تاثیر 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، صندوق‌پستی: ۱٤٥۱٥-۷۷٥
- **نصرالله محبوبی‌صوفیانی**: گروه شیلات، دانشکده منابع‌طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹٤ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹٤

چکیده

بسیاری از عوامل زیستی و غیرزیستی (مانند فلزات سمی) می‌توانند بر مراحل مختلف سیستم تیروئیدی تاثیرگذار باشند و در نتیجه عملکرد طبیعی موجود زنده از جمله رشد، تنظیم اسمزی و بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیک دیگر را مختل نمایند. در این مطالعه، پس از تعیین LC_{50} ۹٦ ساعت آلومینیم برای ماهی کپور معمولی، تعداد ٤۰ عدد ماهی با میانگین وزنی ٤۱/٤۱±۱٤۹/۱٤ گرم در معرض مقادیر مختلف آلومینیم محلول در آب (۰/۲۸۰٤، ۱/٤۰۲ و ۲/۸۰٤ میلی‌گرم بر لیتر) و یک گروه شاهد قرار گرفتند. پس از پایان دوره آزمایشی (۳۰ روز)، از هر تیمار ٦ ماهی به‌صورت تصادفی انتخاب گردید و از ناحیه ساقه دمی خون‌گیری به‌عمل آمد. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که تیمار آلومینیم ۳ (۲/۸۰٤ میلی‌گرم بر لیتر) سبب کاهش معنی‌دار غلظت T٤ نسبت به شاهد شده است (۲۲/۲۲ درصد، P<۰/۰٥). میزان هورمون T۳ سرمی نیز در اثر تیمارهای آلومینیم ۲ و ۳ به‌ترتیب به‌میزان ۱٥/۸۰ و ۲٤/۱۱ درصد کاهش یافته است، این درحالی است که میزان TSH سرم ماهی پس از قرار گرفتن در معرض تیمار آلومینیم ۲ و ۳ به‌ترتیب 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 T_3 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<۰/۰٥). با توجه به کاهش T۳ و T٤ و همچنین افزایش TSH و FTI، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که مقادیر تحت کشنده آلومینیم سبب بروز هیپوتیروئیدیسم در ماهی کپور معمولی شده است.

کلمات کلیدی: آلومینیم، T۳، T۴، TSH، کپور معمولی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: p.malekpouri@gmail.com

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 اسمزی، 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 ازجمله ماهیان سنتز، آزادسازی، انتقال و متابولیسم هورمون‌های تیروئیدی در طی دو مرحله عمده انجام می‌شود. طی مرحله اول، سنتز و آزادسازی هورمون تیروکسین (T۴) انجام می‌شود که تحت کنترل محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- تیروئید (HPT) قرار دارد (Bernier و همکاران، ۲۰۰۹). مرحله دوم مربوط به تبدیل T۴ به شکل فعال آن، یعنی۳،۵،۳ تیرویودوتیرونین (T۳) 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 نتیجهٔ اسید شدن بسیار معمول است (Woodburn و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه براین، 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 وبقاء جنین و لارو آبزیان را مختل نماید (Vuorinen و همکاران، ۲۰۰۳). علاوه براین، تاثیر آلومینیم بر سیستم تنفسی، تنظیم اسمزی، 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 T۳ و T۴ 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 (Kirubagaran و همکاران، ۱۹۹۴). علاوه براین، 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، ۷۱۹۹؛ Waringو همکاران، ۶۱۹۹). تاثیر مس و کروم بر پاسخ‌های اندوکرینی، از جمله T۳، T۴ و TSH در مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) پیش از این مورد مطالعه قرار گرفته است (Oliveira و همکاران، ۲۰۰۸؛ Telesو همکاران، ۲۰۰۵). Li و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر کادمیم را بر هورمون‌های تیروئیدی در لارو نوعی ماهی مینو (*Gobiocypris rarus*) مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه مشابه دیگر، تاثیر کادمیم بر T۳ پلاسما به‌عنوان شاخص عملکرد غده تیروئید در ماهی تیلاپیا (*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 رنگین کمان (*O. mykiss*) نیز مورد بررسی قرار گرفته است (Eyckmans 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 آبزی‌پروری حائز اهمیت است. هدف از انجام این تحقیق، بررسی تاثیر مقادیر تحت کشنده این فلز بر فاکتورهای سرمی مرتبط با فعالیت تیروئید از جمله T۴، T۳، TSH (Thyroid stimulating Hormone)، برداشت هورمون T۳ (T۳-uptake) و FTI (Free thyroxine index) در ماهی کپور معمولی است.

