

## مطالعه اثرات بنزوآلفاپایرن بر بافت‌های کلیوی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

عبدالعلی موحدی‌نیا<sup>۱\*</sup>، مهران لقمانی<sup>۲</sup>، سیداحمد قاسمی<sup>۳</sup>، عماد کوچک نژاد<sup>۴</sup>، منا ایزدیان<sup>۵</sup>،  
احسان اسفندیاری<sup>۶</sup>

- ۱- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
- ۲- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
- ۳- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
- ۴- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
- ۵- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
- ۶- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

### چکیده

بنزوآلفاپایرن یکی از ترکیبات مهم هیدروکربن‌های نفتی (PAHs) بوده که سرطان‌زا و دارای سمیت بالایی است. در این مطالعه، ۴۵ عدد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در ۲ تیمار با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و یک گروه شاهد، در ۳ تکرار به طور مساوی تقسیم شدند. برای مشاهده اثرات مستقیم، بنزوآلفاپایرن به حفره صفاقی نمونه‌ها تزریق شد. تاثیر این آلاینده در ۳ بازه زمانی شامل روز اول، روز سوم و روز هفتم بر اندام کلیه مورد مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفت. در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عوارض در بازه ۲۴ ساعت نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشهودتر بود. در طی بازه‌های زمانی دوم و سوم عوارض شدیدتری در هر دو غلظت مشاهده شد. عوارض مشاهده شده شامل هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های پوششی کیسول بومن، اتساع مویرگی گلمرولی و جدا شدن اپتلیوم از غشاء پایه بود و در مراحل شدید، نکروز سلول‌های توبولی، انسداد لومن لوله‌ای و خون در فضای کیسول بومن مشاهده شد. اندازه‌گیری قطر توبول‌ها اختلاف معنی‌داری را در بین غلظت‌های مختلف و در بازه‌های زمانی مختلف نشان داد ( $P < 0.05$ ). بر طبق نتایج، اندام کلیه در ماهی نسبت به غلظت‌های مختلف این آلاینده بسیار حساس و آسیب‌پذیر است و آلودگی شیمیایی محیط می‌تواند با کاهش پتانسیل فعالیت کلیه موجب کاهش بقای جانور شود.

**واژگان کلیدی:** هیدروکربن آروماتیک چندحلقه‌ای، هیستوپاتولوژی، کلیه، *Cyprinus carpio*

## مقدمه

عموما سوخت‌های فسیلی به ویژه نفت جزء منابع اصلی ورود هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک یا PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) به طبیعت محسوب می‌شوند و قابل ذکر است که حدود ۰/۳ تا ۷ درصد وزن نفت خام را هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای تشکیل می‌دهند (Cocchieri et al., 1990). معمولا رودخانه‌ها، خورها و آب‌های ساحلی بیش‌ترین میزان آلودگی را نسبت به آلاینده‌های PAH دارند (Collier et al., 1992; Myers et al., 1992). هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای ترکیباتی آلی با ۲ یا چند حلقه بنزنی و در بعضی مواقع حلقه‌های آروماتیک هستند. ترکیبات مختلفی از PAHs شناسایی شده است که در بین آن‌ها ۱۶ ترکیب از اهمیت بیش‌تری برخوردار است که یکی از مشتقات آن‌ها بنزوآلفاپایرن است. این ترکیب حتی در غلظت‌های کم هم به عنوان آلاینده مهم محیطی شناخته شده است و در طبقه‌بندی سازمان حفاظت محیطی آمریکا (EPA) به علت ویژگی‌های جهش‌زایی و سرطان‌زایی از آلاینده‌های سمی پرخطر محسوب می‌شود (Al-Hassan et al., 2003). اصولا این ترکیبات از نظر شیمیایی کاملا پایدار هستند و به خاطر حالت چربی دوستی به راحتی از غشاء زیستی عبور کرده، در اندام‌های جاندار تجمع می‌کنند (Catoggio, 1991). اساسا آسیب‌شناسی بافتی روشی است که مستقیما به مطالعه و مشاهده اثرات آلاینده در ساختمان سیستم موجود زنده می‌پردازد. در اندام‌هایی با جریان خون بالا، مثل کلیه و کبد، میزان زیادی از ترکیبات زنبوتیک تجمع می‌یابند (Pritchard, 1993). از ماهیان به عنوان شاخص‌های زیستی آلودگی محیط و همچنین برای ارزیابی کیفی محیط زیست آبی استفاده می‌شود (Lopes et al., 2001; Dautremepuits et al., 2004). در ماهیان استخوانی کلیه به همراه آبشش‌ها و کبد به عنوان اندام‌های مهم در حفظ هومئوستازی مایعات بدن محسوب می‌شوند (Hinton et al., 1992; Evans, 1993) و در کنار آن تولید اوره یک مسیر دفع آلاینده‌های مختلف است (Hinton et al., 1992). کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یک گونه مهم تجاری محسوب می‌شود که در جهان مصرف خوراکی زیادی دارد. به همین دلیل ارزیابی اثرات آلودگی‌ها در محیط زیست آن‌ها می‌تواند مفید باشد. مطالعات تغییرات بافتی اندام‌های ماهی یک روش کاربردی برای ارزیابی اثرات آلاینده‌های مختلف به شمار می‌رود. بنابراین در این مطالعه اثرات غلظت‌های مختلف بنزوآلفاپایرن

