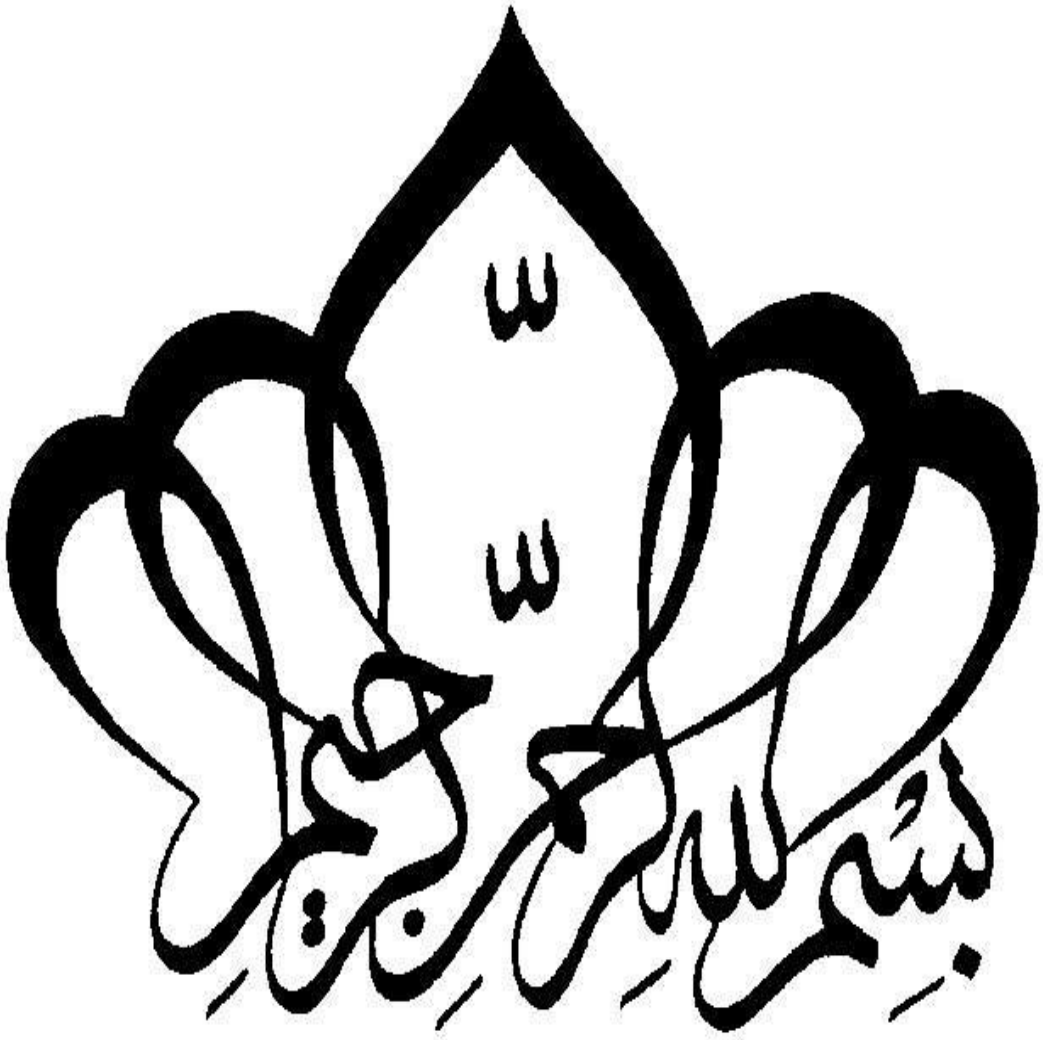

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه گیلان

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

(زیست شناسی دریا- جانوران دریا)

عنوان

# مطالعه سیستم ایمنی غیر اختصاصی (همورال) و عوامل موثر بر آن در جنس ماده ی ماهی سفید خزر *Rutilus frisii kutum*

از

زمرد غفوری رحیم آبادی

استاد راهنما

دکتر بهروز حیدری

استاد مشاور

دکتر محمود رضا آقامعالی

اسفند ۹۱

در نهایت احترام و سپاس

تقدیم به دو فرشته ی بردبار زندگی ام

پدر و مادر عزیزم

و تقدیم به دو عزیز زندگی ام

همسر و برادرم

سپاس خدای راکه درهر زمانی مرایاری داد تا بتوانم هر روز را از دیروزم زیباتر سازم و در سایه ی توجه و عنایت بی حدش، ذره ای شوم در دریای علم و دانش.