مواد و روش‌ها

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 آکواریم دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل شد و حداقل به‌مدت 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 ۳۱/۳٪ پروتئین، ۱۱/۶٪ چربی و ۱۱/۷٪ 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 ۳/۹۷±۲۴/۷۴ گرم و طول ۰/۶۷±۱۱/۸۸ سانتی‌متر در ۶ گروه ۷تایی 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، ۱۹۹۴).

تیمار بندی: پس از تعیین میزان LC_{50} ۹۶ ساعت، تعداد ۴۰ ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۴۱/۴۱ ±۱۴۹/۱۴ گرم و طول کل ۲/۹۷±۲۱/۷۵ سانتی‌متر به ۴ گروه مختلف تقسیم شدند. گروه‌های مذکور شامل شاهد و ۳ تیمار آلومینیم به شرح ادامه بودند:

تیمار آلومینیم (۱) به مقدار ۰/۲۸۰۴ میلی‌گرم بر لیتر (۱٪ از LC_{50} ۹۶ ساعت)، آلومینیم (۲) ۱/۴۰۲ میلی‌گرم بر لیتر (۵٪ از LC_{50} ۹۶ ساعت) و آلومینیم (۳) ۲/۸۰۴ میلی‌گرم بر لیتر (۱۰٪ از LC_{50} ۹۶ ساعت) در نظر گرفته شدند و ماهیان به‌مدت 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 فیزیکوشیمیایی آب در طول آزمایش به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شدند. میزان اکسیژن محلول (۶/۱<میلی‌گرم بر لیتر)، دما (۲۲/۴-۲۱/۳ درجه سانتی‌گراد)، pH (۷/۶-۷/۷۴)، هدایت الکتریکی (۴۸۱-۳۹۳ میکرو زیمنس بر سانتی‌متر)، کل ترکیبات آمونیاکی (۱/۴-۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر)، نیتریت (۰/۰۵۳-۰/۰۴۴ میلی‌گرم بر لیتر)، نیترات (۷/۳-۶/۴۳ میلی‌گرم بر لیتر)، فسفات (۷۵/۷۵-۷۰/۴۸ میلی‌گرم بر لیتر)، جامدات معلق (۳/۴-۱/۹ میلی‌گرم بر لیتر) و محلول (۳۶۳/۵-۳۴۴/۴ میلی‌گرم بر لیتر)، سختی کل (۲۸۱-۲۴۹ میلی‌گرم بر لیتر)، منیزیم (۲۹-۲۱ میلی‌گرم بر لیتر) و کلسیم (۲۶۶-۲۱۱ میلی‌گرم بر لیتر) به‌دست آمد (APHA، ۲۰۰۵). جدول ۱ مقادیر محاسبه شده برای هریک از تیمارها به‌همراه میزان آلومینیم اندازه‌گیری شده توسط دستگاه جذب اتمی (Analyst ۷۰۰Perkin Elmer A) در تیمار مربوطه را نشان می‌دهد.