که یکی از مشتقات مهم PAHs است بر روی بافت کلیه ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

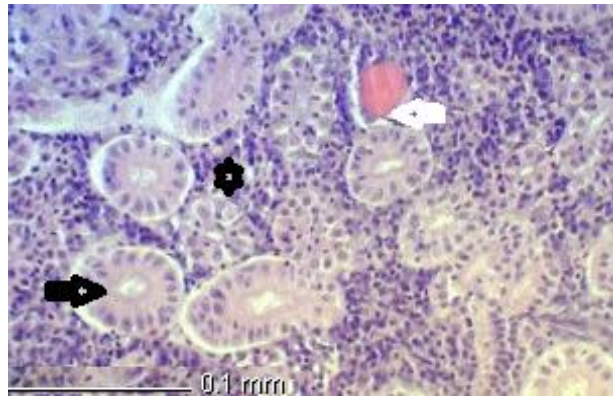
ماهی کپور با طول ۱۵ الی ۲۰ سانتی‌متر به آزمایشگاه فیزیولوژی آبزیان دانشگاه علوم فنون دریایی خرمشهر انتقال یافت. این ماهیان در ۹ تانک ۷۰ لیتری به تعداد ۵ عدد در هر تانک به مدت یک هفته با شرایط جدید سازگار شدند. سپس یک گروه شاهد و دو گروه تیمار تعیین شد. به ماهیان گروه شاهد تزریق صورت نگرفت. به ماهیان گروه اول، بنزوالفاپایرن (حل شده در روغن نارگیل ۱۰ mg/mL) با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به ماهیان گروه دوم، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، تزریق شد. نمونه‌برداری در زمان‌های ۲۴، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت پس از تزریق انجام شد.

در مرحله بعد، نمونه‌های بافتی کلیه در هر مقطع زمانی خارج و در محلول بوئن فیکس شدند. سپس نمونه‌ها تا شروع کارهای بافتی، در الکل ۷۰٪ نگهداری شدند. برای انجام کارهای بافت‌شناسی از دستگاه هیستوکینت (مدل RX—11B, Tissue tek Rotary, Japan) استفاده شد. آبیگری نمونه‌ها با استفاده از سری افزایشی اتانول صورت گرفت که در ادامه نمونه‌ها برای شفاف‌سازی به محلول گزیلول و سپس ظروف حاوی پارافین مذاب انتقال داده شدند. برش‌گیری نمونه‌ها پس از قالب‌گیری با میکروتوم نیمه دیجیتال (مدل Leica- RM2245 ساخت آلمان) به ضخامت ۵ میکرون انجام گرفت. لام‌های آماده شده به وسیله هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. سپس با میکروسوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتال با بزرگنمایی‌های متفاوت مورد بررسی بافت‌شناختی قرار گرفتند.

### نتایج

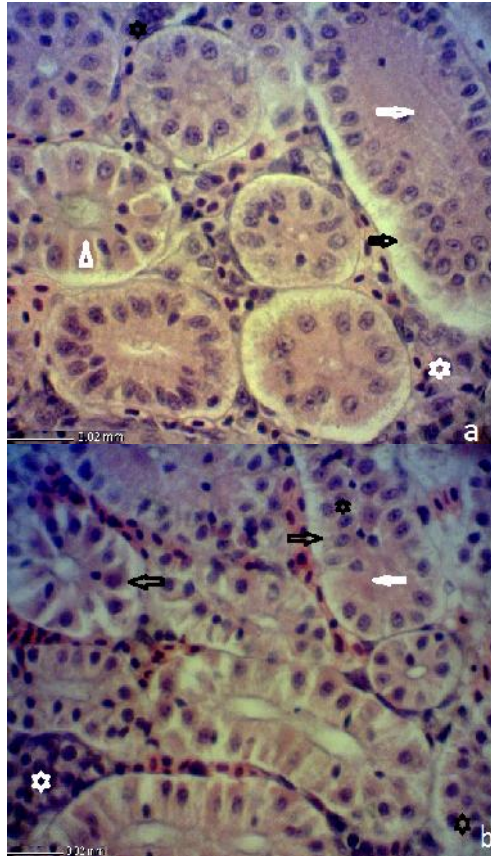
مطالعات ساختار بافتی نشان داد که در ماهی کپور معمولی نفرون‌ها از گلومرول، توبول‌های پروکسیمال، توبول‌های دیستال و توبول‌های جمع‌کننده تشکیل شده‌اند. خود گلومرول از فضای بومن (Bowman's Space)، سلول‌های مزانژیال (Mesangial Cell)، سلول‌های اندوتلیال

