

تأثیر کلرید جیوه در فراساختار سلول‌های پوششی مثانه

خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*)

- ❖ شاهده عبدالعزیزی: دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
- ❖ صابر خدابند*: دانشیار دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

چکیده

استرس‌های ناشی از آلاینده‌ها، از جمله فلزات سنگین، به پاسخ‌های سلولی منجر می‌شوند که اغلب به صورت تغییرات فراساختاری نمایان می‌شوند. تغییرات فراساختاری سلول‌های پوششی مثانه خرچنگ *Astacus leptodactylus* در اثر تیمار با کلرید جیوه بررسی شد. ۸۰ قطعه خرچنگ از تالاب انزلی صید و به تعداد مساوی به چهار تانک که هر کدام حاوی یکی از غلظت‌های ۰، ۵، ۱۵ و ۲۰ ppb از کلرید جیوه بود، انتقال داده شدند. در پایان دوره تیمار یک هفته‌ای، ضمن بررسی مرگ‌ومیر، غده سبز نمونه‌ها به منظور مطالعه با میکروسکوپ الکترونی گذاره در گلوتارآلدهید ثبت شد. در حالی که تلفاتی در تیمارهای ۰ و ۵ ppb دیده نشد، در تیمار ۱۵ و ۲۰ ppb به ترتیب ۲۰ و ۱۰۰ درصد مرگ‌ومیر مشاهده شد. سلول‌های پوششی مثانه در دوز صفر ppb قادر هر گونه تغییرات فراساختاری بودند. تغییرات فراساختاری این سلول‌ها در دوز ۵ ppb شامل درهم‌پیچیدگی غشای پایه، تورم و تغییر شکل میتوکندری‌ها، افزایش درخور توجه تعداد و اندازه واکوئل بود. در دوز ۱۵ ppb علاوه بر تغییرات ذکر شده، دُزِنره‌شدن کریستالهای میتوکندری، افزایش بیش از حد واکوئل‌های بدفرم، و به طور کلی نکروز سلول‌ها مشاهده شد. نتایج نشان داد که غده سبز خرچنگ دراز آب شیرین می‌تواند محل اصلی غیر سمی‌سازی و خروج جیوه غیرآلی وارد شده در همولنف باشد و به دلیل تراکم زیادش در بخش مثانه، سبب تغییرات و آسیب‌های فراساختاری شود و با ایجاد اختلال در مکانیسم دفع مواد زائد و خصوصاً تنظیم اسمزی سبب تلفشدن این آبزی شود.

واژگان کلیدی: سلول‌های پوششی مثانه، کلرید جیوه، فراساختار، میتوکندری، *Astacus leptodactylus*

غیر ممکن به نظر می‌رسد (WHO, 1991). تفاوت در مکانیزم‌های درگیر در حمل و نقل و متابولیسم فرم‌های آلی و غیرآلی جیوه (در قسمت‌های مختلف بدن) باعث توزیع نابرابر این عنصر در بافت‌ها و اندام‌ها و Zalups, (2000) تأثیرات سمی متفاوتی در آنها می‌شود (Lakshmi *et al.*, 1991)، مختل کردن تعادل قلیایی (Stinson and Stinson and 1989), بلوک کردن فرایندهای فسفوریلاسیون آتزیم‌ها، و مهار سنتز پروتئین (Kuznetsov *et al.*, 1987) باعث تغییرات فراساختاری مرتبط با تغییر عملکرد سلول می‌شود. به همین منظور میزان آسیب‌های هیستوپاتولوژیک فلز جیوه در اندام و ارگانل‌های هدف آبزیان مختلف، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، بررسی شده است (Jastania and Abbasi, 2004; Khoshnood *et al.*, 2011; Manisseri and Menonl, 2006; Oliveira *et al.*, 2002; Yamuna *et al.*, 2009). یکی از گونه‌های خرچنگ دراز آب شیرین *Astacus leptodactylus* در سواحل و رودخانه‌های واقع در بخش غربی دریای خزر و تالاب انزلی زندگی می‌کند (Khodabandeh and Shokri, 2009). این سخت‌پوست دارای ارزش اقتصادی است. علاوه بر این، برخی از پژوهش‌گران معتقدند که این خرچنگ شاخص زیستی مناسبی برای مقادیر آلودگی جیوه در اکوسیستم‌های آبی است و غلط‌گذاری در آن دارای الگویی مشابه در ماهی، سایر مهره‌داران، و Sheffy, 1987; (Vermeer, 1972).

۱. مقدمه

طیف گسترده‌ای از ترکیبات شیمیایی با منشاً طبیعی و انسانی به اکوسیستم‌های زیستی وارد می‌شوند که بسیاری از آنها عوارض خطرناکی در موجودات زنده، از جمله انسان، بر جای می‌گذارند. مهم‌ترین این ترکیبات در اکوسیستم‌های آبی شامل سوموم دریایی، فلزات آلی و معدنی، نفت خام و مشتقان آن، آفت‌کش‌های کلره، و هیدروکربن‌های آروماتیک هالوژن‌دارند که قابلیت تجمع در آب، رسوبات بسترها آبی، و بافت‌های مختلف آبزیان را دارند (Hahn, 2002).