جدول ۱: غلظت آلومینیم در تیمارهای مختلف

تیمار	شاهد	آلومینیم ۱	آلومینیم۲	آلومینیم ۳
غلظت محاسبه شده (میلی‌گرم بر لیتر)	صفر	۰/۲۸۰۴	۱/۴۰۲	۲/۸۰۴
غلظت اندازه گیری شده (میلی‌گرم بر لیتر)	<۰/۰۰۰۱	۰/۲۸۲±۰/۰۰۲	۱/۳۹۰±۰/۰۱۳	۲/۶۹۸±۰/۰۱۱

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 آسان کشی، با استفاده از سرنگ ۲/۵ cc از ناحیه ساقه دمی خون‌گیری به عمل آمد. خون جمع‌آوری

شده به‌منظور جداسازی سرم در ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان T۳ و T۴ سرم از روش رادیوایمنواسی با استفاده از دستگاه گاماکانتر اندازه‌گیری شد. میزان TSH نیز با روش غیر رقابتی رادیوایمنواسی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری درصد برداشت هورمون T۳ نیز از باند T۳ نشان‌دار 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):

$$FTI = \frac{T4 \times T3\ Uptake}{100}$$

تجزیه و تحلیل آماری: به‌منظور محاسبه LC_{50} ۹۶ ساعت از آنالیز رگرسیون پروبیت تحت نرم‌افزار SPSS ۱۸ استفاده شد. در ادامه، داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk به‌منظور بررسی نرمالیته مورد بررسی قرار گرفتند. سپس برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه (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 غیراین‌صورت از آزمون SNK استفاده شد. تمامی آنالیزها تحت نرم افزار SigmaPlot ۱۲ انجام شد و اختلافات معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ گزارش گردید.

نتایج

با استفاده از آنالیز پروبیت، میزان LC_{50} ۹۶ ساعت آلومینیوم برای ماهی کپور معمولی ۲۸/۰۴۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد (جدول ۲). پس از تعیین میزان LC_{50} ۹۶ ساعت، ماهیان در معرض ۳ تیمار مختلف آلومینیم و یک گروه شاهد قرار گرفتند. غلظت تیمارهای آلومینیم انتخاب شده در این آزمایش در محدوده تحت‌کشنده (Sub-lethal) و مبتنی بر LC_{50} ۹۶ ساعت در نظر گرفته شدند و هیچ‌گونه تلفاتی در حین انجام آزمایش در بین ماهیان تیمارهای آزمایشی رویت نشد. پس از پایان آزمایش (۳۰ روز) هیچ اختلاف معنی‌داری در وزن و طول کل ماهیان مورد آزمایش در اثر تمیارهای مختلف آلومینیم رویت نشد.

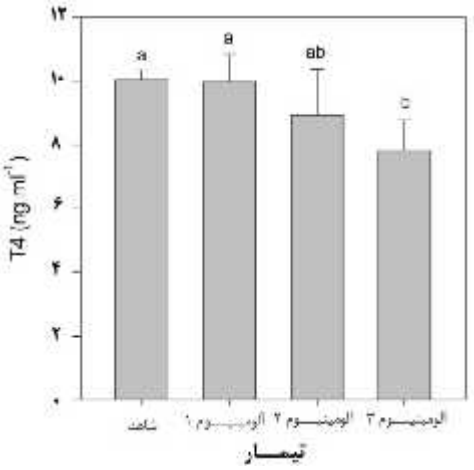
جدول ۲: غلظت میانه کشنده (LC۵۰) آلومینیم برای کپورمعمولی به‌همراه ۹۵٪ حدود اطمینان برای دوره ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته

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

ماهیان تحت تیمار با میانگین وزنی ۳/۹۷±۲۴/۷۴ گرم، اعداد مندرج با استفاده از آنالیز رگرسیون پروبیت به‌دست آمده است.

