13 (3) 81-88, Autumn 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Survey possibility of using the histopathological changes of pigeon *Columba livia* in benzo(*a*)pyrene exposure

Sahel Pakzad Toochaei [*1], ***Seyed Mahmoud Ghasempouri*** [2]

[1] *Natural ecosystems management Research group, Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran*
[2] *Department of Environmental Science, Faculty of Natural Resources and Marine sciences, Tarbiat Modares University, Nur, Iran*

Key Words
Sentinel Species
Poly aromatic compounds
Expose
Liver
Kidney

Abstract

Introduction: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), especially Benzo(*a*)pyrene (BaP), affect the environment and urban areas. Investigation of tissue damage caused by exposure to various contaminants in living organisms as a sentinel species can be used as a biomarker.

Materials & Methods: The study aims to assess the effects of benzo(*a*)pyrene concentration on the altered tissues in the kidney and liver of rock pigeon (*Columba livia*), from Tehran megacity as well as 40 days Benzo(a)Pyrene invitro exposure. For this purpose, 2 groups (in same weight and age) were exposed to two group's concentrations (5 and 10 $mg.kg^{-1}$ bw and untreated group) of BaP.

Result: Also, for comparison of invitro results with urban conditions, 12 samples were captured from Tehran megacity. The liver cells hypertrophy and the proximal tubule cells disruption were only appeared in group of 10 $mg.kg^{-1}$ bw of BaP.

Conclusion: According to the results, it can be concluded that tissue damage caused by BaP in pigeons can be a good biomarker only in high concentrations of it to determine the effect on organisms and the surrounding environment, especially in urban ecosystems.

* Corresponding Author's email: s.pakzad@uoz.ac.ir
Received: 7 April 2021; Reviewed: 4 June 2021; Revised: 16 August 2021; Accepted: 18 September 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.296930.2589

مقاله پژوهشی

بررسی امکان استفاده از آسیب‌های بافتی کبوتر وحشی *Columba livia* در مواجهه با بنزوآلفاپایرن

ساحل پاکزادتوچایی[1*]، سیدمحمود قاسمپوری[2]

[1] گروه پژوهشی اکوسیستم‌های طبیعی، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[2] گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

کلمات کلیدی

گونه دیده‌بان
در معرض قراردهی
ترکیبات پلی‌آروماتیک
کبد
کلیه

چکیده

مقدمه: هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (Poly aromatic hydrocarbons, PAHs)، به‌ویژه بنزوآلفاپیرن (Benzo(a)pyrene, BaP) از آلودگی‌های اثرگذار در مناطق شهری هستند. بررسی آسیب‌های بافتی ناشی از درمعرض قرارگیری انواع آلاینده‌ها درموجودات زنده به‌عنوان گونه‌های دیده‌بان (Sentinel)، می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر زیستی مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها: هدف از انجام مطالعه حاضر، استفاده از آسیب بافت‌های کبد و کلیه کبوتر وحشی (*Columba livia*) به‌عنوان شاخص اثر در مواجهه با BaP در کلان شهر تهران و هم‌چنین در شرایط ۴۰ روز از مواجهه با ترکیب BaP بود. برای انجام کار، پرندگان طی دو تیمار (دو جمعیت یک‌دست از نظر اندازه و سن) (۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت خوراکی به‌همراه یک تیمار شاهد در معرض BaP قرار گرفتند.

نتایج: نتایج حاصل از بررسی آسیب‌های بافتی تنها برای تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن هایپرتروفی هپاتوسیت‌ها و تخریب بخش پروکزیمال کلیه‌ها را نشان داد. درحالی‌که هیچ‌گونه آسیب بافتی در نمونه‌های تهران مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری و بحث: با توجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان اظهار داشت که آسیب‌های بافتی ناشی از BaP در کبوتر تنها در غلظت‌های بالای این آلاینده می‌تواند به‌عنوان نشانگر زیستی مناسبی در تعیین اثر این ترکیب بر سلامت موجودات زنده و محیط پیرامون آن‌ها به‌ویژه در اکوسیستم‌های شهری مورد استفاده قرار بگیرد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: s.pakzad@uoz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۸ فروردین ۱۴۰۰؛ تاریخ داوری: ۱۴ خرداد ۱۴۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۲۵ مرداد ۱۴۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۲۷ شهریور ۱۴۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.296930.2589

