول۱- تغییرات فاکتورهای بیوشـیمیایی سـرم خون بچه فیل ماهیان در معرض متیل جیوه از طریق خوراکی طی ۳۲ روز (تعداد نمونه سرم مورد آزمایش در هر گروه = ۸ عدد؛* سطح اطمینان ۹۵ درصد (P<۰/۰۵) و ** سطح اطمینان ۹۹ درصد (P<۰/۰۱) را تحت آزمون t-استیودنت نشان می دهند.)

فاکتور بیوشیمیایی	گروه های آزمایشی	زمان (روز)					
		۴	۷	۱۱	۱۸	۲۵	۳۲
AST (IU L⁻¹)	شاهد	۲۴۳/۱±۴۴/۷۱	۳۰۰/۶۷ ± ۱۷/۷۴	۳۱۲/۹۸± ۳۱/۱۲	۳۱۵/۰۸± ۲۹/۸۰	۳۰۶/۸۷± ۲۲/۴۳	۳۱۲/۳۴± ۱۶/۴۸
	تیمار	۲۳۸/۷۸±۵۱/۵۷	۳۱۲/۱۴± ۱۹/۸۰	۳۴۶/۴۴± ۵۴/۰۵	۳۷۴/۶۸± ۲۲/۱۷	۳۷۶/۴۱± ۱۹/۳۱	۳۸۲/۱۲±۱۲/۳۰*
ALP (IU L⁻¹)	شاهد	۱۰۱۷/۲۶± ۹۸/۶۲	۱۰۰۲/۱۳± ۶۲/۰۵	۹۶۴/۴۶± ۶۶/۹۶	۹۱۶/۲۷± ۴۷/۰۵	۹۱۵/۱۲± ۵۱/۶۱	۹۲۲/۸۳± ۷۱/۹۲
	تیمار	۱۰۲۹/۷۰± ۶۸/۹۱	۱۰۰۳/۹۳± ۷۱/۶۵	۸۲۸/۰۸± ۵۶/۹۰	۸۰۶/۴۴± ۶۷/۲۳	۷۷۴/۸۸±۳۶/۳۰*	۵۵۲/۳۴±۲۹/۱۴**
ALT (IU L⁻¹)	شاهد	۵/۵۹± ۰/۳۳	۵/۸۶± ۰/۵۰	۵/۹۲± ۰/۸۱	۵/۶۳± ۰/۸۲	۵/۷۸± ۰/۴۲	۵/۵۶± ۰/۴۱
	تیمار	۶/۳۳± ۰/۴۲	۶/۷۹± ۰/۴۸	۷/۴۰± ۰/۷۵	۷/۱۸± ۰/۷۴	۸/۸۲± ۰/۷۵ *	۹/۳۲±۰/۷۹ *
LDH (IU L⁻¹)	شاهد	۱۰۱۰/۱۱± ۶۴/۳۶	۱۰۶۵/۷۶± ۷۴/۰۹	۱۰۷۹/۳۵± ۱۰۱/۵۰	۱۰۵۶/۳۳± ۱۰۲/۹۴	۱۰۷۴/۳۴± ۱۱۳/۱۲	۱۰۲۴/۶۳± ۳۰/۳۹
	تیمار	۹۶۸/۵۶± ۴۷/۸۸	۱۰۴۱/۰۶± ۶۱/۶۳	۱۰۰۶/۷۷± ۷۱/۶۳	۹۸۹/۵۹± ۹۷/۲۱	۱۳۴۳/۴۶± ۱۱۷/۷۷	۱۴۵۷/۸۷±۵۴/۰۶*
GLU (mg dl⁻¹)	شاهد	۹۷/۹۳± ۲/۱۴	۹۹/۴۳± ۳/۳۴	۹۹/۲۹± ۳/۶۸	۱۰۰/۲۰± ۰/۸۷	۹۹/۵۹± ۲/۰۹	۱۰۰/۱۲± ۱/۸۹
	تیمار	۱۰۱/۹۳± ۱/۷۷	۱۰۰/۰۷± ۲/۳۵	۱۰۱/۸۴± ۱/۷۹	۱۰۷/۳۹±۱/۹۷*	۱۰۹/۳۵± ۱/۶۰*	۱۱۴/۰۹±۲/۴۲*
Cortisol (µg dl⁻¹)	شاهد	۲۱/۲۷± ۰/۶۰	۲۰/۴۴± ۱/۳۸	۲۰/۶۶± ۰/۶۷	۲۱/۳۹± ۱/۱۸	۲۰/۳۲± ۰/۸۹	۲۱/۳۳± ۱/۹۱
	تیمار	۲۰/۶۳± ۱/۱۱	۲۱/۰۱± ۱/۰۰	۲۲/۴۹± ۱/۵۹	۲۸/۴۵±۱/۶۵ *	۳۳/۱۲±۱/۵۱**	۴۲/۸۸±۲/۱ *