اکنون که بالطف و عنایت خداوند توانسته ام برگی از برگ های علم و دانش راورق بزنم لازم می دانم سپاس گزاری خودرانثار عزیزانی کنم که مرایاری دادند تااین برگ باحضورشان سبزگردد.

ابتدا ازپدر و مادر عزیزم که تمام زندگی ام رامدیون محبت ها و زحمت های بی دریغشان،هستم کمال تشکر رادارم.

از همسرعزیزم، که باحضور و مهربانی خود باعث آرامش من گردید بسیار سپاس گزارم.

از استاد راهنمای عزیز و بزرگوارم ،جناب آقای دکتر بهروز حیدری که این رساله در سایه ی زحمت های بی دریغ ایشان به اتمام رسید بی نهایت سپاس گزارم و از این که افتخار فراگیری علم و اخلاق رادر محضرایشان داشتم خدا راشاکرم.

از استاد مشاور بزرگوارم، جناب آقای دکتر محمودرضا آقامعالی که از کمک های ایشان بسیار بهره بردم قدردانی می کنم.

از جناب آقای دکتر نادر شعبانی پور و جناب آقای دکتر علی بانی که زحمت داوری این رساله راپذیرفتند،همچنین از نماینده ی محترم تحصیلات تکمیلی سرکار خانم دکتر نعیمی کمال تشکر رادارم.

از جناب آقای مهندس طلوعی به دلیل زحمت های بی دریغشان صمیمانه تشکر می کنم.

ازکارشناسان محترم آزمایشگاه،خصوصاخانم مهندس هادوی ،کمال تشکر رادارم.

از دوست و هم گروهی عزیزم، خانم فریبا فرزادفرکه صمیمانه یاریم نمودند سپاس گزارم. از تمامی دوستان و همکلاسی های عزیزم، خصوصاخانم ها فرخنده خانجانی، فهیمه محمدپور، مریم علی پور، یاسمن آزادکار، الهام عبدزاده و آقایان منصور کردی، حامدفرزانه و حسین رحمانی بی نهایت سپاس گزارم.

**فهرست مطالب**

**عنوان** **صفحه**

چکیده فارسی ..... ز

چکیده انگلیسی ..... س

**فصل اول: مقدمه و کلیات**

مقدمه ..... ۲

۱-۱- سیستم ایمنی ..... ۲

۱-۱-۱- سیستم ایمنی اختصاصی ..... ۳

۱-۱-۲- سیستم ایمنی غیر اختصاصی ..... ۳

۱-۲- مهمترین اجزای سیستم ایمنی غیراختصاصی هومورال ..... ۴

۱-۲-۱- لیزوزیم ..... ۴

۱-۲-۱-۱- خصوصیات لیزوزیم ..... ۵

۱-۲-۱-۲- عملکرد لیزوزیم ..... ۵

۱-۲-۱-۳- اعمال زیستی لیزوزیم در ماهی ..... ۶

۱-۲-۱-۴- لیزوزیم در بافت ها ..... ۷

۱-۲-۱-۴-۱- بافت کلیه ..... ۷

۱-۲-۱-۴-۲- بافت کبد ..... ۷

۱-۲-۱-۴-۳- بافت طحال ..... ۷

۱-۲-۱-۵- عوامل موثر بر فعالیت لیزوزیم ..... ۸

۱-۲-۲- پروتئین تام ..... ۹

۱-۳- ماهی سفید ..... ۹
۱-۳-۱- جایگاه سیستماتیک ..... ۹
۱-۳-۲- بیولوژی ..... ۱۰
۱-۳-۳- مهاجرت ماهی سفید ..... ۱۰
۱-۳-۴- رسیدگی جنسی ماهی سفید ..... ۱۱
۱-۴- مروری بر مطالعات انجام شده ..... ۱۲