مقدمه

افزایش جمعیت شهری و رشد صنعت، سبب تولید آلاینده‌های شیمیایی به‌ویژه در کلان‌شهرها می‌گردد که می‌تواند اثرات منفی بر سلامت انسان و موجودات زنده ساکن آن داشته باشد. ترکیبات PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) به‌دلیل ساختار شیمیایی ویژه و عدم تجزیه‌پذیری کامل، جزء ترکیبات پایدار در طبیعت محسوب شده و به‌ویژه خاصیت سرطان‌زایی و جهش‌زایی آن موجب شده تا از ترکیبات خطرناک برای سلامتی انسان محسوب شوند. بنزوآلفاپایرن (BaP=Benzo(*a*)pyrene) با ساختار $C_{۲۰}H_{۱۲}$ یک ترکیب پنج‌حلقه‌ای از ترکیبات پایدار PAH بوده و ساختار کریستالی و زرد کم‌رنگ دارد (EPA، ۲۰۱۲؛ Guerrero-preston و همکاران، ۲۰۱۰). ترکیب BaP در طبقه‌بندی سازمان محیط‌زیست آمریکا (EPA) به‌دلیل دارا بودن خاصیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی حتی در مقادیر اندک، از آلاینده‌های سمی پر خطر محسوب شده که بایستی وضعیت آن در محیط‌های مختلف مدنظر قرار بگیرد (Kong و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به این‌که اثرات آلاینده‌ها بر سلامت موجودات زنده تنها از طریق داده‌های شیمیایی قابل بررسی نیستند، بررسی وضعیت موجوداتی که در محیط آلوده قرار گرفتند، این امکان را فراهم می‌کند تا خطرات آلاینده‌ها از طریق آسیب‌های ایجاد شده قابل بررسی و پیشگیری باشد (Aguirre-rubi و همکاران، ۲۰۱۸). گونه‌هایی که در برنامه‌های پایش زیستی آلاینده به‌کار می‌روند، بایستی قابلیت تجمع آلاینده مورد بررسی را داشته باشند، دارای پراکنش وسیعی باشد، نمونه‌برداری از آن‌ها آسان باشد و اطلاعات مربوط به ویژگی‌های بیولوژیکی و اکولوژیکی آن‌ها شناخته شده باشد (Miller و همکاران، ۲۰۱۴). هم‌چنین گونه‌های دیده‌بان مورداستفاده در بررسی آلاینده‌ها دارای محیط‌زیست مشترک با انسان نیز باشند (Sicolo و همکاران، ۲۰۱۰). با استفاده از نمونه‌های حیوانی قرار گرفته در محیط آلوده و بررسی اثرات سمیت آن، می‌توان خطرات احتمالی آن را برای انسان پیش‌بینی کرده و از این طریق از برخی آسیب‌ها بتوان جلوگیری کرد. یکی از روش‌های کاربردی و معمول تعیین اثرهای آلاینده‌ها بر موجودات زنده مطالعات آسیب‌شناسی بافتی موجود زنده‌ای است که در معرض آلاینده‌ای ویژه قرار گرفته است. بدین‌ترتیب مطالعات بافت شناسی متأثر از آلودگی‌های موجود می‌تواند پاسخگوی برخی از سوالات و آسیب‌ها باشد (محجوبیان و نعیمی، ۱۳۹۷؛ صادقی و همکاران، ۱۳۹۹؛ Grinwis و همکاران، ۲۰۰۰). هم‌چنین مطالعات بافت‌شناسی یک روش سریع و مناسب جهت بررسی اثرات تحت کشندگی و مزمن آلودگی‌ها بر بافت‌ها و اندام‌های یک موجود زنده است (Camargo و Martinez ، ۲۰۰۷). از مهم‌ترین مزایای استفاده از مطالعات بافت شناسی به‌عنوان شاخص اثرات آلاینده در محیط این است که به بررسی و مطالعه اختصاصی اثر آلاینده‌ها پرداخته می‌شود. اندام‌های هدف مانند کلیه و کبد که مسئول اعمال حیاتی دفع، تجمع و نقل و انتقال ترکیبات مضر (Xenobiotic) در موجود زنده هستند، در اثر مواجهه با آلاینده‌ها ممکن است دچار آسیب‌های حاد و مزمن شوند که بررسی این آسیب‌ها بیانگر اثر مخرب آلاینده است (Yancheva و همکاران، ۲۰۱۶). به‌عنوان مثال با توجه به نقش کلیه‌ها در فیلتراسیون پلاسما، تصفیه خون و دفع متابولیت‌های بدن و حفظ تعادل آن (Homeostasis)، آسیب‌های بافتی این اندام می‌تواند در ارزیابی اثرات آلاینده موثر باشد. بر این اساس نشانگرهای آسیب شناسی بافتی روشی علمی جهت ارزیابی خطرات سلامت آلاینده‌ها بوده و می‌تواند به‌عنوان یک روش کارآمد برای ارزیابی اثرات آلاینده‌ها بر سلامت موجود و محیط قابل بررسی و استفاده باشد. کبوتر وحشی (rock dove) *Columba livia* در محیط‌های باز و نیمه‌باز از جمله مزارع کشاورزی و شهرها به‌خصوص در نواحی پرجمعیت زندگی می‌کند. این پرنده به‌دلیل تنوع آشیان اکولوژیکی و فراوانی (تراکم) بالا و حضور در همه محیط‌ها و رفتارهای اکولوژیکی و ویژگی‌های زیست‌شناسی شناخته شده می‌تواند گزینه‌ای مناسب برای بررسی اثر آلاینده‌های پایدار در مطالعات منطقه‌ای باشد (Pei و همکاران، ۲۰۱۷). هم‌چنین با توجه به این‌که این پرنده قادر است از طریق تنفس در حین پرواز، مقدار زیادی از آلاینده‌های موجود در هوا را دریافت کند، می‌تواند نشانگر مناسبی از وضعیت هوای منطقه باشد. مطالعه این کبوتر در تعدادی از کلان‌شهرها جهت بررسی آلاینده‌ها در شهرهایی که در اثر جمعیت زیاد و فعالیت‌های صنعتی مقادیر بالایی از این ترکیبات تولید می‌شود، اثرات مخربی بر سلامت این پرنده نشان داده شده است (Sicolo و همکاران، ۲۰۱۰؛ Pei و همکاران، ۲۰۱۷). درنتیجه با توجه به جمعیت، ترافیک سنگین و وجود فعالیت‌های صنعتی در کلان‌شهر تهران، بررسی سلامت محیط از نظر آلایندگی ضروری به‌نظر می‌رسد. بر این اساس با توجه به جمعیت مناسب کبوتر *C. livia* در کلان‌شهر تهران، میزان تجمع BaP و PAHs در بافت‌های کبد و کلیه این کبوتر و تعیین آسیب‌های بافتی هایپرتروفی در هپاتوسیت‌ها و تخریب نفرون‌ها در شرایط آزمایشگاهی و محیط شهری در ارتباط با غلظت BaP مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام کار، تعداد دوازده قطعه کبوتر از دو منطقه خیابان جمهوری و میدان شوش شهر تهران در آذرماه ۱۳۹۵ (با توجه به جمعیت بالا و ترافیک سنگین) زنده‌گیری شد (شکل ۱). تعداد ۱۸ قطعه کبوتر با ترکیب ۹ قطعه ماده و ۹ قطعه نر هم اندازه و هم سن (گرم ۲۸۰-۲۶۰) نیز از یک جمعیت یک‌دست و از یک روستای پاک

