

مطالعه هیستوپاتولوژیک کبد ماهی کفشک گرد (*Euryglossa orientalis*) در آب‌های ساحلی شمال خلیج فارس

- آزاده عتباتی*: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق پستی: ۶۶۹
- احمد سواری: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق پستی: ۶۶۹
- عبدالعلی موحدی‌نیا: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق پستی: ۶۶۹
- رحیم عبدی: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق پستی: ۶۶۹

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۲

چکیده

بررسی‌های هیستوپاتولوژیک کبد در گونه‌های مختلف ماهی به‌عنوان نشانگر در برنامه‌های نظارت دریایی جهت بررسی اثر بیولوژیکی آلاینده‌ها ثابت شده است. در این پژوهش کبد ماهی کفشک گرد *Euryglossa orientalis* به‌عنوان نشانگر زیستی انتخاب گردید و در مجموع ۸۰ ماهی در زمستان ۹۰ و تابستان ۹۱ از ایستگاه‌های نمونه‌برداری شامل خور موسی، دیلم، بوشهر، بندرگاه، دیر، بندرکنگ و بندرعباس در آب‌های ساحلی شمال خلیج فارس مورد مطالعه بافت‌شناسی کبد قرار گرفتند. گروه‌بندی آسیب‌های کبدی براساس گروه‌بندی ماهیان پهن انجام شد. شیوع بالایی از ضایعات کبدی آسیب‌های توکسیکوپاتی اولیه غیرنئوپلازی ثبت شد. در مقابل، ضایعات پیش‌نئوپلاستیک تنها در موارد کمی مشاهده شد و تغییرات نئوپلاستیک مشاهده نگردید. بررسی‌ها نشان داد که شاخص آسیب بافتی در کبد کفشک ماهی گرد در ایستگاه‌های اسکله نفتی مجیدیه، بوشهر و بندرعباس به‌طور معنی‌داری از سایر ایستگاه‌ها بیش‌تر است ($p < 0/05$). نتایج نشان داد که تغییرات مشاهده شده ممکن است اثرات عوامل استرس‌زا زیست‌محیطی از جمله آلاینده‌ها باشد. با توجه به نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژی کبد کفشک گرد، این ماهی نشانگر مناسبی جهت ارزیابی سلامت محیط زیست خلیج فارس می‌باشد.

کلمات کلیدی: کفشک ماهی گرد، شمال خلیج فارس، اثرات بیولوژیک آلاینده‌ها



مقدمه

محیط زیست دریایی زیستگاه طیف وسیعی از موجودات زنده، از پروکاریوت‌ها تا مهره‌داران عالی‌تر می‌باشد. این محیط زیست پهناور اثرات مستقیمی نظیر فراهم‌کردن آب و مواد غذایی، حمل و نقل، فرصت‌های اقتصادی بر زندگی بشر می‌گذارد. در بین اکوسیستم‌های آبی ایران، خلیج‌فارس شرایط ویژه‌ای دارد. نیمه‌بسته و کم‌عمق بودن خلیج‌فارس (متوسط عمق ۳۱ متر) و تبخیر بیش‌تر از بارندگی و ورودی آب‌شیرین به آن، موجب ماندگاری آلاینده‌های وارده به آن می‌شود. از طرفی این اکوسیستم در غنی‌ترین منطقه نفتی جهان واقع شده و در حدود ۶۷ درصد منابع نفتی را دربر گرفته است، به‌همین خاطر در معرض انواع گوناگونی از استرس‌هاست. امروزه جهت پایش محیط زیست به‌جای استفاده از سنجش‌های شیمیایی از نشانگرهای زیستی استفاده می‌شود. مناطق حساس و در معرض آلودگی نفتی خلیج فارس در نقاط آلوده و پاک خورموسی، بندردیلیم، بندربوشهر، بندرعباس و بندر لنگه جهت نمونه‌برداری انتخاب گردیدند.

نشانگر زیستی انتخاب‌شده در این پژوهش بافت کبد ماهی کفشک گرد *Euryglossa orientalis* می‌باشد. کفشک ماهیان از جمله مهم‌ترین ماهیان پهن تجاری آب‌های نزدیک سواحل بوده و ماهیان جوان مناطق مصبی را به‌عنوان نوزادگاه خود انتخاب می‌کنند که عمق آن‌ها کم‌تر از ۳ متر است (۲۰). این ماهی دارای پراکندگی مطلوب در خلیج‌فارس بوده و بر اساس مطالعات سیستماتیک یاسمی و همکاران (۱۳۸۶) در محدوده آب‌های ساحلی ایران در خلیج‌فارس در تمام مناطق انتخاب شده وجود دارد و از طرف دیگر از رسوبات گلی تغذیه می‌کنند و نشانگر مناسبی جهت اثرات آلاینده می‌باشد. با توجه به زیستگاه این ماهیان و همچنین نحوه تغذیه از جانوران بی‌مهره کفزی، ارتباط زیادی با آلاینده‌های موجود در بستر داشته و بنابراین گیرنده آلاینده‌های مختلف در محیط دریایی می‌باشند. از طرف دیگر کفشک‌ماهی تقریباً ساکن بوده و به این ترتیب این ماهی به‌عنوان گونه مناسب جهت پایش زیستی شناخته می‌شود (۱۰). کبد در ماهیان استخوانی اولین اندامی است که در فرآیند سم‌زدایی آلاینده‌ها شرکت می‌کند و مطالعات آزمایشگاهی بسیاری وجود تغییرات هیستوسیتوپاتولوژیک کبدی را در اثر گروه وسیعی از آلاینده‌های آلی و فلزات سنگین گزارش کرده‌اند (۱۱).

