

تأثیر آلومینیم محلول در آب بر فاکتورهای سرمی مرتبط با فعالیت غده تیروئید در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

• **پدرام ملکپوری***: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵

• **نصراالله محبوبی صوفیانی**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۴

چکیده

بسیاری از عوامل زیستی و غیرزیستی (مانند فلزات سمی) می‌توانند بر مراحل مختلف سیستم تیروئیدی تأثیرگذار باشند و در نتیجه عملکرد طبیعی موجود زنده از جمله رشد، تنظیم اسمز و بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیک دیگر را مختل نمایند. در این مطالعه، پس از تعیین ۹۶ LC_{۵۰} ساعت آلومینیم برای ماهی کپور معمولی، تعداد ۴۰ عدد ماهی با میانگین وزنی $149/14 \pm 41/41$ گرم در معرض مقادیر مختلف آلومینیم محلول در آب (۰/۲۸۰۴، ۱/۴۰۲ و ۲/۸۰۴ میلی‌گرم بر لیتر) و یک گروه شاهد قرار گرفتند. پس از پایان دوره آزمایشی (۳۰ روز)، از هر تیمار ۶ ماهی به صورت تصادفی انتخاب گردید و از ناحیه ساقه دمی خون‌گیری به عمل آمد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تیمار آلومینیم ۳ (۲/۸۰۴ میلی‌گرم بر لیتر) سبب کاهش معنی‌دار غلظت T₄ نسبت به شاهد شده است (۲۲/۲۲ درصد، $P < 0/05$). میزان هورمون T₃ سرمی نیز در اثر تیمارهای آلومینیم ۲ و ۳ به ترتیب به میزان ۱۵/۸۰ و ۲۴/۱۱ درصد کاهش یافته است، این در حالی است که میزان TSH سرم ماهی پس از قرار گرفتن در معرض تیمار آلومینیم ۲ و ۳ به ترتیب ۷۳/۱۸ درصد و ۳/۰۸ برابر نسبت به شاهد افزایش یافته است. در اثر تیمارهای مختلف آلومینیم هیچ تغییر معنی‌داری در خصوص درصد برداشت هورمون T₃ نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد. تیمارهای آلومینیم ۲ و ۳ به ترتیب سبب کاهش ۱۳/۸۷ و ۳۳/۳۷ درصدی در شاخص تیروکسین آزاد (FTI) نسبت به شاهد شده است ($P < 0/05$). با توجه به کاهش T₃ و T₄ و همچنین افزایش TSH و FTI، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که مقادیر تحت‌کشنده آلومینیم سبب بروز هیپوتیروئیدیسم در ماهی کپور معمولی شده است.

کلمات کلیدی: آلومینیم، T₃، T₄، TSH، کپور معمولی



مقدمه

هورمون‌های تیروئیدی برای رشد، تمایز و تنظیم بسیاری از مسیرهای متابولیکی بدن در تمامی مهره‌داران ضروری هستند (Zoeller و همکاران، ۲۰۰۷). در خصوص ماهیان، هورمون‌های تیروئیدی در تنظیم اسمز، متابولیسم، رشد و متامورفوز لاروها نقش دارند (Yamano، ۲۰۰۵؛ Power و همکاران، ۲۰۰۱). تنظیم سطح هورمون‌های تیروئیدی در بافت‌ها و سلول‌های بدن بسیار پیچیده بوده و وابسته به شبکه‌ای از سیستم پس‌خور است (Zoeller، ۲۰۰۷). در تمامی مهره‌داران از جمله ماهیان سنتز، آزادسازی، انتقال و متابولیسم هورمون‌های تیروئیدی در طی دو مرحله عمده انجام می‌شود. طی مرحله اول، سنتز و آزادسازی هورمون تیروکسین (T₄) انجام می‌شود که تحت کنترل محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید (HPT) قرار دارد (Bernier و همکاران، ۲۰۰۹). مرحله دوم مربوط به تبدیل T₄ به شکل فعال آن، یعنی ۳،۵،۳ تیرویودوتیرونین (T₃) و متابولیسم آن است (Eales و همکاران، ۱۹۹۳).

مکانیسم‌های هموستاز هورمون‌های تیروئیدی بسیار متنوع و پیچیده است. علاوه بر عوامل زیستی-درونی مانند سن، جنسیت، وضعیت تغذیه‌ای و بهداشتی ماهی، بسیاری از مواد شیمیایی موجود در محیط زیست نیز می‌توانند بر سطوح مختلف سیستم تیروئیدی تاثیرگذار باشند (Schnitzler و همکاران، ۲۰۱۲؛ Peter، ۲۰۱۱). سیستم تیروئیدی هدف اصلی مواد شیمیایی مختل‌کننده سیستم اندوکرینی (Endocrine disrupting chemicals) هستند. امروزه در حدود ۱۱۶ ترکیب در محیط زیست شناخته شده است که می‌تواند بر سیستم تیروئیدی تاثیر گذار باشد که از آن جمله می‌توان به آلاینده‌ها و سموم آلی، ترکیبات اسیدی، هورمون‌های استروئیدی، داروها و حتی فلزات اشاره نمود (Howdeshell، ۲۰۰۲).