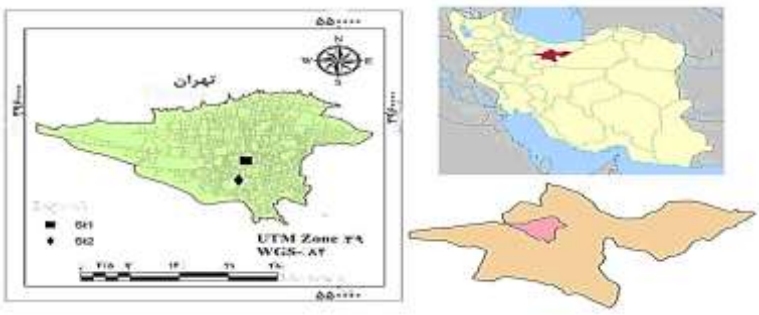
در شهرستان ارومیه تهیه گردید. نمونه‌ها به گونه‌ای که در هر گروه سه جفت نر و ماده وجود داشته باشند. یک گروه به‌عنوان شاهد و سایر گروه‌ها جهت در معرض قرار گیری با غلظت‌های مختلف ترکیب BaP تفکیک شدند. پرنده‌ها به‌مدت یک‌ماه، با محیط آزمایشگاه سازگار گردیدند. جهت تهیه غلظت‌های مختلف BaP، این ترکیب ابتدا در روغن ذرت حل شده تا استوک اولیه به‌دست آید و سپس در ظروف شیشه‌ای تیره نگه‌داری گردید (Ou و Ramos، ۱۹۹۲). غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن براساس میزان تغذیه روزانه هر پرنده با دان تجاری مخلوط شده و در برابر هر پرنده قرار گرفت. گروه شاهد نیز با غذای مشابه و بدون افزوده شدن ترکیب BaP تغذیه گردید. این فرایند به‌مدت ۴۰ روز ادامه یافت. در پایان دوره، پرندگان با غلظت بالای کلروفرم بی‌هوش و پس از مرگ بدون درد در بی‌هوشی عمیق، جهت تهیه بافت آماده شدند. به‌منظور بررسی وجود آسیب‌های احتمالی در اثر آلودگی، از بافت‌های کلیه و کبد نمونه‌برداری و در محلول فرمالین و بوئن تثبیت و تا انجام مراحل آزمایش نگه‌داری گردید. مراحل آماده‌سازی بافت طبق پروتکل زیر که در جدول ۱ آورده شده است، انجام شد. قالب‌گیری ابتدا توسط دو قطعه آلومینیومی روی سطح شیشه‌ای به شکل مربع و مستطیل، انجام شد. ابتدا پارافین‌مرک در دمای ۶۰-۵۶ درجه سلسیوس به‌خوبی ذوب شد. سپس پارافین ذوب شده در قالب‌ها تا نصف حجم ریخته شد. بلافاصله نمونه از ظرف داخل آون توسط پنسی گرم که قبلاً در آون بود، برداشته شد و در قالب در یک طرف پارافین گذاشته و سریعاً سطح آن توسط پارافین ذوب شده، پوشانده شد. سپس از نمونه‌ها با استفاده از دستگاه میکروتوم مدل ۸۴۰۲ Microds ساخت شرکت دیدسبز با ضخامت ۵ میکرون مقطع تهیه شد. برش‌های تهیه شده بر سطح آب ۳۷ درجه سلسیوس باز شد و با احتیاط بر سطح لام ها منتقل گردید. در ادامه برش‌ها به‌روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شد که مراحل کار در جدول ۲ آورده شده است. پس از مراحل تثبیت، رنگ آمیزی با روش هماتوکسیلین-ائوزین، لام‌ها توسط چسب هیستولوژی انتلان مونتاژ شده و با میکروسکوپ نوری مدل ۳۲۰۰ Nikon بررسی شد. هم‌چنین عکس‌برداری از لام‌ها نیز توسط دوربین Olympus DP۷۲ انجام شد (Hesni و همکاران، ۲۰۱۱).

جدول ۱: آبگیری و شفاف‌سازی

ردیف	حلال و مواد	زمان	ردیف	حلال و مواد	زمان
۱	اتانول٪ ۸۰	۲ ساعت	۷	زایلن	۱/۵ ساعت
۲	اتانول٪ ۹۰	۲ ساعت	۸	پارافین ذوب شده	۱ ساعت
۳	اتانول ٪ ۱۰۰	۱ ساعت	۹	پارافین ذوب شده	۱ ساعت
۴	اتانول ٪ ۱۰۰	۱ ساعت	۱۰	پارافین ذوب شده	۱ ساعت
۵	بوتانول	۱۲ ساعت	۱۱	پارافین ذوب شده	۱۲ ساعت
۶	زایلن	۱/۵ ساعت			

جدول ۲: مراحل رنگ‌آمیزی مقاطع تهیه شده

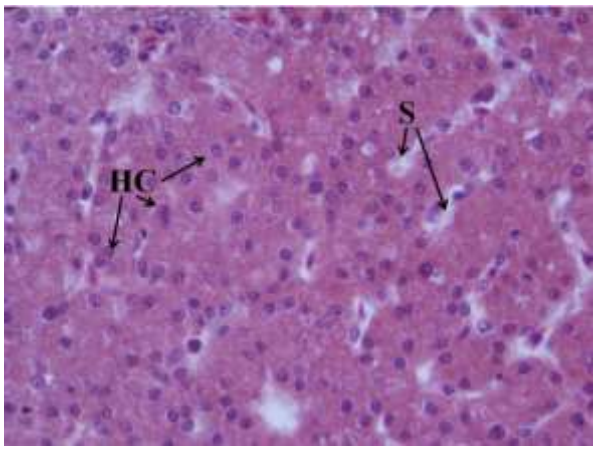
ردیف	حلال	زمان	ردیف	حلال	زمان
۱	زایلن	۱۰ دقیقه	۹	ائوزین	۱ دقیقه
۲	زایلن	۷ دقیقه	۱۰	اسیداستیک ٪۱	۱ دقیقه
۳	بوتانول	۵ دقیقه	۱۱	شستشو با آب جریان‌دار	۷ دقیقه
۴	الکل ٪ ۱۰۰	۵ دقیقه	۱۲	الکل ٪ ۹۵	۴ دقیقه
۵	الکل ٪ ۹۵	۵ دقیقه	۱۳	الکل ٪۱۰۰	۴ دقیقه
۶	الکل ٪ ۷۰	۵ دقیقه	۱۴	بوتانول	۳ دقیقه
۷	شستشو با آب جریان‌دار	۵ دقیقه	۱۵	زایلن	۵ دقیقه
۸	هماتوکسیلین	۷ دقیقه	۱۶	زایلن	۵ دقیقه



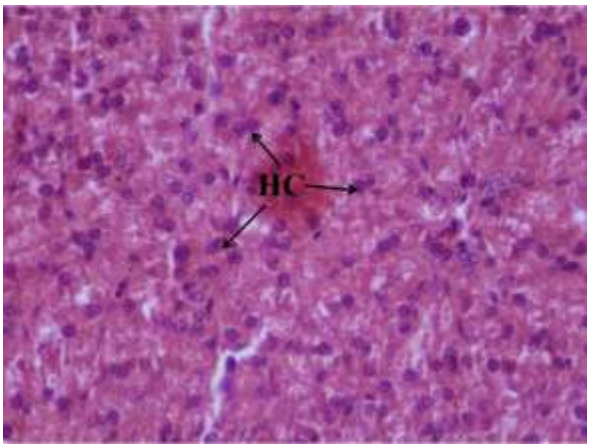
شکل ۱: ایستگاه‌های نمونه‌برداری از شهر تهران