**فصل دوم : مواد و روش ها**

۲-۱- نمونه برداری و آماده سازی نمونه ها ..... ۱۵
۲-۲- سنجش لیزوزیم به روش توربیدیمتریک ..... ۱۶
۲-۲-۱- تهیه ی مواد مورد نیاز جهت سنجش میزان لیزوزیم ..... ۱۶
۲-۲-۲- کشت باکتری ..... ۱۶
۲-۲-۳- تهیه ی منحنی استاندارد ..... ۱۷
۲-۲-۴- تست توربیدیمتریک برای سرم خون و مخاط پوست ..... ۱۸
۲-۲-۵- سنجش لیزوزیم بافت ها (کلیه، کبد و طحال) ..... ۱۹
۲-۲-۵-۱- تهیه ی عصاره ی بافتی ..... ۱۹
۲-۲-۵-۲- - انجام تست لیزوزیم ..... ۱۹
۲-۳- سنجش پروتئین تام ..... ۲۰
۲-۴- مورفوهیستولوژی اندام جنسی ماده ..... ۲۰
۲-۴-۱- آماده سازی بافت ها و تعیین رسیدگی جنسی ..... ۲۱
۲-۵- آنالیز داده ها و مقایسه ی آماری ..... ۲۲

**فصل سوم: نتایج و بحث**

۳-۱- مراحل رسیدگی جنسی در جنس ماده ی ماهی سفید ..... ۲۴

۳-۲- اندازه گیری لیزوزیم و پروتئین تام جنس ماده ی ماهی سفید ..... ۲۵
۳-۲-۱- نتایج لیزوزیم در ماه های مختلف در سرم خون، مخاط و بافت ها ..... ۲۵
۳-۲-۱-۱- تغییرات لیزوزیم سرم خون در ماه های مختلف ..... ۲۵
۳-۲-۱-۲- تغییرات لیزوزیم مخاط پوست در ماه های مختلف ..... ۲۶
۳-۲-۱-۳- تغییرات لیزوزیم بافت کلیه در ماه های مختلف ..... ۲۶
۳-۲-۱-۴- تغییرات لیزوزیم بافت کبد در ماه های مختلف ..... ۲۷
۳-۲-۱-۵- تغییرات لیزوزیم بافت طحال در ماه های مختلف ..... ۲۸
۳-۲-۲- تغییرات لیزوزیم در مراحل رسیدگی جنسی در سرم خون،مخاط و بافت ها ..... ۲۹
۳-۲-۲-۱- تغییرات لیزوزیم سرم تحت رشد تخمدان ..... ۲۹
۳-۲-۲-۲- تغییرات لیزوزیم مخاط تحت رشد تخمدان ..... ۳۰
۳-۲-۲-۳- تغییرات لیزوزیم کلیه تحت رشد تخمدان ..... ۳۱
۳-۲-۲-۴- تغییرات لیزوزیم کبد تحت رشد تخمدان ..... ۳۲
۳-۲-۲-۵- تغییرات لیزوزیم طحال تحت رشد تخمدان ..... ۳۲
۳-۲-۳- نتایج پروتئین تام در ماه های مختلف در مخاط پوست و بافت ها ..... ۳۳
۳-۲-۳-۱- تغییرات پروتئین تام مخاط پوست در ماه های مختلف ..... ۳۳
۳-۲-۳-۲- تغییرات پروتئین تام بافت کلیه در ماه های مختلف ..... ۳۴
۳-۲-۳-۳- تغییرات پروتئین تام بافت کبد در ماه های مختلف ..... ۳۵
۳-۲-۳-۴- تغییرات پروتئین تام طحال در ماه های مختلف ..... ۳۵
۳-۲-۴- - نتایج پروتئین تام در مخاط پوست و بافت ها تحت رشد تخمدان ..... ۳۶
۳-۲-۴-۱- تغییرات پروتئین تام مخاط تحت رشد تخمدان ..... ۳۶
۳-۲-۴-۲- تغییرات پروتئین تام کلیه تحت رشد تخمدان ..... ۳۷
۳-۲-۴-۳- تغییرات پروتئین تام کبد تحت رشد تخمدان ..... ۳۸
۳-۲-۴-۴- تغییرات پروتئین تام طحال تحت رشد تخمدان ..... ۳۸

۳-۳- بحث ..... ۴۲
۳-۳-۱- تاثیر دما روی فعالیت لیزوزیم در سرم، مخاط پوست و بافت ها ..... ۴۲
۳-۳-۲- تاثیر رسیدگی جنسی روی فعالیت لیزوزیم در سرم، مخاط و بافت ها ..... ۴۵
۳-۳-۳- مقایسه میزان و فعالیت لیزوزیم در سرم، مخاط پوست و بافت ها ..... ۴۶
۳-۳-۴- تاثیر دما و رسیدگی جنسی بر پروتئین تام در سرم، مخاط و بافت ها ..... ۴۶
۳-۳-۵- جمع بندی نهایی و پیشنهادات ..... ۴۷
منابع ..... ۴۸
پیوست ها ..... ۵۴