(Endothelial Cell)، اپیتلیوم احشایی کپسول کلیوی (Visceral Epithelium of the Renal Capsule) و اپیتلیوم جداری کپسول کلیوی (Parietal epithelium of the renal capsule)، سلول‌های پودوسیت، مویرگ‌ها تشکیل شده است. در شکل ۱ برخی از اجزاء عمومی ساختمان کلیه در ماهی کپور معمولی نشان داده شده است.



شکل ۱: تصویر میکروسکوپی ساختار طبیعی بافت کلیه ماهی کپور معمولی؛ جسمک کلیوی (پیکان سفید)، لوله‌های ادراری (پیکان سیاه)، بافت همبند کلیوی (ستاره سیاه).

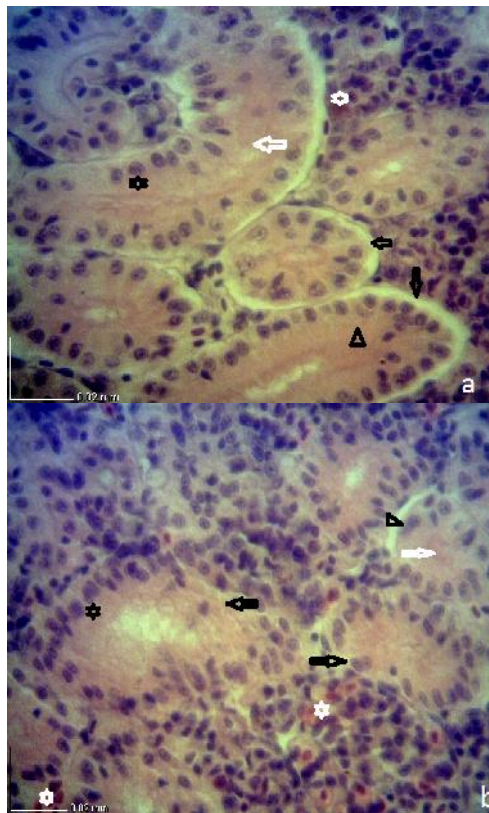
عوارض هیستوپاتولوژیکی ناشی از قرار گرفتن در معرض آلاینده بنزوالفاپایرن در بافت کلیه ماهی کپور در غلظت‌های مختلف و در زمان‌های متفاوت به شرح زیر است: در طول مدت مطالعه نمونه‌های شاهد همواره ساختار طبیعی اولیه خود را حفظ کردند و در آن‌ها تغییرات بافت‌شناختی مشاهده نشد. در دامنه زمانی اول یعنی ۲۴ ساعت، در هر دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عوارض تقریباً مشابهی از نظر نوع عارضه مشاهده شد ولی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وسعت یا میزان این نوع عوارض بیش‌تر از غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. عوارض بافت‌شناختی مشاهده شده شامل: جداشدن اپیتلیوم از غشای پایه توبول‌ها، هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های کپسول بومن و توبولی، کاهش فضای لومن، اتساع مویرگی، افزایش تجمعات ملانوفازی بود (شکل ۲).



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپی از تغییرات بافتی کلیه ماهی کپور معمولی در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در محدوده زمانی ۲۴ ساعت. (a) غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم: جداسدن لایه اپیتلیومی از غشاء پایه (پیکان سیاه)، کاهش فضای لومن (پیکان سفید)، اتساع مویرگی (ستاره سیاه)، تجمعات ملانوفازی (ستاره سفید)، هیپرتروفی هسته (نوک پیکان سفید). (b) غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم: جداسدن لایه اپیتلیومی از غشای پایه (پیکان سیاه)، کاهش فضای لومن (پیکان سفید)، تجمعات ملانوماکروفاژی (ستاره سفید)، هیپرتروفی هسته (ستاره سیاه). H&E, 40×.