جدول ۲- معادله رگرسیون و ضریب همبستگی پیرسون بین میزان متیل جیوه تجمع یافته در اندام های کلیه و کبد با فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه فیل ماهیان تحت تیمار

اندام / فاکتورهای بیوشیمیایی خون	کلیه	کبد
AST (IU L^{-1})	Y=۶۸/۹۲۹x+۹۲/۲۸	Y=۴۴/۵۳x+۱۵۶/۲۸
	R^2= ۰/۷۶	R^2=۰/۸۶
ALP (IU L^{-1})	Y=-۲۲۷/۶۷x +۱۶۴۵/۶	Y=-۱۳۹/۰۱x+۱۴۰۱/۱
	R^2=۰/۸۴	R^2=۰/۸۵
ALT (IU L۱-)	Y=۱/۵۹۳x-۱/۹۵	Y=۰/۹۶۴۳x+۳/۷
	R^2=۰/۹۰	R^2=۰/۸۹
LDH (IU L^{-1})	Y=۲۴۹/۳۴x +۲۴۴/۱۵	Y=۱۴۷/۵۳x+۵۳۱/۱
	R^2=۰/۶۸	R^2=۰/۶۵
GLU (mg dl^{-1})	Y=۷/۴۱x+۷۹/۳	Y=۴/۲۸x+۸۸/۳
	R^2=۰/۹۱	R^2=۰/۸۳
Cortisol (µg dl^{-1})	Y=۱۱/۷۸x-۱۴/۰۳	Y=۶/۸۹x-۰/۰۹۶
	R^2=۰/۹۰	R^2=۰/۸۳

۲۰۰۲). کلیه در ماهیان شامل دو بخش راسی و بدنه خلفی است که در یک چهارم جلویی کلیه بافت Lymphoid و غده اینترنال واقع شده است که اثرات پاتولوژیکی جیوه در این غده درون ریز به اثبات رسیده است (Oliviera Robeiro و همکاران ۲۰۰۲). متابولیسم و دفع متیل جیوه در ماهی ها بسیار کمتر از پستانداران است که احتمالاً بدلیل درجه حرارت بدن آنها باشد. در حالیکه نیمه عمر بیولوژیکی متیل جیوه در موش بین ۱۳-۴ روز، در ماهی ها این دامنه بین ۵۱۶-۲۰۲ روز در قزل آلا و تا بیش از ۱۰۰۰ روز در کفشک ماهی (*Pleuronectes flesus*) تغییر می کند (Jarvenpäa و همکاران ۱۹۷۰). از این رو در مطالعه حاضر نیز میزان تجمع جیوه در اندام کلیه تقریباً مشابه با غلظت آن در کبد است. تا به حال هیچ گزارشی در خصوص اثرات جیوه آلی بر میزان فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهیان خاویاری از جمله فیل ماهی ارائه نشده است. همچنین ثابت شده است که فاکتورهای بیوشیمیایی خون می توانند برای پایش وضعیت سلامتی ماهی ها به کار گرفته شوند و میزان این شاخص ها تحت عوامل محیطی، فیزیولوژیکی و آلاینده ها تغییر می نماید (Shahsavani و همکاران ۲۰۰۸).

