مطالعه اثر پکتین به‌عنوان افزودنی غذایی در مقابله با مسمومیت کادمیمی در ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*)

- **محمد محیسنی***: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
- **محمد امینی‌چرمهینی**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء، بهبهان، ایران
- **مریم کریمی**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء، بهبهان، ایران
- **دارا باقری**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، برازجان، ایران

تاریخ دریافت: آبان ١٣٩٦ تاریخ پذیرش: بهمن ١٣٩٦

چکیده

این مطالعه به بررسی اثر حفاظتی پکتین بر تغییرات برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با کادمیم پرداخته است. برای این منظور غلظت‌های مختلف زیرکشنده کادمیم (١٢٥ و ٢٥٠ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره خشک) به تنهایی و هم‌چنین به‌صورت ترکیبی با ٠/٥ درصد پکتین به جیره غذایی افزوده شد. بچه‌ماهیان کپورمعمولی (میانگین وزنی ٧±٣٧/٥ گرم) به‌مدت ٢١ روز با شش جیره غذایی مختلف تغذیه شدند. ماهیانی گروه اول (شاهد) تنها با خوراک پایه بدون هیچ‌گونه افزودنی، گروه دوم و سوم به‌ترتیب با ١٥٠ و ٢٥٠ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم غذا، گروه چهارم و پنجم با ١٥٠ و ٢٥٠ میلی‌گرم کادمیم به‌همراه ٠/٥ درصد پکتین و گروه ششم تنها با ٠/٥ درصد پکتین تغذیه شدند. نمونه‌گیری از خون ماهیان پس از ٢١ روز تغذیه با جیره‌های غذایی اختصاصی هر گروه صورت گرفت و متعاقباً برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون مورد سنجش قرار گرفتند. مطابق با نتایج، درهر دو گروه دریافت‌کننده کادمیم و پکتین میزان آنزیم‌های AST، ALT و ALP، پروتئین کل، آلبومین، گلبولین، تری‌گلیسرید، کراتینین و گلوکز تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان ندادند. در گروه‌های دریافت‌کننده کادمیم به تنهایی سطح آنزیم‌های AST و ALT تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد. بر مبنای نتایج به‌دست آمده به‌نظر می رسد که پکتین به شکل بالقوه‌ای می‌تواند اثرات مضر ناشی از فلزات سنگین را کاهش دهد.