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: این پژوهش در قالب مطالعه محیطی انجام شد. ۸۰ قطعه ماهی به‌صورت زنده از ۸ منطقه از مناطق حساس و در معرض آلودگی نفتی خلیج فارس در دو فصل زمستان ۹۰ و تابستان ۹۱ از نقاط آلوده و پاک خورموسی (بیحد، اسکله نفتی مجیدیه)، بندر یلم، بندربوشهر و بندرگاه، بندردیلیم، بندرلنگه و بندرعباس جهت نمونه‌برداری جمع‌آوری شدند (شکل ۱). ابزار صید ماهی، ترال کف بود. در هر بار نمونه‌برداری ماهیان با استفاده از ۲- فنوکسی اتانول ۰/۱ درصد بی‌هوش و سپس تشریح شدند. برای نمونه‌برداری از کبد ابتدا کیسه صفرا را جدا کرده سپس از قسمت میانی کبد مقطع مورد نظر را جدا کرده و با ذکر نام منطقه و شماره هر ماهی، درون ظروف شیشه‌ای درب‌دار مجزا حاوی فیکساتیو بوئن قرار داده شد.

تهیه مقاطع بافتی: نمونه‌ها به‌منظور مطالعه با میکروسکوپ نوری بلافاصله بعد از بی‌هوشی و تشریح در محلول بوئن تثبیت شده و بعد از ۲۴-۱۲ ساعت با توجه به اندازه نمونه وارد سریال الک‌ها شده و در نهایت داخل الک ۷۰ درجه جهت انجام باقیمانده پروسه به‌مدت طولانی‌تر نگهداری شدند. سپس سایر مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی و پارافینه‌شدن با استفاده از دستگاه فرآوری بافت (Tissue processor) مدل RX-11B tissue tek rotary, Japan تحت برنامه زمان‌بندی شده در آزمایشگاه تحقیقاتی بافت‌شناسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر صورت گرفت. سپس از قالب‌های پارافینه برش‌هایی با ضخامت ۴/۵ میکرومتر تهیه و با روش هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند.

در انتها اسلایدهای بافتی به‌کمک میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین چشمی DINO LITE و به‌کمک نرم‌افزار DINO CAPTURE مورد مطالعه قرار گرفتند.

تعیین شاخص تغییرات هیستوپاتولوژی (Histopathologic alternation index): ارزیابی نتایج تغییرات هیستوپاتولوژیکی مشاهده شده در بافت‌های کبد ماهیان براساس جدول ۱ انجام شد و سپس به‌منظور بررسی کمی و آنالیز نتایج پاتولوژیک، براساس شدت به‌صورت زیر درجه‌بندی انجام شد (۲):

بدون آسیب (۰): کبد در حالت نرمال بود.

آسیب خفیف (۲): در صورتی که کم‌تر از ۲۵ درصد سلول‌های

کبدی درگیر بودند.



شاخص آسیب کبد برای هر یک از ماهی‌ها در مناطق نمونه‌برداری محاسبه شد. به این ترتیب که پس از بررسی لام‌ها به هر اسلاید براساس نوع آسیب موجود، یک ارزش عددی (از ۰ تا ۶) داده شد. سپس این عدد در فاکتور امتیاز که بر حسب اهمیت پاتولوژیک آن آسیب محاسبه شده بود (جدول ۱)، ضرب شد. به این صورت برای هر یک از آسیب‌های مشاهده شده در هر اسلاید یک عدد به‌دست آمد که این اعداد با هم جمع گردید و به‌عنوان شاخص آسیب آن نمونه بیان شد (۲).

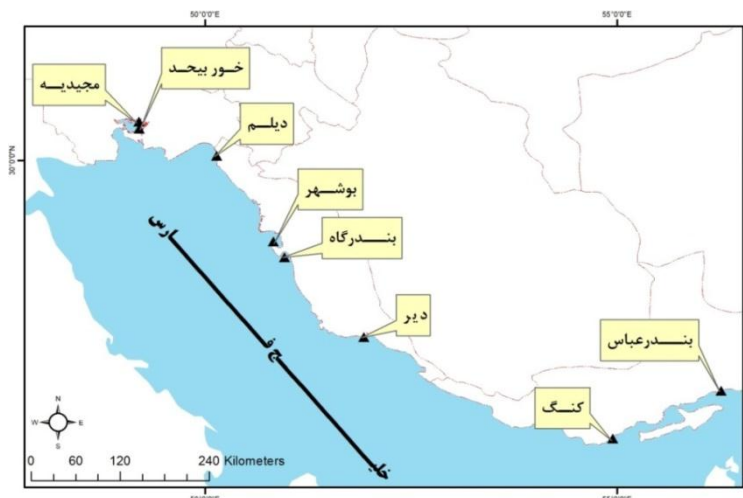
آسیب متوسط (۴): در صورتی که بین ۲۵ تا ۷۵ درصد سلول‌های کبدی درگیر بودند.
 آسیب شدید (۶): در صورتی که بیش‌تر از ۷۵ درصد از سلول‌های کبدی درگیر بودند.
 جهت مقایسه میزان وقوع آسیب‌های کبدی پس از بررسی مقطع کبد، براساس جدول ۱، یک عدد به هر نمونه داده شد که این عدد نشانگر شدت و نوع آسیب بود. در مواردی که چند نوع آسیب مشاهده شد، بزرگ‌ترین عدد محاسبه شده‌است (۱۱).

جدول ۱: گروه‌بندی آسیب‌های هیستوپاتولوژیک کبد در گونه‌های پهن و امتیازدهی آن (Lang و همکاران، ۲۰۰۶)