متیل جیوه باعث سمیت شدید در کبد می شود که باعث بالا رفتن فعالیت های AST، ALT و LDH می شود (Gottelli و همکاران ۱۹۸۵). آنزیم ALP در انتقال فعال در سلول ها دخالت دارد که اصولا از راستای canaliculi صفرا و سطح sinusoidal هپاتوسیت ها تراوش می شود و به طور معمول توسط کبد به صفرا ترشح می شود. این آنزیم یک شاخص حساس به نمک های فلزی است چرا که این آنزیم با غشاء سلولی پیوند می شود و در متابولیت های مختلف انتقالی سلول دخالت دارد(Lakshmi و همکاران ۱۹۹۱). فعالیت این آنزیم در بسیاری از بیماری های کبد افزایش می یابد و بیشترین میزان آن با انسداد جریان صفرا ایجاد می شود. هر چند کاهش میزان ALP سرم در مطالعه حاضر ممکن است به دلیل از بین رفتن سیستم غشاء انتقالی سلولی در اثر خاصیت ایجاد نکروزیز، اثر بازدارندگی در رشد و تکثیر سلولی تحت اثر جیوه باشد (El-Demerdash و همکاران ۲۰۰۱; Lakshmi و همکاران ۱۹۹۱). در ماهیان، کورتیزول در ابتدا بصورت گلوکوکورتیکوئید (glucocorticoid) بوده و از بافت اینترنال کلیه رها سازی می شود (Alura و Vijayan ۲۰۰۹). همچنین رهاسازی هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH) اصولا بواسطه استرس های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی از هیپوتالاموس ماهیان صورت می پذیرد. ACTH در ناحیه راس کلیه، باعث القاء سلول های اینترنال برای تولید کورتیزول و هورمون های کورتیکواستروئیدی دیگر می شود (Kubilay و Uluköy, ۲۰۰۲). از طرف دیگر ثابت شده است که گلوکز به عنوان سوخت اصلی برای فراهم کردن انرژی مورد نیاز در مقابله با استرس های ایجاد شده در ماهیان محسوب می شود (Alura و Vijayan ۲۰۰۹). یکی از توانایی های کبد نیز سنتز گلوکز و فعالیت گلوکوژنیز به منظور تولید گلوکز برای بافت های فرا کبدی شامل مغز، آبشش ها و قلب در طی دوره استرس می باشد (Mommsen و همکاران ۱۹۹۹) که این موضوع ممکن است از دلایل اصلی افزایش میزان گلوکز در طی دوره آزمایش باشد. نتایج موجود نشان می دهد که افزایش میزان AST، ALT و LDH و همچنین کاهش ALP سرم خون بچه فیل ماهیان می تواند به عنوان بیو مارکرهای آنزیمی برای تشخیص القای سمیت توسط جیوه که بواسطه تغییر دادن عملکرد و ساختار یکپارچه کبد و کلیه ایجاد می شود و در نهایت سلامت عمومی را تحت تاثیر قرار می دهد، استفاده شود. همبستگی پایین میزان آنزیم LDH سرم نسبت به میزان جیوه تجمع یافته در این مطالعه شاید به دلیل آن باشد که این آنزیم فعالیتی دو گانه در مسیر گلیکولیتیک (glycolytic) که در تغییر لاکتات و پیروات دخالت دارد، باشد و افزایش آن ممکن است در مراحل اولیه نکروز سلولی اپیتلیال رنال و آسیب غشاء پلاسمایی رخ دهد ولی حضور این آنزیم در بافت های دیگر همچون قلب، کلیه، کبد و گوشت ثابت شده (Shahsavani و همکاران ۲۰۰۸) و نشانگر آن است که افزایش مشاهده شده در سرم فقط از طریق اندام کلیه و کبد نبوده است.

اگر چه گستره سطوح تجمع جیوه در بافت فیل ماهی دریای خزر از ۰/۳۳ تا ۱/۴ و بطور متوسط ۰/۸۱ میلی گرم بر کیلوگرم وزن مرطوب

بدن گزارش شده است (Agusa و همکاران ۲۰۰۴)، اما در طولانی مدت براساس نتایج این مطالعه و تعمیم آن برای مدت طولانی تر، تجمع جیوه می تواند اثرات زیانباری را بر زندگی فیل ماهی داشـــته باشـــد که در طی این ۳۲ روز مطالعه قابل مشاهده نبودند. همچنین با توجه به بسته بودن دریـــای خزر و عدم خروج یا جابجایی آلاینده ها به خارج از آن نیز باعث می شـــود که اثرات ناشـــی از مواد آلاینده در این دریاچه سرعت بیشتری بگیـــرد که در طولانی مـــدت برای جلوگیری از این اثرات و حفظ نســـل آنها پیشـــنهاد می گردد تا اقدام به ذخیره سازی مصنوعی این ماهیان در آبهای داخلی کشور شود و همچنین راهکارهایی برای کاهش ورود جیوه به دریای خزر اتخاذ گردد.

پاورقی ها

1- UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food
2- Glu
3- LDH
4- ALT
5- AST
6- Alkalan phos phatase

منابع مورد استفاده

۱- شاهســـونی، د.، مهـــری، م. تقوایی مقدم، ا. (۱۳۸۶) تعییـــن مقادیر برخی از آنزیم های سرم خون فیل ماهی خاویاری. مجله تحقیقات دامپزشکی، سال ۶۲، شماره ۳ ، صفحه ۱۳۰-۱۲۷.

2- Agusa, T., Kunita, T., Tanabe, S., Pourkazemi, M. and Aubrey, D. (2004) Concentration of trace elements in muscle of sturgeons in the Caspian Sea. Mar. *Pollut. Bul*., Vol, 49, pp: 789-80.