در محدوده زمانی دوم (۷۲ ساعت) در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در بررسی بافت‌شناسی کلیه عوارضی از قبیل جداسدن اپتلیوم از غشای پایه، هیپرتروفی و هیپرپلازی توپول‌ها، تجمعات ملانوماکروفاژی، ضخیم شدن غشای پایه توپول و کاهش فضای لومن مشاهده

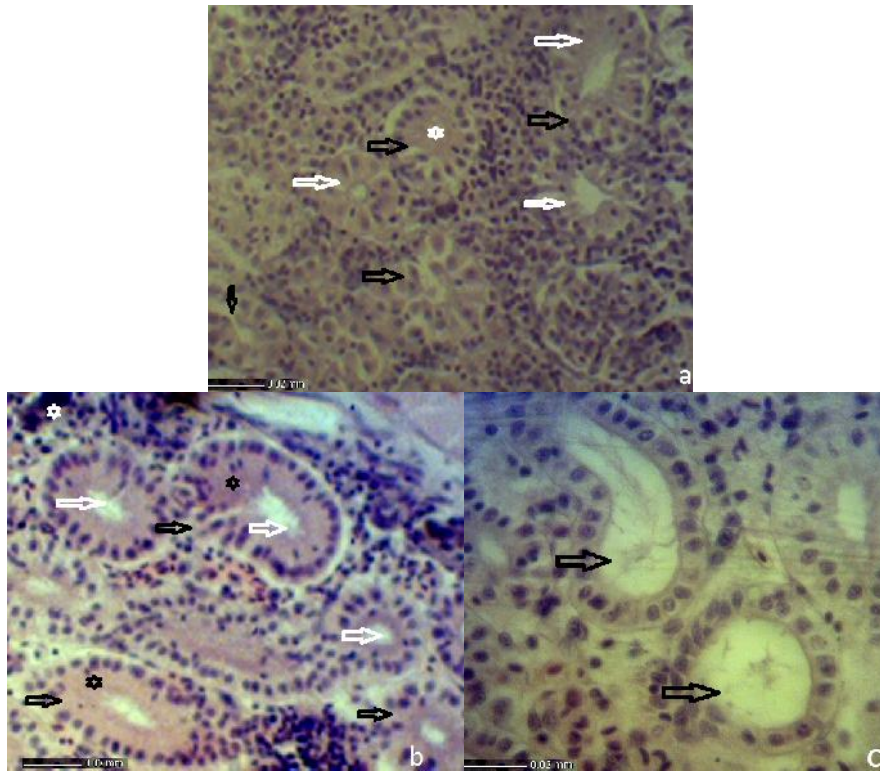
شد که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم علاوه بر گسترده بودن عوارض نسبت به اثرات غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نکروز سلول‌های توبولی نیز در آن‌ها مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳: تصاویر میکروسکوپی از تغییرات بافتی کلیه ماهی کپور معمولی در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در محدوده زمانی ۷۲ ساعت. (a) غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم: کاهش فضای لومن (پیکان سفید)، جدا شدن از غشای اپتلیومی (پیکان سیاه)، ضخیم شدن غشای پایه (نوک پیکان سیاه)، ملانوماکروفاژی (ستاره سفید)، هیپرتروفی (ستاره سیاه). (b) غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم: کاهش و بسته شدن فضای توبولی (پیکان سفید)، نکروز سلول‌های توبولی (پیکان سیاه)، هیپرتروفی (ستاره سیاه)، تجمعات ملانوماکروفاژی (ستاره سفید)، جدا شدن از غشای اپتلیومی (مثلث سیاه). H&E, 40×

مشاهدات بافت‌شناختی کلیه در دامنه زمانی سوم یعنی پس از یک هفته در دو محدوده غلظت، نشان داد که عوارض آلاینده در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت نکروز شدید

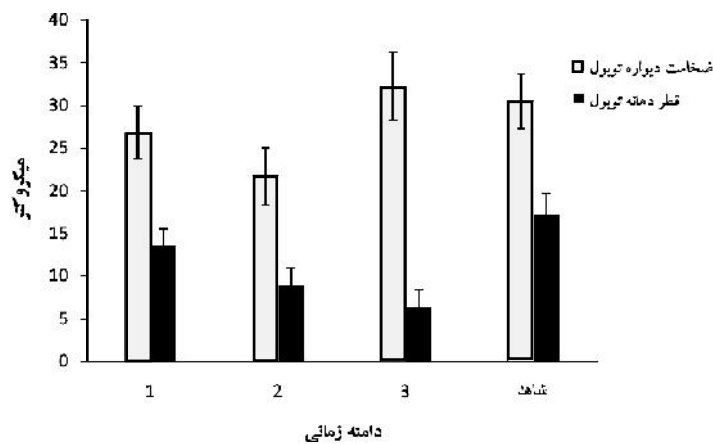
سلول‌های توبولی، انسداد فضای لومن لوله‌ای، مشاهده خون در فضای کپسول بومن و ضخیم شدن غشای پایه‌ای بود و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از آلاینده بنزوآلفاپایرن نیز نکروز شدید و گسترده در سلول‌های توبولی، افزایش فضای لومن و احتقان در فضای کپسول بومن مشاهده شد که به طور گسترده‌ای در تمام تکرارها قابل مشاهده بود (شکل ۴).