با وجود ضروری بودن برخی از فلزات از قبیل آهن، مس، کبالت، و منگنز در کنترل متابولیک و مسیرهای سیگنانالینگ سلولی موجودات زنده، تجمع و سمیت اکثر فلزات سنگین، و از جمله جیوه، به دلیل پایداری و نقش آنها در تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن (رادیکال‌های آزاد) در سیستم‌های بیولوژیک بسیار خطرناک است (Flora *et al.*, 2008). رادیکال‌های آزاد ایجاد شده می‌توانند باعث تخریب ارگانل‌های درون‌سلولی، انواع تغییرات در بازهای DNA، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، و تغییر در هموستازی کلسیم شوند (Valko *et al.*, 2005). جیوه ششمین عنصر سمی در پوسته زمین است که در محیط زیست به شکل‌های مختلف شیمیایی و فیزیکی مشاهده شدنی است. اجتناب از برخی از اشکال جیوه برای انسان و سایر جانوران به دلیل حضور این ترکیبات در همه‌جا و نیز استفاده گسترده از آن در صنعت، کشاورزی، و خدمات پزشکی تقریباً

ثبت ۱۲D:۱۲L سازش داده شدند سپس، به طور تصادفی به تعداد مساوی به چهار تانک ۴۰ لیتری که هر کدام حاوی یکی از غلظت‌های ۰، ۵، ۱۵ و ۲۰ ppb کلرید جیوه، (HgCl_2 ، Merck) بودند انتقال یافتند. طی دوره تیمار که یک هفته به طول انجامید، تانک‌ها به طور دائم هوادهی شدند و به آنها غذا داده نشد. پس از اتمام دوره تیمار میزان بازماندگی ثبت و از هر تانک ۶ خرچنگ انتخاب و با استفاده از شوک سرمایی بیهوش شدند. سپس، با شکافتن ناحیه روستروم کاراپاس آنها یک جفت غده سبز جداسازی شد.

۲. میکروسکوپ الکترونی گذاره

در آماده‌سازی نمونه‌ها برای مطالعات میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)، ابتدا با دقت ناحیه مثانه از غدد سبز جدا شد. سپس نمونه‌ها در محلول گلوتارآلدهید ۵ درصد حاوی $0/2$ مول بافر کاکودیلات سدیم با $pH = 7/4$ به مدت ۲ ساعت، در دمای اتاق، تثیت شدند. پس از آب‌کشی با بافر کاکودیلات سدیم، تثیت نهایی نمونه‌ها در محلول (v/v) از ۲ درصد تراکسیداسمیوم و $0/45$ مول بافر کاکودیلات سدیم به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق صورت گرفت. سپس با آب مقطر آب‌کشی شدند و آب‌گیری با سری اتانول (100 ، 95 ، 75 ، 50) انجام شد. سپس نمونه‌ها در داخل Epon 812 قالب‌گیری شدند و از قالب‌ها با استفاده از الترامیکروتوم Reichert OMU2 برش‌های ظریفی (Ultra-thin) با ضخامت 90 نانومتر تهیه شد. مقاطع روی صفحات کوچک غربالی از جنس مس قرار گرفتند و با استات اورانیل و سیترات سرب کتراست داده شدند و در نهایت با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره

این موضوع کاملاً شناخته شده است که کلیه‌ها اولین اندام مورد هدف جیوه غیرآلی‌اند. جیوه در سلول‌های کلیوی تجمع می‌یابد و مسمومیت ایجاد می‌کند. توزیع سیستماتیک جیوه آلی بیش از جیوه غیرآلی است و در نتیجه در اندام‌های هدف دیگر از جمله بافت‌های خونساز و عصبی اثرگذارتر است (WHO, 1991; Clarkson, 1972). اندام دفع مواد زائد خون و مایعات بدن در سخت‌پوستان از جمله خرچنگ دراز آب شیرین بالغ یک جفت غدد آنتی یا غدد سبز است که در ناحیه سر آنها زیر آنتن‌ها قرار دارد. این اندام مشابه کلیه مهره‌داران عمل می‌کند و از قسمت‌های مختلف (سلوم ساک، لاپرنت، لوله‌ها، و مثانه حجیم) تشکیل شده و نقش مهمی در تنظیم اسمزی، هموستازی و سمزدایی این سخت‌پوست دارد (Khodabandeh *et al.*, 2005b; Roldan and Shivers, 1987). در واقع هر غده نفرونی در مقیاس بسیار بزرگ است که می‌تواند در مطالعات مربوط به نفرون کلیه به منزله مدل بررسی شود. بنابراین در این تحقیق اثر تیمار کلرید جیوه در فراساختار سلول‌های پوششی بخش مثانه غدد سبز این خرچنگ مطالعه شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. جانور و تیمارها

تعداد 80 قطعه خرچنگ دراز آب شیرین بالغ با میانگین وزنی 130 گرم از تالاب انزلی صید و به آزمایشگاه منتقل شدند. نخست، خرچنگ‌ها به مدت یک هفته با شرایط آزمایشگاه در آب خزر (شوری 12 گرم بر لیتر) با دمای $0/5^{\circ}\text{C} \pm 19$ و فتوپریود

زیادی میتوکندری‌های متراکم و ریز در بین آنها دیده می‌شود (شکل ۱D و ۱E). قسمت رأسی سلول‌ها به طرف فضای داخلی مثانه برآمده است و فرورفتگی غشای پلاسمای پایه تا نصفه‌های سلول و گاه تا بالای هسته سلول دیده می‌شود. حضور فراوان میتوکندری‌ها و اختصاصات گفته شده در بالا نشان‌دهندهٔ فعل بودن این سلول‌هاست (شکل ۱E-۱C).

۳.۳. فراساختار سلول پوششی مثانه در دوز ۵ ppb
در این دوز تغییرات فراساختاری در سلول‌های پوششی مثانه مشاهده شد. در سیتوپلاسم سلول‌ها مقادیر درخور توجهی واکوئل‌های غیر لیپیدی در سایزهای مختلف تشکیل شده بود (شکل ۲A-۲C)، همچنین میتوکندری‌ها متورم بودند و در برخی از آنها واکوئل‌ها شکل گرفته و کریستال‌ها در حال محوشدن بودند (شکل ۲B-۲D).