نتایج

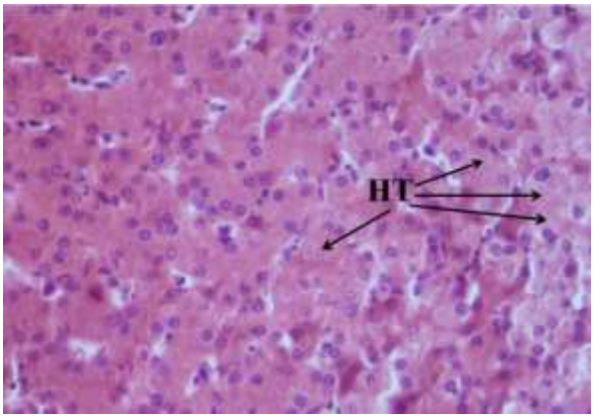
اندام‌های کبد و کلیه موجودات زنده از مهم‌ترین ارگان‌های بدن بوده که فرایندهای سوخت‌و ساز، ذخیره‌سازی، سم‌زدایی و دفع ترکیبات مختلف ازجمله آلاینده‌ها را برعهده دارند. بنابراین این‌اندام‌ها در مقایسه با سایر بخش‌های بدن، در معرض آسیب ناشی از انواع آلاینده‌ها قرار دارند. جهت بررسی هایپرتروفی هپاتوسیت‌ها و تخریب توبول‌های کلیه ناشی از ترکیب BaP بر بافت‌های کبد و کلیه، این بافت‌ها در تیمارهای شاهد، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بررسی‌شدند. نتایج بافت‌شناسی نشان‌داد که‌ترکیب BaP تنها در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه شاهد، سبب هایپرتروفی گردید.بررسی‌نفرون‌های کلیه‌نیز تخریب بخش پروگزیمال در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن را نشان داد. درحالی‌که هیچ‌گونه آسیب‌بافتی در اندام‌های کبد و کلیه‌نمونه‌های تهران مشاهده نشد.نتایج حاصل از این‌بررسی در شکل‌های ۲ تا ۱۰ آورده شده است.



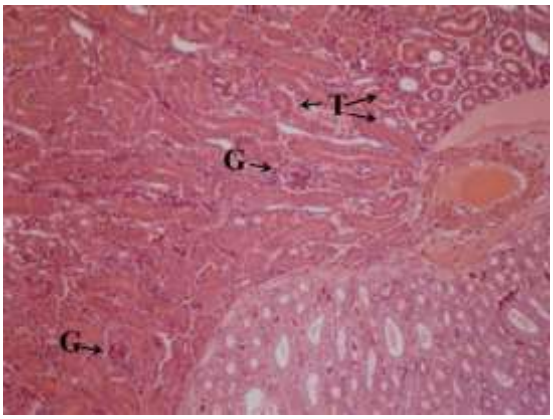
شکل ۲: هپاتوسیت‌ها (HC) و سینوزوئیدهای (S) کبدی تیمار شاهد، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰



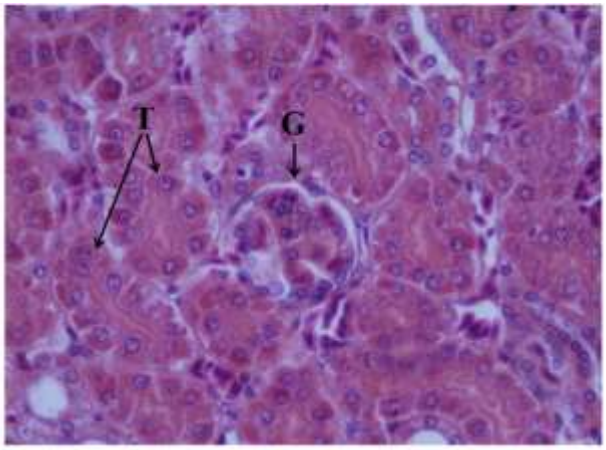
شکل ۳: سلول‌های HC تیمار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰



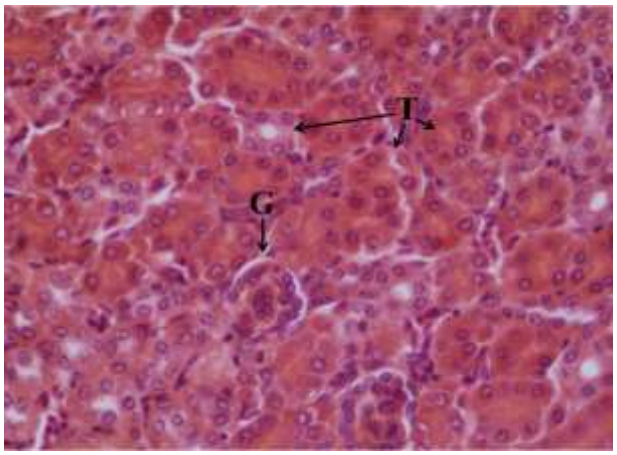
شکل ۴: هایپرتروفی (HT) هپاتوسیت‌ها در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰



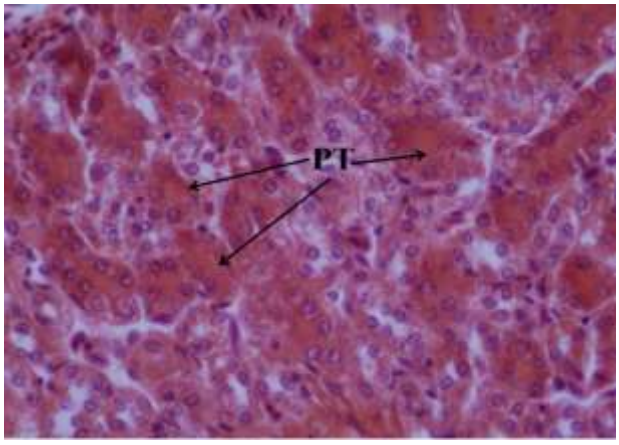
شکل ۵: برش کلیه تیمار شاهد، شامل گلومرول‌ها (Glumerulus, G) و توبول‌ها (Tubules) (پروگزیمال و دیستال)، بزرگ‌نمایی x ۲۰۰



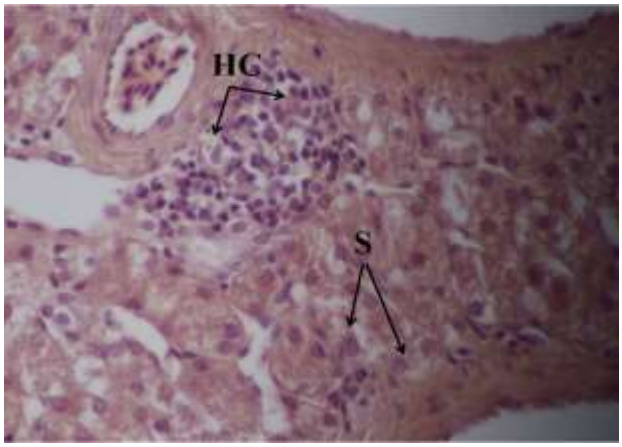
شکل ۶: گلومرول‌ها و توبول‌ها گروه شاهد، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰



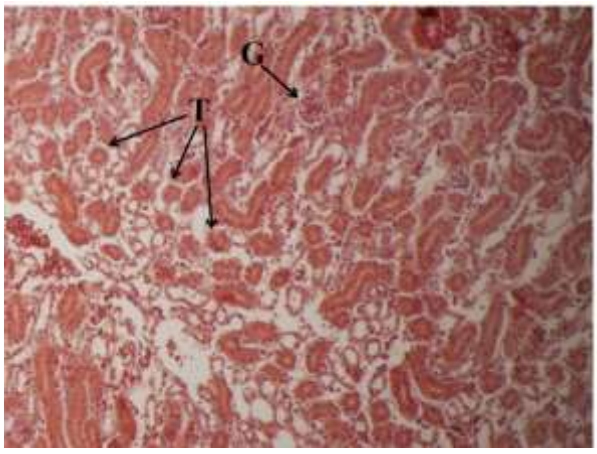
شکل ۷: گلومرول‌ها و توبول‌های تیمار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰



شکل ۸: تخریب سلول‌های پروگزیمال کلیه تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰



شکل ۹: هپاتوسیت‌ها (HC) و سینوزوئیدهای (S) کبدی پرندگان تهران، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰



شکل ۱۰: گلومرول‌ها و توبول‌ها پرندگان تهران، بزرگ‌نمایی x ۴۰۰

بحث

کبد کبوتر در قسمت شکمی و عقبی قلب قرار گرفته است و از دو لوب عمده که نامساوی هستند، تشکیل شده است. لوب چپ به مراتب حجیم تر از لوب راست است. کبوتر فاقد کیسه صفرا است. دستگاه کلیوی در دو جنس نر و ماده کبوتر مشابه است. در این پرنده یک جفت کلیه در پایین شش‌ها در یک فرو رفتگی در منطقه لگن قرار دارند. هر کلیه سه لب دارد. روی هر کلیه را پرده‌ای پیوندی پوشانده است. حالب و میزنای از بین لب بالایی و میانی خارج شده و تا کلوآک ادامه می‌یابد (Pacheco و همکاران، ۲۰۰۲؛ Ajeeli و Fadhil، ۲۰۱۲؛ Zeid و همکاران، ۲۰۱۹). واحد عملکردی کلیه‌ها از دو بخش تراوشی به‌نام نفرون و یک قسمت هدایتی به‌نام لوله‌ها و مجاری جمع‌کننده تشکیل شده است. معمولاً در این اندام بخش‌های گلرومرولی، توبولی و هم‌چنین سلول‌های بینابینی در مواجهه با انواع آلاینده‌ها می‌توانند تحت تأثیر قرار بگیرند. هم‌چنین به‌دلیل وجود عروق فراوان در کلیه، این اندام نسبت به آلاینده‌های مختلف به نسبت آسیب‌پذیرتر است. آسیب‌های احتمالی بافتی ناشی از انواع آلاینده‌ها می‌تواند شامل اسکلروز گلومرولی، کاهش توبولی و آتروفی توبولی و تغییرات التهابی بینابینی باشد (Pacheco و Santos، ۲۰۰۲). کبد نیز

