



University of Tehran

Histopathological alterations in liver tissue of the Common carp (*Cyprinus carpio*) juvenile while exposure to polyethylene microplastic particles (HDPE)

Mostafa Alishiri¹ | Kamran Rezaei Tavabe² | Mahmoud Hafezieh³ |
Gholamreza Rafiee⁴ | Alireza Mirvaghefi⁵

1. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: mostafaalishiri@ut.ac.ir

2. Corresponding author, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: krtavabe@ut.ac.ir

3. Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, Iran. Email: jhafezieh@yahoo.com

4. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: ghrafiee@ut.ac.ir

5. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: avaghefi@ut.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article History:

Received: 08 April 2024

Revised: 15 September 2024

Accepted: 19 February 2025

Published online: 25 March 2025

Keywords:

Microplastic,
Polyethylene,
Liver histopathology,
Common carp,
Diazinon.

ABSTRACT

One of the most important concerns of biological societies is the abundance and distribution of plastics, and due to their high effectiveness, aquatic environments are highly regarded. Many of the plastics such as polyethylene (HDPE) are commonly used in industry, finally release in the environment and remain for several years, resulting the formation of small particles that can damage the environment. To show these process, Common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles were exposed to microplastic particles with dimensions of less than 50 μm in two concentrations of 1 and 5 mg/l for a period of 21 days. Results showed that, microplastic particles with a concentration of 1 mg/l injure the fish and causeliver tissue hyperplasia (HP), hypertrophy (HT), necrosis (N), blood congestion (BC), sinusoid congestion (SC) and melano-macrophage centers (MMC). Moreover, in the polyethylene microplastic treatment of 5 mg/l, necrosis and melanoma-macrophage centers were moderate, while reduction in hypertrophy, sinusoid expansion, hyperplasia, sinusoid hyperemia, and pyknosis (P) recorded. In addition, the hepatosomatic index (HSI) for the control, tween control, treatments containing 1 mg/l, microplastics, and 5 were 0.70, 0.76, 0.71, and 0.84, respectively. Treatment with microplastic concentration of 5 mg/l showed a significant difference compared to the microplastic concentration of 1 mg/l and the control group. However, the growth rates of common carp juveniles did not show significant differences between two groups containing microplastic. There is evidence that microplastic pollutants cause oxidative stress in Common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles due to denaturation of proteins and lipids, and damaging the macromolecules. Finally, it can be concluded that polyethylene microplastics will damage the liver tissue, and will inforce while its concentration in water increase.

Cite this article: Alishiri, M., Rezaei Tavabe, K., Hafezieh, M., Rafiee, Gh., Mirvaghefi, A. R. (2025). Histopathological alterations in liver tissue of the Common carp (*Cyprinus carpio*) juvenile while exposure to polyethylene microplastic particles (HDPE). *Journal of Fisheries*, 78 (1), 55-64. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2022.348761.1343>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2022.348761.1343>



دانشگاه تهران

آسیب‌شناسی بافت کبد بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پس از مواجهه با ذرات میکروپلاستیک پلی‌اتیلن (HDPE)

مصطفی علی‌شیری^۱ | کامران رضایی توابع^{۲*} | محمود حافظیه^۳ | غلامرضا رفیعی^۴ | علیرضا میرواقفی^۵

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: mostafaalishiri@ut.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: krtavabe@ut.ac.ir

۳. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: jhafezieh@yahoo.com

۴. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: ghrafiee@ut.ac.ir

۵. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: avaghefi@ut.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

افزایش فراوانی و توزیع گسترده پلاستیک‌ها، یکی از مهمترین نگرانی‌های جوامع زیستی است و محیط‌های آبی به‌علت اثرپذیری زیاد، بسیار مورد توجه هستند. پلاستیک‌های رایج مورد استفاده در صنعت مانند پلی‌اتیلن (HDPE) برای چندین سال در محیط‌زیست باقی‌مانده و منجر به تشکیل تکه‌های کوچک می‌شوند. در این پژوهش جهت بررسی آسیب‌های احتمالی ذرات میکروپلاستیک به بافت کبد، طی یک دوره ۲۱ روزه، بچه‌ماهی‌های کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با دو غلظت ۱ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر در معرض میکروپلاستیک‌هایی با ابعاد کمتر از $50\mu\text{m}$ قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان داد ذرات میکروپلاستیک با غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر می‌توانند باعث بروز آسیب‌های از قبیل: هایپرپلازی بافت کبد (HP)، هایپرتروفی (HT)، نکروز (N)، پرخونی سینوزوئیدی (BC)، اتساع سینوزوئیدها (SC) و مراکز ملانوماکروفاژی (MMC) به تعداد کم و همچنین در تیمار حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک پلی‌اتیلن، نکروز و مراکز ملانوماکروفاژی به تعداد متوسط و هایپرتروفی، اتساع سینوزوئیدها، هایپرپلازی، پرخونی سینوزوئیدی و پیکنوز هسته (P) به تعداد کم شوند. همچنین بررسی شاخص هیپاتوسوماتیک (HSI) برای گروه کنترل، کنترل توئین، تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک و تیمار حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک به‌طور میانگین به‌ترتیب ۰/۷۰، ۰/۷۶، ۰/۷۱ و ۰/۸۴ محاسبه شد و تنها در غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک تفاوت معنی‌داری با غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر و گروه‌های کنترل وجود دارد. با این حال هیچ تفاوت معنی‌داری در رشد بچه‌ماهیان مشاهده نشد. در نهایت به‌نظر می‌رسد استرس اکسیداتیو ناشی از آلاینده‌های میکروپلاستیک موجب آسیب ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین و لیپیدها می‌شود که در نتیجه باعث ایجاد انواع آسیب‌های بافتی می‌شود. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت میکروپلاستیک پلی‌اتیلن باعث بروز آسیب در بافت کبد خواهد شد و با افزایش غلظت نیز این آسیب‌ها بیشتر خواهند شد.