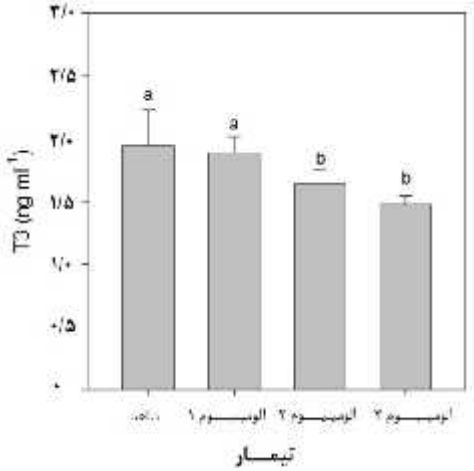
نتایج به‌دست آمده از آزمایشات هورمون‌شناسی حاکی از روند کاهشی در خصوص پارامترهای T۴ و T۳ متعاقب مجاورت ماهی کپور معمولی با مقادیر متفاوت آلومینیم است. غلظت هورمون T۴ تنها پس از ۳۰ روز در معرض قرار گیری با تیمار آلومینیم ۳ (۲/۸۰۴ میلی‌گرم بر لیتر) به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش یافت و در سایر تیمارها این کاهش معنی‌دار نبوده است (شکل ۱). میزان سرمی هورمون T۳ در گروه شاهد ۱/۹۴±۰/۲۸ نانوگرم بر لیتر به‌دست آمد و متعاقب تاثیر آلومینیم غلظت سرمی این هورمون در گروه‌های تحت تیمار کاهش یافته است. میزان این کاهش در تیمار آلومینیم ۲ و ۳ به‌ترتیب برابر با ۱۵/۸۰ و ۲۴/۱۱ درصد بوده است (شکل ۲). غلظت سرمی هورمون TSH بر خلاف دو هورمون قبلی در اثر تیمارهای مختلف آلومینیم افزایش یافته است. میزان این افزایش به‌ترتیب ۶/۷ (P>۰/۰۵)، ۷۳/۱۸ (P<۰/۰۵) درصد برای تیمار آلومینیم ۱ و ۲ بوده است. مقدار این هورمون در تیمار آلومینیم ۳ نیز ۳/۰۸ (P<۰/۰۵) برابر شاهد تعیین شده است (شکل ۳).

درصد برداشت هورمون T۳ نیز به‌ترتیب ۰/۹۲±۴۰/۶۰، ۰/۸۰±۳۹/۹۳، ۱/۳۰±۴۰/۱۰ و ۰/۲۸±۳۹/۱۸ درصد به‌ترتیب برای شاهد، آلومینیم ۱، ۲ و ۳ به‌دست آمد که هیچ اختلاف معنی‌داری را از خود نشان نمی‌دهد (شکل ۴). شاخص FT نیز برای گروه شاهد ۰/۱۴±۴/۰۸ به‌دست آمد و در نتیجه تماس با آلومینیم روند کاهشی از خود نشان داده است. با این‌حال در اثر تیمار آلومینیم ۱ این کاهش معنی‌دار نبوده است و تنها در اثر تیمار آلومینیم ۲ و ۳ به‌ترتیب ۱۳/۸۷ و ۳۳/۳۷ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) از خود نشان داده‌اند (شکل ۵).



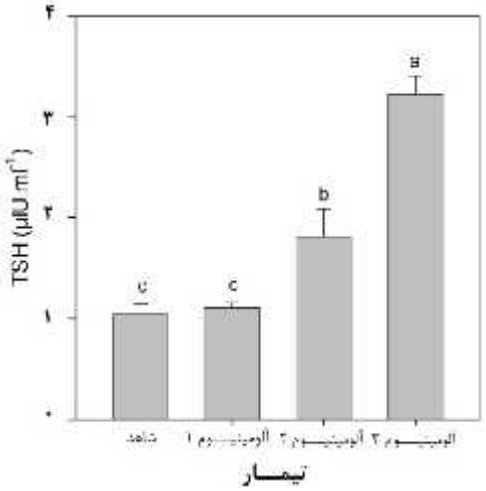
شکل۱: غلظت سرمی T۴ متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم

اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ با استفاده از حروف انگلیسی نمایش داده شده است.



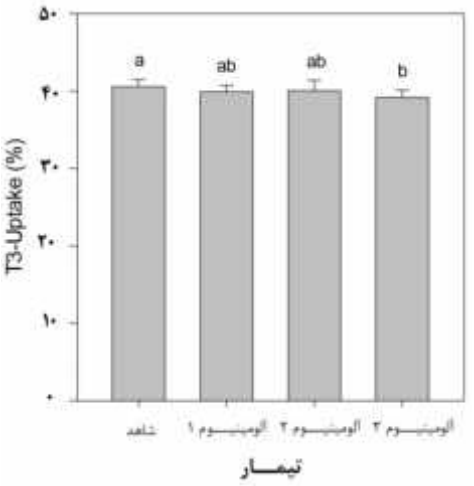
شکل ۲: غلظت سرمی T۳ متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم

اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ با استفاده از حروف انگلیسی نمایش داده شده است.