از اندام‌های حیاتی موجود زنده محسوب می‌شود. سلول‌های کبدی یا هپاتوسیت‌ها سلول‌های بزرگی هستند که هر سلول آن به تنهایی هم به‌عنوان یک غده مترشحه داخلی و هم به‌عنوان یک غده مترشحه خارجی عمل می‌کند. سلول‌های کبدی دارای شبکه آندوپلاسمی دانه‌دار و صاف بسیار گسترده، دستگاه گلژی کاملاً توسعه یافته، ریبوزوم‌های آزاد، میتوکندری‌های فراوان، پراکسی‌زوم‌های متعدد و لیزوزوم است (سلیمانی‌راد، ۱۳۸۸). با توجه به نقش کلیدی در بیوترانسفورماسیون تمام ترکیبات و عوامل خارجی که وارد بدن موجود زنده می‌شود، می‌تواند تحت تأثیر انواع آلاینده‌ها قرار بگیرد. عوامل خارجی یا به‌طور مستقیم بر کبد اثرگذار بوده و یا از طریق ایجاد متابولیت‌های مختلف به‌طور غیرمستقیم قادرند این اندام را تحت تأثیر قرار دهند. از انواع آسیب‌های بافتی کبدی می‌توان به هایپرپلازی (Hyperplasia)، هایپرتروفی (Hypertrophy)، آتروفی (Atrophy) و جداشدگی غشاء پایه اشاره کرد. منظور از هایپرپلازی یا بیش‌رویش یا هایپرجنزی افزایش تعداد یاخته‌های بهنجار در بافت است که بیش رویش به معنی افزایش در تکثیر سلول و در نتیجه افزایش تعداد آن است. در هایپرپلازی ممکن است اندازه اندام بزرگ‌تر شده که گاهی به آن نئوپلازی خوش‌خیم و یا تومور خوش‌خیم نیز گفته می‌شود. هایپرپلازی در اغلب موارد شامل پاسخ اولیه‌ای است که به تحریک غیرطبیعی در روند تکثیر سلولی داده می‌شود. در این مورد شکل میکروسکوپی سلول طبیعی بوده اما میزان تکثیر آن بیش از حد نیاز بافت است. اگر رشد غیرطبیعی به‌جای تعداد سلول، در اندازه سلول اتفاق بیافتد، هایپرتروفی نامیده می‌شود (Sonne و همکاران، ۲۰۲۰). در این حالت، سلول‌ها آب و مواد غذایی بیش‌تری جذب کرده و در نتیجه حجم‌شان بزرگ‌تر می‌شود. این پدیده برعکس پدیده کاهیدگی یا آتروفی است. آتروفی زمانی رخ می‌دهد که اندازه بافت یا اندام به دلیل کوچک شدن حجم سلول‌ها کاهش یابد. از اثرات منفی بافتی انواع آلاینده‌ها می‌توان به انواع بافت‌مردگی سلول‌های کبدی و اتصاع سینوسی نیز اشاره کرد. در برخی موارد این آسیب‌ها برگشت ناپذیر و غیرقابل جبران هستند (Mishra و Mohanty، ۲۰۰۸). از آن‌جایی‌که نتایج بررسی بافت‌شناسی در کبوترهای تهران هیچ‌گونه آسیبی را نشان نداد و تنها آسیب‌های دیده شده در تیمار ۱۰ مشاهده شدند، احتمال می‌رود مدت در معرض قراگیری غلظت‌های پایین‌تر، کوتاه بوده و بنابراین آسیب‌های بافتی در این غلظت‌ها در دوره طولانی‌تری رخ دهد و یا این‌که به‌علت کم‌تر بودن این غلظت‌ها با توجه به این‌که از طریق کبد سم‌زدایی می‌شود، درنتیجه غلظت‌های کم‌تر متابولیزه می‌شوند و اثرات‌شان بر کبد و کلیه ناچیز خواهد بود. عدم مشاهده آسیب در نمونه‌های تهران نیز می‌تواند به‌دلیل پایین بودن غلظت این آلاینده‌ها در محیط طبیعی باشد. از طرف دیگر، عدم وجود آسیب‌های بافتی در غلظت پایین‌تر و هم‌چنین پرندگان تهران می‌تواند ناشی از مدت کوتاه در معرض قرارگیری باشد. در بررسی اخیر، تغییرات و آسیب‌های بافتی جهت استفاده در برنامه پایش زیستی و بررسی اثرات ترکیب BaP بر موجودات زنده در محیط‌های شهری با درصد بالای آلایندگی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعات متعددی با نمونه‌برداری از بافت‌های مختلف پرندگان، برای ارزیابی اثرات مخرب و غیر مخرب آلاینده‌هایی از قبیل فلزات، آفت‌کش‌ها، ترکیبات PAH و ترکیبات PCB استفاده شده است (Furness و Greenwood، ۱۹۹۳). اگرچه اولین نمونه از اثر آلاینده‌های آلی مربوط به تجمع زیستی DDT و اثر آن بر نازک شدن پوسته تخم پرندگان و کاهش جمعیت آن‌ها به‌ویژه در پرندگان شکاری بوده است (Hellou و همکاران، ۲۰۱۲)، اما مطالعات سال‌های اخیر به ترکیبات PAH توجه خاصی داشته است. برای مثال در بررسی اثر ۱۶ ترکیب PAH بر روی میزان کاهش اکسیداسیون β کبدی اسیدهای چرب در جنین مرغ (*Gallus gallus domesticus*) که توسط Westman و همکاران (۲۰۱۳) به‌صورت تزریق در کیسه هوایی تخم پرنده انجام شد، کاهش معنی‌داری در میزان اکسیداسیون کبدی اسیدهای چرب در جنین در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. اعتمادی و همکاران (۱۳۹۲) آسیب‌شناسی بافتی چنگر نوک سرخ در تالاب انزلی را بررسی کردند. بررسی‌های هیستوپاتولوژیک، تغییرات و نقصان‌های واضحی را در بافت کبد و کلیه این پرنده نشان داد. تغییرات در ساختار سلول‌های هپاتوسیت، تجمع رنگدانه‌های ماکروفاژی، گسیختگی سلول‌ها و اتساع فضای دیس، خونریزی و تجمع رنگدانه‌های هموسیدرین در بافت کبد پرنده مشاهده شد. بافت کلیه نیز دچار تجمع و نفوذ لوکوسیتی، اتساع عروق، هایپرتروفی، تغییر ساختار و چروکیدگی سلول‌ها، انبساط گلومرولی و فقدان فضای بومن گردیده بود. اعتمادی و همکاران (۱۳۹۲) اظهار داشتند، با توجه به این‌که چنگر نوک سرخ دوره زمستان‌گذرانی شش ماهه در تالاب داشته در نتیجه می‌تواند به‌عنوان شاخصی مناسب برای پایش تأثیرات آلودگی‌های موجود در تالاب معرفی‌شود. لطفی و همکاران (۱۳۹۴) اثرات هیستوپاتولوژی متامیزول و میدازولام به‌عنوان پیش‌بی‌هوشی در کبوتر را بررسی کردند. در این مطالعه ۱۸ قطعه کبوتر در سه گروه دسته‌بندی شد. در گروه اول به عنوان شاهد، داروی کتامین با غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل عضلانی تزریق‌شد. کبوترهای گروه دوم نیز داروی میدازولام با غلظت ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و هم‌چنین کتامین را به‌صورت مشابه گروه شاهد دریافت کردند. گروه سوم نیز متامیزول را با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و سپس کتامین را دریافت کردند. مطالعه هیستوپاتولوژی کبد و کلیه کبوترها در گروه تیمار متامیزول، کم‌ترین میزان تغییرات بافتی را نسبت به