آلومینیم یکی از فراوان‌ترین عناصر فلزی در پوسته زمین است و شستشو و انتقال این عنصر سمی به محیط‌های آبی در نتیجه اسید شدن بسیار معمول است (Woodburn و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، آلومینیم در اشکال مختلف در صنایع به‌طور گسترده‌ای کاربرد دارد که این امر به نوبه خود سبب افزایش غلظت آن در محیط زیست طی دهه‌های اخیر شده است و بالطبع تهدیدی برای سلامت آبزیان محسوب می‌شود (Fernández-Dávila و همکاران، ۲۰۱۲). این عنصر می‌تواند رشد، تولیدمثل و بقاء جنین و لارو آبزیان را مختل نماید (Vuorinen و همکاران، ۲۰۰۳). علاوه بر این، تاثیر آلومینیم بر سیستم تنفسی، تنظیم

اسمز، سیستم قلبی-عروقی، عصبی و حتی سیستم اندوکرینی در موارد متعدد گزارش شده است (Fernández-Dávila، ۲۰۱۲؛ Barcarolli و همکاران، ۲۰۰۴؛ Vuorinen، ۲۰۰۳).

پیش از این تاثیر مقادیر حاد کلرید جیوه و متیل جیوه بر غلظت T₃ و T₄ پلاسما در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفته است (Bleau و همکاران، ۱۹۹۶). تاثیر کلرید کادمیم محلول در آب نیز در همین گونه در مدت زمان کوتاه (۲ الی ۹۶ ساعت) مورد مطالعه قرار گرفته است (Hontela و همکاران، ۱۹۹۶). تغییرات هورمون‌های تیروئیدی در گربه ماهی (*Clarias batrachus*) نیز طی مدت زمان ۳ هفته در معرض قرارگیری با جیوه مورد بررسی قرار گرفت (Kirubakaran و همکاران، ۱۹۹۴). علاوه بر این، تاثیر کوتاه مدت مقادیر کشنده و تحت‌کشنده آلومینیم نیز بر فعالیت تیروئید در ماهی قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta*) مورد بررسی قرار گرفته است (Waring و همکاران، ۱۹۹۹؛ Waring و همکاران، ۱۹۹۹). تاثیر مس و کروم بر پاسخ‌های اندوکرینی، از جمله T₃، T₄ و TSH در مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) پیش از این مورد مطالعه قرار گرفته است (Oliveira و همکاران، ۲۰۰۸؛ Teles و همکاران، ۲۰۰۵). Li و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر کادمیم را بر هورمون‌های تیروئیدی در لارونوعی ماهی مینو (*Gobiocypris varus*) مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه مشابه دیگر، تاثیر کادمیم بر T₃ پلاسما به‌عنوان شاخص عملکرد غده تیروئید در ماهی تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) مورد بررسی قرار گرفت (Garcia-Santos و همکاران، ۲۰۱۳). تاثیر مس محلول در آب بر هورمون‌های تیروئید در ماهیان کپور معمولی (C. *carpio*)، کاراس (*Carassius auratus gibelio*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) نیز مورد بررسی قرار گرفته است (Eykman و همکاران، ۲۰۱۰).

با توجه به اهمیت هورمون‌های تیروئیدی در فرایندهای فیزیولوژیک و آلودگی گسترده اکوسیستم‌های آبی با فلز آلومینیم، بررسی تاثیر این فلز سمی بر مکانیسم‌های تولید و انتقال هورمون‌های تیروئیدی در ماهی کپور معمولی به‌عنوان یک گونه مهم در آبی‌پروری حائز اهمیت است. هدف از انجام این تحقیق، بررسی تاثیر مقادیر تحت‌کشنده این فلز بر فاکتورهای سرمی مرتبط با فعالیت تیروئید از جمله T₄، T₃، TSH (Thyroid stimulating Hormone)، برداشت هورمون T₃ (T₃-uptake) و FTI (Free thyroxine index) در ماهی کپور معمولی است.



مواد و روش‌ها

و طول کل $21/75 \pm 2/97$ سانتی‌متر به ۴ گروه مختلف تقسیم شدند. گروه‌های مذکور شامل شاهد و ۳ تیمار آلومینیم به شرح ادامه بودند:

تیمار آلومینیم (۱) به مقدار $0/2804$ میلی‌گرم بر لیتر (۱٪) از LC_{50} (۹۶ ساعت)، آلومینیم (۲) $1/402$ میلی‌گرم بر لیتر (۵٪) از LC_{50} (۹۶ ساعت) و آلومینیم (۳) $2/804$ میلی‌گرم بر لیتر (۱۰٪) از LC_{50} (۹۶ ساعت) در نظر گرفته شدند و ماهیان به مدت ۳۰ روز در معرض این غلظت‌ها قرار گرفتند. آب هر یک از تیمارها روزانه تعویض و به آب کلرزدایی شده مقادیر مورد نظر از استوک آلومینیم اضافه می‌شد. هر یک از مخازن نیز هوادهی به‌طور دایم انجام شد. فاکتورهای فیزیکی‌وشیمیایی آب در طول آزمایش به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شدند. میزان اکسیژن محلول ($6/1 >$ میلی‌گرم بر لیتر)، دما ($22/4 - 21/3$ درجه سانتی‌گراد)، pH ($7/74 - 7/16$)، هدایت الکتریکی ($481 - 393$ میکرو زیمنس بر سانتی‌متر)، کل ترکیبات آمونیاکی ($1/4 - 0/4$ میلی‌گرم بر لیتر)، نیتریت ($0/053 - 0/044$ میلی‌گرم بر لیتر)، نیترات ($7/3 - 6/43$ میلی‌گرم بر لیتر)، فسفات ($75/75 - 70/48$ میلی‌گرم بر لیتر)، جامدات معلق ($3/4 - 1/9$ میلی‌گرم بر لیتر) و محلول ($363/5 - 344/4$ میلی‌گرم بر لیتر)، سختی کل ($281 - 249$ میلی‌گرم بر لیتر)، نیتریم ($29 - 21$ میلی‌گرم بر لیتر) و کلسیم ($266 - 211$ میلی‌گرم بر لیتر) به‌دست آمد (APHA, 2005). جدول ۱ مقادیر محاسبه شده برای هر یک از تیمارها به‌همراه میزان آلومینیم اندازه‌گیری شده توسط دستگاه جذب اتمی (Analyst 700 Perkin Elmer A) در تیمار مربوطه را نشان می‌دهد.