کلمات کلیدی: فلزات سنگین، جاذب زیستی، کپور معمولی، بیوشیمی خون، پکتین

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mohiseni@gmail.com

مقدمه

امروزه به‌علت فعالیت‌های گسترده صنعتی، پساب‌های کشاورزی و فاضلاب‌های شهری، مقادیر زیادی از آلاینده‌های شیمیایی از قبیل آفت‌کش‌ها، فرآورده‌های نفتی و فلزات سنگین وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شوند که این آلاینده‌ها برای محیط‌های آبی بیگانه و زیان‌آور محسوب می‌شود و اغلب بدون هیچ تصفیه‌ای به آب‌ها رها می‌شوند. در این میان، آلودگی فلزات سنگین به‌دلیل غیرقابل تجزیه بودن اغلب این مواد و پایداری آن‌ها در محیط زیست، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. استخراج معادن و کاربرد گسترده فلزات سنگین در صنایع باعث شده است که غلظت این فلزات در آب، هوا و خاک به بیش‌تر از مقادیر زمینه‌ای افزایش پیدا کند و همواره تهدیدی برای سلامتی انسان به‌شمار برود. بنابراین حذف این آلاینده‌ها از دیدگاه بهداشت عمومی و محیط‌زیست بسیار ضروری است(فولادی‌فرد، ۱۳۸۷).درمیان فلزات سنگین، کادمیم یک فلز غیرضروری و سمی است و به‌عنوان ماده‌ای سرطان‌زا شناخته شده، بنابراین همواره در کانون توجه قرار داشته است. این فلز به‌دلیل خاصیت تجمع‌پذیری، وارد زنجیره غذایی شده و با اتصال به آنزیم‌ها سبب غیرفعال شدن آن‌ها می‌شود. کادمیم هم‌چنین می‌تواند جایگزین فلزات ضروری در ساختار بیومولکول‌ها گردد و با تغییر در ساختار آن‌ها و اثر بر عملکردشان سبب اختلال در عملکردهای متابولیسمی بدن می‌شود (Almeida و همکاران، ۲۰۰۲). تغییرات ایجادشده در شاخص‌های خونی اغلب به تغییرات محیطی وابسته است به‌همین دلیل بررسی اثرات آلاینده‌ها برشاخص‌های خونی در آبزیان به‌طور گسترده‌ای در بازبینی آلودگی‌های محیطی و تحقیقاتی که در این رابطه انجام می‌شود مورداستفاده قرار می‌گیرند(Sathya و همکاران، ۲۰۱۱). هریک از آلاینده‌ها پس از ورود به چرخه‌های زیستی آثار مشخصی از خود بر جای گذاشته و باعث اختلال در عملکرد طبیعی موجود زنده می‌شوند. کادمیم همانند بسیاری از فلزات سنگین دیگر با عناصری نظیر آهن، روی، مس و کلسیم بر سر ورود به سلول و اتصال به جایگاه فعال پروتئین‌ها رقابت می‌کند. عملکرد استرسی این فلز موجب اختلال در عملکرد و یا سنتز برخی پروتئین‌ها نظیر لاکتات دهیدروژناز و فسفوفروکتوکیناز شده و فرآیند گلیکولیز را به تاخیر می‌اندازد. این مسئله هم‌چنین می‌تواند بر میزان ذخایر گلیکوژنی و هم‌چنین سطوح لیپیدهای مهم بدن موجود نیز تاثیرگذار باشد (Sobha و همکاران، ۲۰۰۷). کادمیم هم‌چنین پس از ورود به بدن در بافت‌های فعال تجمع پیدا کرده و با توجه به ماهیت سمی خود، موجب بروز آسیب به سلول‌های کبدی می‌گردد. در نتیجه فرآیند تخریب سلولی، آنزیم‌های درون سلولی نظیر ALT، AST و LDH از طریق سیتوسول سلولی به جریان خون نشت پیدا کرده که این مسئله افزایش سطح این آنزیم‌ها را در خون به‌دنبال خواهد داشت. از این‌رو افزایش سطح این آنزیم‌ها در خون می‌تواند به‌عنوان آسیب به سلول‌های کبدی در جانوران تلقی گردد (Mohiseni و همکاران، ۲۰۱۶). آلاینده‌هایی مانند فلزات سنگین می‌توانند زنگ خطری برای تلاش بیش‌تر در جهت جلوگیری از ورود آلاینده‌ها به محیط زیست و حذف آن‌ها از بدن موجودات زنده گیاهی و جانوری که به‌عنوان منابع غذایی مورد استفاده بشر قرار می‌گیرند (Wright و Welbourn، ۲۰۰۲). بر همین اساس جهت حفظ سلامت آبزی و هم‌چنین مصرف‌کننده نهایی، لزوم عرضه و ارائه محصولات سالم و عاری از هرگونه آلودگی امری ضروری است. در این خصوص و جهت ارتقاء سطح سلامت آبزی و هم‌چنین بهبود کیفیت و امنیت محصول تولیدی استفاده از ترکیبات زیستی متداول شده است. با توجه به این‌که امروزه رویکرد جهان به استفاده از ترکیبات طبیعی جهت پیشگیری و درمان است، استفاده از ترکیباتی که بتوانند به نوعی نقش پیشگیرانه در جذب و متعاقباً بروز اثرات سمی آلاینده‌ها داشته باشند، جنبه جدیدی است که اخیراً در تحقیقات مورد توجه قرار گرفته است. برخی مواد طبیعی با عنوان جاذب‌های زیستی شناسایی شده‌اند که دارای ویژگی‌های بالایی در جذب آلاینده‌های شیمیایی هستند و در کاهش قابلیت دسترسی زیستی آن‌ها موثر هستند و در نتیجه مانع جذب آلاینده‌ها و متعاقباً بروز آسیب به آبزیان می‌شوند (Crini و Badot، ۲۰۰۸). روش‌های مختلفی جهت حذف فلزات سنگین از آب وجود دارد که از آن جمله می‌توان به‌روش‌هایی هم‌چون ترسیب،انعقاد، الکترودیالیز، الکتروکواگولاسیون، اسمز معکوس، تبخیر و فیلتراسیون اشاره کرد که معایبی ازجمله هزینه بالا، تولید مقادیر زیاد لجن و ... را در پی دارند. به‌دلیل کارایی پایین و مقرون به‌صرفه نبودن بسیاری از روش‌های فیزیکی و شیمیایی برای حذف یون‌های فلزی، معرفی و استفاده از روش‌های ساده، ارزان و کارآمد برای حذف یون‌های فلزی ضروری است(Schiewer و همکاران، ۲۰۰۸). امروزه استفاده از جاذب‌های زیستی نظیر برخی از گونه‌های باکتریایی، قارچ‌ها و هم‌چنین ترکیبات طبیعی نظیر کیتوزان و پکتین به‌عنوان یک رویکرد جدید در جهت حذف فلزات سنگین مطرح شده است (Kaveeshwar و همکاران، ۲۰۱۷). پکتین به گروهی از ترکیبات پلی‌ساکاریدی با ارزش گفته شده که در دیواره سلولی گیاهان غیرچوبی یافت می‌شود و از جاذب‌های زیستی محسوب می‌شود

که با خاصیت ژله‌ای خود، فلزات سنگین را احاطه می‌کند و مانع از جذب آن‌ها می‌شود (Eliaz، ۲۰۰۷). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که پکتین توانایی بالایی در جذب فلزات سنگین و حذف آن از پیکره آبی دارند به‌نحوی که حتی از آن جهت تصفیه فاضلاب استفاده شده و از این‌رو به‌عنوان یک جاذب زیستی با پتانسیل بالا از آن یاد شده است (Mata و همکاران، ۲۰۱۰). در ارتباط با استفاده از چنین ترکیباتی در موجودات زنده اطلاعات مختصری در دسترس است. به‌عنوان نمونه از پکتین به‌عنوان یک داروی موثر در درمان مسمومیت در انسان (Eliaz و همکاران، ۲۰۰۷) و موش صحرایی (Dalia، ۲۰۱۰) نیز به شکل موفقی استفاده شده است. این پژوهش سعی دارد تاثیر پکتین را بر بهبود پارامترهای بیوشیمیایی خون‌ماهی کپورمعمولی در مواجهه با فلز سنگین کادمیم مورد ارزیابی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