۴.۳. فراساختار سلول‌های پوششی مثانه در دوز ۱۵ ppb

در این دوز، سلول‌ها در حال دژنرهشدن بودند؛ اندازه و تعداد واکوئل‌ها افزایش یافته بود. اندازهٔ میتوکندری به طور درخور توجهی افزایش یافته و کریستال‌ها دژنره شده بودند (شکل ۳A-۳C). به دلیل زیاد بودن صدمات انواع ارگانل‌های داخل سلولی، در واقع، سلول‌ها پر از فضاهای خالی نامنظم بودند و بخش رأسی سلول‌ها به دلیل دژنرهشدن قابل عکس‌برداری نبودند.

مدل JEOL 1200EX II در ۱۰۰ kV مشاهده شدند و از آنها عکسبرداری شد (Khodabandeh *et al.*, 2005a; Glauret, 1974).

۳. نتایج

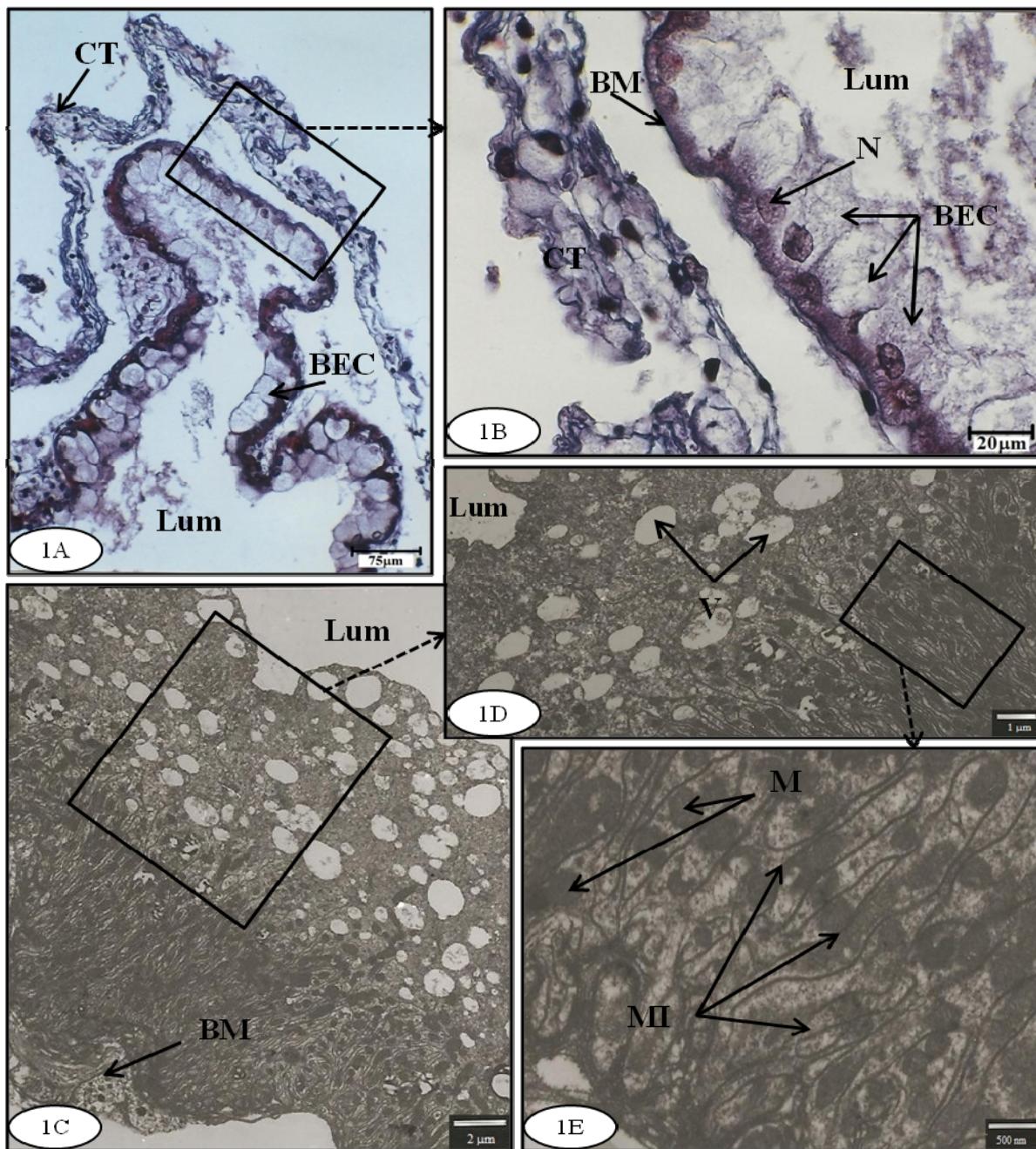
۱.۳. تلفات

طی آزمایش هیچ‌گونه تلفاتی در تیمارهای صفر و ۵ ppb کلرید جیوه مشاهده نشد. این در حالی است که خرچنگ‌های تیمار ۱۵ ppb در پایان دوره ۲۰ درصد تلفات داشتند. همچنین در تیمار ۲۰ ppb قبل از اتمام دوره آزمایش (در روز پنجم) ۱۰۰ درصد مرگ و میر مشاهده شد، به همین دلیل، از این غلظت در مطالعات میکروسکوپی هیچ نمونه‌ای گرفته نشد.