ماهی و مواد شیمیایی: تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این آزمایش از کارخانه مرک (آلمان) تهیه شد. نمک $AlCl_3$ (بدون آب) برای تهیه استوک آلومینیم مورد استفاده قرار گرفت. این تحقیق در سال ۱۳۹۳ انجام پذیرفت. ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد استفاده در این آزمایش، پس از خریداری از مرکز پرورش ماهی کرسکان اصفهان به سالن آکواریوم دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل شد و حداقل به مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاه سازگار شدند. به محض ورود ماهیان به آزمایشگاه با استفاده از محلول ضدعفونی کننده متیلن آبی (۱ میلی‌گرم بر لیتر) یا نمک (۵٪) ضدعفونی شدند. ماهیان روزانه به میزان ۳٪ از بیومس با استفاده از جیره غذایی استاندارد (حاوی ۳۱٪ پروتئین، ۱۱٪ چربی و ۱۱٪ خاکستر) مورد تغذیه قرار گرفتند. دمای آب مخازن در حین دوره سازگاری ۲۱-۲۳ درجه سانتی‌گراد و میزان اکسیژن محلول بیش از ۸۰٪ اشباعیت در نظر گرفته شد.

تعیین غلظت کشنده آلومینیم (LC_{50}): به‌منظور تعیین غلظت کشنده آلومینیم، تعداد ۴۲ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $24/74 \pm 3/97$ گرم و طول $11/88 \pm 0/67$ سانتی‌متر در ۶ گروه ۷ تایی در معرض غلظت‌های مختلف این فلز قرار گرفتند. میزان مرگ و میر در فواصل زمانی ۲۴ ساعته مشاهده و ثبت شدند. ماهیان در طول دوره تعیین LC_{50} مورد تغذیه قرار نگرفتند. پس از پایان ۹۶ ساعت، داده‌های مورد نظر با استفاده از آنالیز رگرسیون پروبیت به منظور محاسبه LC_{50} ۹۶ ساعت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (OECD, 1994).
تیمار بندی: پس از تعیین میزان LC_{50} ۹۶ ساعت، تعداد ۴۰ ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $41/41 \pm 14/14$ گرم

جدول ۱: غلظت آلومینیم در تیمارهای مختلف

تیمار	شاهد	آلومینیم ۱	آلومینیم ۲	آلومینیم ۳
غلظت محاسبه شده (میلی‌گرم بر لیتر)	صفر	0/2804	1/402	2/804
غلظت اندازه‌گیری شده (میلی‌گرم بر لیتر)	<0/001	0/282 ± 0/002	1/390 ± 0/013	2/698 ± 0/011

اعداد نشان‌دهنده mean±SD مربوط به ۳ اندازه‌گیری است.

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری پارامترهای تیروئیدی: پس از پایان آزمایش، از هر تیمار ۶ عدد ماهی به‌صورت تصادفی

انتخاب گردید و پس از آسان‌کشی، با استفاده از سرنگ cc 2/5 از ناحیه ساقه دمی خون‌گیری به عمل آمد. خون جمع‌آوری



تمامی آنالیزها تحت نرم افزار ۱۲ SigmaPlot انجام شد و اختلافات معنی دار در سطح $P < 0.05$ گزارش گردید.

نتیجه

با استفاده از آنالیز پروبیت، میزان LC_{50} ۹۶ ساعت آلومینیوم برای ماهی کپور معمولی $28/040$ میلی گرم بر لیتر به دست آمد (جدول ۲). پس از تعیین میزان LC_{50} ۹۶ ساعت، ماهیان در معرض ۳ تیمار مختلف آلومینیوم و یک گروه شاهد قرار گرفتند. غلظت تیمارهای آلومینیوم انتخاب شده در این آزمایش در محدوده تحت کشنده (Sub-lethal) و مبتنی بر LC_{50} ۹۶ ساعت در نظر گرفته شدند و هیچ گونه تلفاتی در حین انجام آزمایش در بین ماهیان تیمارهای آزمایشی روی نداشت. پس از پایان آزمایش (۳۰ روز) هیچ اختلاف معنی داری در وزن و طول کل ماهیان مورد آزمایش در اثر تیمارهای مختلف آلومینیوم روی نداشت.

شده به منظور جداسازی سرم در 3500 دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان T_4 و T_3 سرم از روش رادیوایمنواسی با استفاده از دستگاه گاماکانتر اندازه گیری شد. میزان TSH نیز با روش غیر رقابتی رادیوایمنواسی اندازه گیری شد. برای اندازه گیری درصد برداشت هورمون T_3 نیز از باند T_3 نشان دار در فاز جامد با TBG براساس روش رادیوایمنواسی استفاده شد. شاخص تیروکسین آزاد (FTI) نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Burtis و همکاران، ۲۰۱۲):

$$FTI = \frac{T_4 \times T_3 \text{ Uptake}}{100}$$

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور محاسبه LC_{50} ۹۶ ساعت از آنالیز رگرسیون پروبیت تحت نرم افزار ۱۸ SPSS استفاده شد. در ادامه، داده ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk به منظور بررسی نرمالیتیه مورد بررسی قرار گرفتند. سپس برای مقایسه میانگین ها از آزمون واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) استفاده گردید. پس از بررسی همگن بودن واریانس ها با استفاده از آزمون Leven، در صورت تایید همگنی از آزمون تکمیلی دانکن و در غیر این صورت از آزمون SNK استفاده شد.