## فهرست اشکال


شکل ۱-۱ ساختار مولکولی لیزوزیم ..... ۴

شکل ۱-۲ عملکرد لیزوزیم ..... ۶

شکل ۱-۳ انواع مهاجرت ها در ماهی ..... ۱۱

شکل ۱-۴ ماهی سفید دریای خزر و نمایی از قسمت سر ماهی سفید نر ..... ۱۲

شکل ۲-۱ جمع اوری نمونه ها از پره کشی ..... ۱۵

شکل ۲-۲ دستگاه فریزدرایرمربوط به تهیه باکتری خشک ..... ۱۷

شکل ۲-۳ دستگاه اسپکتروفوتومتر ..... ۱۸

شکل ۲-۴ دستگاه سونیکاتور ..... ۱۹

شکل ۳-۱ مراحل رسیدگی تخمدان در ماهی سفید دریای خزر ..... ۲۴

شکل ۳-۲ تغییرات لیزوزیم در سرم خون ماهی در ماه‌های مختلف ..... ۲۵

شکل ۳-۳ تغیییرات لیزوزیم درمخاط پوست ماهی در ماه‌های مختلف ..... ۲۶

شکل ۳-۴ تغییرات لیزوزیم در بافت کلیه در ماه های مختلف ..... ۲۷

شکل ۳-۵ تغییرات لیزوزیم بافت کبد در ماه های مختلف ..... ۲۸

شکل ۳-۶ تغییرات لیزوزیم در بافت طحال در ماه های مختلف ..... ۲۹

شکل ۳-۷ تغییرات غلظت لیزوزیم سرم خون در طی مراحل مختلف رشد تخمدان ..... ۳۰

شکل ۳-۸ تغییرات غلظت لیزوزیم در مخاط پوست ماهی در مراحل مختلف رشد تخمدان ..... ۳۱

شکل ۳-۹ تغییرات غلظت لیزوزیم درکلیه ی ماهی در مراحل مختلف رشد تخمدان ..... ۳۱

شکل ۳-۱۰ تغییرات غلظت لیزوزیم در کبد در مراحل مختلف رشد تخمدان ..... ۳۲

شکل ۳-۱۱ تغییرات لیزوزیم طحال در مراحل مختلف رشد تخمدان ..... ۳۳
شکل ۳-۱۲ تغییرات پروتئین تام مخاط پوست در ماه های مختلف ..... ۳۴
شکل ۳-۱۳ تغییرات پروتئین تام کلیه در ماه های مختلف ..... ۳۴
شکل ۳-۱۴ تغییرات پروتئین تام کبد در ماه های مختلف ..... ۳۵
شکل ۳-۱۵ تغییرات پروتئین تام طحال در ماه های مختلف ..... ۳۶
شکل ۳-۱۶ تغییرات پروتئین تام مخاط تحت رشد تخمدان ..... ۳۷
شکل ۳-۱۷ تغییرات پروتئین تام کلیه تحت رشد تخمدان ..... ۳۷
شکل ۳-۱۸ تغییرات پروتئین تام کبد تحت رشد تخمدان ..... ۳۸
شکل ۳-۱۹ تغییرات پروتئین تام طحال تحت رشد تخمدان ..... ۳۹

## فهرست جداول

جدول ۲-۱ نحوه ی تهیه منحنی استاندارد جهت سنجش پروتئین تام ..... ۲۰

جد.ل ۳-۱ میانگین ± انحراف استاندارد غلظت لیزوزیم در ماه های سال و مراحل رشد تخمدان ..... ۴۰

جدول ۳-۲ میانگین ± انحراف استاندارد غلظت پروتئین تام در ماه های سال و مراحل رشد تخمدان ..... ۴۱

**چکیده**

مطالعه ی سیستم ایمنی غیر اختصاصی (هومورال) و عوامل موثر بر آن در جنس ماده ی ماهی سفید خزر *Rutilus frisii kutum*