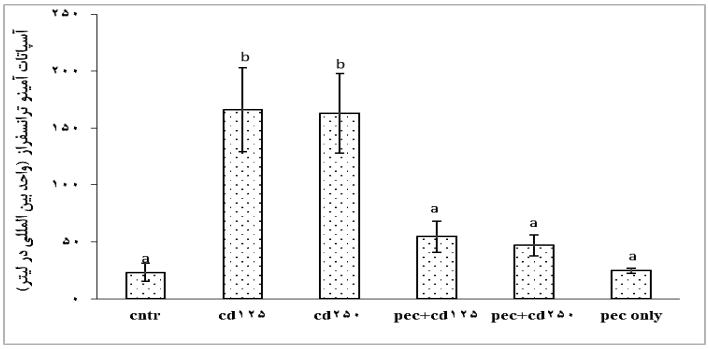
طرح آزمایش: تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی کپورمعمولی (۷±۳۷/۵گرمی) در ۱۲ مخزن پلاستیکی ۳۰۰ لیتری (۱۵ عدد ماهی در هر مخزن) مجهز به هواده با تعویض روزانه ۳۰ درصدی آب توزیع گردید. پیش از شروع آزمایش، ماهیان به‌مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاهی (دمای آب ۲±۲۴ سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی،۱۰ ساعت تاریکی، اکسیژن ۱±۶ میلی‌گرم در لیتر، pH:۷/۶±۰/۲) سازگار گردیدند. در طی دوره سازگاری ماهیان با جیره تجاری کپور به‌صورت دو بار در روز و معادل ۳٪ وزن بدن تغذیه شدند. جهت استخراج پکتین از پوست پرتقال و مطابق با روش Kratchanova و همکاران (۲۰۰۴) صورت گرفت. پس از استخراج بر مبنای مطالعات موجود به مقدار ۰/۵ درصد از کل جیره غذایی (۵ گرم در هر کیلوگرم خوراک) از پکتین استخراج شده به‌عنوان افزودنی اضافه گردید (Wagner و Thomas، ۱۹۷۷؛ Dalia، ۲۰۱۰). ۶ تیمار آزمایشی شامل ماهیانی گروه شاهد (cntr) که تنها با خوراک پایه بدون هیچ‌گونه افزودنی، ماهیانی گروه دوم (Cd125) که با ۱۲۵ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم غذا، ماهیانی گروه سوم(Cd250) با ۲۵۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم غذا، گروه چهارم (pec+cd125) با ۰/۵درصد پکتین و ۱۲۵ میلی‌گرم کادمیم، گروه پنجم(pec+cd250) با ۰/۵درصد پکتین و ۲۵۰ میلی‌گرم کادمیم و ماهیان گروه ششم(pec only) تنها با ۰/۵درصد پکتین تغذیه شدند. غلظت‌های خوراکی کادمیم با استفاده از نمک مونوهیدرات کلرید کادمیم(CdCl2.1H2O)(Merck,Germany) و براساس غلظت‌های زیرکشنده خوراکی استفاده شده در مطالعات قبلی انتخاب شدند (Chowdhury و همکاران، ۲۰۰۵؛ Reynders و همکاران، ۲۰۰۶). افزودنی‌های یاد شده به خوراک پایه آسیاب شده کپور مخلوط و سپس توسط چرخ گوشت با قطر تقریبی ۳ میلی‌متر به‌صورت رشته درآمدند و در اندازه مناسب خرد شدند.

خونگیری و سنجش پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما: پس از دوره ۲۱ روزه آزمایش و تغذیه ماهیان با جیره‌های معرفی شده، سه عدد ماهی از هر مخزن به‌صورت تصادفی گرفته شد و پس از بی‌هوش نمودن آن‌ها با محلول پودر گل میخک، به‌وسیله سرنگ آغشته به ماده ضدانعقاد هپارین، خونگیری از ساقه دمی آن‌ها انجام شد و نمونه‌های خونی به میکروتیوب آغشته شده به هپارین انتقال داده شدند. پلاسمای نمونه‌های خونی در دستگاه سانتریوفیوژ در دور ۴۰۰۰ rpm و به‌مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون با استفاده از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون و به‌روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت. سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (AST) پلاسما براساس مقدار مصرف NADPH و تبدیل آن به +NAD در طول موج ۳۴۰ نانومتر، آلکالین فسفاتاز (ALP) براساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات و در طول موج ۴۰۵ نانومتر (Moss و Hendeson، ۱۹۹۹)، سطح پروتئین تام پلاسما براساس واکنش بایوره و در طول موج ۵۴۰ نانومتر، آلبومین پلاسما براساس واکنش برموکرزول گرین و در طول موج ۶۳۰ نانومتر، گلبولین پلاسما براساس نسبت آلبومین از پروتئین تام پلاسما (Johnson و همکاران، ۱۹۹۹)، تری‌گلیسرید بر مبنای روش آنزیمی-کالری‌متری و در طول موج ۵۱۰ نانومتر (Rifai و همکاران، ۱۹۹۹)، کراتینین براساس روش JAFFE در طول موج ۴۹۲ نانومتر (Johnson و همکاران، ۱۹۹۹)، گلوکز پلاسما براساس روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و در طول موج ۵۰۰ نانومتر، تعیین و براساس میزان جذب نوری OD و فرمول ارائه شده در دستورالعمل کیت‌ها محاسبه گردیدند.

تجزیه داده‌ها و آنالیز آماری: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی ساده انجام گرفت. نرمال بودن داده‌ها براساس آزمون Kolmogorov-Smirnov و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد. جهت مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون توکی استفاده‌شد. داده‌های آنالیز شده در قالب نمودار یا جدول به‌صورت (mean±SE) گزارش شدند.