گروه‌بندی آسیب بافتی	آسیب شناسی	مرحله آسیب	امتیاز
عدم مشاهده آسیب	-	-	-
آسیب‌های غیراختصاصی	✓ تغییرات التهابی (گرانولوماتوز، اینفیلتریشن)		
	✓ تغییرات دژنراتیو (نکروز انعقادی یا منفرد، آتروفی)	خفیف	۱
	تغییرات تکثیری (رژنراتیو هپاتوسیت‌ها، فیروز و هایپرپلازی مجرای صفراوی)	متوسط	۲
	✓ افزایش مراکز ملانوماکروفاژ	شدید	۳
	✓ لیپیدوزیز		
	آسیب‌های توکسیکوپاتی اولیه غیرنئوپلازی	✓ چند شکلی هسته‌ها	خفیف
✓ واکنش شدن هیردوپیک (سلول‌های کبد/ پانکراس)		متوسط	۵
فسفولپیدوزیز هپاتوسیت‌ها دخول فیبریلار		شدید	۶
آسیب‌های پیش‌نئوپلازی	✓ تغییرات تجعی سلول‌ها (FCA)	خفیف	۷
	✓ سلول شفاف	متوسط	۸
	✓ واکنش	شدید	۹
	✓ اتوزینوفیلیک		
	✓ بازوفیلیک ✓ مخاوط		
نئوپلاسم‌های خوش‌خیم	آدنوم سلول‌های کبدی	خفیف	۱۰
	کلانژیوم	متوسط	۱۱
	✓ آدنوم سلول‌های آسینی پانکراس آدنوم‌های دیگر	شدید	۱۲
نئوپلاسم‌های بدخیم	کارسینوم سلول‌های کبدی	خفیف	۱۳
	کلانژیوکارسینوم	متوسط	۱۴
	کارسینوم سلول‌های آسینی پانکراس	شدید	۱۵
	همانژیوکارسینوم کارسینوم‌های دیگر		

۷: آسیب‌های گزارش شده در نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش





شکل ۱: ایستگاه‌های نمونه‌برداری کفشک ماهی در خلیج فارس

نتایج

بازوفیلیک می‌شود. افزایش تعداد سلول‌های آپوپتوتیک، در کبد ماهی کفشک گرد مشاهده شد (شکل ۶).

نکروز / دژنره شدن: انواع مختلفی از تغییرات نکروتیک و انحطاط معمولاً در کبد کفشک ماهی گرد مشاهده شده است. نکروز انعقادی یک مورد، ثبت شد. نکروز انعقادی به صورت یک منطقه متمرکز ائوزینوفیلیک کم‌رنگ و هسته‌های متراکم تعریف می‌شود (شکل‌های ۷ و ۸). علاوه بر این، انحطاط چرب مشخص شد حضور از سلول‌های کبدی بسیار واکنش‌پذیر است (شکل ۹). فیبروزیس: فیبروز، مرحله پیشرفته بیماری کبدی همراه با تکثیر فیبروبلاست‌ها و تجمع کلاژنی بافت همبند، در کبد ماهی کفشک با حضور سلول‌های ائوزینوفیلیک دانه و بافت همبند چند لایه اطراف عروق خونی (فیبروز دور عروقی) مشاهده شد (شکل ۱۰). واکنش‌ها شدن سلول‌های هیپاتوسیت و هیپاتوپانکراس در بافت کبد کفشک ماهی مشاهده شد. واکنش‌ها شدن در اغلب موارد باعث فشردگی شدن هسته به گوشه‌ای از سلول می‌گردد. (شکل‌های ۱۱، ۱۲ و ۱۳).

خونریزی: خونریزی در زیر کپسول گلیسون مشاهده شد که در این مورد خونریزی در بین سلول‌های هیپاتوسیت هم دیده شد (شکل‌های ۱۴، ۱۵ و ۱۶).

آسیب‌های توکسیکوپاتی اولیه غیرنئوپلازی اغلب با تکرار بالا در کبد کفشک ماهی گرد مشاهده شد. بیش‌ترین آسیب‌های بافتی در این گروه چندشکلی هسته و واکنش‌ها شدن بود. چندشکلی هیپاتوسیت‌ها و هسته آن‌ها که منجر به ایجاد اشکال مختلف در بافت پارانیشیم کبدی شده است در کبد کفشک

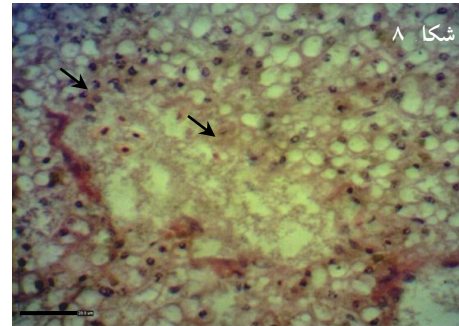
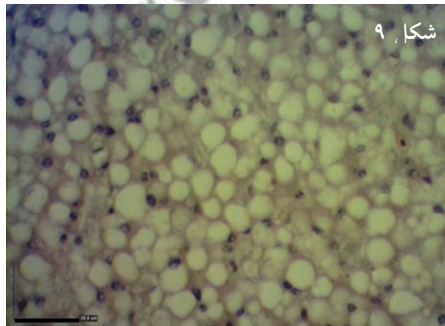
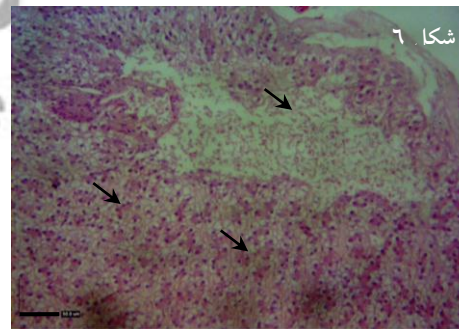
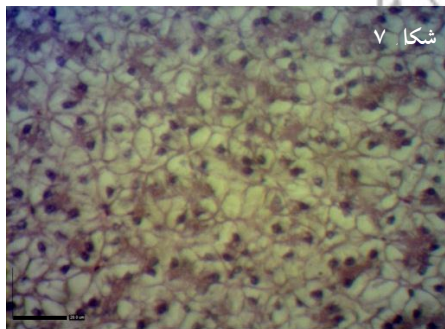
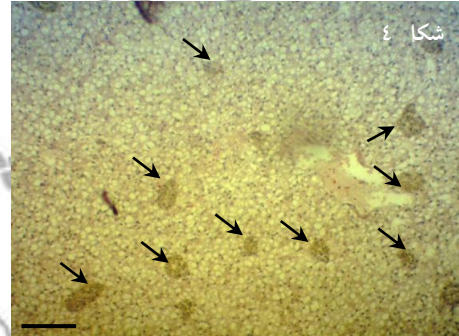
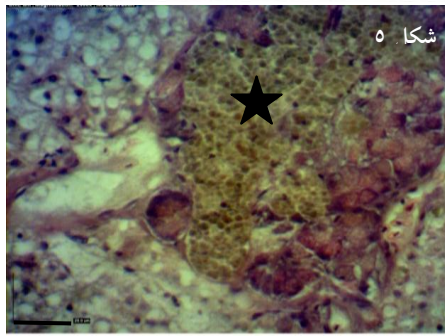
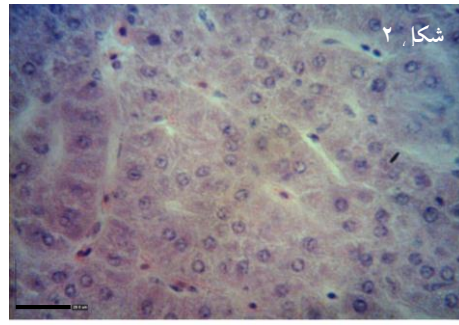
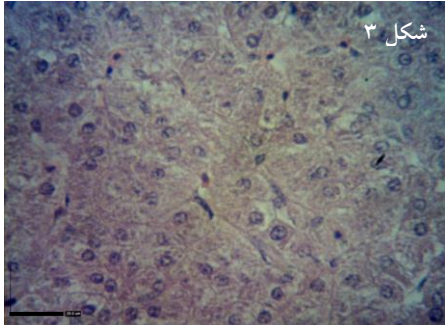
در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک کبد ماهی کفشک گرد گروهی از آسیب‌ها گزارش گردید که در جدول ۱ خلاصه شده است. کبد کفشک ماهی در حالت نرمال شبیه به سایر گونه‌های ماهیان مشاهده شد. تنوع گسترده‌ای در نمای بافت‌شناسی هیپاتوسیت‌ها وجود دارد که بیش‌تر به علت تفاوت در میزان واکنش‌ها شدن و احتمالاً شرایط تغذیه‌ای و مرحله بلوغ می‌باشد. در نواحی رفرنس و پاک در استان خوزستان، ایستگاه بیحد و در استان بوشهر، ایستگاه دیلم آسیب در بافت کبد مشاهده نشد (شکل‌های ۲ و ۳).