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۶/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۱/۰۵

کلیدواژه:

آسیب‌شناسی کبد،

دیازینون،

کپور معمولی،

میکروپلاستیک.

استناد: علی‌شیری، مصطفی، رضایی توابع، کامران، حافظیه، محمود، رفیعی، غلامرضا، میرواقفی؛ علیرضا (۱۴۰۴). آسیب‌شناسی بافت کبد بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus*

carpio) پس از مواجهه با ذرات میکروپلاستیک پلی‌اتیلن (HDPE). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۸ (۱)، ۶۴-۵۵. DOI:

<https://doi.org/10.22059/jfisheries.2022.348761.1343>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2022.348761.1343>



۱. مقدمه

افزایش فراوانی و توزیع گسترده پلاستیک‌ها، یکی از مهمترین نگرانی‌های جوامع زیستی محیط‌های آبی است که به دلیل اثرپذیری بالا، بسیار مورد توجه هستند (Clark *et al.*, 2016). روند تولید جهانی، الگوهای مصرف و دفع نامناسب زباله‌های پلاستیکی نشان می‌دهد که تقاضای مصرف پلاستیک در جهان به صورت نمایی در حال رشد است (Europe, 2016). ذرات پلاستیکی از مناطق داخل شهری از طریق سیستم‌های زهکشی سطحی و همچنین به طور مستقیم از فعالیت‌های انسانی به منابع آبی می‌رسند (Karbalaei *et al.*, 2019). پلاستیک‌ها برای چندین سال در محیط‌زیست باقی‌مانده و به ندرت در منابع آبی تجزیه می‌شوند، بنابراین در محیط باقی‌مانده و با اثر عوامل طبیعی منجر به تشکیل تکه‌های کوچک می‌شوند (Bond *et al.*, 2013).

پلی‌اتیلن با چگالی بالا (HDPE) یکی از پلاستیک‌های رایج در صنعت است و از زنجیره‌های خطی طولانی با شاخک‌های بسیار کم تشکیل شده است. این حالت اجازه می‌دهد تا زنجیره‌ها بسیار نزدیک به هم متراکم شده که به طور چشمگیری باعث افزایش چگالی، جرم، استحکام و سختی مواد می‌گردد. اما از سویی دیگر، پلی‌اتیلن با چگالی بالا به شدت مستعد ترک خوردن تحت فشار و در معرض مستقیم نور خورشید می‌باشد و از این جهت نقطه ضعف اساسی دارد. این ویژگی باعث می‌شود پلی‌اتیلن با چگالی بالا در محیط به سرعت به تکه‌های کوچکتر تبدیل و در محیط منتشر شود (Fries and Zarfl, 2012).

گزارش شده است که حدود ۸۰۰ گونه آبیان تحت تأثیر پلاستیک‌ها قرار می‌گیرد و با ادامه سوء مدیریت احتمالاً تعداد گونه‌های درگیر افزایش می‌یابد (Worm *et al.*, 2017). این ذرات پلاستیکی در آبیان هدف می‌توانند باعث اختلال در سیستم غدد درون‌ریز، پاسخ‌های التهابی، کاهش رشد، آسیب بافتی، آسیب اکسیداتیو و اختلال در متابولیسم شود (Duis and Coors, 2016). تجمع میکروپلاستیک‌ها در بدن آبیان می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله گونه ماهی، غلظت و مدت زمان تماس، اندازه، شکل و نوع ذرات و همچنین نرخ تغذیه قرار گیرد (Ding *et al.*, 2020). اندازه میکروپلاستیک، مهمترین عامل تعیین‌کننده در قابلیت تجمع زیستی، انتقال آنها از طریق سیستم گردش خون و توزیع در دیگر بافت‌های بدن آبیان از جمله کبد است، تحقیقات نشان داده است که میکروپلاستیک‌های کوچکتر از $150\ \mu\text{m}$ به راحتی پس از تغییر شکل زیستی از سلول‌های اپیتلیوم روده عبور می‌کنند و وارد سیستم گردش خون شده و در بافت‌های مختلف بدن مانند کبد توزیع می‌شوند (Kim and Choi, 2021). بنابراین این مطالعه با هدف بررسی تأثیرات و آسیب‌های بافتی احتمالی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن (HDPE) روی بافت کبد بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام شده است.

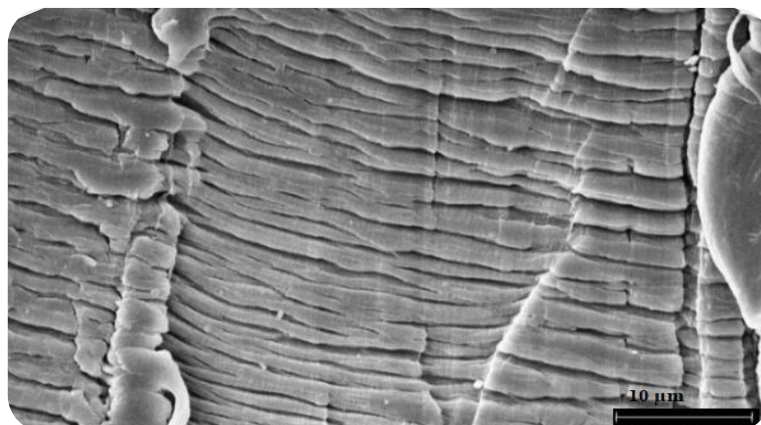
۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. تهیه و ساخت میکروپلاستیک پلی‌اتیلن با چگالی بالا (HDPE)