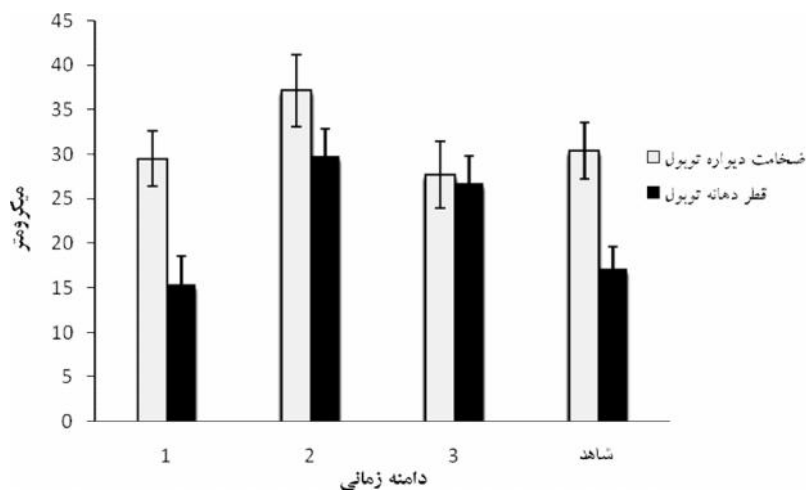
شکل ۴: تصاویر میکروسکوپی از تغییرات بافتی کلیه ماهی کپور معمولی در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در محدوده زمانی ۷۲ ساعت. (a) غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم: نکروز سلول‌های توبولی (پیکان سیاه)، ضخیم شدن غشای پایه‌ای (پیکان سفید)، انسداد فضای لومن توبولی (ستاره سفید). (b) غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم: نکروز سلول‌های توبولی (پیکان سیاه)، بزرگ شدن فضای لومن (پیکان سفید)، ضخیم شدن غشای پایه (ستاره سیاه)، خون در فضای کپسول بومن (ستاره سفید). (c) غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم: بزرگ شدن فضای لومن (پیکان سیاه). H&E, 40×.

در ادامه بررسی تغییراتی بافتی کلیه کپور معمولی، تغییرات قطر دهانه توبول و ضخامت دیواره توبولی در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف اندازه‌گیری شد که به ترتیب  $۱۷/۱ \pm ۲/۴$  و  $۳۰/۴ \pm ۳/۱$  میکرومتر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) بود. در تیمارهای غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بنزوآلفا پاپیرن، با افزایش مدت زمان به تدریج از قطر دهانه توبول‌ها کاسته شد به طوری که پس از یک هفته، کاهش شدید در قطر فضای لومن ( $۶/۳ \pm ۱/۹$  میکرومتر) و حتی انسداد کامل دهانه مشاهده شد. بر خلاف قطر دهانه، به ضخامت دیواره توبول به تدریج افزوده می‌شد ( $۳۲/۲۳ \pm ۴/۳$  میکرومتر؛ شکل ۵). آزمون آماری t-student اختلاف معنی‌داری را اندازه قطر دهانه در محدوده زمانی دوم و سوم و در ضخامت دیواره در محدوده زمانی سوم با نتایج نمونه‌های شاهد نشان داد ( $P < ۰/۰۵$ ). در تیمار دوم با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد که با افزایش زمان پس از کاهش فضای لومن لوله‌های توبولی پس از یک هفته، قطر دهانه توبول‌ها به شدت افزایش داشت به طوری که در مواردی قطر دهانه از ضخامت دیواره توبولی هم بیش‌تر بود. در محدوده زمانی سوم یعنی پس از ۱۶۸ ساعت میانگین قطر دهانه توبول‌ها برابر با  $۲۶/۸ \pm ۳/۰۵$  میکرومتر و ضخامت دیواره توبولی برابر با  $۲۷/۷ \pm ۳/۷$  میکرومتر بود که در شکل ۶ مقایسه‌ای میان میانگین تغییرات دهانه و ضخامت دیواره توبول‌ها در نمونه‌های شاهد و زمان‌های نمونه‌برداری صورت گرفته است. با انجام آزمون آماری t-student میان نمونه‌های شاهد و تیمار غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در دامنه‌های زمانی مختلف تفاوت معنی‌داری میان قطر دهانه توبول‌ها در زمان‌های دوم و سوم و در ضخامت دیواره توبول در زمان دوم به دست آمد ( $P < ۰/۰۵$ ).