۲. فراساختار سلول پوششی مثانه در دوز صفر از جیوه (تیمار شاهد)

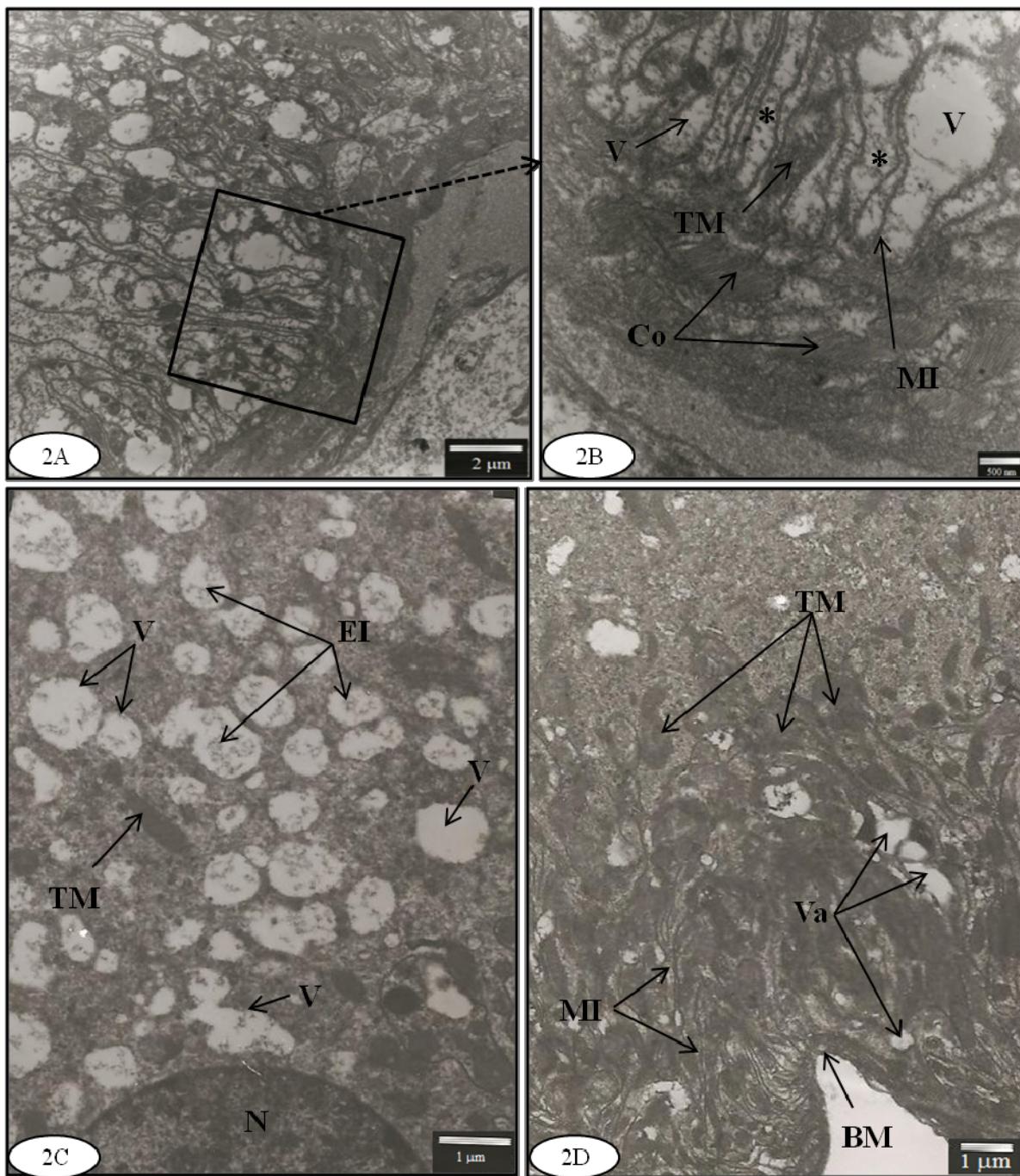
مثانهٔ غدد سبز خرچنگ دراز آب شیرین کيسه‌ای است که روی غده را پوشانده است. دیواره این کيسه از یک اپی‌تیال ساده درونی و یک پوشش خارجی از سلول‌های ماهیچه‌ای و بافت پیوندی تشکیل شده است (شکل ۱A و ۱B).

بررسی فراساختار سلولی با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که سلول‌های پوششی مثانه (در دوز صفر از جیوه) قادر میکروولوژیته در بخش رأسی است و سیتوپلاسم آنها به دو بخش مجرما تقسیم‌پذیر است (شکل ۱C). قسمت فوقاری سلول دارای تعداد زیادی واکوئل است، در حالی که در قسمت پایه‌ای، فرورفتگی‌های قاعده‌ای و تعداد