جهت تهیه و ساخت میکروپلاستیک (شکل ۱)، از گرانول خالص پلی‌اتیلن با چگالی بالا (HDPE) استفاده شد. بدین ترتیب گرانول‌های خالص پلی‌اتیلن جهت ایجاد خاصیت شکنندگی بیشتر به مدت ۱ ساعت درون مخزن ازت مایع قرار گرفتند و بلافاصله پس از خارج شدن از مخزن ازت مایع، به آسیاب صنعتی منتقل و به مدت ۵ دقیقه با بیشترین درجه قدرت، آسیاب شدند. برای ایجاد نتیجه بهتر و کوچکتر شدن هرچه بیشتر گرانول‌ها، این عمل ۳ بار تکرار شد تا پلاستیک‌هایی با ابعاد کوچکتر تشکیل شوند. سپس گرانول‌های پلی‌اتیلن خرد شده از الک با مش ۵۰ میکرومتر عبور داده شدند تا میکروپلاستیک‌های پلی‌اتیلن با ابعاد کوچکتر از ۵۰ میکرومتر (بازه اندازه ذرات میکروپلاستیک ۲۰-۵۰ میکرومتر) جدا شوند.

۲-۲. شناورسازی میکروپلاستیک‌ها در ستون آب

با توجه به چگالی کمتر میکروپلاستیک‌ها و همچنین اثر نیروی کشش سطحی آب به منظور شناورسازی پایدار میکروپلاستیک‌ها در ستون آب از ماده پلی‌اکسی‌اتیلن سوربیتان ۲۰ (توئین ۲۰) به میزان ۱۷/۵ میکروگرم به ازای هر ۱ میلی‌گرم میکروپلاستیک استفاده شد. بدین منظور به مدت ۳۰ دقیقه میکروپلاستیک‌ها قبل از اضافه شدن به مخزن نگهداری بچه‌ماهیان در دمای اتاق روی همزن مغناطیسی قرار گرفت تا با توئین ۲۰ پوشانده شوند. همچنین برای بررسی احتمالی نقش این ماده، گروه کنترل توئین در نظر گرفته شد.



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی از سطح میکروپلاستیک ساخته شده از گرانول خالص پلی اتیلن (HDPE)

۳-۲. نحوه تیمار بندی و روش اجرایی پژوهش

آزمایش شامل دو تیمار شاهد؛ شامل تیمار کنترل و کنترل توئین و دو تیمار حاوی میکروپلاستیک با غلظت ۱ و ۵ میلی گرم بر لیتر میکروپلاستیک پلی اتیلن با چگالی بالا (HDPE) با اندازه کمتر از ۵۰ میکرومتر بود. بچه ماهیان کپور مورد نیاز پژوهش با میانگین وزنی $47/3 \pm 6/5$ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی رشت خریداری شد و طبق دستورالعمل ضوابط نقل و انتقال آبیان به آزمایشگاه انتقال داده شد و به مدت یک هفته دوره قرنطینه، جهت حصول اطمینان از سلامت ماهی و همچنین کاهش سطح استرس ناشی از جابجایی سپری شد و به علاوه با آب نمک ۱۰ درصد ضد عفونی خارجی انجام شد.

مخازن پژوهش حاوی ۵۰ لیتر آب کلرزدایی شده (به مدت ۴۸ ساعت) بودند و در هر مخزن ۲۰ عدد بچه ماهی به طور تصادفی انتخاب شد. در طول ۲۱ روز مدت زمان آزمایش هر ۲۴ ساعت ۵۰ درصد از حجم آب مخازن جهت جلوگیری از انباشت مدفوع و حفظ کیفیت آب تعویض شد و مجدداً ۵۰ درصد از غلظت آلاینده‌های هر تیمار به آن اضافه شد. در طول مدت زمان پژوهش بچه ماهیان با خوراک اکستروود پیش‌پرورای FFC شرکت فرادانه به اندازه ۲ درصد وزن بدن در دو نوبت صبح و عصر تغذیه شدند. ضمن اینکه در طول انجام آزمایش هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد.

۴-۲. تهیه نمونه بافت کبد

جهت تشخیص آسیب‌های بافتی در پایان دوره ۲۱ روزه از بافت کبد نمونه برداری شد. بدین صورت که از هر تیمار ۳ عدد بچه ماهی به صورت تصادفی انتخاب گردید و پس از کشتن بچه ماهی در عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر بلافاصله کبد جدا و در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد و و بعد از ۲۴ ساعت فرمالین نمونه‌ها تعویض گردید و جهت تهیه مقطع بافتی کبد به آزمایشگاه ارسال شد. در آزمایشگاه بافت‌ها به کمک دستگاه پروسسور بافتی آماده نمونه برداری شدند. جهت تهیه برش‌های بافتی از نمونه، ابتدا نمونه‌ها آبگیری شدند سپس در الکل اتانول پارافینه شد و در نهایت برش‌های ۵ تا ۷ میکرومتر از نمونه‌ها تهیه گردید، سپس برش‌ها بر روی لام گذاشته شد و با استفاده از روش هماتوکسیلین و آئوزین رنگ آمیزی و چسب شدند. بررسی‌های بافت شناسی با کمک میکروسکوپ نوری و براساس کلیدهای شناسایی آسیب‌های بافتی انجام گرفت.

۵-۲. محاسبه شاخص هپاتوسوماتیک

در انتهای دوره ۲۱ روزه و همزمان با نمونه برداری از بافت کبد، شاخص هپاتوسوماتیک (HSI) با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید.

$$HSI = \frac{LW}{TW} \times 100$$

رابطه ۱

که در این رابطه، LW: وزن کبد و TW: وزن کل بدن موجود است (Caspers, 1969).