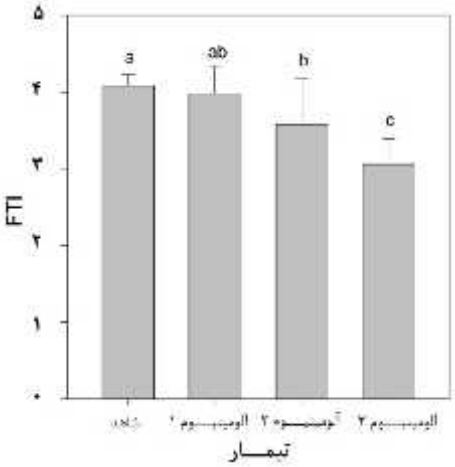
شکل ۳: غلظت سرمی TSH متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم

اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ با استفاده از حروف انگلیسی نمایش داده شده است.



شکل ۴: درصد برداشت هورمون T۳ متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم

اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ با استفاده از حروف انگلیسی نمایش داده شده است.



شکل ۵: شاخص تیروکسین آزاد سرمی FTI متعاقب تاثیر تیمارهای مختلف آلومینیم

اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ 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، ۲۰۰۹).

نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که مقدار سرمی T۴ در گروه‌های آلومینیم ۱ و ۲ تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد از خود نشان نداده است. کاهش میزان T۳ سرمی نیز در گروه آلومینیم ۱ معنی‌دار نبوده است. مطالعات مشابهی درخصوص سایر عناصر سمی نشان داده است که تیمارهای تحت‌کشنده کادمیم در حد فاصل چند ساعت تا یک هفته هیچ تاثیری بر سطح پلاسمایی T۳ در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) ندارد (Hontela، ۱۹۹۶). در مطالعه دیگر، میزان T۴ و TSH پلاسما در مارماهی اروپایی (*A. anguilla*) متعاقب ۷ روز تماس با ۰/۲ میکرومول بر لیتر مس تحت تاثیر قرار نگرفت (Oliveira، ۲۰۰۸). کادمیم (۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) نیز طی مدت زمان ۲۴ الی ۹۶ ساعت نتوانست میزان T۴ را در ماهی تیلاپیا (*O. niloticus*) دست‌خوش تغییر قرار دهد (Garcia-Santos، ۲۰۱۳). تحقیقات درخصوص 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، ۱۹۹۶). هورمون T۴ در اثر تیمار آلومینیم ۳ و هورمون T۳ 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، ۲۰۰۵؛ Zhou و همکاران، ۲۰۰۰). در مورد مشابه در مارماهی اروپایی (*A. anguilla*)، میزان هورمون T۳ در اثر تماس با مس کاهش معنی داری از خود نشان داده است (Oliveira، ۲۰۰۸). محتوای هورمون‌های T۳ و T۴ نیز در در لارو ماهی مینو (*G. rarus*) در اثر تماس با ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم کاهش یافته است (Li، ۲۰۱۴). جیوه نیز سبب کاهش سطح سرمی T۳ و T۴ در گربه ماهی (*C. batrachus*) شده است (Kirubagaran، ۱۹۹۴). میزان T۳ پلاسما در ماهی تیلاپیا (*O.niloticus*) تحت تاثیر کادمیم طی ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت کاهش معنی‌داری از خود نشان داده است (Garcia-Santos، ۲۰۱۴). علاوه براین، 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، ۱۹۹۶) می‌تواند متابولیسم هورمون‌های تیروئیدی را برهم زند.