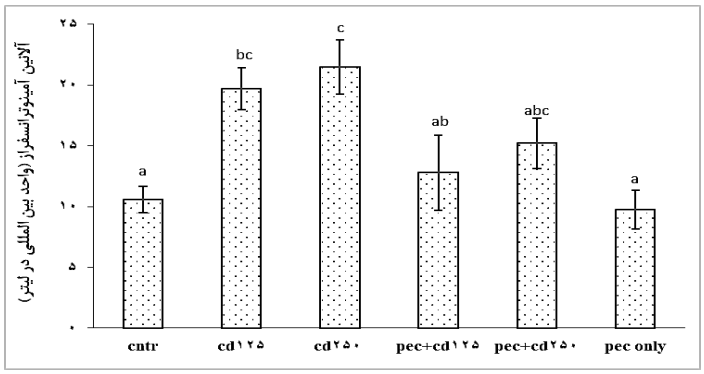
نتایج

تغییرات آنزیم‌های AST، ALT و ALP خون ماهیان در معرض کادمیم و نیز ماهیان تحت تیمار کمپلکس پکتین و کادمیم در شکل‌های ۱ تا ۳ نشان داده شده است. قرارگرفتن ماهیان در معرض کادمیم منجر به افزایش معنی‌داری در سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز نسبت به گروه شاهد گردید (P<۰/۰۵). از سوی دیگر تجویز هم‌زمان پکتین و کادمیم سبب کاهش معنی‌دار سطح فعالیت این آنزیم‌ها در مقایسه با گروه کادمیم به تنهایی و حفظ سطح آن‌ها در محدوده گروه شاهد شد(شکل ۱ و ۲). هم‌چنین نتایج نشان داد که سطح فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در خون ماهیان قرار گرفته در معرض کادمیم به تنهایی و کادمیم+پکتین در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۳). تغییرات مربوط به سطح متابولیت‌ها و فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما در جدول ۱ نشان داده شده است. سطح پروتئین کل و آلبومین پلاسما در گروه Cd250 نسبت به گروه شاهد به شکل معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵)، درخصوص سایر گروه‌های مورد بررسی تفاوتی دیده نشد. میزان گلوبولین پلاسما در تمامی گروه‌های آزمایشی بدون تغییر باقی ماند (P<۰/۰۵). همگام با افزایش غلظت خوراکی کادمیم در جیره غذایی، میزان کراتینین پلاسما افزایش یافت، اما تنها در مورد گروه Cd250 اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد دیده شد(P<۰/۰۵). سطح تری گلیسرید پلاسما نیز با افزایش غلظت کادمیم افزایش یافته و در این مورد نیز تنها در گروه Cd250 اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد دیده شد. تغذیه بچه‌ماهیان با خوراک حاوی کادمیم موجب افزایش میزان قند خون گردید اما در این مورد نیز تنها در مورد گروه Cd250 تغییر معنی‌دار نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵).



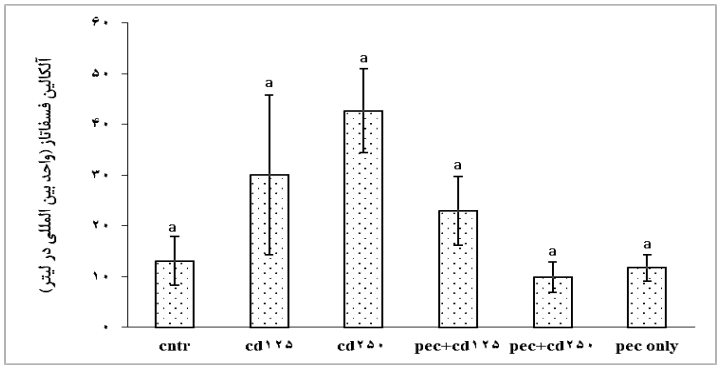
شکل ۱: تغییرات سطح فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در خون ماهیان در گروه‌های مختلف آزمایشی

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).



شکل ۲: تغییرات سطح فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در خون ماهیان در گروه‌های مختلف آزمایشی

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).



شکل ۳: تغییرات سطح فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز خون ماهیان در گروه‌های مختلف آزمایشی

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

جدول ۱: بررسی شاخص‌های پلاسمای خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپورمعمولی

	شاهد	Cd125	Cd250	Pec+cd125	Pec+cd250	Pec only
پروتئین کل (گرم در دسی‌لیتر)	۳/۷۱ ± /۷۲^{a}	۴/۹۲ ± /۲۵^{ab}	۵/۶۹ ± /۳۶^{b}	۴/۸۳ ± /۳^{ab}	۵/۳ ± /۲۶^{ab}	۴/۵۲± /۱۲^{ab}
آلبومین (گرم در دسی‌لیتر)	۲/۰۳ ± /۶۷^{a}	۳/۴۳ ± /۲۹^{ab}	۴/۲۶ ± /۳۶^{b}	۳/۳۲ ± /۳۹^{ab}	۳/۴۶ ± /۳۵^{ab}	۲/۸۶ ±/۰۱^{ab}
گلبولین (گرم در دسی‌لیتر)	۱/۶۸ ± /۱۱	۱/۴۸ ± /۲۶	۱/۴۲ ± /۱۱	۱/۵۱ ± /۰۹	۱/۸۳ ± /۱۰	۱/۶۵ ± /۱۲
کراتینین (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	/۷۴ ± /۲^{a}	۱/۳۴ ± /۱۸^{ab}	۱/۸۳ ± /۲۰^{b}	/۷۸ ± /۰۹^{a}	۱/۱۱ ± /۲۴^{ab}	/۶۰ ± /۲۰^{a}
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۰۶/۳ ± ۸/۵^{ab}	۲۰۳/۵±۲۵/۴^{bc}	۲۴۷/۵ ± ۳۹/۲^{c}	۱۳۹ ± ۲۳/۳^{ab}	۱۸۹/۶±۲۲/۸^{abc}	۹۳/۶ ۶±/۱۴^{a}
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۹۷/۲ ± ۱۰/۲^{ab}	۱۳۵/۳ ± ۹/۹^{ab}	۱۵۲/۶ ± ۱۴/۰۹^{b}	۱۱۲/۶ ±۲۳/۴^{ab}	۱۱۲/۱ ± ۶/۹^{ab}	۸۷/۱±۱۴/۹^{a}