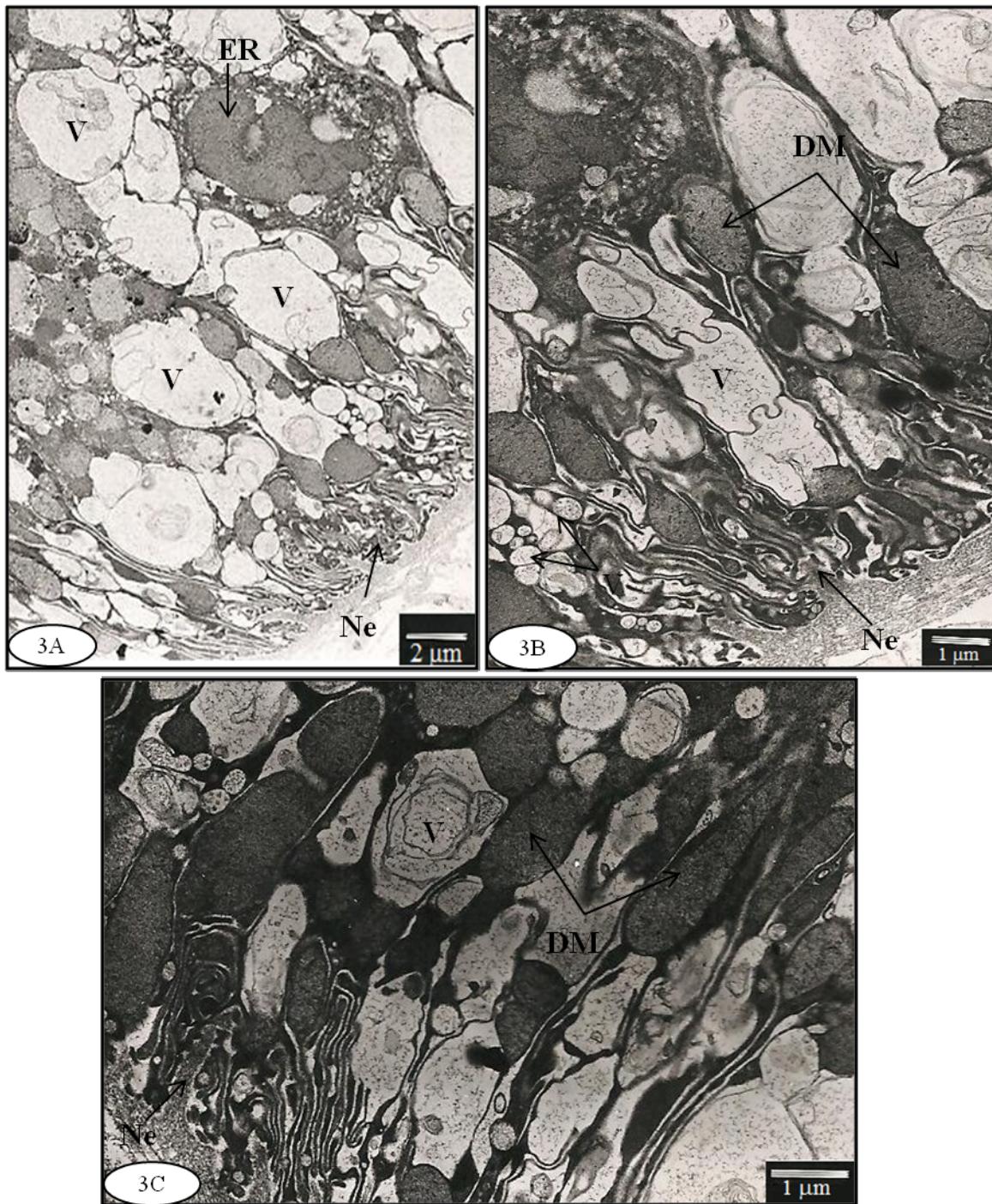
شکل ۱. ۱A و ۱B ساختار کلی دیواره مثانه در خرچنگ دراز آب شیرین (میکروسکوپ نوری - H&E) و ۱C-۱E فراساختار یک سلول پوششی مثانه در تیمار شاهد

: Lum: بافت پوششی مثانه ; CT: Connective Tissue ; BM: Basal Membrane ; BEC: Bladder Epithelial cells
 : غشای پایه ; بافت پیوندی ; فروفتگی غشا ; هسته ; N: Nucleus ; V: Vacuole ; MI: Membrane Infoldings ; M: Mitochondria
 حفره ادراری ; میتوکندری ; واکوئل



شکل ۲A و ۲B تورم میتوکندری، خصیم شدگی غشای پایه، تشکیل واکوئل در بخش پایه سلول‌ها؛ ۲C تورم میتوکندری، افزایش واکوئل‌های سلولی و وجود ذرات سیاه رنگ درون واکوئل‌ها؛ ۲D: تورم میتوکندری، به هم خوردگی آرایش فرورفنگی‌های پایه‌ای غشای پلاسمما و ایجاد فضاهای خالی

*محوشدن کریستالها : BM: Basal Membrane ; EI: Electron-dense Inclusions ; Co: Collagen؛ کلژن
 الکترون Va: Vacuole؛ فضای خالی MI: Membrane Infoldings؛ هسته غشایی TM: Turgid Mitochondria؛ تورم میتوکندری N: Nucleus؛ هسته



شکل ۳. ۳A-۳C افزایش تعداد و اندازه واکوئل‌ها، تغییر شکل و دُزنه‌شدن میتوکندری‌ها و سایر اندامک‌ها در فضای سیتوپلاسمی، افزایش در خور توجه در اندازه میتوکندری و دُزنه‌شدن کریستاهای آنها

V: شبکه آندوپلاسمی؛ DM: میتوکندری دُزنه‌شده؛ Ne: Necrosis؛ ER: Endoplasmic Reticulum
واکوئل Vacuole

است. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که فلزات سمی از قبیل سرب، کادمیوم، جیوه، و آرسنیک در واکنش‌های اکسیداتیوی ماکرومولکول زیستی در نقش کاتالیزگر عمل می‌کنند. در نتیجه سمیت این فلزات می‌تواند مرتبط با آسیب‌های اکسیداتیوی باشد (Ercal *et al.*, 2001; Wang and Fowler, 2008 فعال‌بودن جیوه در واکنش‌های فتوئونی، میل ترکیبی بالای یون‌های جیوه برای باندشدن با گروه‌های تیولی باعث تقلیل آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی (به خصوص گلوتاتیون) می‌شود، پس به طور غیر مستقیم نیز Stohs and (1995). همچنین اشاره شده که، هر گونه تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژی ناشی از استرس آلاینده‌ها به پاسخ‌های سلولی منجر می‌شود که وابسته به دوز است و اغلب به صورت تغییرات فراساختاری در غشای سلول و اندامک‌های غشادر از قبیل میتوکندری، سیتوپلاسم، دستگاه گلزاری، لیزوزوم تشخیص‌دادنی است. در این میان میتوکندری به بسیاری از عوامل استرس‌زا حساس است و واکنش بسیار سریع، با علائم عمومی پاتولوژیک، از قبیل تورم، انقباض، اختلال در کریستالها، و تشکیل گرانول در فضای داخلی از خود نشان می‌دهد (Triebeskorn, 1989). چنین تغییراتی می‌تواند بر اثر مکانیسم‌های موقت انجام‌شده بر ضد سمیت فلز باشد. بهره‌برداری از این مکانیسم‌ها باعث سمزدایی و جلوگیری از آسیب‌های شدید سلولی می‌شود (Yamuna *et al.*, 2009).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اپی‌تلیال مثانه در نمونه‌های شاهد از سلول‌هایی تشکیل شده که اختصاصات سلول‌های فعال در جذب یون‌ها

۴. بحث و نتیجه‌گیری

این موضوع کاملاً نگران‌کننده است که تجمع فلزات سنگین در امتداد سطح زنجیره غذایی، به دلیل پایداری آنها، در حال افزایش است. سخت‌پوستان که رابطه‌های مهم زنجیره غذایی اند نقش فعالی را در این روند ایفا می‌کنند (Manisseri and Menonl, 2006). این فرضیه وجود دارد که هپاتوپانکراس، هموسیت‌ها، و غدد آنتنی سخت‌پوستان اندام‌های مهم هموستازی فلزات سنگین اند و اندامک‌های آنها در سمزدایی و تعديل این فلزات نقش فعالی دارند (Ahearn *et al.*, 2004).

خرچنگ دراز آب شیرین موجودی هایپراسموتیک است که غدد سبز نقش تنظیم اسمزی را در این موجود بر عهده دارد. ساختار کلی هر غده معادل یک نفرون مهره‌داران است. بخش عمده تجمع و دفع ادرار در مثانه صورت می‌گیرد. بررسی فراساختار و مکانیابی آنزیم Na^+, K^+ -ATPase نشان می‌دهد که نقش این بخش از غده فراتر از نگهداری ادرار است و بافت پوششی مثانه در بازجذب یون‌ها و خروج آب بسیار حائز اهمیت است (Khodabandeh *et al.*, 2005a; Khodabandeh and Shokri, 2009 and 2005b). در نتیجه اختلال در عملکرد این اندام باعث بهم خوردن تعادل اسمزی و مرگ جاندار می‌شود (Lignot *et al.*, 2000).

تالاب انزلی به منزله یکی از زیستگاه‌های مهم خرچنگ دراز آب شیرین *Astacus leptodactylus* به طور گسترده‌ای تحت تأثیر آلاینده‌های مختلف است. مهم‌ترین منابع آلاینده این اکوسیستم آبی فاضلاب‌های شهری، کشاورزی، و صنعتی اند که وجود جیوه در این منابع، به دلیل کاربردهای گسترده آن، امری بدیهی

سلول‌های هپاتوپانکراس است. همچنین این محققان گزارش دادند که فلز جیوه در سلول‌های آبشنش این میگو بیشتر میتوکندری را تحت تأثیر قرار می‌دهد که این امر باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های چربخه کربس می‌شود در نتیجه سلول‌ها به طرف تنفس بی‌هوای پیش می‌روند.

mekanisem‌های مختلف فیزیولوژیک، سلولی، و مولکولی برای سمزدایی فلزات در سخت‌پوستان وجود دارد که اهمیت هر مکانیسم در سلول بستگی به اندام هدف دارد. باندشدتن کاتیون‌های فلزی با آنیون‌ها سپس تشکیل واکوئل‌ها و گرانول‌ها با ترکیبات نامحلول و نهایتاً حذف آنها از طریق اگزوسیتوز، همچنین انتقال فلزات دو ظرفیتی و سه ظرفیتی به داخل میتوکندری و تشکیل این گرانول‌ها در این اندامک، از روش‌های سمزدایی و کاهش سمیت فلزات در داخل سیتوپلاسم است (Ahearn *et al.*, 2004). اعمال این فرایند در میتوکندری باعث ازبین‌رفتن کریستالها و آسیب به میتوکندری می‌شود. از طرفی میتوکندری مکان اصلی تولید رادیکال‌های آزاد است و بهشدت غنی از آنتی‌اکسیدان‌هایی از قبیل گلوتاتیون (GSH) است. اتصال جیوه به این تریپتید به منزله مکانیسمی سمزدایی کاملاً مشخص شده است (Jan *et al.*, 2011; Yamuna *et al.*, 2012)، با وجود این، جیوه متصل به گروه‌های تیول میتوکندری به راحتی از آنها جدا نمی‌شود و متصل به آنها باقی می‌ماند. در نتیجه دوزهای بالای جیوه باعث کاهش گلوتاتیون، افزایش مقادیر شکل‌گیری H_2O_2 ، و پراکسیداسیون لیپیدها در میتوکندری و باعث درزنهشدن آن می‌شود (lund *et al.*, 1993). برخی از محققان دلیل تورم میتوکندری را اختلال در اسمر