۶-۲. اندازه‌گیری اندازه سلول‌های هپاتوسیت کبدی

قطر سلول‌های هپاتوسیت از چند ناحیه کبدی به صورت تصادفی پس از نمونه‌برداری، تهیه بافت و تصویربرداری به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین با استفاده از نرم‌افزار Image z اندازه‌گیری شد.

۷-۲. محاسبه افزایش وزن بدن

در ابتدا و انتهای دوره ۲۱ روزه مواجهه بچه‌ماهیان کپور معمولی با میکروپلاستیک پلی‌اتیلن همه بچه‌ماهی‌ها وزن شدند و اختلاف وزن آنها (افزایش وزن) طبق رابطه ۲ به دست آمد.

$$\text{Wight gain} = W_f - W_i$$

رابطه ۲

که در این رابطه W_f : وزن نهایی و W_i : وزن اولیه موجود است (Caspers, 1969).

۸-۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طرح آزمایشی این پژوهش طرح کاملاً تصادفی بود. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسیمرنوف و بررسی همگنی واریانس‌ها در تیمارهای جداگانه با آزمون لون، جهت بررسی اختلاف معنی‌دار بین متغیرهای آزمایش از تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. سطح معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ تعیین شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های مربوطه از نرم‌افزار SPSS-26 و Excel-2016 استفاده شد. لازم به ذکر است تمامی مراحل آزمایش با ۳ تکرار انجام گردید.