بحث

عوامل استرس‌زای محیطی ازجمله فلزات سنگین باعث تغییر سطح پارامترهای بیوشیمیایی ازجمله آنزیم‌ها در بدن جانوران می‌شوند. شواهد زیادی حاکی از تغییر پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهیان مختلف تحت تأثیر فلزات سنگین می‌باشد(Baghshani و Shahsavani، ۲۰۱۳؛ Has-Schon و همکاران، ۲۰۱۵). آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز به‌طور متداول جهت تشخیص آسیب بافت‌های ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. هم‌چنین این آنزیم‌ها می‌توانند به‌طور حساسی میزان آلودگی محیط و سمیت ناشی از فلزات سنگین را قبل از بروز اثرات خطرناک نشان دهند(Oner و همکاران، ۲۰۰۹). در این مطالعه، افزایش سطح فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در تیمارهای قرار گرفته در معرض کادمیم نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. درصورتی‌که میزان فعالیت این آنزیم‌ها در گروه‌های تغذیه شده با پکتین اختلافی با گروه شاهد نداشتند. مشابه نتایج مطالعه حاضر، افزایش فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در موش صحرایی به‌علت مواجهه با سرب و بهبود معنی‌دار این آنزیم‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده پکتین نیز گزارش شده است (Othman و همکاران، ۱۹۹۸؛ Sivaprasad و همکاران، ۲۰۰۳؛ Shalana و همکاران، ۲۰۰۵؛ Dalia، ۲۰۱۰). افزایش سطح فعالیت AST و ALT در پلاسما ماهیان می‌تواند مکانیسمی برای تأمین انرژی سلول‌ها برای مقابله با سمیت ایجاد شده دراثر تماس با کادمیم باشد. هم‌چنین مواجهه با کادمیم با ایجاد آسیب سلول‌های کبدی موجب نشت آنزیم‌های یاد شده به‌درون خون می‌گردد(Mekkawy و همکاران، ۲۰۱۱).تجویز پکتین به ماهیان تحت تیمار کادمیم موجب بازگشت فعالیت آنزیم‌های AST و ALT به سطح نرمال گردید. پروتئین‌های پلاسما توسط کبد سنتز شده و مهم‌ترین ماده آلی مورد نیاز جهت ساخت و نوسازی بافت‌ها است و نقش مهمی در تامین انرژی برای ماهیان ایفا می‌کند (Binukumari و همکاران، ۲۰۱۶). در بسیاری از بیماری‌ها و اختلالات فیزیولوژیکی بخشی از پروتئین‌های پلاسما به سرعت از بدن دفع می‌شوند. هر گاه غلظت اسیدهای آمینه پلاسما از مقدار طبیعی کم‌تر شود اسیدهای آمینه به خارج از سلول‌ها انتقال داده می‌شوند، تا غلظت اسیدهای آمینه پلاسما را به حد طبیعی بازگردانند و درصورتی‌که بافت‌ها از پروتئین تهی شوند، پروتئین‌های پلاسما می‌توانند به‌عنوان منبعی برای جایگزینی سریع پروتئین‌های بافتی از اهمیت به‌سزایی برخوردار باشند (شادان، ۱۳۷۸). مطابق با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، سطح پروتئین کل پلاسما در ماهیانی تغذیه شده با کادمیم افزایش یافت. افزایش معنی‌دار پروتئین پلاسمای خون در ماهیانی که در معرض کادمیم و مس قرار گرفته‌اند، گزارش شده است (سلطانی و خوشباوررستمی، ۱۳۸۱). هم‌چنین افزایش سطح پروتئین‌های پلاسما در موش‌های مواجهه شده با سرب در مطالعه Dalia و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده شد. از طرفی ارتباط نزدیک میزان پروتئین کل پلاسما در گروه‌های دریافت‌کننده جیره حاوی کادمیم و پکتین با گروه شاهداز اثرات مثبت پکتین به‌نظر می‌رسد. افزایش سطح پروتئین کل پلاسما می‌تواند به دلیل بروز آسیب بافتی وارده به بافت‌های فعالی نظیر کبد و کلیه مرتبط باشد (Mohiseni و همکاران، ۲۰۱۶). کاهش میزان پروتئین بافتی و ازسوی دیگر افزایش سطح پروتئین کل پلاسما به‌نظر پاسخی در جهت تامین انرژی مورد نیاز برای مقابله با بروز شرایط استرسی می‌باشد (De Smet و Blust، ۲۰۰۱). آلبومین پلاسما مهم‌ترین پروتئین خارج سلولی است که توسط سلول‌های کبدی سنتز می‌شود و از این‌رو شاخص مناسبی برای بررسی عملکرد کبد محسوب می‌شود. غلظت آلبومین در خون نسبتاً بالا می‌باشد و به‌عنوان حامل بسیاری از داروها، هورمون‌ها و آلاینده‌ها عمل می‌کند. افزایش سطح آلبومین پلاسما در