جدول ۲: غلظت میانه کشنده (LC_{50}) آلومینیوم برای کپور معمولی به همراه ۹۵٪ حدود اطمینان برای دوره ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته

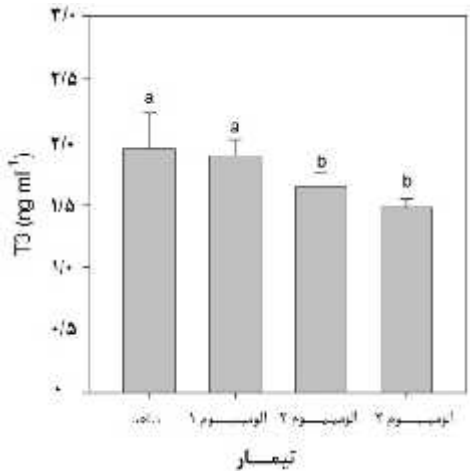
زمان	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
LC_{50}	۶۶/۶۲۸	۴۵/۵۷۹	۳۸/۴۷۳	۲۸/۰۴۰
(۹۵٪ حدود اطمینان)	(۷۱/۵۴-۵۳/۲۰)	(۵۲/۸۹۱-۳۹/۲۰۷)	(۴۶/۳۳۴-۲۹/۴۸)	(۴۱/۱۶۵-۱۹/۵۶۶)
میلی گرم بر لیتر				

ماهیان تحت تیمار با میانگین وزنی $24/74 \pm 2/97$ گرم، اعداد مندرج با استفاده از آنالیز رگرسیون پروبیت به دست آمده است.

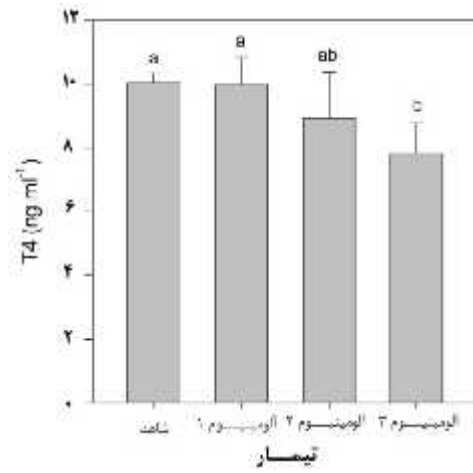
۶/۷ ($P > 0.05$)، $73/18$ ($P < 0.05$) درصد برای تیمار آلومینیوم ۱ و ۲ بوده است. مقدار این هورمون در تیمار آلومینیوم ۳ نیز $3/08$ ($P < 0.05$) برابر شاهد تعیین شده است (شکل ۳). درصد برداشت هورمون T_3 نیز به ترتیب $40/60 \pm 0/92$ ، $39/93 \pm 0/80$ ، $40/10 \pm 1/30$ و $39/18 \pm 0/28$ درصد به ترتیب برای شاهد، آلومینیوم ۱، ۲ و ۳ به دست آمد که هیچ اختلاف معنی داری را از خود نشان نمی دهد (شکل ۴). شاخص FT نیز برای گروه شاهد $4/08 \pm 0/14$ به دست آمد و در نتیجه تماس با آلومینیوم روند کاهشی از خود نشان داده است. با این حال در اثر تیمار آلومینیوم ۱ این کاهش معنی دار نبوده است و تنها در اثر تیمار آلومینیوم ۲ و ۳ به ترتیب $13/87$ و $33/37$ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری ($P < 0.05$) از خود نشان داده اند (شکل ۵).

نتایج به دست آمده از آزمایشات هورمون شناسی حاکی از روند کاهشی در خصوص پارامترهای T_4 و T_3 متعاقب مجاورت ماهی کپور معمولی با مقادیر متفاوت آلومینیوم است. غلظت هورمون T_4 تنها پس از ۳۰ روز در معرض قرار گیری با تیمار آلومینیوم ۳ ($2/804$ میلی گرم بر لیتر) به طور معنی داری ($P < 0.05$) کاهش یافت و در سایر تیمارها این کاهش معنی دار نبوده است (شکل ۱). میزان سرمی هورمون T_3 در گروه شاهد $1/94 \pm 0/28$ نانوگرم بر لیتر به دست آمد و متعاقب تاثیر آلومینیوم غلظت سرمی این هورمون در گروه های تحت تیمار کاهش یافته است. میزان این کاهش در تیمار آلومینیوم ۲ و ۳ به ترتیب برابر با $15/80$ و $24/11$ درصد بوده است (شکل ۲). غلظت سرمی هورمون TSH بر خلاف دو هورمون قبلی در اثر تیمارهای مختلف آلومینیوم افزایش یافته است. میزان این افزایش به ترتیب

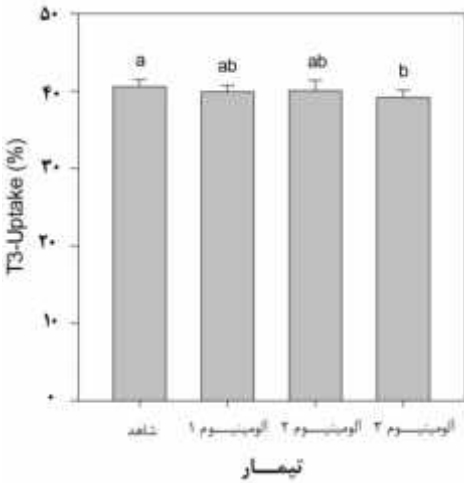




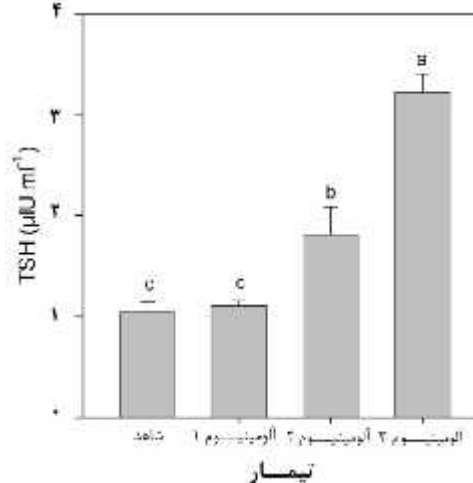
شکل ۲: غلظت سرمی T3 متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از حروف انگلیسی نمایش داده شده است.