(فرورفتگی‌های غشای پلاسمایی ناحیه پایه‌ای و حضور میتوکندری فراوان) و همچنین دفع آب اضافی واردشده به بدن را دارند. این سلول‌ها در تیمار کم جیوه (۵ ppb) به منظور سمزدایی فعال‌تر و در ارگانل‌های داخل سلولی، خصوصاً میتوکندری ناهنجاری‌های فراساختاری دیده شدند. میتوکندری‌ها متورم شدند و در حد محدودی کریستالها کاهش یافته‌ند. در غلاظت‌های بالای جیوه (۱۵ ppb) ناهنجاری‌های ساختاری بهشدت افزایش یافته‌ند و به طور درخور ملاحظه‌ای در سلول‌های پوششی مثانه خرچنگ دراز آب شیرین تورم، تخریب، و ازبین‌رفتن کریستالها دیده شد. این نتایج با نتایج گزارش شده در سایر آبیان و اندام‌ها هم خوانی دارد. Jastani و Abbasi (۲۰۰۴ و ۲۰۰۵)، تأثیرات دوزهای ۰/۵ و ۰/۰۵ میکروگرم بر لیتر کلرید جیوه را در سلول‌های عضله، و روده خلفی ماهی *Clupea harengus*، و همکاران Khoshnood (۲۰۱۱) تغییرات فراساختاری دوزهای ۱۵ ppb کلرید جیوه در سلول‌های *Acipenser persicus*، و *Menonl* و *Manisseri* دوزهای ۰/۰۱۵ و ۰/۰۰۵ ppm کلرید جیوه در هپاتوپانکراس میگوی *Metapenaeus dobsoni* بررسی کردند. این محققان تغییرات ساختاری، تورم میتوکندری، و واکوئله‌شدن سیتوپلاسم را ناشی از بی‌ثباتی و افزایش نفوذپذیری غشای سلول، اختلال در فرایند اسمری، و تجمع کاتیون‌ها و آنیون‌ها می‌دانند. بر طبق گزارش Yamuna و همکاران (۲۰۰۹)، یکی از منابع سمزدایی فلز جیوه در میگوی *Macrobrachium malcolmsonii* تشکیل واکوئل حاوی الکترون متراکم در فضای سیتوپلاسم

بنابراین می‌تواند سبب مختل کردن نقش تنظیم آب و یون سلول‌های مثانه و باعث مرگ و میر شود. نتیجه‌گیری کلی اینکه، غدد سبز خرچنگ دراز آب شیرین همانند کلیه جانوران عالی‌تر نقش مهمی در دفع سموم بدن از جمله جیوه دارد و سلول‌های مثانه در این فرایند بسیار حائز اهمیت‌اند. سلول‌های پوششی مثانه به دفع جیوه در غلظت ۵ ppb قادرند، اما غلظت ۱۵ ppb سبب تخریب اندامک‌ها می‌شود. اختلالات بیولوژیک متعدد در ارگان‌ها، به خصوص میتوکندری، به منزله منبع تولید ATP لازم برای فعالیت آنزیم‌های متعدد از جمله Na^+,K^+ -ATP_{ase} می‌تواند در نهایت سبب مرگ موجود شود. مرگ صدرصدی خرچنگ‌ها در غلظت ۲۰ ppb هم می‌تواند به این دلیل باشد. بر همین اساس، تغییرات فراساختاری ثبت شده در این ارگان حیاتی به منزله نشانگر زیستی برای تشخیص آلودگی جیوه در محیط‌های آبی است و مدلی مناسب برای بررسی تأثیرات آلودگی‌ها از جمله جیوه در اندام‌های ادراری سایر موجودات است.

غشا و تجمع کاتیون‌ها و آئیون‌ها و آب در آن می‌دانند (Jastani and Abbasi, 2004). بر طبق Bhavan و همکاران (۲۰۰۸) جیوه باعث کاهش فعالیت ATP_{ase} در میگوی *Macrobrachium malcolmsonii* می‌شود که نشان‌دهنده اختلال در تنظیم اسمزی و یونی در این موجود است. این اختلال می‌تواند به دلیل باندشدن جیوه با پروتئین‌های حاوی گروه تیول در غشای سیتوپلاسمی به خصوص زیر واحد بتای آنزیم Na^+,K^+ -ATP_{ase} و به هم خوردن تعامل بین واحدهای آلفا و بتای این آنزیم در غشای سلول باشد (Imesch *et al.*, 1992; Zalups, 2000). همان طور که اشاره شد، میتوکندری اندامک اصلی در سلول‌های پوششی مثانه است که خود مرکز تولید رادیکال‌های آزاد است و استرس‌های محیطی از قبیل حضور و تجمع جیوه می‌تواند سبب افزایش این تولید و همچنین سبب تغییر ساختار میتوکندری‌ها و مختل شدن مکانیسم آنها شود. در تحقیق حاضر تغییرات فراساختاری در غلظت ۱۵ ppb جیوه به حدی بود که همه میتوکندری‌ها دژنره شدند و سایر اندامک‌ها کاملاً شکل خود را از دست داده بودند؛