ضایعات غیراختصاصی و انتهایی: در بررسی میکروسکوپی بافت کبد کفشک ماهی گرد تجمعات ملانوماکروفاژ^۱ MMs در شدت‌های مختلف مشاهده شد پراکندگی به دو صورت منفرد و گروهی در اطراف مجاری پانکراس و لابلاهی هیپاتوسیت‌ها وجود داشت. در برخی مشاهدات این تجمعات توسط یک لایه از بافت همبند احاطه شده است. با توجه به تنوع رنگدانه‌ها و محتوای سلولی، MMs در بخش‌های رنگ‌آمیزی H&E در ظاهر از زرد تا قهوه‌ای دیده شد و در زیر رنگدانه‌ها هسته بازوفیلیک قابل رویت بود (شکل‌های ۴ و ۵). آپوپتوز: آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی شده سلول)، برخلاف نکروز، این آسیب با انحلال سلول‌های آسیب دیده مانع التهاب بیش از حد و اختلالات دیگر می‌شود. این آسیب منحصر به فرد در کبد کفشک ماهی مشاهده شد. به علت انقباض سلولی، سلول‌های آسیب دیده از سلول‌های پارانیشیمی مجاور جدا شده هسته به صورت فشردگی، تیره رنگ و

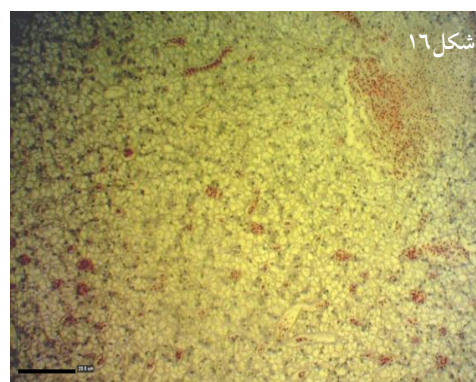
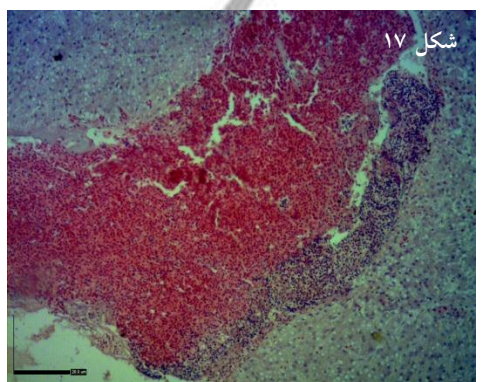
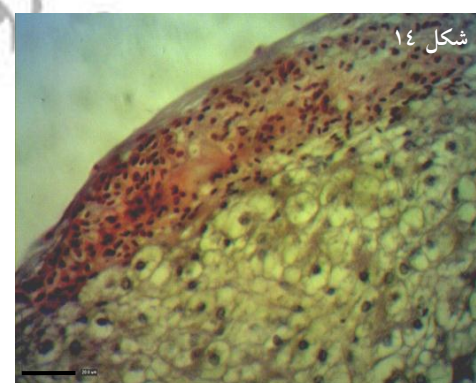
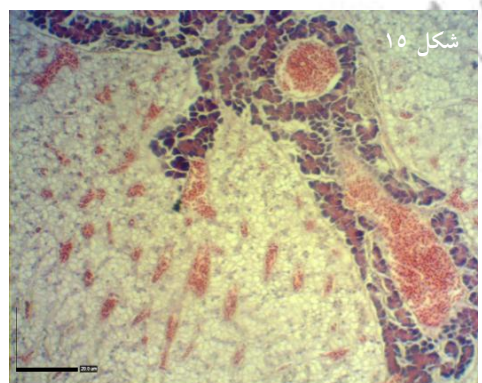
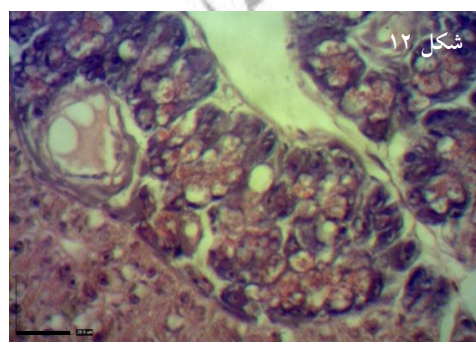
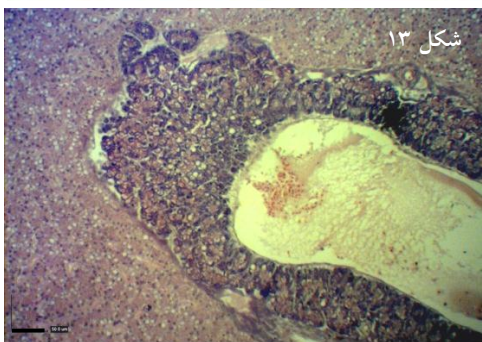
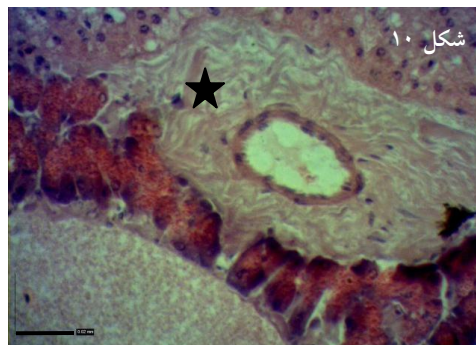
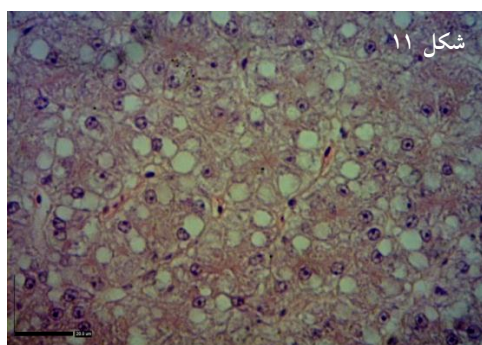
¹ - Melano macrophage centres