زمرد غفوری رحیم آبادی

ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) یکی از گونه های مهم دریای خزر است که دارای ارزش غذایی و اقتصادی می باشد. به منظور مطالعه ی سیستم ایمنی غیر اختصاصی این ماهی و عوامل موثر بر آن، نمونه برداری از جنس ماده‌ی ماهی سفید طی یک دوره‌ی هشت ماهه (از مهر۱۳۹۰ تا اردیبهشت ۱۳۹۱) از منطقه‌ی جفرود انزلی و رودخانه سفیدرود انجام شد. خونگیری و نمونه ی مخاط پوست به ترتیب توسط سرنگ ۵ سی سی و لام تهیه گردید. بافت های کلیه، کبد و طحال نیز از ماهی جدا شده و تا آنالیز در فریزر نگهداری شدند. همچنین مراحل رسیدگی جنسی ماهی طی مراحل بافت شناسی تعیین گردید. فعالیت لیزوزیم و میزان پروتئین تام طی تست توربیدیمتریک و روش بردفورد مشخص گردید. نتایج نشان داد که لیزوزیم سرم و بافت های ماهی (به جز بافت طحال) طی ماههای نمونه برداری از مهر تا دی روند صعودی داشت ( در مخاط از مهر تا آذر این روند دیده شد) و سپس بعد از آن در اسفند ماه در سرم، مخاط و بافت ها نزول پیدا کرد. نهایتا غلظت لیزوزیم در ماه اردیبهشت یعنی بعد از مهاجرت ماهی به رودخانه در سرم، مخاط و بافت ها افزایش یافت ($P<0.05$). غلظت لیزوزیم سرم، مخاط و بافت های ماهی سفید خزر (به جز بافت طحال) از مرحله‌ی رشد اولیه ی اووسیت تا مرحله‌ی آلوئل کورتیکال روند صعودی داشته و بعد از آن در مرحله ی زرده سازی کاهش یافت. بعد از مهاجرت ماهی به رودخانه برای تخم ریزی غلظت لیزوزیم به طور معنی داری افزایش یافت ($P<0.05$). غلظت پروتئین تام نیز نوساناتی تقریبا همانند لیزوزیم هم در مخاط و هم در بافت ها داشت. در مجموع، نتایج حاکی از اثر دما، رسیدگی جنسی و مهاجرت روی غلظت لیزوزیم در سرم خون، مخاط پوست و بافت های جنس ماده‌ی ماهی سفید خزر می‌باشد. همچنین غلظت لیزوزیم در بافت ها به طور چشمگیری از سرم خون و مخاط پوست بیشتر بود که به نظر می‌رسد به دلیل نقش بیشتر بافت ها در سیستم ایمنی غیر اختصاصی باشد.

**کلید واژه:** ماهی سفید دریای خزر، لیزوزیم، توربیدیمتریک، پروتئین تام .

**Abstract**

**The study of non- specific immune system (Humoral) and effective factors on it in female Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*).**

Zomorrod Ghafoori Rahimabadi

The Caspian Kutum *(Rutilus frisii kutum*) is one of the most important species of the Caspian Sea, which has the economical and nutritional value. In order to study the non-specific immune system of the kutum and its effective factors, sampling was taken over a period of eight months (from October to May, 2012) from Anzali coast (Jefrood) and the Sefidrud River. Blood samples and skin mucus were taken by 5 cc syringe and glass slide, respectively. The tissue (kidney, liver and spleen) samples were isolated from the fish and frozen for further analysis. On the basis of histology the ovarian growth was determined in Caspian Kutum. Lysozyme activity and total protein content were determined using the Turbidimetric test and Bradford method. The results indicate that lysozyme level in serum and tissues (except spleen) had ascending trend from October to January ($P<0.05$) and after that, decreased in March in serum, mucus and tissue. Finally, lysozyme increased in May in serum, mucus and tissues, again ($p<0.05$). Lysozyme levels in serum, mucus and tissues from the early growth to cortical alveoli stage was ascendant and after that, in vitellogenesis decreased. After migrating to the river for spawning, lysozyme activity significantly increased ($P<0.05$). The concentration of total protein was similar to lysozyme in mucus and tissues. In conclusion, the results showed the effects of temperature, oocyte development and migration on lysozyme variations of the Caspian kutum. The lysozyme content in tissues was significantly higher than the skin and mucus which can be justified as important role of tissues in non- specific immune system.