ماهیان تحت تیمار کادمیم ممکن است به‌دلیل نقش آن در انتقال کادمیم به کبد جهت دفع کردن آن از بدن باشد (Mohiseni و همکاران، ۲۰۱۷). در تحقیق حاضر افزایش سطح تری‌گلیسرید در تیمار مواجهه شده با کادمیم مشاهده شد. در همین راستا افزایش معنی‌دار سطح فعالیت این آنزیم در ماهی کپورمعمولی در معرض کادمیم گزارش شده است (Mohiseni و همکاران، ۲۰۱۷). افزایش تری‌گلیسرید نشان دهنده اختلال در عملکرد کبد در متابولیسم لیپیدهاست. هم‌چنین کاهش هورمون‌های تیروئیدی تحت تاثیر فلزات سنگین می‌توانند موجب انباشته شدن تری‌گلیسرید در خون شود (Oner و همکاران، ۲۰۰۹). کراتینین یک محصول حاصل از کاتابولیک کراتین فسفات عضلانی است که در انقباض عضلات اسکلتی مورداستفاده قرار می‌گیرد. کراتینین عمدتاً در ماهیچه‌ها و به‌مقدار بسیار کم‌تر در کبد، کلیه‌ها و پاناکراس در نتیجه دهیدراسیون غیرآنزیمی و غیرقابل برگشت و هم‌چنین در پی حذف فسفات از کراتین فسفات تولید می‌شود و پس از آزاد شدن به‌داخل مایع خارج سلولی از طریق کلیه‌ها دفع می‌گردد (سبحانیان و ملک‌نیا، ۱۳۸۷). در این پژوهش سطح فعالیت کراتینین در تیمار قرار گرفته در معرض کادمیم افزایش یافته است. هم‌سو با نتایج این تحقیق، افزایش سطح کراتینین در ماهی کپور معمولی تحت تنش کادمیم در مطالعه Mohiseni و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده شد. هم‌چنین گزارشات علمی بیانگر افزایش کراتینین سرم خون به‌دلیل حضور فلز سنگین سرب است (Mohiseni و همکاران، ۲۰۱۶). افزایش در سطح کراتینین ممکن است به‌علت کاهش تصفیه گلومرولی و اختلال در عملکرد کلیه‌ها به‌دلیل نقش آن در دفع ترکیبات زاید باشد.

گلوکز غالباً به‌صورت گلیکوژن در کبد و عضلات ذخیره می‌شود. غلظت گلوکز در پلاسما به‌وسیله مکانیسم‌های پیچیده هورمون‌هایی نظیر گلوکاگون، انسولین، کورتیکواستروئیدها، اپی‌نفرین و تیروکسین تنظیم می‌شود. لذا هرگونه استرس محیطی، اختلالات کبدی و آسیب کلیوی می‌تواند سبب افزایش گلوکز پلاسما گردد (Agrahari و همکاران، ۲۰۰۷؛ John، ۲۰۰۷). در مطالعه حاضر، در ماهیان تغذیه شده با کادمیم شاهد افزایش سطح گلوکز پلاسما بودیم. درحالی‌که تغذیه ماهی با جیره حاوی پکتین توانسته سطح فعالیت این آنزیم را در محدوده طبیعی حفظ کند. گزارشات علمی موجود حاکی از رابطه مثبت بین افزایش غلظت کادمیوم در محیط و افزایش میزان گلوکز خون ماهی هستند (Firat و Kargin، ۲۰۱۰؛ Cicik و Engin، ۲۰۰۵). افزایش گلوکز پلاسما ماهی در معرض کادمیم ممکن است پاسخی به افزایش نیاز به انرژی برای مقابله با اثرات استرس ناشی از فلز کادمیم باشد. از طرفی افزایش سطح قند خون یا گلوکز خون نشان می‌دهد که متابولیسم گلوکز و چربی و نرخ تجزیه گلیکوژن در کبد دچار اختلال شده است (Acker و همکاران، ۲۰۱۲). نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از پکتین در جیره غذایی می‌تواند از بروز عوارض منفی ناشی از مواجهه با کادمیم در ماهی جلوگیری نماید. مطالعات نشان داده‌اند که پکتین پتانسیل بالایی در تشکیل پیوند با فلزات سنگین (به‌ویژه فلزات دو ظرفیتی) دارد (Schiewer و همکاران، ۲۰۰۸؛ Mata و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات نشان داده اند که هرچقدر وزن مولکولی و درجه استری پکتین پایین‌تر باشد، توانایی بالاتری را در جذب فلزات سنگین از بافت‌های جانوری از خود نشان می‌دهد. پکتین در دستگاه گوارش قابلیت ژلاته کردن فلزات را داشته و با احاطه کردن آن‌ها و تشکیل پیوند با این عناصر، دسترسی زیستی آن‌ها را به شکل قابل توجهی کاسته و مانع از جذب روده‌ای آن‌ها می‌گردد. هم‌چنین پکتین می‌تواند از طریق جریان خون به بافت‌ها مختلف بدن رفته و با مکانیسمی مشابه فلزات سنگین را جذب کرده و به شکل موثری در دفع آن‌ها از بدن ایفای نقش می‌کند. استفاده از پکتین در خوراک موش آزمایشگاهی مسموم شده با سرب، افزایش دفع این ترکیب را در مدفوع این جانور به‌دنبال داشته و از اثرات مضر ناشی از مسمومیت با سرب جلوگیری نموده است (Dalia، ۲۰۱۰). عملکرد موثر پکتین در جلوگیری از تشکیل تومور و متاستاز سلولی در مدل‌های جانوری نیز گزارش شده است (Eliaz و همکاران، ۲۰۰۷). هم‌چنین در انسان مطالعات کلینیکی بر تاثیر مثبت این ماده در جلوگیری از سیر پیشرفت سرطان پروستات تاکید کرده اند (Guess و همکاران، ۲۰۰۳). از سوی دیگر مطالعات نشان داده‌اند که جذب و متعاقباً دفع فلزات سنگین از بافت‌های جانوری توسط پکتین هیچ‌گونه اختلالی در روند جذب و متابولیسم مواد معدنی ضروری ایجاد نمی‌کند (Eliaz و همکاران، ۲۰۰۷). با توجه به یافته‌های علمی موجود و خصوصیات شیمیایی پکتین به‌عنوان یک جاذب زیستی موثر، کاهش اثرات ناشی از تغذیه ماهیانی آلوده با کادمیم در این مطالعه را می‌توان به توانایی این ترکیب در جذب کادمیم در دستگاه گوارش و جلوگیری از جذب روده‌ای آن نسبت داد. ارزیابی پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور در معرض کادمیم نشان داد که وجود کادمیم در جیره غذایی می‌تواند به شکل نامطلوبی موجب تغییر پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی کپورمعمولی گردد. علی‌رغم وجود توام کادمیم و پکتین در جیره غذایی این ماهی عوارض ناشی از مواجهه با کادمیم را نشان نداد. بنابراین براساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، می‌توان چنین اذعان کرد که