مشاهده شد. چندشکلی در هیپاتوسیت‌ها و هسته آن‌ها باعث بهم ریختگی بافت پارانشیم کبد شده است (شکل‌های ۵، ۹ و ۱۱).

ماهی گزارش شده است. چندشکلی بیش‌تر به صورت تغییر در اندازه خود سلول کبدی و هسته آن گزارش شده است که تغییر در هسته رایج‌تر بود. سلول‌های آسیب دیده بزرگ‌تر بود و هسته با اندازه‌های بیش از دو برابر اندازه هسته در حالت نرمال



شکل‌های ۲ تا ۹: تصاویر میکروسکوپ نوری بافت کبد کفشک ماهی گرد: ۳ و ۲. ساختار بافتی طبیعی کبد در منطقه پاک، ۵ و ۴. ملانوماکروفاز (ستاره و فلش سیاه)، ۶. آپوپتوز (فلش سیاه)، ۸ و ۷. نکروز/دژنره شدن (فلش سیاه) ۹: واکنش شدید، H&E، مقیاس: ۹.۸، ۷.۵، ۳.۲، ۲۰ میکرومتر و ۶.۴: ۵۰ میکرومتر



شکل ۱۰ تا ۱۷: تصاویر میکروسکوپ نوری بافت کبد کفشک ماهی گرد: ۱۰. فیبروز، ۱۱، ۱۲، ۱۳. واکنش شدن، ۱۴، ۱۵، ۱۶. خونریزی، ۱۷. تغییرات تجعی سلول‌ها (FAC)، H&E، مقیاس: ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۴: ۲۰ میکرومتر و ۱۳، ۱۵، ۱۶، ۱۷: ۵۰ میکرومتر

در این مطالعه است. مطالعه حاضر اولین تحقیق جامع در مورد تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی کفشک گرد *Euryglossa orintalis* در آب‌های ساحلی شمال خلیج فارس است. اطلاعات بافت‌شناسی ماهی کفشک گرد راست گرد خلیج فارس بسیار محدود است و بنابراین باید مطالعه حاضر را به‌عنوان یک مطالعه پایه در نظر گرفت که می‌تواند در پایش این خلیج استفاده شود. آسیب‌های کبدی برای گونه‌های ماهیان پهن به‌صورت زیر تقسیم‌بندی شده است (۹):

- آسیب‌های غیراختصاصی
- آسیب‌های اولیه توکسیکوپاتیک غیرنئوپلازی
- آسیب‌های پیش‌نئوپلاسمیک و تغییرات تجمعی سلول‌ها

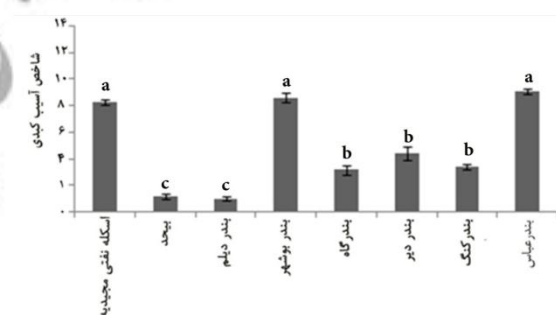
نکته جالب توجه در بررسی هیستوپاتولوژیک کبد ماهی کفشک گرد عدم وجود تومورهای خوش‌خیم و بدخیم بود و به‌طور کلی شیوع بالای تغییرات پاتولوژیک کبدی گزارش شد. هرچند در نواحی با استرس کم‌تر نظیر بندرلنگه و بندردیلم بافت کبد بدون ضایعه گزارش شد ولی در اکثر ایستگاه‌های مورد مطالعه آسیب‌های متعددی در کبد به‌صورت غیراختصاصی دیده شد. نظیر چنین نتایجی در یافته‌های سایر محققین در مورد کفشک ماهیان نیز در دریای بالتیک نشان داده شده است (۵ و ۱۱).