۳. یافته‌های پژوهش

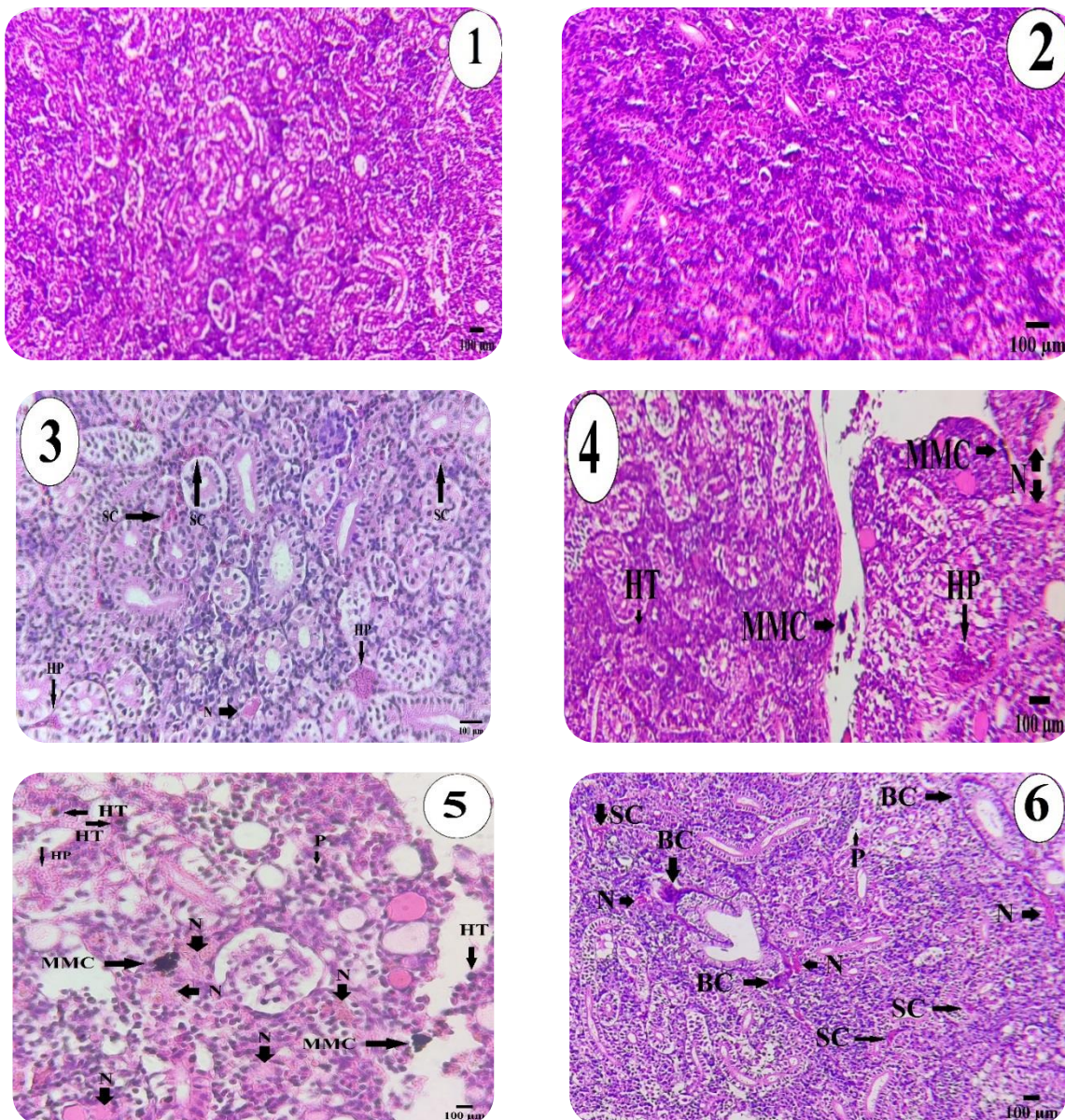
۳-۱. آسیب‌شناسی بافت کبد

نتایج بررسی نمونه‌های بافتی تهیه شده از بچه‌ماهی‌های کپور معمولی مواجهه شده با میکروپلاستیک پلی‌اتیلن در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه‌های کنترل و کنترل توئین هیچ آسیب بافتی و سلولی کبدی وجود ندارد ($P < 0/05$)، اما در دو تیمار حاوی میکروپلاستیک با دو غلظت ۱ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر آسیب‌های متعددی مشاهده شد، بدین صورت که در تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک هایپرپلازی بافت کبد (HP)، هایپرتروفی (HT)، نکروز (N)، پرخونی سینوزوئیدی (BC)، اتساع سینوزوئیدی (SC) و مراکز ملانوماکروفاژی (MMC) به تعداد کم مشاهده شد. در تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک نیز به ترتیب نکروز (N)، هایپرتروفی (HT) و مراکز ملانوماکروفاژی (MMC) به تعداد متوسط و اتساع سینوزوئیدی (SC)، هایپرپلازی (HP)، پرخونی سینوزوئیدی (BC) و پیکنوز (P) با تعداد کم مشاهده شد (شکل ۲).

در جدول ۱ میزان شدت این آسیب‌ها توصیف شده است. بدین صورت که میانگین در هر اسلاید عدم وجود آسیب با (-)، ۱ تا ۳ آسیب (+) تعداد کم و ۳ تا ۵ آسیب (++) تعداد متوسط دسته‌بندی شده است (Sadeghei & Naghimeh, 2017).

۳-۲. شاخص هپاتوسوماتیک (HSI)

شاخص هپاتوسوماتیک برای گروه کنترل، کنترل توئین، تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک و تیمار حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک به‌طور میانگین به ترتیب ۰/۷۰، ۰/۷۶، ۰/۷۱ و ۰/۸۴ محاسبه شد. بررسی این شاخص (نمودار شکل ۳) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمار حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک با سایر گروه‌ها وجود دارد، در حالی که تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک هیچ تفاوت معنی‌داری با دو گروه کنترل نشان نداد ($P < 0/05$).

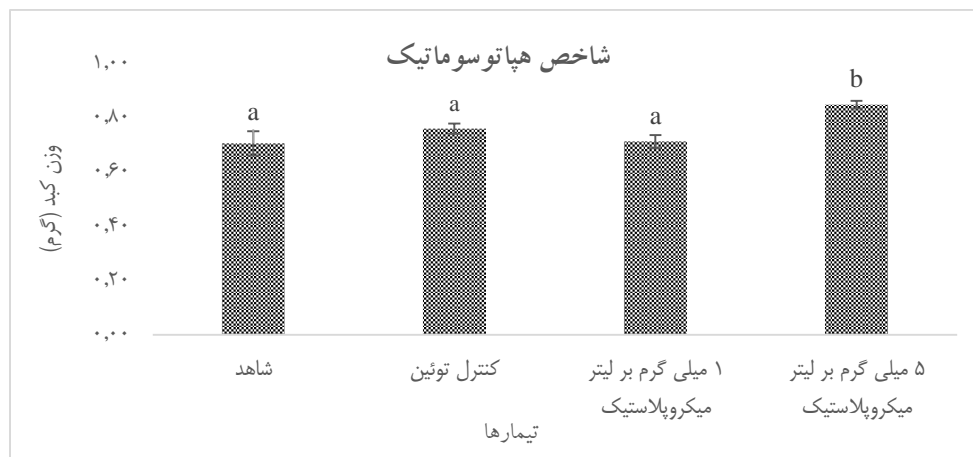


شکل ۲- تصاویر مربوط به بافت کبد گروه‌های مختلف بچه‌ماهی کپور معمولی مواجهه شده با میکروپلاستیک و گروه کنترل بعد از ۲۱ روز. تصویر ۱. گروه کنترل، ۲. گروه کنترل توئین، ۳ و ۴. تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک، ۵ و ۶ تیمار حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک. علائم اختصاری: هایپرپلازی (HP)، هایپرتروفی (HT)، نکروز (N)، پرخونی سینوزوئیدی (BC)، اتساع سینوزوئیدی (SC)، مراکز ملانوماکروفازی (MMC)، پیکنوز (P).

جدول ۱- خلاصه اثرات میکروپلاستیک پلی‌اتین بر بافت کبد بچه‌ماهی کپور معمولی بعد از ۲۱ روز

تیمارها	شاهد	کنترل توئین	میکروپلاستیک (۱ میلی‌گرم بر لیتر)	میکروپلاستیک (۵ میلی‌گرم بر لیتر)
نکروز	-	-	+	++
هایپرتروفی	-	-	+	++
هایپرپلازی	-	-	+	+
مراکز ملانوماکروفازی	-	-	+	++
اتساع سینوزوئیدها	-	-	+	+
پرخونی سینوزوئیدها	-	-	+	+
پیکنوز	-	-	-	+