شکل ۵: نمودار مقایسه‌ای تغییرات میانگین اندازه ضخامت دیواره توبول و قطر دهانه توبول کلیه ماهی کپور معمولی در محدوده‌های زمانی متفاوت (۲۴، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت) تحت غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بنزوالفاپايرن با میانگین تغییرات نمونه‌های شاهد. علامت بار بر روی نمودار نشان دهنده انحراف معیار است.



شکل ۶: نمودار مقایسه‌ای تغییرات میانگین اندازه ضخامت دیواره توبول و قطر دهانه توبول کلیه ماهی کپور معمولی در محدوده‌های زمانی متفاوت (۲۴، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت) تحت غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بنزوالفاپايرن با میانگین تغییرات نمونه‌های شاهد. علامت بار بر روی نمودار نشان دهنده انحراف معیار است.

## بحث

در ماهیان استخوانی کلیه به همراه آبشش و روده اندام مهمی در حفظ تعادل مایعات داخلی بدن جانور (هومئوستازی) محسوب می‌شود (Evans, 1993; Hinton et al., 1992). کلیه ماهیان استخوانی یکی از اولین اندام‌هایی است که به سرعت تحت تاثیر آلاینده‌های محیطی قرار می‌گیرد (Thophon et al., 2003). میزان اثرات تخریبی آلاینده‌ها بر کلیه به میزان حساسیت گونه ماهی بستگی دارد (Hinton et al., 1992). عمومی‌ترین عوارضی که در بافت کلیه ماهیانی که در معرض آلاینده‌ها قرار می‌گیرند ایجاد می‌شود شامل تغییرات توبول‌ها (ابری شدن و قطرات هیالین) و تغییرات در کیسول بومن مثل اتساع مویرگ‌ها در گلومرول‌ها و کاهش فضای لومن است (Takashima and Hibiya, 1995) که در مطالعه حاضر عوارض زیادی از بافت کلیه ماهی کپور معمولی که در معرض آلاینده سمی بنزوآلفا پیرن در زمان‌های مختلف بود، مشاهده و ثبت شد. برخی از این آسیب‌ها نظیر هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های اپیتلیالی لوله‌های کلیوی، جدا شدن اپیتلیوم لوله‌ها از غشای پایه و کاهش فضای لومن از گستردگی بیش‌تری برخوردار بودند. در غلظت‌های بالا طی زمان کوتاه‌تر و در غلظت‌های پایین با تاخیر، سبب تغییراتی نسبتاً شدید در توبول‌ها و گلومرول‌ها شد که برای نمونه در گزارش‌های Thophon و همکاران (۲۰۰۳) در مورد ماهی سوف (*Lates calcarifer*) قرار گرفته در معرض غلظت‌های بالای کادمیوم و یا Handy و Penrice (۱۹۹۳) در مورد بزرگ شدن سلول‌های کیسول بومن و ملانوماکروفاژی در کلیه ماهی‌های قزل‌آلا (*Salmo trutta*) و تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) قرار گرفته در معرض کلرید جیوه، نیز تائید شده است.

در قسمت‌های انتهایی کلیه با توجه به فراوانی گلومرول‌ها، بسیاری از تغییرات در سلول‌های توبولی دیده می‌شود. کاهش تعداد سلول‌های فیلتر کننده در مقایسه با سلول‌های تک هسته‌ای فراوان، به عنوان یک مکانیسم دفاعی در ماهی مطرح است. تغییرات مهم پاتولوژیکی مشاهده شده در بخش‌های میانی کلیه، تغییر شکل گلومرول‌ها و نکروز سلول‌های توبولی است. در طولانی مدت نیز تخریب گسترده سلول‌های توبولی به ویژه در تیمار غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. بنابراین تغییرات در اندازه سلول‌ها و انسداد فضای لومن می‌تواند اختلال عملکردی کلیه را در

پی داشته باشد. کلیه اندام بسیار حساس به آلودگی است و به سرعت تحت تاثیر آلاینده‌ها قرار می‌گیرد. به طوری که بر عملکرد آن اثر می‌گذارد. از طرفی کلیه اندامی دفاعی هم محسوب می‌شود که در سم‌زدایی و دفع آلاینده‌ها کمک می‌کند و تغییرات در اندازه و ساختار سلول‌های اپیتلیوم و انسداد فضای لومن بازدارنده این عملکردها است.