در مطالعه حاضر انواع تغییرات نکروتیک و دژنراتیک و فرایندهای دژنراتیو مرتبط با ذخیره‌سازی بیش از حد چربی مشاهده شد. در اغلب موارد، ضایعات نکروزی به میزان کم و در محدوده نرمال مشاهده شد. اما در بعضی موارد، کل بافت کبد دچار نکروز شده و کارکرد کبد تحت تاثیر قرار گرفته بود (۲). در مورد ارتباط تجمع ماکروفاژها و افزایش سن ماهی بحث وجود دارد (۱)، ولی مطالعات اخیر ارتباطی بین افزایش میزان تجمع ماکروفاژی با آلاینده‌های موجود در رسوبات نشان داده است (۸).

در گونه‌های وحشی ماهی، مانند کفشک ماهیان، میزان واکوتله شدن هیپاتوسیت‌ها به‌میزان زیادی به سیکل تولیدمثلی و در دسترس بودن غذای کافی مرتبط است (۷). در مطالعه حاضر، در واکوتله شدن کامل بافت کبد به دو صورت واکوتل‌های ریز و درشت در برخی ایستگاه‌ها مشاهده شد. در بعضی موارد بافت کبد دارای نکروز چربی بود و واکوتل‌ها در اندازه‌های مختلف در بافت کبد مشاهده شد. این آسیب پاتولوژیک ناشی از متابولیسم ناقص چربی‌ها در حضور گزنوبیوتیک‌ها ایجاد می‌شود (۴ و ۱۸).

یکی از آسیب‌های پره نئوپلاسمی تجمع و تمرکز تغییرات سلولی^۱ (FCA) بود که در کبد کفشک ماهی گرد به‌شکل یک تجمع گسسته از سلول‌های کبدی با ظاهر بافت‌شناسی متفاوت از نظر مورفولوژی و رنگ‌پذیری در مقایسه با سلول‌های مجاور خود مشاهده شد. سلول‌های کبدی در FCA به‌شکل بازوفیلیک، اسیدوفیلیک و یا شفاف‌شده مشاهده شدند (شکل ۱۷). نئوپلاسم نه به‌صورت خوش‌خیم و نه بدخیم در نمونه‌های کبد مورد مطالعه مشاهده نشد.

میانگین شاخص آسیب‌های کبدی در ایستگاه‌های مورد مطالعه در شکل ۱۸ خلاصه شده است. میانگین این شاخص در نواحی کنار تاسیسات نفتی نظیر بندرعباس و بوشهر بیش‌تر از نواحی دور از تاسیسات گزارش گردید. براساس نتایج حاصل از آنالیز HAI، مقدار این شاخص در ایستگاه‌های اسکله نفتی مجدیه، بوشهر و بندرعباس به‌طور معنی‌داری از سایر ایستگاه‌ها بیش‌تر بود ($p < 0.05$)، ولی اختلاف معنی‌داری میان این سه ایستگاه وجود نداشت ($p > 0.05$). همچنین مقدار HAI در ایستگاه‌های بیحد و دیلم اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$) (شکل ۱۸).



شکل ۱۸: نمودار میانگین شاخص آسیب کبد (HAI) کفشک ماهی گرد در ایستگاه‌های مختلف

حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین ایستگاه‌های مختلف نمونه‌برداری است.

بحث

تغییرات هیستوپاتولوژیک اندام‌های ماهی به‌عنوان شاخص زیستی در پایش زیست‌محیطی دریا و ارزیابی اثرات عوامل استرس‌زای محیطی مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۱). کبد به‌دلیل نقش اساسی در سوخت و ساز عمومی بدن، ذخیره‌سازی آلاینده‌های چربی‌دوست و سم‌زدایی آلاینده، اندام هدف اصلی

¹ - Focos of cellular alternation



و این احتمال را مطرح ساختند که مرحله پیشرفته تغییرات تجمعی سلول‌ها تشکیل تومور است. بررسی‌های گذشته میزان بالای شیوع FCA را در کبد ماهیان مناطق آلوده در سواحل آمریکای شمالی (۱۵)، در خلیج‌های انگلستان (۱۲) و دریای بالتیک (۱۱) نشان داده‌اند. در مقابل تعدادی از مطالعات نیز شیوع پایین FAC را گزارش کرده‌اند، به‌عنوان مثال در مارماهی فقط یک مورد گزارش شده است (۱۶). در بررسی اخیر نیز در مورد کفشک ماهی گرد (*Euryglossa orientalis*) تومورهای کبدی خوش‌خیم یا بدخیم مشاهده نشد. اما وجود FAC در ۴ ایستگاه مشاهده شد. مطالعات دیگر بر روی ماهیان پهن نشان داده است که در گروه‌های سنی جوان ندول‌های نئوپلاسمیک کبدی نسبت به گروه‌های سنی بالاتر کم‌تر بود (۱۴، ۱۷ و ۱۹) و این نتایج در بررسی اخیر بر روی کفشک ماهی نابالغ نیز تایید شد. دلیل دیگر برای عدم گزارش نئوپلاسم کبدی، با مطالعه بر روی کفشک ماهی ارائه شده است. Myers و همکاران (۱۹۹۸) شیوع پایین FAC و فقدان آسیب‌های نئوپلاسمیک را در این ماهی گزارش کردند. پژوهشگران با استناد به مطالعاتی که بر آنزیم‌های سم‌زدایی کبدی و غلظت‌های بیان شده انجام گرفته، مشخص کردند القاء سیتوکروم P450 و افزایش فعالیت آنزیم EROD در کفشک ماهی و sole انگلیسی افزایش یافته است. در نتیجه افزایش آنزیم‌های سم‌زدایی باعث افزایش مقاومت کبد در مقابل ترکیبات سرطان‌زایی نظیر PAHها می‌باشد. در مطالعه اخیر نیز افزایش فعالیت آنزیم EROD در نتیجه القاء سیتوکروم P450 مشاهده شد و می‌توان نتیجه گرفت که شیوع بسیار پایین FAC و عدم مشاهده تومورهای خوش‌خیم و بدخیم کبدی به دلیل فعالیت سم‌زدایی مطلوب کبد کفشک ماهی گرد است.

نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، اهمیت روزافزون مطالعات هیستوپاتولوژیک را در برنامه‌های ارزیابی محیط زیست دریایی تقویت می‌کند. پارامترهای هیستوپاتولوژیک در کنار سایر روش‌ها به‌عنوان ابزارهایی برای ارزیابی دقیق‌تر کیفیت محیطی منطقه مورد مطالعه در برنامه‌های ارزیابی محیطی به‌کار می‌روند (۷).

تشکر و قدردانی

در پایان لازم می‌داند از مسوولین محترم شیلات استان خوزستان، بوشهر و هرمزگان که در نمونه‌برداری کمک به‌سزایی کردند و گروه زیست‌شناسی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی

در بخش مطالعه میکروسکوپی این پژوهش آسیب‌های التهابی غیراختصاصی که می‌تواند تحت تاثیر عوامل استرس‌زای انسانی در کبد کفشک ماهی گرد ایجاد شود، جمع‌آوری و معرفی شده است (اشکال ۱ تا ۱۶)؛ هرچند این احتمال وجود دارد که این آسیب‌ها در اثر فاکتورهای زنده و غیرزنده طبیعی ایجاد شده باشند (۳). وجود ارتباطی علت و اثر بین آلاینده‌ها و ضایعات توکسیپاتیک غیرنئوپلاستیک اثبات شده است و به‌عنوان نشانگر تاثیرات آلاینده‌ها استفاده می‌گردد (۱۶).

چندشکلی در هسته^۱ یکی از آسیب‌هایی است که در اثر مواجهه به هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی PAHها ایجاد می‌شود (۱۳) و بررسی‌ها نشان داده این عارضه می‌تواند پیش زمینه تغییرات نئوپلاستیک می‌باشد. چند شکلی هسته توسط تعداد زیادی از محققین بررسی شده است. شیوع پایین این عارضه توسط Stehr و همکاران (۲۰۰۳) بر روی ماهی *Pleuronectes vetulus* از بندرگاه ونکوور کانادا و همچنین در کفشک ماهی دریای بالتیک گزارش شده است (۱۵). میزان وقوع بالاتر در کفشک‌ماهی خلیج انگلستان (*Platichthys flesus*) بررسی شده که در حدود ۷۰ درصد در خلیج Clyde ثبت شده است (۱۲). نتایج بررسی‌های مشابه توسط Stentiford و همکاران (۲۰۰۳) در مورد مارماهی خلیج انگلستان (*Zoarces viviparus*) مشابه نتایج کفشک ماهی (*Platichthys flesus*) آن منطقه بود (۱۶). Fricke و همکاران (۲۰۱۲) بر روی مارماهی (*Zoarces viviparus*) دریای بالتیک نشان دادند که میزان پلی‌مورفیسم در هسته سلول‌های کبدی شیوع بیش‌تری نسبت به کفشک ماهی دریای بالتیک دارد (۹). علت این مساله توانایی متفاوت گونه‌های مختلف ماهی نسبت به تحمل آلاینده‌ها و سایر فاکتورهای محیطی است. در مطالعه حاضر نیز چندشکلی هسته مشاهده شد که احتمالاً به‌علت آلودگی نفتی بالای خلیج فارس می‌باشد. شاخص آسیب بافتی در ایستگاه‌های مجاور تاسیسات نفتی (اسکله نفتی مجیدیه، بوشهر و بندرعباس) اختلاف معنی‌داری با ایستگاه‌های دور از تاسیسات نفتی (بیحد و دیلم) نشان داد ($p < 0.05$).

در مقابل شیوع بالای آسیب‌های غیراختصاصی و توکسوپلاتیک غیرنئوپلاستیک کبدی، ضایعات پره‌نئوپلاستیک (تغییرات تجمعی سلول‌ها، FCA^۲) و نئوپلاستیک (تومورهای خوش‌خیم و بدخیم) بسیار نادر هستند. Myers و همکاران (۱۹۸۷) بحثی را در ارتباط با نقش FCA در سرطان انجام داده

^۱- Polymorphism or pleomorphism

^۲- Foci of cellular alternation



خرمشهر تشکر و قدردانی به عمل آید.