3- Aluru, N. and Vijayan, M.M. (2009) *Stress transcriptomics in fish:* A role for genomic Cortisol signaling. Gene. Comp. Endocrin., Vol, 164, pp: 142–150.

4- Armstrong, F.A.J. (1979) *Effects of mercury compounds on fish.* In: Nriagu J.O., The Biogeochemistry of Mercury in the Environment. 1st. Elsevier. North Holland, Amsterdam.

5- Bloom, N.S. (1992) On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. *Can. J. Fish. Aquat. Sci*., Vol, 49, pp: 1010–1017.

6- El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Elagamy, E.I., (2001) Influence of paraquat, glyphosate and cadmium on the activity of some serum enzymes and protein electrophoretic behavior (*in vitro*). *J. Environ. Sci. Health. Part B, Vol*, 36, No, 1, pp: 29-42.

7- Gharaei, A., Esmaili-Sari, A., Jafari-shamoshaki, J. and Ghafari, M. (2008) Beluga (*Huso huso*, Brandet 1869) bioenergetics under dietary methylmercury. *Fish Physiol. Biochem.,* Vol, 34, pp: 473–482.

8- Gharaei, A., Mahboudi, F., Esmaili-Sari, A., Edalat, R. and Adeli, A. (2009) Molecular cloning of cDNA of mammalian and chicken II gonadotropin-releasing hormones (mGnRHs and cGnRH-II) in the beluga (*Huso huso*) and the disruptive effect of methylmercury on gene expression. *Fish Physiol. Biochem.,* DOI: 10.1007/s10695-009-9356-0.

9- Gochfeld, M. (2003) Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. Ecotoxic. *Environ. Safe*, Vol, 56, pp: 174-179.

10- Gotelli, CA, Astolfi, E., Cox, C., Cernichiari, E. and Clarkson, T.W. (1985) Early biochemical effects of an organo-mercury fungicide on infants: "Dose makes the poison". *Science, vol*, 227, pp: 638-640.

11- Houck, A and Cech, JJ. (2004) Effects of dietary methylmercury on juvenile Sacramento blackfish bioenergetics. *Aquatic Toxicol.* Vol, 69, pp: 107-123.

12- Huckabee, J.W., Elwood, J.W. and Hildebrand S.G. (1979) *Accumulation of mercury in freshwater biota*. Nriagu J.O., Biogeochemistry of Mercury in the Environment, 1st. Elsevier North Holland Biomedical Press, New York, pp: 277–302.

13- Jarvenpäa, T., Tillander, M. and Miettinen, J. (1970) Methylmercury: half-time of elimination in flounder, pike and eel. *Suom. Kemistil*., Vol, 43, pp: 439–442.Khodorevskaya, R.P., 14- Kubïlay, A. and Uluköy, G. (2002) The effects of acute stress on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turk. J. Zool., Vol*, 26, pp: 249-254.

15- Lakshmi, R., Kundu, R., Thomas, E. and Mansuri, A.P. (1991) Mercuric chloride induced inhibition of acid and alkaline phosphates activity in the kidney of mudskipper; *Boleophthalmus dentatus*. Vol, 3, pp: 341-344.

16- Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. and Moon, T.W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fish*., Vol, 9, pp: 211–268.

17- Oliviera Robeiro, C.A., Belger, L., Pelletier, É. and Rouleau C. (2002). Histopathological evidence of inorganic mercury and methylmercury toxicity in the artic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environ. Res.,* Vol, 90, pp: 217-225.

18- Peterle, T. (1991). *Wildlife Toxicology*. Van Nostrand Reinhold, New York.

19- Shahsavani, D., Mohri, D. and Gholipour Kanani, H. (2008). Determination of normal values of some blood serum enzymes in Acipenser stellatus Pallas. *Fish Physiol. Biochem*., DOI: 10.1007/s10695-008-9277-3.

20- Rajabipour, R,, Shahsavani, D., Moghimi, A., Jamili, S. and Mashaii, N. (2010). Comparison of serum enzyme activity in great sturgeon, *Huso huso*, cultured in brackish and freshwater earth ponds in Iran. *Comp. Clin. Pathol*., vol, 19, pp: 301–305.

21- World Health Organization (WHO) (1989). *Environmental Health Criteria* 86: Mercury - Environmental aspects, Geneva, Switzerland, 150 pp.

22- Zhuravleva, O.L. and Vlasenko, A.D. (1997) Present status of commercial stocks of sturgeon in the Caspian Sea basin. *Environ. Biol. Fish., Vol*, 48, pp: 209-219.