تجویز پکتین می‌تواند از شدت مسمومیت ماهیانی قرار گرفته‌در معرض کادمیم بکاهد.

منابع

۱. **سبحانیان، خ. و ملک‌نیا، ن.، ۱۳۸۷.** ترجمه ویرایش ۲۷ بیوشیمی مصور هارپر (موری، ر.ک.، گرانر، د.ک.، رادول، و.)، چاپ سوم، انتشارات ارجمند. ۷۹۲ صفحه.

۲. **سلطانی، م. و خوشباور رستمی، ح.، ۱۳۸۱.** مطالعه اثر دیازینون بر برخی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی چالباش(*Acipenser guldunstadi*). مجله علوم و فنون دریایی ایران. جلد ۱، شماره ۴. صفحات ۶۵ تا ۷۵.

۳. **فولادی‌فرد، ر. و عظیمی، ع.،۱۳۸۷.** ارزیابی تمایل جذب فلزات نیکل و کادمیم توسط توده زیستی حاصل از لجن فاضلاب در مقایسه با دیگر جاذب‌ها، علوم و تکنولوژی محیط زیست. دوره ۱۶، شماره ۳، صفحات ۳۵ تا ۴۹.

۴. **Acker, C.I. and Nogueira, C.W., 2012.** Chlorpyrifos acute exposure induces hyperglycemia and hyperlipidemia in rats. Chemosphere. Vol. 89, pp: 602-608.

۵. **Agrahari, S.; Pandey, K.C. and Gopal, K., 2007.** Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 88, pp: 268-272.

۶. **Almeida, J.; Diniz, Y.; Marques, S.; Faine, L.; Ribas, B.; Burneiko, R. and Novelli, E., 2002.** The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. Environment International. Vol. 27, pp: 673-679.

۷. **Andrews, S.R.; Sahu, N.P.; Pal, A.K. and Kumar, S., 2009.** Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. Aquaculture Research. Vol. 41, pp: 61-69.

۸. **Baghshani, H. and Shahsavani, D., 2013.** Effects of lead acetate exposure on metabolic enzyme activities in selected tissues of common carp (*Cyprinus carpio*). Comparative Clinical Pathology. Vol. 22, pp: 903-907.

۹. **Berrahal, A.A.; Nehdi, A.; Hajjaji, N.; Gharbi, N. and El Fazâa, S., 2007.** Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead. Comptes Rendus Biologies. Vol. 330, pp: 581-588.

۱۰. **Binukumari, S.; Devi, K.A. and Vasanthi, J., 2016.** Applications in environmental risk assessment of biochemical analysis on the Indian fresh water fish, *Labeo rohita* exposed to monocrotophos pesticide. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 47, pp: 200-205.

۱۱. **Chowdhury, M.; Baldisserotto, B. and Wood, C., 2005.** Tissue-specific cadmium and metallothionein levels in rainbow trout chronically acclimated to waterborne or dietary cadmium. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 48, pp: 381-390.

۱۲. **Cicik, B. and Engin, K., 2005.** The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, Vol. 29, pp: 113-117.

۱۳. **Crini, G. and Badot, P.M., 2008.** Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: a review of recent literature. Progress in Polymer Science. Vol. 33, pp: 399-447.

۱۴. **Dalia, M., 2010.** Effect of using pectin on lead toxicity. Journal of American Science. Vol. 6, pp: 541-554.

۱۵. **De Smet, H. and Blust, R., 2001.** Stress responses and changes in protein metabolism in carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure. Ecotoxicology and environmental safety. Vol. 48, pp: 255-262.

۱۶. **Eliaz, I.; Weil, E. and Wilk, B., 2007.** Integrative medicine and the role of modified citrus pectin/alginates in heavy metal chelation and detoxification five case reports. Complementary Medicine Research. Vol. 14, pp: 358-64.

۱۷. **Firat, Ö. and Kargın, F., 2010.** Biochemical alterations induced by Zn and Cd individually or in combination in the serum of *Oreochromis niloticus*. Fish physiology and biochemistry. Vol. 36, pp: 647-653.

۱۸. **Guess, B.; Scholz, M.; Strum, S.; Lam, R.; Johnson, H. and Jennrich, R., 2003.** Modified citrus pectin (MCP) increases the prostate-specific antigen doubling time in men with prostate cancer: a phase II pilot study. Prostate Cancer and Prostatic Diseases. Vol. 6, pp: 301-304.