از نکروز لوله‌های کلیوی که اغلب به دلیل تجمع دانه‌های هیالینی، جریان پروتئین و هیپرتروفی سلول است، تقریباً در همه مطالعات هیستوپاتولوژیک به عنوان یکی از اثرات اصلی و مهم آلاینده‌ها در کلیه ماهیان نام برده شده است (Dezfuli et al., 2006). ادامه یافتن آسیب‌های سلول‌های توبولی در نهایت می‌تواند به نکروز سلولی منجر شود (Takashima and Hibiya, 1995) به طوری که در ماهی طلایی (*Carasinus aurattus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) که در معرض آلاینده‌هایی مثل جیوه، آنتی‌بیوتیک‌ها و حلال‌های آلی قرار گرفته بودند نکروز مشهود بود. بررسی‌ها در مورد ماهیان کپور معمولی که در معرض بنزوآلفاپایرن بودند نیز این مطلب را تأیید کرده است و عارضه نکروز در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در بافت کلیه در دامنه زمانی دوم (۷۲ ساعت) در برخی نمونه‌ها مشاهده شد که در دامنه زمانی سوم گستردگی بیشتری را نشان داد. در غلظت پایین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) این نوع عارضه از دامنه زمانی سوم (۱۶۸ ساعت) در نمونه‌های بافتی مشهود بود.

انسداد بخش‌هایی از لوله‌های پروکسیمال و دیستال می‌تواند در اثر تجمع مواد خاصی در لومن کلیه اتفاق بیافتد و همچنین تورم و افزایش ضخامت سلول‌های اپیتلیال را به همراه داشته باشد (Takashima and Hibiya, 1995) و عوارضی مانند آسیب به جریان فیلتراسیون، تاخیر و اختلال در مراحل بازجذب و ترشح توبول‌ها را نیز به دنبال دارد (Hinton and Lauren, 1990). افزایش مساحت سلولی اکثراً زمانی است که مساحت و قطر هسته‌ها حدود ۱۵٪ افزایش یابد و مساحت سلولی هم نسبت به نمونه‌های شاهد ۳۰٪ افزایش پیدا کرده باشد. این افزایش اندازه می‌تواند به سبب بیش‌فعالی سلول‌های دورنی باشد که آن نیز متأثر از تحریکات محور HPI (هیپوتالاموس-هیپوفیز-سلول‌های داخلی) است. Donaldson (۱۹۸۱) افزایش قطر هسته سلول‌های داخلی آزادماهیان را در آلودگی‌های مختلف گزارش داد. افزایش قطر و سطح هسته سلول‌ها همچنین در نمونه‌هایی از قزل‌آلای خال‌قرمز که تحت آلاینده‌های فلزات سنگین بودند

گزارش شده است (Norris et al., 1997). مطالعات نشان دادند که هیستوپاتولوژی بیومارکر مفیدی برای آلاینده‌های محیطی است به طوری که یافتن عوارض در این نوع اندام‌ها به طور معمول نسبت به مطالعه تغییرات اکولوژیکی یا رفتاری دقیق‌تر و سریع‌تر است و از این طریق نشانه‌های در خطر بودن سلامت موجود زودتر مشخص می‌شود. همچنین این مطالعه نشان داد که بافت‌شناسی کلیه می‌تواند به عنوان ابزاری برای پایش کیفی اکوسیستم‌های آبی به کار رود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از داده‌های منتج از پژوهش آزمایشگاهی تعریف شده برای درس دوره دکتری تحت عنوان اکوفیزیولوژی تکمیلی جانوران دریایی می‌باشد که به تصویب گروه زیست‌شناسی دریا (دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۱۳۹۲) رسیده است.

## منابع

- Al-Hassan J.M., Afzal M., Rao C.V.N. and Fayad S. 2003.** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and aliphatic hydrocarbons (AHs) in edible fish from the Persian Gulf. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(2): 205-212.
- Collier T.K., Connor S.D., Eberhart B.T.L., Anulacion B.F., Geksqyr A. and Varanasi U. 1992.** Using cytochrom P450 to monitor the aquatic environment: initial results from regional national surveys. *Marine Environmental Research*, 34: 195-199.
- Catoggio J.A. 1991.** Other organic substances. Guidelines of lake management. *Toxic substances management in lakes and reservoirs*, 4: 113-126.
- Cocchieri R.A., Arnese A. and Minicucci A.M. 1990.** Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from Italian Central Mediterranean coasts. *Marine Pollution Bulletin*, 21(1): 15-18.
- Dautremepuits C., Paris-Palacios S., Betoulle S. and Vernet G. 2004.** Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) induced by copper and chitosan. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 137: 325-333.
- Dezfuli B.S., Simoni E., Giani L. and Mormera M. 2006.** Effects of experimental terbuthylazine exposure on the cells of *Dicertrarchus labrax*. *Chemosphere*, 64: 1684-1694.
- Donaldson E.M. 1981.** The pituitary interrenal axis as indicator of stress in fish. In: Pickering A.D. (Ed). *Stress and fish*. Academic Press, London, UK, Pp: 11-47.
- Evans D.H. 1993.** *The physiology of fishes*. CRC Press. FL, Boca Raton. USA. P: 591.
- Handy R.D. and Penrice W.S. 1993.** The influence of high oral doses of mercuric chloride on organ toxicant concentrations and histopathology in rainbow trout, *Onchrhynchus mykiss*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 106: 717-724.
- Hinton D.E., Baumann P.C., Gardner G., Hawkins W.E., Hendricks J.D. and Okihiro M.S. 1992.** Histologic biomarkers. In: Huggett R.J., Kimerli R.A., Mehrle Jr. P.M. and Bergman H.L. (Eds). *Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress*. Lewis Publishers, Boca Raton. USA. Pp: 156-196.