هورمون T۳ شکل فعال هورمون‌های تیروئیدی محسوب می‌شود که از monodeiodination هورمون T۴ در سایر بافت‌ها مانند کبد حاصل می‌شود (Van der Geyten و همکاران، ۱۹۹۸). بنابراین هر نوع کاهش در سطح سرمی T۳ به‌طور مستقیم وابسته به کاهش تولید و آزادسازی T۴ است. نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که آلومینیم علاوه بر کاهش T۴ که خود سبب کاهش T۳ می‌شود، با کاهش monodeiodination هورمون T۴ در کبد سبب کاهش سطح سرمی T۳ نیز شده است (تیمار آلومینیم ۲) که احتمالاً به‌دلیل وقوع آسیب بافتی در کبد، چنین حالتی رخ داده است. مطالعات نشان داده است که آسیب‌های کبدی سبب کاهش deiodination دی ایودینیسایون T۴ در کبد حیوانات می‌شود (Liu و همکاران، ۱۹۹۱). پیش از این نقش هپاتوکسینی آلومینیم در مطالعات متعدد نشان داده شده است (Authman، ۲۰۱۱). بنابراین کاهش سطح سرمی T۳ علی‌رغم عدم تغییر T۴ 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 T۳ کل بدن و هم‌چنین بافت‌های کبد، آبشش، کلیه و قلب شده است اما تغییری در سطح پلاسمایی T۳ و T۴ ایجاد نکرده است (Fok و همکاران، ۱۹۹۰). در مطالعه دیگر افزایش سطح پلاسمایی T۳ و T۴ پس از ۲ و ۵ روز در معرض قرار گیری با آلومینیم در همین گونه نشان داده شده است (Waring، ۱۹۹۷). در مطالعات مشابه، افزایش اولیه در مقدار T۴ متعاقب مجاورت با کادمیم و جیوه نیز گزارش شده است اما با گذشت زمان مقدار این هورمون در خون کاهش خواهد یافت (Bleau، ۱۹۹۶). در مقابل، هورمون T۴ 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 T۳ به مراتب کندتر و پس از یک ماه در معرض قرار گیری بروز می‌کند (Eyckmans، ۲۰۱۰).

علاوه براین، 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 به‌دلیل 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 معنی‌دار در سطح سرمی TSH نداشته است درحالی‌که تیمارهای ۲ و۳ سبب افزایش معنی‌دار این هورمون شده‌اند. نتایج به‌دست آمده احتمالاً مربوط به مکانیسم پس خور ناشی از تغییرات هورمون‌های T۴ و T۳ 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 پس خور محور HPT باشد (Zoeller، ۲۰۰۷؛ Shi و همکاران، ۲۰۰۲). علاوه براین تزریق داخل صفاقی آلومینیم (۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در رت آزمایشگاهی، سطح سرمی T۴ و T۳ 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). درنتیجه بروز عوارض پاتولوژیکی برگشت ناپذیر در غده تیروئید، کاهش تیروگلوبولین نیز رخ می‌دهد که خود می‌تواند سبب کاهش سطح T۴ و T۳ 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 براین، احتمال مداخله عناصر سمی در فرایند تبدیل T۴ به T۳ نیز وجود دارد (Liu، ۱۹۹۱؛ Yoshida و همکاران، ۱۹۸۷).

آلومینیم علی‌رغم عدم تشابه فیزیکوشیمیایی با یُد که احتمال تداخل در جذب یُد توسط این فلز سمی را کاهش می‌دهد، می‌تواند به‌طور غیر ستقیم 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 T۳ نشان‌دهنده نسبتی از هورمون‌های تیروئیدی است که با پروتئین‌های باند شونده خود یعنی TBG، آلبومین و غیره متصل نشده است (Leatherland و همکاران، ۱۹۸۱). علی‌رغم تغییر در غلظت هورمون‌های تیروئیدی، هیچ تغییر معنی‌داری در این پارامتر دیده نشده است. این پارامتر به‌خودی خود 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 T۴ و T۳ 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 آبزی‌پروری 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, T3, T4, 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.

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.; Fontaínhas-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. **Kirubagaran, 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.
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.; Einarsdottir, 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.