منابع

8. **Fournie, J.W.; Summers, J.K.; Courtney, L.A.; Engle, V.D. and Blazer, V.S., 2001.** Utility of splenic macrophage aggregates as an indicator of fish exposure to degraded environments. *Journal of Aquatic Animal Health*. Vol. 13, No.2, pp: 105-116.
9. **Fricke, N.F.; Stentiford, G.D.; Feist, S.W. and Lang, T., 2012.** Liver histopathology in Baltic eelpout (*Zoarces viviparus*), a baseline study for use in marine environmental monitoring. *Marine Environmental Research*. Vol. 82, pp: 1-14.
10. **Goksøyr, A.; Beyer, J.; Egaas, E.; Grøsvik, B.E.; Hylland, K.; Sandvik, M. and Skaare, J.U., 1996.** Biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus*) and their use in pollution monitoring. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. 33, No. 1-6, pp: 36-45.
11. **Lang, T.; Wosniok, W.; Baršienė, J.; Broeg, K.; Kopecka, J. and Parkkonen, J., 2006.** Liver histopathology in Baltic flounder (*Platichthys flesus*) as indicator of biological effects of contaminants. *Marine pollution bulletin*. Vol. 53, No. 8, pp: 488-496.
12. **Lyons, B.P.; Stentiford, G.D.; Green, M., Bignell, J.; Bateman, K.; Feist, S.W.; Goodsir, F.; Reynolds, W.J. and Thain, J.E., 2004.** DNA adducts analysis and histopathological biomarkers in European flounder (*Platichthys flesus*) sampled from UK estuaries. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. Vol. 552, No. 1-2, pp: 177-186.
13. **Mikaelian, I.; de Lafontaine, Y.; Ménard, C.; Tellier, P.; Harshbarger, J.; and Martineau, D., 1998.** Neoplastic and nonneoplastic hepatic changes in Lake Whitefish (*Coregonus clupeaformis*) from the St. Lawrence River, Quebec, Canada. *Environmental health perspectives*. Vol. 106, No. 4, pp: 179-183.
14. **Myers, M.S.; Johnson, L.L.; Hom, T.; Collier, T.K.; Stein, J.E. and Varanasi, U., 1998.** Toxicopathic hepatic lesions in subadult English sole (*pleuronectes vetulus*) from Puget Sound, Washington, USA: Relationships with other biomarkers of contaminant exposure. *Marine Environmental Research*. Vol. 45, No. 1, pp: 47-67.
15. **Stehr, C.; Johnson, L. and Myers, M., 1998.** Hydropic vacuolation in the liver of three species of fish from the US West Coast: lesion description and risk assessment associated with contaminant exposure. *Diseases of aquatic organisms*. Vol. 32, No. 2, pp: 119-135.
1. **Agius, C. and Roberts, R., 2003.** Melano macrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Diseases*. Vol. 26, No. 9, pp: 499-509.
2. **Bernet, D.; Schmidt, H.; Meier, W.; Burkhardt-Holm, P. and Wahli, T., 1999.** Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*. Vol. 22, No. 1, pp: 25-34.
3. **Bucke, D. and Feist, S., 1993.** Histopathological changes in the livers of dab, *Limanda limanda* (L.), *Journal of Fish Diseases*. Vol. 16, No. 4, pp: 281-296.
4. **Costa, P.M.; Diniz, M.S.; Caeiro, S.; Lobo, J.; Martins, M.; Ferreira, A.M.; Caetano, M.; Vale, C.; DelValls, T.Á. and Costa, M.H., 2009.** Histological biomarkers in liver and gills of juvenile *Solea senegalensis* exposed to contaminated estuarine sediments: A weighted indices approach. *Aquatic Toxicology*. Vol. 92, No. 3, pp: 202-212.
5. **Dabrowska, H.; Ostaszewska, T.; Kamaszewski, M.; Antoniak, A.; Napora-Rutkowski, I.; Kopko, O.; Lang, T.; Fricke, N.F. and Lehtonen, K.K., 2012.** Histopathological, histomorphometrical, and immunohistochemical biomarkers in flounder (*Platichthys flesus*) from the southern Baltic Sea, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 78, No, 0, pp: 14-21.
6. **De Astarloa, J.M.D. and Munroe, T.A., 1998.** Systematics, distribution and ecology of commercially important paralicthyid flounders occurring in Argentinean-Uruguayan waters (*Paralichthys*, *Paralichthyidae*). An overview. *Journal of Sea Research*. Vol. 39, No. 1-2, pp: 1-9.
7. **Feist, S. W.; Lang, T.; Stentiford, G. and Köhler, A., 2004.** Biological effects of contaminants: Use of liver pathology of the European flatfish dab (*Limanda limanda* L.) and flounder (*Platichthys flesus* L.) for monitoring, ICES techniques in marine environmental sciences. Vol. 38, pp: 1-43.



16. 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*. Vol. 55, No. 2. pp: 137-15.
17. Stentiford, G.; Bignell, J.; Lyons, B.; Thain, J. and Feist, S., 2010. Effect of age on liver pathology and other diseases in flatfish: implications for assessment of marine ecological health status. *Marine Ecology Progress Series*. Vol. 411, pp: 215-230.
18. Van Dyk, J.C.; Pieterse, G.M.; and van Vuren, J.H.J., 2007. Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 66, No. 3. pp: 432-440.
19. Vethaak, A. and Wester, P., 1996. Diseases of flounder *Platichthys flesus* in Dutch coastal and estuarine waters, with particular reference to environmental stress factors. II. Liver histopathology. *Diseases of Aquatic Organisms*. Vol. 26, pp: 99-116.
20. Yasemi, M.; Keyvan, A.; Falahatkar, B.; Farzin, G.M.; Sharifpour, I.; Oufi, F.; Vosoughi, G.H. and Ahmadi, M., 2008. Pleuronectiformes species identification along the Iranian coastline of the Persian Gulf. *Iranian Journal of fisheries sciences*. Vol. 7, No. 2. pp: 103-120.



Histopathological studies on liver of *Euryglossa orientalis*, in coastal areas of the northern Persian Gulf

- **Azadeh Atabati***: Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr Marine Science and Technology University, P.O.Box: 669, Khorramshahr, Iran
- **Ahmad Savari**: Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr Marine Science and Technology University, P.O.Box: 669, Khorramshahr, Iran
- **Abdolali Movahedinia**: Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr Marine Science and Technology University, P.O.Box: 669, Khorramshahr, Iran
- **Rahim Abdi**: Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr Marine Science and Technology University, P.O.Box: 669, Khorramshahr, Iran

Received: December 2013

Accepted: February 2014

Keyword: *Euryglossa orientalis*, North of Persian Gulf, Biological effects of contaminants

Abstract

The use of liver histopathology in various fish species as a biomarker in marine monitoring programs to assess the biological effect of exposure to contaminants is well established although the *Euryglossa orientalis* has repeatedly been recommended as an appropriate bioindicator for monitoring purposes in the Persian Gulf, information on histopathological liver alterations of this species is scarce. In order to obtain an overview, a total of 80 flounder, collected in the period between winter 2011 and summer 2012 from 7 sampling sites distributed over north of the Persian gulf, were histologically analyzed. Liver lesions were recorded and classified according to established liver lesion categories. A high prevalence of non-specific and early toxicopathic non-neoplastic hepatic lesions was recorded. In contrast, pre-neoplastic lesions were observed only in some cases and neoplastic changes were absent. Indices of liver tissue damage in *Euryglossa orientalis* Eskeleh Nafty Majidieh, Bushehr and Bandar Abbas significantly higher than other stations ($p < 0.05$). The results revealed that the observed alterations may indicate effects of environmental stressors including contaminants. The results of the present study, thus, support the application of *Euryglossa orientalis* liver histopathology in environmental monitoring.