- Hinton D.E. and Lauren D.J. 1990.** Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes potential biomarkers of exposure. In: McCarthy J.F. and Shugart L.R. (Eds). Biomarkers of environmental contamination. Lewis Publishers. Boca Raton, Pp: 17 57.
- Lopes P.A., Pinheiro T. Santos M.C., da Luz Mathias M., Collares-Pereira M.J. and Viegas-Crespo A.M. 2001.** Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscusal burnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. The Science of the Total Environment, 280: 153–163.
- Myers M.S., Olson O.P., Johnson L.L., Stehr C.S., Horn T. and Varanasi U. 1992.** Hepatic lesions than neoplasms in subadult flatfish from Puget Sound, Washington: relationship with indices of contaminant exposure. Marine Environmental Research, 34: 45 51.
- Norris D.O. Felt S.B., Woodling J.D. and Dores R.M. 1997.** Immunocytochemical and histological differences in the interrenal axis of feral Brown trout, *Salmo trutta*, in metal contaminated waters. General and Comparative Endocrinology, 108(3): 343 351.
- Pritchard J.B. 1993.** Aquatic toxicology: past, present and prospects. Environmental Health Perspectives, 100: 249 257.
- Takashima F. and Hibiya T. 1995.** An atlas of fish histology: normal and pathological features. Lubrecht & Cramer Ltd., P: 213
- Thophon S.M. Kruatrachue E.S. Upathan P. Pokethitiyook S. Sahaphong Jarikhuan S. 2003.** Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer* in acute and subchronic cadmium exposure. Environmental Pollution, 121: 307 320.

## Study on the effects of Benzo(a)pyrene exposure on renal tissues in Common Carp, *Cyprinus carpio*

Abdolali Movahedinia<sup>1\*</sup>, Mehran Loghmani<sup>2</sup>, Seyed Ahmad Ghasemi<sup>3</sup>, Emad Kouchaknejad<sup>4</sup>, Mona Izadian<sup>5</sup>, Ehsan Esfandiari<sup>6</sup>

1- Assistant Professor in Department of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Iran.

2-M.Sc. in Marine Biology, Department of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Iran.

3-M.Sc. in Marine Biology, Department of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Iran.

4-M.Sc. in Marine Biology, Department of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Iran.

5-M.Sc. in Marine Biology, Department of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Iran.

6-M.Sc. in Marine Biology, Department of Marine Biology, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Iran.

Received: June 2014

Accepted: August 2014

### Abstract

Benzo(a)pyrene (BaP) is an important compound of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) that is carcinogenic and very toxic. In this research, 45 pieces of common carp, *Cyprinus carpio* were divided to 2 BaP treated groups (those received 50 and 100 mg per Kg body weight) and a control group in 3 replicates for each group. BaP were injected intraperitoneally to evaluate its direct effects. Renal histological responses were examined at 24, 72 and 168 hours after exposing to toxicant. After 24 hours, more histopathological lesions were observed in 100 mg/Kg BW when compared with 50 mg/Kg and control groups. More lesions were observed in both 50 and 100 mg/Kg treatments in 72 up to 168 hours samples. Hypertrophy and hyperplasia of epithelial cells in Bowman's capsule, glomerular capillary aneurysm, epithelial lifting, tubular cell necrosis, and blood cell in Bowman's capsule were the most frequent observed alterations. There were significant differences between renal tubule diameters in different treatments and sampling times ( $P < 0.05$ ). According to the results, fish kidney is very susceptible and vulnerable to environmental pollutions and environmental pollutants and reducing kidney potential in attaining homeostasis affected the fish survival.

**Key words:** Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, Histopathology, Kidney, *Cyprinus carpio*.

\*Corresponding Author: [amovahedinia@yahoo.com](mailto:amovahedinia@yahoo.com)