دوگروه‌دیگر نشان‌داد.نتایج این تحقیق نشان داد که ترکیب متامیزول و کتامین می‌تواند داروی مناسبی برای بی‌هوشی کبوترها باشد. تغییرات هیستوپاتولوژی بافت‌های آبشش و کبد سوف زرد *Perca flavescens* و ماهی قرمز *Carassius auratus* در معرض سنگ قیر با غلظت بالایی از انواع آلودگی‌ها به‌ویژه ترکیبات PAH در آب‌های دریاچه Syncrude's Mildred، بررسی شد (Nero و همکاران، ۲۰۰۶). در این بررسی نکروزه شدن سلول‌های اپیتلیال و ازدیاد سلول‌های مخاطی در آبشش‌ها و کاهش سلول‌های کبدی در ماهی‌هایی مشاهده شد که در آب‌های حاوی سنگ قیر بودند. آن‌ها عنوان کردند که پارامترهای هیستوپاتولوژیک شاخص مهم و مناسبی برای بیان اثرات مزمن مواد آلاینده است. علیپور و همکاران (۱۳۹۴) نیز اثر نانوذرات اکسیدمس به‌ویژه اثرات هیستوپاتولوژیک این ماده را بر قلب و کلیه موش سوری قرار گرفته در معرض غلظت‌های ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت تزریق داخل صفاقی بررسی کردند. پس از بررسی هیستوپاتولوژیک بافت‌های کبد و کلیه، علائم سمیت سلولی، شامل پرخونی، نکروز و ارتشاح سلول‌های التهابی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. علیپور و همکاران (۱۳۹۴) اظهار داشتند که آسیب‌های بافتی نانوذره اکسیدمس بر قلب و کلیه موش وابسته به تغییرات دوز است. در مطالعه‌ای که توسط Mela و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد، اثر متیل جیوه بر بافت کبد و کلیه ماهی *Hoplias malabaricus* بررسی گردید. در این تحقیق بافت کبد افزایش تعداد melano-macrophage و نکروزه شدن و لیزشدگی فضای Diss را نشان داد. در بافت کلیه نیز نکروزه شدن فضای وسیعی از بافت، افزایش تعداد melano-macrophage، افزایش فضای بین سلولی parenquimal نیز مشاهده شد. راکی و همکاران (۱۳۹۵) نیز اثر نانوذرات نقره و نیترات نقره را بر تغییرات آسیب‌شناسی آبشش و کبد عروس ماهی زاینده‌رود بررسی کردند. در این مطالعه ۱۰۰ قطعه عروس ماهی به‌مدت ۱۰ روز در معرض مقادیر ۱ و ۲۵ میکروگرم بر لیتر از نانوذرات نقره و یا نیترات نقره قرار گرفتند. در این مطالعه شدیدترین عارضه‌های بافتی پس از مواجهه با غلظت‌های بالای این ترکیبات، شامل هایپرپلازی و ادم در بافت آبشش و پرخونی و نکروز در بافت کبد مشاهده شد. شدت آسیب‌ها با افزایش غلظت هر دو ترکیب در آب به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که بیش‌ترین سطح آسیب بافتی بر پایه محاسبه شاخص اندام موجود در مواجهه با غلظت ۲۵ میکروگرم بر لیتر نیترات نقره و پس از آن غلظت ۲۵ میکروگرم بر لیتر از نانوذرات نقره مشاهده شد. این مطالعه حساسیت یکسان هر دو بافت به عوامل آلاینده را نشان داد. در مقایسه بین دو ترکیب آلاینده نیز، تأثیر نیترات نقره به‌ویژه در غلظت بالا بر تغییرات بافتی درهر دو بافت آبشش و کبد به‌طورمعنی‌داری بیش‌تر از نانوذرات نقره بود که می‌تواند بیانگر سمیت بالاتر نیترات نقره برای عروس ماهی زاینده‌رود در مقایسه با نانوذرات نقره باشد. Stentiford و همکاران (۲۰۰۳)، تغییرات بافتی سه گونه ماهی *Platichthys flesus*، *Pomatoschistus minutus* و *Zoarces viviparus* را به‌عنوان شاخص زیستی اثرات ترکیبات PAH در چهار مصب Tyne، Tees، Mersey و Alde در انگلیس بررسی کردند. در این بررسی، تغییرات و آسیب‌های بافتی جهت استفاده در برنامه پایش‌زیستی و بررسی اثرات‌آلاینده‌های آلی بر موجودات زنده در مصب‌های مورد مطالعه مطلوب شناخته شدند. موحدی‌نیا و همکاران (۱۳۹۳) اثر آسیب‌شناسی BaP را بر ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* مطالعه کردند. در این مطالعه، ۴۵ عدد ماهی کپور معمولی در ۲ تیمار با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و یک گروه شاهد در سه بازه زمانی روز اول، سوم و هفتم بررسی شدند. نتایج نشان داد که عوارض بافتی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن در بازه ۲۴ ساعت نسبت به غلظت میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مشهودتر است. بازه‌های زمانی دوم و سوم نیز عوارض شدیدتری شامل هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های پوششی کپسول بومن، اتساع مویرگی گلومرولی و جدا شدن اپیتلیوم از غشاء پایه را برجای گذاشتند. هم‌چنین نکروز سلول‌های توبولی، انسداد لومن لوله‌ای و خون در فضای کپسول بومن مشاهده شد. نتایج نشان داد که بافت کلیه به غلظت‌های مختلف این آلاینده بسیار حساس بوده و آلودگی شیمیایی محیط می‌تواند با کاهش پتانسیل فعالیت کلیه موجب کاهش بقای جانور شود. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه اخیر و مطالعات مشابه موجود، نشانگرهای آسیب‌شناسی بافتی روشی علمی جهت ارزیابی خطرات سلامت آلاینده‌ها بوده و می‌تواند به‌عنوان یک روش کارآمد برای ارزیابی اثرات آلاینده‌ها بر سلامت موجود و محیط قابل بررسی و استفاده باشد. بر اساس نتایج‌حاصل، ترکیب BaP موجب ایجاد آسیب‌های بافتی کبدی و کلیوی کبوتر *C. livia* در غلظت ۱۰ و بالاتر از ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن گردید. مقدار پایین آسیب‌های بافتی در پرنده در غلظت‌های پایین‌تر ممکن است ناشی از امکان تغییر شکل زیستی این ترکیب در بافت‌های مختلف پرنده پس از دریافت از محیط باشد. هم‌چنین کبوترانی که در شهر تهران زیست می‌کنند در شرایط معادل غلظت ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از ترکیب BaP در شرایط آزمایشگاهی قرار دارند. نتایج به‌دست آمده در بررسی اخیر و هم‌چنین مطالعات مشابه سایر محققین، نشان داد که کبوتر *C. livia* می‌تواند به‌عنوان گونه دیده‌بان در بررسی شرایط محیطی ترکیب BaP به‌ویژه در کلان شهر تهران مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

۱. **سلیمانی‌راد، ج.، ۱۳۸۸.** بافت‌شناسی. انتشارات گلبان با همکاری و حمایت دانشگاه علوم پزشکی تبریز، صفحات ۲۲۷ تا ۲۲۹.

۲. **لطفی، ف.؛ عابدی، غ.؛ اصغری، ا.؛ شیخی، ن. و حصارکی، س.، ۱۳۹۴.** مقایسه بالینی و هیستوپاتولوژی متامیزول و میدازولام به عنوان داروی پیش‌بی‌هوشی در کبوتر. آسیب‌شناسی درمانگاهی دامپزشکی. دوره ۹، شماره ۴، صفحات ۳۱۷ تا ۳۲۶.

۳. **راکی، م.؛ پیکان‌حیرتی، ف. و درافشان، س.، ۱۳۹۵.** تغییرات آسیب‌شناسی بافت آبشش و کبد عروس‌ماهی زاینده‌رود *Petroleuciscus esfahani* پس از مواجهه با نانوذرات نقره و نیترات نقره محلول در آب. نشریه پژوهش ماهی‌شناسی کاربردی، دوره ۴، شماره ۴، صفحات ۷۹ تا ۹۵.

۴. **صادقی، پ.؛ کوهکن، ا. و مرادی، آ.، ۱۳۹۹.** بررسی ضایعات هیستوپاتولوژیک بافت آبشش ماهی سرخو (*Lutjanus johnii*) و سنگسر معمولی (*Pomadasys kaakan*) دریای عمان. محیط‌زیست جانوری، دوره ۱۲، شماره ۳، صفحات ۱۲۳ تا ۱۳۰ .

۵. **علیپور، س.ع.؛ بریمانی، ن.؛ دهپور جویباری، ع. و حسینی، س.م.، ۱۳۹۴.** مطالعه هیستوپاتولوژی بافت کلیه و قلب بعد از مواجهه با نانوذرات اکسیدمس در موش سفید آزمایشگاهی (*Mus musculus*). مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل. دوره ۱۷، شماره ۷، صفحات ۴۴ تا ۵۰.