**Keywords:** Caspian kutum, Lysozyme, Turbidimetric, Total protein.

# فصل اول

# مقدمه و کلیات

## مقدمه

بهداشت ماهی بر بسیاری از جنبه های زندگی انسان تاثیر می گذارد. سلامت و سیستم ایمنی ماهی نشان دهنده ی کیفیت و آلودگی محیط آبی است و علاوه بر این ماهی به دلیل داشتن سیستم ایمنی ساده مدل بسیار خوبی برای مطالعه روی سیستم ایمنی می باشد [Iwama, 1996]. ایمنی پدیده ای است که در زمین از دورترین زمان ها وجود داشته و قدمتش به کهولت بیماری ها است. از کوچکترین و ابتدائی ترین موجودات تا پیشرفته ترین آنها یعنی انسان برای زندگیشان در تلاشند و خداوند به آنها دستگاه ایمنی عنایت کرده تا با عوامل خردتر از خود یعنی عوامل عفونت زا ستیز نمایند. اولین نمونه ی واقعی دستگاه ایمنی در مهره داران در ماهیان اولیه ظاهر شده و سرانجام در ماهیان غضروفی تکامل پیدا کرده است [سلطانی، ۱۳۸۷].

تا کنون بیش از ۳۰ هزار گونه ی ماهی شناسایی شده، که تفاوت های عمده ای با هم دارند. بنابراین دستگاه ایمنی آنها نیز بسته به گونه ی ماهی ممکن است تفاوت های عمده ای با همدیگر داشته باشند. به عبارت دیگر همزمان با تکامل نژادی[1]ماهیان، سیستم های دفاعیشان نیز تکامل یاقته است [سلطانی، ۱۳۸۷].

## ۱-۱-سیستم ایمنی

سیستم ایمنی شبکه ای از سلول ها، بافت ها و اندام ها است که همراه با هم از نفوذ عوامل بیماری زا به بدن جلوگیری می کنند. این عوامل بیماری زا می تواند شامل باکتری ها، پارازیت ها، قارچ ها، ویروس ها و سایر عوامل پاتوژن باشد [Kelly., 2007]. ایمنی در ماهی مانند سایر مهره داران نقش مهمی در دفاع در برابر عوامل مهاجم دارد. ایمنی در ماهی شامل سیستم ایمنی اختصاصی و سیستم ایمنی غیر اختصاصی می باشد [Ingram., 1980]. سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهی به دلیل تخصص کمتر ایمنی اختصاصی اهمیت بیشتری نسبت به مهره داران بالاتر دارد [Sahoo.,].



[1] Phylogeny

## ۱-۱-۱ سیستم ایمنی اختصاصی

واکنش ایمنی اختصاصی دارای دو بازو است، ایمنی هومورال [1](تولید کننده ی آنتی بادی) و ایمنی با واسطه ی سلولی. تماس با یک آنتی ژن منجر به تحریک بخش کوچکی از لنفوسیت های دست نخورده می شود، که مستعد شناسایی آنتی ژن از راه گیرنده های اختصاصی آن آنتی ژن هستند [Manning., 1994].

## ۱-۱-۲سیستم ایمنی غیر اختصاصی

سرم، موکوس و بافت های بدن و همچنین تخم ماهی ها شامل انواعی از ترکیبات هستند که از رشد میکروارگانیسم ها جلوگیری می کند. این مواد اکثرا از ترکیبات پروتئینی و گلیکوپروتئینی هستند و ترکیبات مشابه یا پیش ساز آنها در هومولنف بی مهرگان وجود دارد. اگرچه این ترکیبات تنها با یک نوع یا گروه خاصی از مواد و ترکیبات شیمیایی واکنش نشان می دهند اما از آنجایی که اغلب این مواد مشترک بوده و به علاوه بر علیه طیفی از میکرو ارگانیسم ها واکنش نشان می دهند، بنابر این آنها را عوامل ایمنی غیر اختصاصی می نامند [ Iwama., 1996]. ایمنی غیر اختصاصی اولین خط دفاعی در مقابل هجوم عوامل بیگانه می باشد که سریعتر از ایمنی اختصاصی در پاسخ به عفونت ها عمل می کند[Sahoo et al., 2008] .