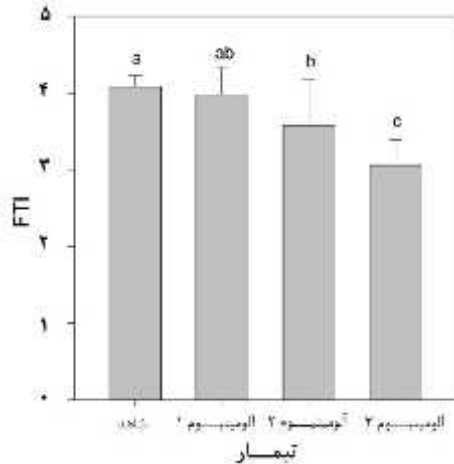
شکل ۱: غلظت سرمی T4 متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از حروف انگلیسی نمایش داده شده است.



شکل ۴: درصد برداشت هورمون T3 متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از حروف انگلیسی نمایش داده شده است.



شکل ۳: غلظت سرمی TSH متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از حروف انگلیسی نمایش داده شده است.



شکل ۵: شاخص تیروکسین آزاد سرمی FTI متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از حروف انگلیسی نمایش داده شده است.



بحث

مواد شیمیایی می‌توانند در مراحل مختلف متابولیسم تیروئید در حیوانات تاثیرگذار باشند. تغییر در جذب سلولی ید پیرو اختلال در عملکرد پمپ سدیم-ید، برهم زدن سنتز هورمون‌های تیروئیدی از طریق اثر بازدارندگی بر آنزیم تیروپروکسیداز، باند شدن با پروتئین‌های انتقال‌دهنده هورمون‌های تیروئیدی، اختلال در عبور غشایی هورمون‌های تیروئیدی و رسپتورهای آن در سلول‌های هدف از جمله موارد تداخلات مواد شیمیایی با متابولیسم هورمون‌های تیروئیدی محسوب می‌شود (Patrick, 2009).

نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که مقدار سرمی T_4 در گروه‌های آلومینیم ۱ و ۲ تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد از خود نشان نداده است. کاهش میزان T_3 سرمی نیز در گروه آلومینیم ۱ معنی‌دار نبوده است. مطالعات مشابهی در خصوص سایر عناصر سمی نشان داده است که تیمارهای تحت‌کشنده کادمیم در حد فاصل چند ساعت تا یک هفته هیچ تاثیری بر سطح پلاسمایی T_3 در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) ندارد (Hontela, 1996). در مطالعه دیگر، میزان T_4 و TSH پلازما در مارماهی اروپایی (*A. anguilla*) متعاقب ۷ روز تماس با ۰/۲ میکرومول بر لیتر مس تحت تاثیر قرار نگرفت (Oliveira, 2008). کادمیم (۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) نیز طی مدت زمان ۲۴ الی ۹۶ ساعت نتوانست میزان T_4 را در ماهی تیلاپیا (*O. niloticus*) دست‌خوش تغییر قرار دهد (Garcia-Santos, 2013). تحقیقات در خصوص تاثیر مواد شیمیایی مختلف بر فیزیولوژی تیروئید نشان داده است که نوع ماده شیمیایی، غلظت و مدت زمان در معرض قرار گیری و حتی گونه ماهی می‌تواند بر شدت تاثیر این مواد بر عملکرد هورمون‌ها تیروئیدی موثر باشد (Hontela, 1996). هورمون T_4 در اثر تیمار آلومینیم ۳ و هورمون T_3 در اثر تیمارهای آلومینیم ۲ و ۳ کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند که احتمالاً نشان‌دهنده تاثیر برهم زننده آلومینیم بر سنتز و آزادسازی هورمون‌های تیروئیدی در ماهی است. پیش از این نشان داده شده است که آلاینده‌های موجود در محیط زیست می‌توانند عملکرد طبیعی غده تیروئید در ماهی را برهم زنند (Coimbra و همکاران، 2005؛ Zhou و همکاران، 2000). در مورد مشابه در مارماهی اروپایی (*A. anguilla*)، میزان هورمون T_3 در اثر تماس با مس کاهش معنی‌داری از خود نشان داده است (Oliveira, 2008). محتوای هورمون‌های T_3 و T_4 نیز در در لارو ماهی مینو (*G. rarus*) در اثر تماس با ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم کاهش یافته است