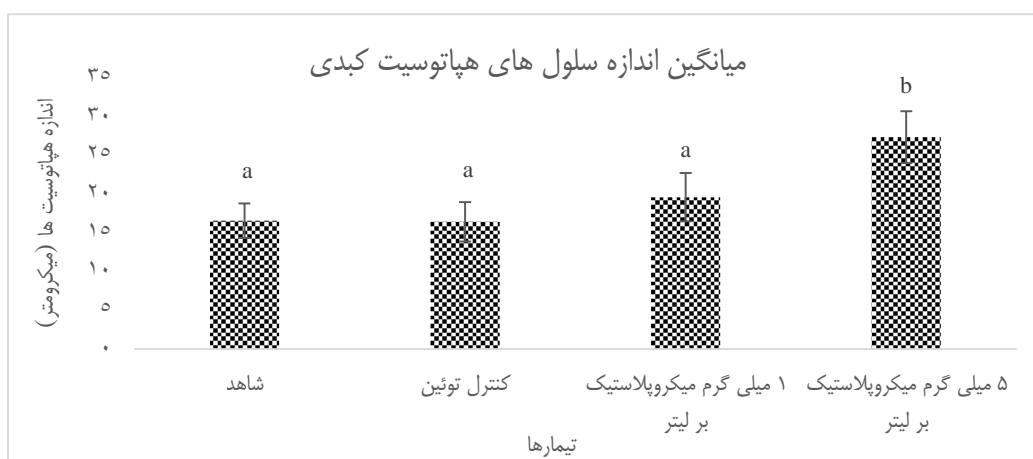
*علائم: فاقد آسیب (-)، آسیب کم (+)، آسیب متوسط (++)



شکل ۳- نمودار شاخص هیاتوسوماتیک مربوط به گروه‌های مختلف بچه‌ماهی کیپور معمولی مواجهه شده با میکروپلاستیک و گروه کنترل بعد از ۲۱ روز. حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست ($P < 0.05$).

۳-۳. میانگین اندازه سلول‌های هیاتوسیت کبدی

همچنین اندازه‌گیری قطر سلول‌های هیاتوسیت کبدی نشان داد در تیمار حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک سلول‌های کبدی تا حدودی می‌توانند بزرگتر شوند اما تفاوت معنی‌داری برای تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده نشده است (نمودار شکل ۴).



شکل ۴- نمودار میانگین اندازه سلول‌های هیاتوسیت کبدی مربوط به گروه‌های مختلف بچه‌ماهی کیپور معمولی مواجهه شده با میکروپلاستیک و گروه کنترل بعد از ۲۱ روز. حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست ($P < 0.05$).

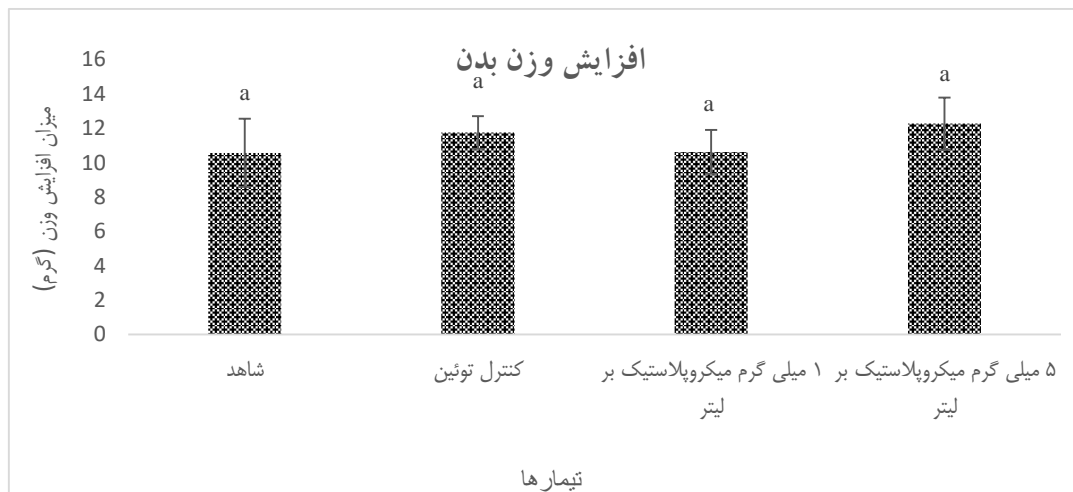
۳-۴. افزایش وزن در طی دوره مواجهه با میکروپلاستیک

با توجه به آنالیز و مقایسه داده‌های افزایش وزن در طی یک دوره ۲۱ روزه (طبق نمودار شکل ۵) بین هیچ‌کدام از تیمارها با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری در خصوص افزایش وزن مشاهده نشد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

کبد بزرگترین اندام بدن ماهی است که اعمال مختلفی در ارتباط با متابولیسم انجام می‌دهد و اندام اصلی دفع مواد سمی می‌باشد. از آنجا که کبد در فرآیندهایی مثل نقل و انتقالات زیستی شرکت دارد در آبریزان دارای اهمیت بالایی می‌باشد با وجود اینکه کبد اندام اصلی دفع ترکیبات سمی است، اما در صورتی که غلظت مواد سمی زیاد باشد و یا اینکه کبد در مدت زمان طولانی در معرض آلاینده‌ها

باشد، این مکانیسم کبد دچار مشکل شده و نهایتاً سبب آسیب بافت کبدی می‌گردد (Bruslé and Anadon, 2017). این اندام به دلیل حساسیت بالا نسبت به آلودگی‌ها، مستعد بروز صدمات ناشی از انواع آلودگی‌ها بوده و اندام مناسبی برای بررسی تأثیر آلاینده‌ها در آبزیان است. بنابراین تغییر و شدت تغییر در ساختار کبد نشان‌دهنده وجود و میزان آلاینده‌ها می‌باشد (Dutta et al., 1998).



شکل ۵- نمودار میزان افزایش وزن بدن بچه‌ماهیان کپور معمولی پس از ۲۱ روز مواجهه با میکروپلاستیک پلی‌اتیلن. حروف لاتین مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف غیرمعنی‌دار بین میانگین‌هاست ($P < 0.05$).