ایمنی غیر اختصاصی نه تنها در مراحل لاروی بلکه در تمام طول حیات جانور وجود دارد و حتی در مواقع ضعف یا نقص ایمنی اختصاصی (برای مثال در هنگام دماهای پایینتر از دمای فیزیولوژی مطلوب ماهی) نقش حفاظتی ایفا می کند [سلطانی، ۱۳۸۷]. ایمنی غیر اختصاصی در ماهی و مهره داران بالاتر شامل ایمنی هومورال (ترکیبات مایع) و ایمنی سلولی می باشد [Saurabh., 2008]. ایمنی هومورال شامل لیزوزیم، سیستم عامل مکمل[2]، لکتین، سیتوکین ها، اینترفرون ها، پروتیین فاز حاد (CRP)[3]، ترانسفرین و ترکیباتی از قبیل پروتیین‌ناز، آنتی پروتئاز،کیتیناز و همولیزین می باشد. ایمنی سلولی شامل سلول های فاگوسیت کننده ی ماهیان مثل نوتروفیل ها، ماکروفاژها و همچنین شامل واکنش های التهابی و آنزیم های ترشحی از این سلول ها شامل دسته های اکسیژن فعال (ROS)[4] در واکنش انفجار تنفسی، اسید فسفاتاز لیزوزومی و نیتریک اکسید می باشد [Ellis., 1999].

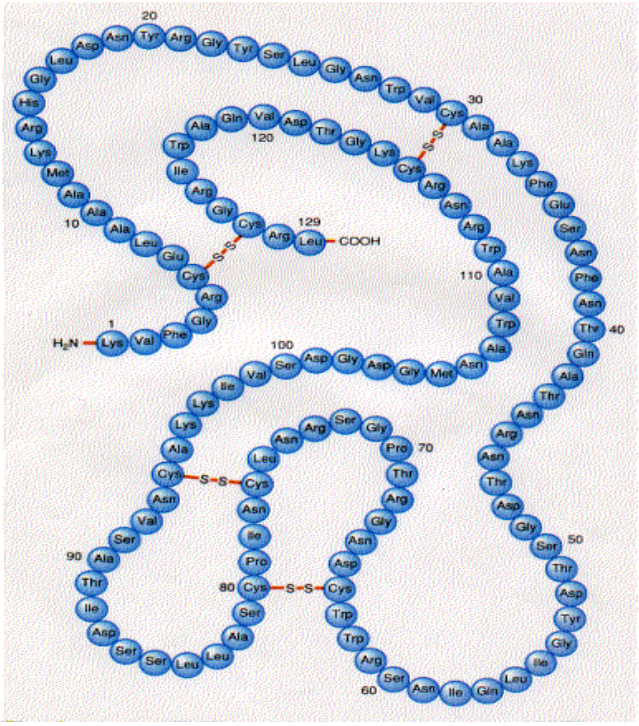


[1]Humoral immune system
[2] Complement
[3] C-Reactive Protein
[4] Reactive oxygen species

## ۱-۲-مهمترین اجزای سیستم  ایمنی غیر اختصاصی هومورال

### ۱-۲-۱- لیزوزیم

لیزوزیم یکی از مهمترین مولکول های دفاعی در سیستم ایمنی غیراختصاصی می باشد [Saurabh., 2008]. یک پلی پپتید ۱۲۰ اسید آمینه ای است (شکل ۱-۱) که در طیف وسیعی از مهره داران یافت شده است [Osserman et al., 1974]. لیزوزیم  به عنوان یک آنزیم لیتیک، یکی از فاکتورهای دفاعی مهم بر علیه میکروارگانیسم ها است که از لکوسیت ها (بیشتر توسط نوتروفیل ها و مونوسیت ها و کمتر توسط ماکروفاژها) ترشح می شود [Iwama.,1996]. سطح لیزوزیم یا فعالیت آن یک شاخص مهم برای ایمنی غیراختصاصی در ماهیان و تمام موجودات زنده می باشد [Saurabh., 2008] .



شکل۱-۱: ساختار مولکولی لیزوزیم

## ۱-۲-۱-۱-خصوصیات لیزوزیم

خصوصیات لیزوزیم به شرح زیر است [Salton., 1957; Jolles., 1969].

۱. دیواره ی باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (باکتری گرم مثبت که باعث عفونت می شود) را لیز می کند.

۲. توسط سلولز با پوشش کیتینی[1] جذب می شود.

۳. یک پروتئین با وزن مولکولی پایین است (14KDa).