(Li, 2014). جیوه نیز سبب کاهش سطح سرمی T_3 و T_4 در گربه ماهی (*C. batrachus*) شده است (Kirubakaran, 1994). میزان T_3 پلازما در ماهی تیلاپیا (*O. niloticus*) تحت تاثیر کادمیم طی ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت کاهش معنی‌داری از خود نشان داده است (Garcia-Santos, 2014). علاوه بر این، کاهش سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی می‌تواند به‌دلیل تاثیر بازدارنده آلومینیم بر آنزیم‌های اکسیدکننده ید و هم‌چنین سنتز هورمون‌های تیروئیدی باشد. از طرفی افزایش کورتیزول در اثر تیمار آلومینیم (Waring, 1996) می‌تواند متابولیسم هورمون‌های تیروئیدی را برهم زند. هورمون T_3 شکل فعال هورمون‌های تیروئیدی محسوب می‌شود که از monodeiodination هورمون T_4 در سایر بافت‌ها مانند کبد حاصل می‌شود (Van der Geyten و همکاران، 1998). بنابراین هر نوع کاهش در سطح سرمی T_3 به‌طور مستقیم وابسته به کاهش تولید و آزادسازی T_4 است. نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که آلومینیم علاوه بر کاهش T_4 که خود سبب کاهش T_3 می‌شود، با کاهش monodeiodination هورمون T_4 در کبد سبب کاهش سطح سرمی T_3 نیز شده است (تیمار آلومینیم ۲) که احتمالاً به‌دلیل وقوع آسیب بافتی در کبد، چنین حالتی رخ داده است. مطالعات نشان داده‌اند که آسیب‌های کبدی سبب کاهش deiodination دی‌ایودینیسیون T_4 در کبد حیوانات می‌شود (Liu و همکاران، 1991). پیش از این نقش هیپاتوکسینی آلومینیم در مطالعات متعدد نشان داده شده است (Authman, 2011). بنابراین کاهش سطح سرمی T_3 علی‌رغم عدم تغییر T_4 چندان دور از انتظار نخواهد بود (شکل‌های ۱ و ۲). قرار گرفتن قزل‌آلای قهوه‌ای به‌مدت یک هفته در معرض آلومینیم (۵۴۷ میکروگرم بر لیتر) و pH اسیدی سبب کاهش T_3 کل بدن و هم‌چنین بافت‌های کبد، آبشش، کلیه و قلب شده است اما تغییری در سطح پلاسمایی T_3 و T_4 ایجاد نکرده است (Fok و همکاران، 1990). در مطالعه دیگر افزایش سطح پلاسمایی T_3 و T_4 پس از ۲ و ۵ روز در معرض قرار گیری با آلومینیم در همین گونه نشان داده شده است (Waring, 1997). در مطالعات مشابه، افزایش اولیه در مقدار T_4 متعاقب مجاورت با کادمیم و جیوه نیز گزارش شده است اما با گذشت زمان مقدار این هورمون در خون کاهش خواهد یافت (Bleau, 1996). در مقابل، هورمون T_4 در ماهی کپور معمولی متعاقب تاثیر مس با یک افزایش اولیه همراه بوده است. سطح این هورمون پس از ۲۴ ساعت به محدوده معمول خود بر می‌گردد اما تغییرات T_3 به مراتب کندتر و پس از یک ماه در معرض قرار گیری بروز می‌کند (Eyckmans, 2010).

(۱۹۸۱). علی‌رغم تغییر در غلظت هورمون‌های تیروئیدی، هیچ تغییر معنی‌داری در این پارامتر دیده نشده است. این پارامتر به‌خودی‌خود نمی‌تواند بازگو‌کننده اختلال در فعالیت غده تیروئید باشد اما در تعیین شاخص تیروکسین باند نشده (آزاد) FTI به‌کار می‌رود. شاخص FT در مطالعه حاضر کاهش معنی‌داری در تیمارهای ۲ و ۳ آلومینیم از خود نشان داده است که در کنار سایر پارامترها، کلید تشخیص هیپوتیروئیدیسم محسوب می‌شود. با توجه به کاهش سطح سرمی هورمون‌های T_3 و T_4 و همچنین افزایش میزان TSH و FTI احتمالاً مجاورت با مقادیر تحت‌کشنده آلومینیم سبب بروز هیپوتیروئیدیسم در ماهی کپور معمولی شده است. با توجه به این مساله که کاهش سطح هورمون‌های تیروئیدی سبب کاهش رشد، تمایز و متابولیسم در ماهیان در بلندمدت می‌شود، احتمالاً وقوع چنین حالتی (هیپوتیروئیدی) در اثر آلاینده‌ها حتی در مقادیر اندک نیز می‌تواند برای اهداف ارزی‌پروری نامطلوب محسوب شود.

تشکر و قدردانی

نتایج مندرج در این مقاله از طرح تحقیقاتی مصوب (۹۲۰۳۲) باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران بوده و هزینه‌های مالی آن نیز به‌وسیله اعتبارات پژوهشی مصوب تامین شده است.

منابع

1. Aktaç, T. and Bakar, E., 2002. The histopathological changes in the mouse thyroid depending on the aluminium. Journal of Cell and Molecular Biology. Vol. 1, No. 2, pp: 69-72.
2. APHA. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. Vol. 21, 375 p.
3. Authman, M.M., 2011. Environmental and experimental studies of aluminium toxicity on the liver of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fish. Life Sci J. Vol. 8, No. 4, pp: 764-776.
4. Barcarolli, I. and Martinez, C., 2004. Effects of aluminum in acidic water on hematological and physiological parameters of the neotropical fish *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae). Bulletin of environmental contamination and toxicology. Vol. 72, No. 3, pp: 639-646.
5. Bernier, N.J.; Flik, G. and Klaren, P.H., 2009. Regulation and contribution of the corticotropic, melanotropic and thyrotropic axes to the stress response in fishes. Fish Physiology. Vol. 28, pp: 235-311.
6. Bleau, H.; Daniel, C.; Chevalier, G.; Van Tra, H. and Hontela, A., 1996. Effects of acute exposure to mercury chloride and methylmercury on plasma cortisol, T_3 , T_4 , glucose and liver glycogen in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology. Vol. 34, No. 3, pp: 221-235.
7. Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. and Bruns, D.E., 2012. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics: Elsevier Health Sciences; 5th edition. 2256 p.