به نظر می‌رسد میکروپلاستیک‌ها در محیط آبی از دو مسیر آبخش، خون، کبد و یا روده، خون، کبد می‌توانند خود را به این اندام برسانند. در تحقیق حاضر، در بافت کبد بچه‌ماهی کپور معمولی مواجهه شده با ذرات میکروپلاستیک پلی‌اتیلن با اندازه کمتر از ۵۰ میکرومتر آسیب‌هایی از قبیل نکروز، مراکز ملانوماکروفاژی، هایپرتروفی، اتساع سینوزوئیدها، هایپرپلازی، پرخونی سینوزوئیدها و پیکنوز شناسایی شد. با توجه به مشاهده آسیب‌های ذکر شده فوق، صرفاً در گروه‌های آزمایشی حاوی میکروپلاستیک و نیز عدم مشاهده چنین آسیب‌هایی در گروه‌های کنترل، با توجه به یکسان بودن شرایط آزمایشی در تمامی گروه‌ها می‌توان نتیجه گرفت این آسیب‌ها ناشی از اثرات مستقیم و غیرمستقیم حضور میکروپلاستیک‌ها در محیط آبی زندگی بچه‌ماهی کپور معمولی می‌باشند. در سایر تحقیقات مشابه نیز چنین آسیب‌های گزارش شده است، به‌طور مثال Espinosa و همکاران (۲۰۱۹)، گزارش کرده‌اند که دو میکروپلاستیک پلی‌وینیل کلراید (PVC) و پلی‌اتیلن (PE) در طی یک دوره ۲۱ روزه توانسته است در کبد تغییرات مهم و معنی‌داری از جمله افزایش درصد واکوئل‌شدن و تجمع خون در کبد ایجاد کند. همچنین Wang و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که مورفولوژی ساختمان کبد نوعی ماهی سرماری (*Channa maculata*) تحت تأثیر میکروپلاستیک‌ها تغییر کرده و با گذشت زمان، دامنه و تنوع آسیب‌ها بیشتر شده است. همچنین با اثر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به کبد ماهی، آسیب اکسیداتیو وارد شده است و نیز به‌طور معنی‌داری بیان ژن‌های مرتبط با التهاب شامل IL-1 β و TNF- α سرکوب و بیان ژن HSP70 به میزان معنی‌داری افزایش یافته است. از سویی دیگر شاخص هپاتوسوماتیک در گروه کنترل توئین نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت که نشان‌دهنده عدم ایجاد آسیب سلولی و بافتی توسط ماده توئین ۲۰ است. با اینکه تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر از میکروپلاستیک پلی‌اتیلن تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت اما در تیمار حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر از میکروپلاستیک پلی‌اتیلن شاخص هپاتوسوماتیک تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت که نشان‌دهنده افزایش اندازه و وزن کبد در بچه‌ماهیان این گروه است و احتمالاً به معنی التهاب کبدی، تجمع چربی و یا خونریزی توأم با التهاب بافت کبد بچه‌ماهیان می‌باشد (Aithal and Day, 1999). با این حال، میزان افزایش وزن بدن بچه‌ماهی‌ها در همه گروه‌ها در یک دوره ۲۱ روزه تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در این راستا Wang و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهش خود دریافتند که ذرات میکروپلاستیک پلی‌استایرن (PS) بلعیده شده توسط نوعی آرتیمیا (*Artemia parthenogenetica*) در مدت‌زمان ۱۴ روز تأثیری بر روند رشد و بازماندگی ندارد که از این نظر

نتایج این پژوهش با تحقیق حاضر مطابقت دارد. در این مطالعه با قرار دادن بچه‌ماهی کیپور معمولی در معرض دو غلظت ۱ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر از میکروپلاستیک پلی‌اتیلن با چگالی بالا (HDPE) با ابعاد کمتر از ۵۰ میکرومتر مشخص شد که بافت کبد مستعد آسیب‌های متعدد، با شدت کم و در موارد محدودی تا شدت متوسط می‌باشد. ثابت شده است که میکروپلاستیک‌های کوچکتر از ۱۵۰ میکرومتر به راحتی پس از تغییر شکل زیستی از سلول‌های اپیتلیوم روده عبور می‌کنند و وارد سیستم گردش خون شده و در بافت‌های مختلف بدن مانند کبد توزیع می‌شوند (Kim et al., 2021). گزارش شده است آلاینده‌های شیمیایی با سرکوب و تغییر متابولیسم هورمون‌ها و آنزیم‌ها در کبد باعث تغییر ساختار در آن می‌شوند. به نظر می‌رسد استرس اکسیداتیو ناشی از آلاینده‌های میکروپلاستیک موجب آسیب ماکرومولکول‌هایی مانند DNA، پروتئین و لیپیدها می‌شود که نتیجه نهایی آن ایجاد انواع آسیب‌های بافتی می‌شود. به این صورت که متابولیسم ناشی از آلاینده‌ها موجب تشکیل آلاینده‌ها و رادیکال آزاد می‌شود که این متابولیت‌ها با اتصال و واکنش با ساختار ماکرومولکول‌ها ساختار آن‌ها را تغییر داده و عملکردشان را تا حدود زیادی مختل می‌کند (Marin and Taranu, 2012). همچنین افزایش قطر سلول‌های هپاتوسیت کبدی در تیمار حاوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک احتمالاً می‌تواند به دلیل برهم خوردن تعادل آنزیمی و استرس اکسیداتیو ناشی از حضور دائمی میکروپلاستیک‌ها در مدت زمان ۲۱ روزه پژوهش باشد زیرا نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است استرس اکسیداتیو در برخی موارد می‌تواند منجر به افزایش ذخیره گلیکوزن کبدی و بزرگ‌تر شدن سلول‌های هپاتوسیت کبدی شوند (Ferreira et al., 2016).