۱۹. **Has-Schön, E.; Bogut, I.; Vuković, R.; Galović, D.; Bogut, A. and Horvatić, J., 2015.** Distribution and age-related bioaccumulation of lead (Pb), mercury (Hg), cadmium (Cd), and arsenic (As) in tissues of common carp (*Cyprinus carpio*) and European catfish (*Sylurus glanis*) from the Buško Blato reservoir (Bosnia and Herzegovina). Chemosphere. Vol. 135, pp: 289-296.

۲۰. **John, P.J., 2007.** Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. Fish physiology and Biochemistry. Vol. 33, pp: 15-20.

۲۱. **Johnson, A.M.; Rohlfs, E.M. and Silverman, L.M., 1999.** Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical Chemistry. 3 rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. pp: 477-540.

۲۲. **Kaveeshwar, A.R.; Sanders, M.; Ponnusamy, S.K.; Depan, D. and Subramaniam, R., 2017.** Chitosan as a biosorbent for adsorption of iron (II) from fracking wastewater. Polymers for Advanced Technologies. Vol. 28, pp: 1-9.

۲۳. **Mata, Y.; Blázquez, M.; Ballester, A.; González, F. and Muñoz, J., 2010.** Studies on sorption, desorption, regeneration and reuse of sugar-beet pectin gels for heavy metal removal. Journal of Hazardous Materials. Vol. 178, pp: 243-248.

۲۴. **Mekkawy, I.A.; Mahmoud, U.M.; Wassif, E.T. and Naguib, M., 2011.** Effects of cadmium on some haematological and biochemical characteristics of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) dietary supplemented with tomato paste and vitamin E. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 37, pp: 71-84.

۲۵. **Mohiseni, M.; Asayesh, S.; Shafiee Bazarnoie, S.; Mohseni, F.; Moradi, N.; Matouri, M. and Mirzaee, N., 2016.** Biochemical Alteration Induced by Cadmium and Lead in Common Carp via an Experimental Food Chain. Iranian Journal of Toxicology. Vol. 10, pp: 25-32.

۲۶. **Mohiseni, M.; Sepidnameh, M.; Bagheri, D.; Banaee, M. and Nematdust Haghi, B., 2017.** Comparative effects of Shirazi thyme and vitamin E on some growth and plasma biochemical changes in common carp (*Cyprinus carpio*) during cadmium exposure. Aquaculture Research. Vol. 48, pp: 4811-4821.

۲۷. **Moss, D. and Henderson, A., 1999**. Clinical enzymology in TITETZ textbook of clinical chemistry. In Textbook of clinical chemistry, eds. C. Burits and E. Ashwood, Philadelphia: WB Saunders Company. pp: 671-673.

۲۸. **Öner, M.; Atli, G. and Canli, M., 2009.** Effects of metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures on some enzymatic and non-enzymatic indicators in the liver of *Oreochromis niloticus*. Bulletin of environmental contamination and toxicology. Vol. 82, pp: 317-325.

۲۹. **Othman, A.I. and El-Missiry, M.A., 1998.** Role of selenium against lead toxicity in male rats. Journal of Biochemistry and Molecular Toxicology. Vol. 12, pp: 345-349.

۳۰. **Reynders, H.; Van Campenhout, K.; Bervoets, L.; De Coen, W.M. and Blust, R., 2006.** Dynamics of cadmium accumulation and effects in common carp (*Cyprinus carpio*) during simultaneous exposure to water and food (*Tubifex tubifex*). Environmental Toxicology and Chemistry. Vol. 25, pp: 1558-1567.

۳۱. **Rifai, N.; Bachorik, Z.L. and Albers, J.J., 1999.** Lipids, lipoproteins and apolipoproteins in: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp: 809-861.

۳۲. **Sathya, V.; Ramesh, M.; Poopal, R. and Dinesh, B., 2012.** Acute and sublethal effects in an Indian major carp *Cirrhinus mrigala* exposed to silver nitrate: Gill Na^+/ K^+-ATPase, plasma electrolytes and biochemical alterations. Fish and shellfish Immunology. Vol. 32, pp: 862-868.

۳۳. **Schiewer, S. and Patil, S.B., 2008.** Pectin-rich fruit wastes as biosorbents for heavy metal removal: equilibrium and kinetics. Bioresource Technology. Vol. 99, pp: 1896-1903.

۳۴. **Shalan, M.; Mostafa, M.; Hassouna, M.; El-Nabi, S.H. and El-Refaie, A., 2005.** Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements. Toxicology. Vol. 206, pp: 1-15.

۳۵. **Sivaprasad, R.; Nagaraj, M. and Varalakshmi, P., 2003.** Combined efficacies of lipoic acid and meso-2, 3-dimercaptosuccinic acid on lead-induced erythrocyte membrane lipid peroxidation and antioxidant status in rats. Human & Experimental Toxicology. Vol. 22, pp: 183-192.

۳۶. **Sobha, K.; Poornima, A.; Harini, P. and Veeraiah, K., 2007**. A study on biochemical changes in the fresh water fish, Catla catla (Hamilton) exposed to the heavy metal toxicant cadmium chloride. Kathmandu university journal of science, engineering and technology. Vol. 3, pp: 1-11.

۳۷. **Wagner, D.D. and Thomas, O., 1977.** A rye type growth depression of chicks fed pectin. Poultry Science. Vol. 56, pp: 615-619.

۳۸. **Wright, D.A., and Welbourn, P., 2002.** Environmental toxicology, Cambridge University Press, New York, First published, pp: 249-300.