References

- [1]. Ahearn, G.A., Mandal, P.K., Mandal, A., 2004. Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 174, 439-452
- [2]. Bhavan, P.S., Yamuna, A., Geraldine, P., 2008. Mercury induced metabolic changes in the juveniles of the economically important freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. *Asian Journal of Animal Science*, 3(1), 60-65
- [3]. Clarkson, T.W., 1972. The pharmacology of mercury compounds 6545. *Annual Review of Pharmacology*, 12, 375-406
- [4]. Ercal, N., Gurer-Orhan, H., Aykin-Burns, N., 2001. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics Medicinal Chemistry*, 1, 529-539
- [5]. Flora, S.J.S., Mittal, M., Mehta, A., 2008. Heavy metal induced oxidative stress & it's possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal of Medical Research*, 128, 501-523
- [6]. Glauret, M.A., 1974. Practical methods in electron microscopy. Vol.3. North Holland Publishing, Amsterdam, UK, 353 pp
- [7]. Hahn, M.E., 2002. Biomarkers and bioassays for detecting dioxin-like compounds in the marine environment. *The Science of the Total Environment*, 289(1-3), 49-69
- [8]. Imesch, E., Moosmayer, M., Anner, B.M., 1992. Mercury weakens membrane anchoring of Na-K-ATPase. *American Journal of Physiology*, 262, F837-F842
- [9]. Jan, A.T., Ali, A., Haq, Q., 2011. Glutathione as an antioxidant in inorganic mercury induced nephrotoxicity. *Journal of Postgraduate Medicine*, 57(1), 72-77
- [10]. Jastania, H.A., Abbasi, A.R., 2004. Effects of mercury on muscle cells of Atlantic Herring (*Clupea harengus* L.) larvae: an ultrastructural study. *Pakistan Journal Zoology*, 36(3), 247-251
- [11]. Jastania, H.A., Abbasi, A.R., 2005. Ultrastructural changes in the posterior gut of Atlantic Herring, *Clupea harengus* L. larvae exposed to mercury. *Asian Fisheries Science*, 18, 85-94
- [12]. Khodabandeh, S., Charmantier G., Charmantier-Daures, M., 2005a. Ultrastructural studies and Na⁺,K⁺-ATPase immunolocalization in the antennal urinary glands of the lobster *Homarus gammarus* (Crustacea, Decapoda). *Journal Histochemistry Cytochemistry*, 53(10), 1203-1214
- [13]. Khodabandeh, S., Charmantier, G., Blasco, C., Grousset E., Charmantier-Daures, M., 2005b. Ontogeny of the antennal glands in the crayfish, *Astacus leptodactylus* (Crustacea, Decapoda): anatomical and cell differentiation. *Cell Tissue Research*, 319, 153-165
- [14]. Khodabandeh, S., Shokri, N., 2009. Ultrastructural Studies and Function of Green Glands (Antennal Glands) in Crayfish *Astacus leptodactylus*. *Iranian Journal of Biology*, 22(1), 124-136
- [15]. Khoshnood, Z., Khodabandeh, S., Shahryari Moghaddam, M., Mosafer Khorjestan, S., 2011. Histopathological and pathomorphological effects of mercuric chloride on the gills of Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*, fry. *International Journal of Natural Resources and Marine Sciences*, 1(1), 23-32
- [16]. Kuznetsov, D.A., Zavualov, N.V., Govorkov, A.V., Sibileva, T.M., 1987. Methylmercury-induced nonselective blocking of phosphorylation processes as a possible cause of protein synthesis inhibition in vitro and in vivo. *Toxicology Letters*, 36(2), 153-160
- [17]. Lakshmi, R., Kundu, R., Thomas, E., Mansuri, A.P., 1991. Mercuric chloride induced inhibition

- of acid and alkaline phosphatase activity in the kidney of Mudskipper, *Boleophthalmus dentatus*. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 19(3), 341-344
- [18]. Lignot, J.H., Spanings-Pierrot C., Charmantier, G., 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture*, 191, 209-245
- [19]. Lund, B-O., Miller, D.M., Woods, J.S., 1993. Studies on Hg(II)-induced H₂O₂ formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria. *Biochemical Pharmacology*, 45(10), 2017-2024
- [20]. Manisseri, M.K., Menonl, N.R., 2006. Ultrastructural aberrations in the hepatopancreas of *Metapenaeus dobsoni* (Miers) exposed to mercury. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 48(1), 89-94
- [21]. Oliveira Ribeiro, C.A., Belger, L., Pelletier, É., Rouleau, C., 2002. Histopathological evidence of inorganic mercury and methylmercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental Research*, 90(3), 217-225
- [22]. Roldan, B.M., Shivers, R.R., 1987. The uptake and storage of iron and lead in cells of the crayfish (*Orconectes propinquus*) hepatopancreas and antennal gland. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 86(1), 201-214
- [23]. Sheffy, T.B., 1978. Mercury burdens in crayfish from the Wisconsin River. *Environmental Pollution*, 17(3), 219-225
- [24]. Stinson, C.M., Mallat, J., 1989. Branchial ion fluxes and toxicant extraction efficiency in lamprey (*Petromyzon marinus*) exposed to methylmercury. *Aquatic Toxicology*, 15, 237-252
- [25]. Stohs, S.J., Bagchi, D., 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology & Medicine*, 18(2), 321-336
- [26]. Triebskorn, R., 1989. Ultrastructural changes in the digestive tract of *Derooceras reticulatum* (Muller) induced by a carbamate molluscicide and by metaldehyde. *Malacologica*, 31(1), 141-156
- [27]. Valko, M., Morris, H., Cronin, M.T.D., 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 1161-1208
- [28]. Vermeer, K., 1972. The crayfish, *Orconectes virilis*, as an indicator of mercury contamination. *The Canadian Field Naturalist*, 86, 123-125
- [29]. Wang, G., Fowler, B.A., 2008. Roles of biomarkers in evaluating interactions among mixtures of lead, cadmium and arsenic. *Toxicology Applied Pharmacology*, 233, 92-99
- [30]. WHO, 1991. Environmental Health Criteria 118: Inorganic Mercury Environmental aspects, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 115-119
- [31]. Yamuna, A., Bhavan, P.S., Geraldine P., 2012. Glutathione S-transferase and metallothionein levels in the freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to mercury. *Journal of Environmental Biology*, 33, 133-137
- [32]. Yamuna, A., Bhavan, P.S., Geraldine, P., 2009. Ultrastructural observations in gills and hepatopancreas of prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to mercury. *Journal of Environmental Biology*, 30(5), 693-699
- [33]. Zalups, R.K., 2000. Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacological Reviews*, 52(1), 113-144