۵. نتیجه‌گیری کلی

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت میکروپلاستیک‌های پلی‌اتیلن در غلظت‌های مورد استفاده در این پژوهش در صورتی که اندازه کمتر از ۵۰ میکرومتر داشته باشند، در مدت زمان کافی در محیط آبی می‌توانند آسیب‌های جزئی به کبد بچه‌ماهی کیپور معمولی وارد کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه را از گروه شیلات دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران به جهت تأمین تجهیزات و امکانات مورد نیاز پژوهش، که ما را در انجام و ارتقاء کیفی این پژوهش یاری داد، اعلام نمایند.

References

- Aithal, P.G., Day, C.P., 1999. The natural history of histologically proved drug induced liver disease. *Journal of Gut* 44(5), 731-735. DOI: 10.1136/gut.44.5.731
- Bond, A.L., Provencher, J.F., Elliot, R.D., Ryan, P.C., Rowe, S., Jones, I.L., Robertson, G.J., Wilhelm, S.I., 2013. Ingestion of plastic marine debris by Common and Thick-billed Murres in the northwestern Atlantic from 1985 to 2012. *Marine Pollution Bulletin* 77(1-2), 192-195. doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.005
- Bruslé, J., Anadon, G., 2017. The Structure and Function of Fish Liver. DOI: 10.1201/9780203755990-6
- Caspers, H., 1969. *Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters*. Oxford and Edingburgh: Blackwell Scientific Publ. 1968. 313 pp. IBP Handbook No 3. 3G 8. 6 d. Internationale Revue Der Gesamten Hydrobiologie Und Hydrographie 54(3), 470-471. DOI: 10.1002/iroh.19690540313.
- Clark, J.R., Cole, M., Lindeque, P.K., Fileman, E., Blackford, J., Lewis, C., Lenton, T.M., Galloway, T.S., 2016. Marine microplastic debris: a targeted plan for understanding and quantifying interactions with marine life. *Frontiers in Ecology and the Environment* 14(6), 317-324. DOI: 10.1002/fee.1297
- Ding, J., Huang, Y., Liu, S., Zhang, S., Zou, H., Wang, Z., Zhu, W., Geng, J., 2020. Toxicological effects of nano- and micro-polystyrene plastics on red tilapia: Are larger plastic particles more harmless?. *Journal of Hazardous Materials* 396, 122693. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122693

- Duis, K., Coors, A., 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environmental Sciences Europe* 28(1), 1-25. DOI: 10.1186/s12302-015-0069-y
- Dutta, H.M., Roy, P.K., Singh, N.K., Adhikari, S., Munshi, J.D., 1998. Effect of sublethal levels of malathion on the gills of *Heteropneustes fossilis*: scanning electron microscopic study. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology: Official Organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer* 17(1), 51-63.
- Espinosa, C., Esteban, M.A., Cuesta, A., 2019. Dietary administration of PVC and PE microplastics produces histological damage, oxidative stress and immunoregulation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Fish and Shellfish Immunology* 95(4), 574-583. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.10.072
- Ferreira, P.M., Caldas, D.W., Salaro, A.L., Sartori, S.S., Oliveira, J.M., Cardoso, A.J., Zuanon, J.A., 2016. Intestinal and liver morphometry of the Yellow Tail Tetra (*Astyanax altiparanae*) fed with oregano oil. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias* 88(2), 911-922. DOI: 10.1590/0001-3765201620150202.
- Fries, E., Zarfl, C., 2012. Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to low and high density polyethylene (PE). *Environmental Science and Pollution Research* 19(4), 1296-1304. DOI: 10.1007/s11356-011-0655-5
- Karbalaei, S., Golieskardi, A., Hamzah, H.B., Abdulwahid, S., Hanachi, P., Walker, T.R., Karami, A., 2019. Abundance and characteristics of microplastics in commercial marine fish from Malaysia. *Marine Pollution Bulletin* 148(1), 5-15. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.07.072
- Kim, J.H., Yu, Y., Choi, J.H., 2021. Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative stress, immune responses and neurotoxicity in fish exposed to microplastics: A review. *Journal of Hazardous Materials* 413, 125423. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.125423
- Marin, D.E., Taranu, I., 2012. Overview on aflatoxins and oxidative stress. *Toxin Reviews* 31(3-4), 32-43. DOI: 10.3109/15569543.2012.730092
- Plastics Europe., 2016. Plastics – the Facts 2016. Plastics – the Facts 2016, 37. www.plasticseurope.de/informations
- Sadeghei, P., Naghimeh, K., 2017. Evaluation of Lethal Concentration (LC50) of Zinc Chloride (ZnCl₂) and its Effects on Behavioral Responses of Gray Mullet (*Mugil cephalus*). *Experimental Animal Biology* 6(2), 27-34. (In Persian)
- Wang, S., Xie, S., Zhang, C., Pan, Z., Sun, D., Zhou, A., Xu, G., Zou, J., 2022. Interactions effects of nano-microplastics and heavy metals in hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀ × *Channa argus* ♂). *Fish & Shellfish Immunology* 124(2), 74-81. DOI: 10.1016/j.fsi.2022.03.045
- Wang, Y., Zhang, D., Zhang, M., Mu, J., Ding, G., Mao, Z., Cao, Y., Jin, F., Cong, Y., Wang, L., Zhang, W., Wang, J., 2019. Effects of ingested polystyrene microplastics on brine shrimp, *Artemia parthenogenetica*. *Environmental Pollution* 244(4), 715-722. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.10.024
- Worm, B., Lotze, H.K., Jubinville, I., Wilcox, C., Jambeck, J., 2017. Plastic as a Persistent Marine Pollutant. *Annual Review of Environment and Resources* 42(1), 1-26. DOI: 10.1146/annurev-environ-102016-060700