۶. **محجوبیان، م. و نعیمی، ا.س.، ۱۳۹۷.** مقایسه اثرات مزمن نانوذرات و درشت ذرات تیتانیوم دی اکسید در بافت‌های آبشش، کبد و روده گورخرماهی (*Danio rerio*) محیط‌زیست جانوری. دوره ۱۰، شماره، ۴، صفحات ۳۹۵ تا ۴۰۶.

۷. **موحدی‌نیا، ع.؛ لقمانی، م.؛ قاسمی، س.ا.؛ کوچک‌نژاد، ع.؛ ایزدیان، م. و اسفندیاری، ا.، ۱۳۹۳.** مطالعه اثرات بنزوآلفاپایرن در بافت‌های کلیوی ماهی کپور معمولی *C. carpio*. فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. دوره ۲، شماره ۲، صفحات ۳۱ تا ۴۵.

8. **Aieelv. R.A. and Fadhil. S.M.. 2012.** Morpho-histological study on the development of kidney and ureter in hatching and adulthood racing pigeon. International Journal of Science and Nature. Vol. 3, pp: 665-677.

9. **Aguirre-Rubí, J.; Luna-Acosta, A.; Ortiz-Zarragoitia, M.; Zaldibar, B.; Izagirre, U.; Ahrens, M.J.; Villamil, L. and Marigómez, I., 2018.** Assessment of ecosystem health disturbance in mangrove-lined Caribbean coastal systems using the oyster *Crassostrea rhizophorae* as sentinel species. Science of the Total Environment. Vol. 618, pp: 718-735.

10. **Camargo, M.P. and Martinez, C.B.R., 2007.** Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream, Neotropical Ichthyology. Vol. 5, No. 3, pp: 327-336.

11. **EPA (Environmental Protection Agency). 2012.** Toxicological Review of Benzo[*a*]pyrene, (CASRN 50-32-8) /635/R-10/006C.

12. **Furness, R.W. and Greenwood, J.J., 1993.** Birds as monitors of environmental change, Springer Science and Business Media. pp: 1901-1954.

13. **Grinwis, G.C.M.; Vethaak, A.D.; Wester, P.W. and Vos, J.G., 2000.** Toxicology of environmental chemicals in the flounder (*Platichthys flesus*) with emphasis on the immune system: field, semi-field (mesocosm) and laboratory studies, Toxicology Letters. Vol. 112-113, pp: 289-301.

14. **Guerrero-preston, R.; Goldman, L.R.; Brebi-mieville, P.; Lebron, C.; Witter, F.R.; Apelberg, B.J.; Hernández Roystacher, M.; Jaffe, A.; Halden, R.U. and Sidransky, D., 2010.** Global DNA hypomethylation is associated with in utero exposure to cotinine and perfluorinated alkyl compounds. Epigenetic. Vol. 5, No. 6, pp: 539-546.

15. **Hellou, J.; Lebeuf, M. and Rudi, M., 2012.** Review on DDT and metabolites in birds and mammals of aquatic ecosystems. Environmental Reviews. Vol. 21, pp: 53-69.

16. **Hesni, M.A.; Savari, A.; Sohrab, A.D. and Mortazavi, M.S., 2011.** Gill histopathological changes in milkfish (*Chanos chanos*) exposed to acute toxicity of diesel oil, World Applied Sciences J. Vol. 14, No. 10, pp: 1487-1492.

17. **Kong, S.; Ding, X.; Bai, Z.; Han, B.; Chen, L.; She J. and Li, Z., 2010.** Polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental pollution and bioremediation. Vol. 183, No. 2-3, pp: 70-90.

18. **Mela, M.; Randi, M.A.F.; Ventura, D.F.; Carvalho, C.E.V.; Pelletreir, E. and Ribiero, A.O., 2007.** Effect of dietary methylmerculy on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 63, No. 3, pp: 426-435.

19. **Miller, A.; Nyberg, E.; Danielsson, S.; Faxneld, S.; Haglund, P. and Bignert, A., 2014.** Comparing temporal trends of organochlorines in Guillemot Eggs and Baltic Herring: Advantages and Disadvantage for Selecting Sentinel Species for Environmental Monitoring. Marine Environmental Research. Vol. 100, pp: 38-47.

20. **Mishra, A.K. and Mohanti, B., 2008.** Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior andhistopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 26, pp: 136-141.

21. **Nero, V.; Farwell, A.; Lister, A.; Van Der Kraak, G.; Lee, L.E.J.; Van Meer, T.; MacKinnon, M.D. and Dixon, D.G., 2006.** Gill and liver histopathological changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 63, pp: 365-377.

22. **OU, X. and Ramos, K.S., 1992.** Proliferative responses of quail aortic smooth muscle cells to Benzo(*a*)pyrene: implications in PAH-induced atherogenesis. Toxicoligy. Vol. 74, pp: 243-258.

23. **Pacheco, M.P. and Santos, M.A., 2002.** Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects ofenvironmental contaminants in European eel. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 53, pp: 331-347.

24. **Pei, Y.; Halbrook, R.S.; Li, H. and You, J., 2017.** Homing pigeons as a biomonitor for atmospheric PAHs and PCBs in Guangzhou, a megacity in South China. Marine Pollution Bulletin. Vol. 124, No. 2, pp: 1048-1054.

25. **Sicolo, M.; Tringali, M.; Fumagalli, P. and Santagostino, A., 2010.** *Columba Livia* as a sentinel species for the assessment of urban air genotoxicity. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 59, No. 3, pp: 484-491.

26. **Sonne, C.; Siebert, U.; Gonnsen, K.; Desforges, J.P.; Eulaers, I.; Persson, S.; Roos, A.; Bäcklin, B.M.; Kauhala, K.; Olsen, M.T. and Harding, K.C., 2020.** Health effects from contaminant exposure in Baltic Sea birds and marine mammals: A review. Environment international. Vol. 139, pp: 105725.

27. **Stentiforda, G.D.; Longshaw, M.; PLyons, B.; Jones, G.; Greena, 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, pp: 137-159.

28. **Westman, O.; Nordén, M.; Larsson, M.; Johansson, J.; Venizelos, N.; Hollert, H. and Engwall, M., 2013.** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) reduce hepatic β-oxidation of fatty acids in chick embryos. Environmental Science Pollution Research. Vol. 20, No. 3, pp: 1881-1888.

29. **Yancheva, V.; Velcheva, I.; Stoyanova, S. and Georgieva, E., 2016.** Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: a review. Applied Ecology and Environmental Research. Vol. 14, No. 1, pp: 47-75.

30. **Zeid, E.H.; Rasha, A.Z.; Alam, T.M.; Ali, S.A. and Hendawi, M.Y., 2019.** Dose related impacts of imidaclorid oral intoxication on brain and liver of rock pigeon (*Columba livia domestica*), residues analysis in fifferent organs. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 167, No. 15, pp: 60-68.