علاوه بر این، Li و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که احتمالاً عناصر سمی مانند کادمیم بر بیان ژن‌های دخیل در محور HPT تاثیرگذار هستند که این امر به نوبه خود سبب برهم زدن عملکرد طبیعی غده تیروئید در ماهی می‌شود. احتمالاً اختلافات مشاهده شده به دلیل تفاوت در غلظت و مدت زمان در معرض قرارگیری و حتی گونه ماهی است (Eyckmans, ۲۰۱۰؛ Hontela, ۱۹۹۶) و مبین پیچیدگی تنظیم وضعیت هورمون‌های تیروئیدی در بدن است. تیمار ۳۰ روزه آلومینیم ۱ هیچ تاثیر معنی‌داری در سطح سرمی TSH نداشته است در حالی که تیمارهای ۲ و ۳ سبب افزایش معنی‌دار این هورمون شده‌اند. نتایج به‌دست آمده احتمالاً مربوط به مکانیسم پس‌خور ناشی از تغییرات هورمون‌های T_3 و T_4 است. بنابراین در هنگام کاهش هورمون‌های تیروئیدی، سطح سرمی TSH افزایش می‌یابد تا به نوعی جبران تغییرات به‌وجود آمده در سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی از طریق مکانیسم پس‌خور محور HPT باشد (Zoeller, ۲۰۰۷؛ Shi و همکاران, ۲۰۰۲). علاوه بر این تزریق داخل صفاقی آلومینیم (۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در رت آزمایشگاهی، سطح سرمی T_3 و T_4 را کاهش داده است اما تغییری در میزان TSH ایجاد نکرده است (Orihuela, ۲۰۱۱). آلومینیم می‌تواند سبب ایجاد عوارض پاتولوژیک در سلول‌های تیروئیدی شود. تخریب فولیکول‌های تیروئیدی و پراکنده شدن استرومای غده تیروئید از عوارض تماس با آلومینیم در حیوانات محسوب می‌شود (Aktaç و همکاران, ۲۰۰۲). در نتیجه بروز عوارض پاتولوژیکی برگشت‌ناپذیر در غده تیروئید، کاهش تیروگلوبولین نیز رخ می‌دهد که خود می‌تواند سبب کاهش سطح T_3 و T_4 در بدن شود (Yoshizuka و همکاران, ۱۹۹۱). از سوی دیگر تجمع فلزات سمی نظیر کادمیم در میتوکندری سلول‌های اپیتلیال تیروئیدی سبب مهار سنتز و آزادسازی هورمون تیروئیدی می‌شود (Yoshizuka, ۱۹۹۱). علاوه بر این، احتمال مداخله عناصر سمی در فرایند تبدیل T_4 به T_3 نیز وجود دارد (Liu, ۱۹۹۱؛ Yoshida و همکاران, ۱۹۸۷). آلومینیم علی‌رغم عدم تشابه فیزیکیوشیمیایی با ید که احتمال تداخل در جذب ید توسط این فلز سمی را کاهش می‌دهد، می‌تواند به‌طور غیر مستقیم پمپ سدیم- ید را مختل نماید و در نتیجه تجمع ید در غده تیروئید کاهش می‌یابد (Orihuela, ۲۰۱۱؛ Dohan و همکاران, ۲۰۰۳).

درصد برداشت هورمون T_3 نشان‌دهنده نسبتی از هورمون‌های تیروئیدی است که با پروتئین‌های باند شونده خود یعنی TBG، آلبومین و غیره متصل نشده است (Leatherland و همکاران,



24. Patrick, L., 2009. Thyroid disruption: mechanism and clinical implications in human health. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*. Vol. 14, No. 4, pp: 326-346.
25. Peter, M.S., 2011. The role of thyroid hormones in stress response of fish. *General and comparative endocrinology*. Vol. 172, No. 2, pp: 198-210.
26. Power, D.; Llewellyn, L.; Faustino, M.; Nowell, M.A.; Björnsson, B.T.; Einarsson, I.; Canario, A.V. and Sweeney, G.E., 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. Vol. 130, No. 4, pp: 447-459.
27. Schnitzler, J.G.; Klaren, P.H.; Bouquegneau, J.M. and Das, K., 2012. Environmental factors affecting thyroid function of wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) from European coasts. *Chemosphere*. Vol. 87, No. 9, pp: 1009-1017.
28. Shi, Y.B.; Ritchie, J.W. and Taylor, P.M., 2002. Complex regulation of thyroid hormone action: multiple opportunities for pharmacological intervention. *Pharmacology & therapeutics*. Vol. 94, pp: 235-251.
29. Teles, M.; Pacheco, M. and Santos, M., 2005. Physiological and genetic responses of European eel (*Anguilla anguilla* L.) to short-term chromium or copper exposure Influence of preexposure to a PAH-like compound. *Environmental toxicology*. Vol. 20, No. 1, pp: 92-99.
30. Van der Geyten, S.; Mol, K.; Pluymers, W.; Kühn, E. and Darras, V., 1998. Changes in plasma T3 during fasting/refeeding in tilapia (*Oreochromis niloticus*) are mainly regulated through changes in hepatic type II iodothyronine deiodinase. *Fish Physiology and Biochemistry*. Vol. 19, No. 2, pp: 135-143.
31. Vuorinen, P.J.; Keinänen, M.; Peuranen, S. and Tigerstedt, C., 2003. Reproduction, blood and plasma parameters and gill histology of vendace (*Coregonus albula* L.) in long-term exposure to acidity and aluminum. *Ecotoxicology and environmental safety*. Vol. 54, No. 3, pp: 255-276.
32. Waring, C.; Brown, J.; Collins, J. and Prunet, P., 1996. Plasma prolactin, cortisol, and thyroid responses of the brown trout (*Salmo trutta*) exposed to lethal and sublethal aluminium in acidic soft waters. *General and comparative endocrinology*. Vol. 102, pp: 377-385.
33. Waring, C.P. and Brown, J.A., 1997. Plasma and tissue thyroxine and triiodothyronine contents in sublethally stressed, aluminum-exposed brown trout (*Salmo trutta*). *General and comparative endocrinology*. Vol. 106, No. 1, pp: 120-126.
34. Woodburn, K.; Walton, R.; McCrohan, C. and White, K., 2011. Accumulation and toxicity of aluminium-contaminated food in the freshwater crayfish, *Pacifastacus leniusculus*. *Aquatic toxicology*. Vol. 105, No. 3, pp: 535-542.
35. Yamano, K., 2005. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*. Vol. 39, No. 3, pp: 161-168.
36. Yoshida, K.; Sugihira, N.; Suzuki, M.; Sakurada, T.; Saito, S.; Yoshinaga, K. and Saito, H., 1987. Effect of cadmium on T 4 outer ring monodeiodination by rat liver. *Environmental research*. Vol. 42, pp: 400-405.
37. Yoshizuka, M.; Mori, N.; Hamasaki, K.; Tanaka, I.; Yokoyama, M.; Hara, K.; Doi, Y.; Umezu, Y.I.; Araki, H. and Sakamoto, Y., 1991. Cadmium toxicity in the thyroid gland of pregnant rats. *Experimental and molecular pathology*. Vol. 55, No. 1, pp: 97-104.
38. Zhou, T.; John-Alder, H.; Weis, J. and Weis, P., 2000. Endocrine disruption: thyroid dysfunction in mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) from a polluted habitat. *Marine environmental research*. Vol. 50, No. 1, pp: 393-397.
39. Zoeller, R.T.; Tan, S.W. and Tyl, R.W., 2007. General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. *Critical reviews in toxicology*. Vol. 37, No. 1-2, pp: 11-53.
8. Coimbra, A.M.; Reis-Henriques, M.A. and Darras, V.M., 2005. Circulating thyroid hormone levels and iodothyronine deiodinase activities in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following dietary exposure to Endosulfan and Aroclor 1254. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. Vol. 141, No. 1, pp: 8-14.
9. Dohan, O.; De la Vieja, A.; Paroder, V.; Riedel, C.; Artani, M.; Reed, M.; Ginter, C.S. and Carrasco, N., 2003. The sodium/iodide symporter (NIS): characterization, regulation, and medical significance. *Endocrine reviews*. Vol. 24, No. 1, pp: 48-77.
10. Eales, J. and Brown, S., 1993. Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. Vol. 3, No. 4, pp: 299-347.
11. Eyckmans, M.; Tudorache, C.; Darras, V.M.; Blust, R. and De Boeck, G., 2010. Hormonal and ion regulatory response in three freshwater fish species following waterborne copper exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. Vol. 152, No. 3, pp: 270-278.
12. Fernández-Dávila, M.L.; Razo-Estrada, A.C.; García-Medina, S.; Gómez-Oliván, L.M.; Piñón-López, M.J.; Ibarra, R.G. and Galar-Martínez, M., 2012. Aluminum-induced oxidative stress and neurotoxicity in grass carp (Cyprinidae: *Ctenopharingodon idella*). *Ecotoxicology and environmental safety*. Vol. 76, pp: 87-92.
13. Fok, P.; Eales, J. and Brown, S., 1990. Determination of 3, 5, 3'-triiodo-L-thyronine (T3) levels in tissues of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the effect of low ambient pH and aluminum. *Fish physiology and biochemistry*. Vol. 8, No. 4, pp: 281-290.
14. Garcia-Santos, S.; Fontainhas-Fernandes, A.; Monteiro, S. and Wilson, J., 2013. Effects of exposure to cadmium on some endocrine parameters in tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. Vol. 90, No. 1, pp: 55-59.
15. Hontela, A.; Daniel, C. and Ricard, A.C., 1996. Effects of acute and subacute exposures to cadmium on the interrenal and thyroid function in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic toxicology*. Vol. 35, No. 3, pp: 171-182.
16. Howdeshell, K.L., 2002. A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 3, 337 p.
17. Kirubakaran, R. and Joy, K., 1994. Effects of short-term exposure to methylmercury chloride and its withdrawal on serum levels of thyroid hormones in the catfish *Clarias batrachus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. Vol. 53, pp:166-170.
18. Leatherland, J. and Sonstegard, R., 1981. Thyroid dysfunction in Great Lakes coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum): Seasonal and interlake differences in serum T3 uptake and serum total and free T4 and T3 levels. *Journal of Fish Diseases*. Vol. 4, pp:413-423.
19. Li, Z.H.; Chen, L.; Wu, Y.H.; Li, P.; Li, Y.F. and Ni, Z.H., 2014. Effects of waterborne cadmium on thyroid hormone levels and related gene expression in Chinese rare minnow larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. Vol. 161, pp: 53-57.
20. Liu, S. and Wang, F., 1991. Damage to hepatic thyroxine 5'-deiodination induced by pathogenic factors of Keshan disease and the preventive effects of selenium and vitamin E. *Biomedical and environmental sciences: BES*. Vol. 4, No. 4, pp:359-365.
21. OECD, 1994. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: Fish, Acute Toxicity Test Organization for Economic; No. 203, 9 p.
22. Oliveira, M.; Serafim, A.; Bebianno, M.; Pacheco, M. and Santos, M., 2008. European eel (*Anguilla anguilla* L.) metallothionein, endocrine, metabolic and genotoxic responses to copper exposure. *Ecotoxicology and environmental safety*. Vol. 70, No. 1, pp: 20-26.
23. Orihuela, D., 2011. Aluminium effects on thyroid gland function :Iodide uptake, hormone biosynthesis and secretion. *Journal of inorganic biochemistry*. Vol. 105, No. 11, pp: 1464-1468.