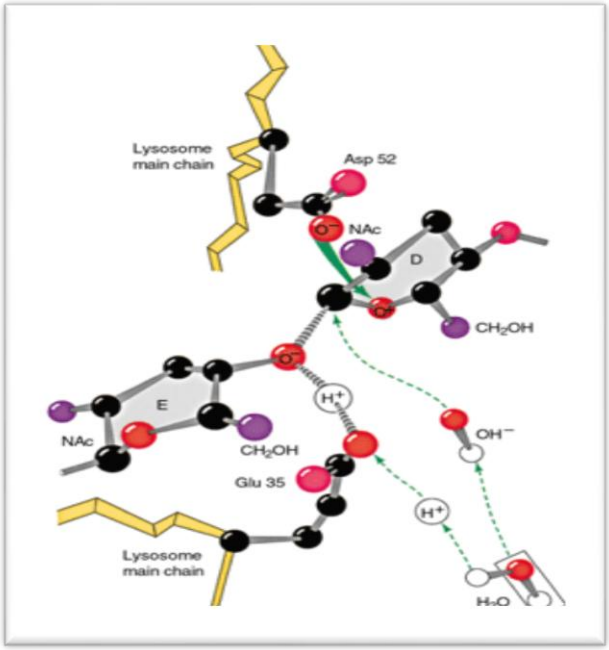
۴. در pH اسیدی و دماهای بالا فعالیت دارد اما در pH بازی فعالیت خود را از دست می دهد.

## ۱-۲-۱-۲-عملکرد لیزوزیم

لیزوزیم پیوندهای گلیکوزیدی لایه ی پپتید و گلیکان[2] موجود در دیواره ی باکتری های گرم مثبت[3] شامل پیوند بتا ۱ و ۴ بین N-acetylmuramic acid و N-acetylglucosamine را میشکند (شکل ۱-۲) بنابراین از هجوم آنها جلوگیری می کند [Salton and Ghuysen., 1959]. در باکتری گرم منفی نیز بعد از تاثیر سیستم عامل مکمل و دیگر آنزیم ها روی دیواره ی خارجی باکتری لیزوزیم به پپتید و گلیکان لایه ی داخلی حمله می کند و باعث انهدام باکتری می شود [Glynn.,1969; Neeman et al., 1974; Hjelmeland et al., 1983]. به علاوه ی اثر آنتی باکتریایی، لیزوزیم آغاز کننده ی فاگوسیتوز و اپسونیزاسیون[4] نیز می باشد، همچنین مستقیما گلبول های سفید و ماکروفاژها را فعال می کند [Klockars and Roberts, 1976; Jolles.,1984].



[1] Chitin-coated cellulose
[2] Peptidoglycan layers
[3] Gram-positive bacteria
[4] Opsonization




شکل ۱-۲: عملکرد لیزوزیم

## ۱-۲-۱-۳-اعمال زیستی لیزوزیم در ماهی

در ماهیان لیزوزیم اغلب در گردش خون و بافت های غنی از لکوسیت مانند قسمت قدامی کلیه، بافت طحال و کبد و مخاط پوست، آبشش و دستگاه گوارش یافت می شود که این محل ها در ماهیان بیشتر مورد تهاجم باکتری ها قرار می گیرند [Fletcher and Grant., 1968; Ourth., 1980; Studnicka et al., 1986; Grinde., 1989; Yousif et al 1991; Holloway et al., 1993]. این نشان دهنده ی این است که لیزوزیم در ماهیان نقش مهمی را در مکانیسم های دفاعی در مقابل بیماری های عفونی دارد [Fang et al., 1976; Lindsay., 1986] . در کفشک ماهی[1] فعالیت لیزوزیم در مونوسیت ها و نوتروفیل ها مشخص شده است [Murray and Fletcher.,1976]. مکانیسم های جلوگیری از رشد و لیز کردن باکتری توسط آنزیم لیزوزیم همیشه یکسان نیستند و در گونه های مختلف تفاوت دارد [Iacono et al., 1980] .



[1] Plaice

## ۱-۲-۱-۴- لیزوزیم در بافت ها

### ۱-۲-۱-۴-۱- بافت کلیه

کلیه های بسیاری از ماهیان، اندامی باریک، طویل و به رنگ قرمز تیره هستند که در امتداد ناحیه ی پشتی دیواره ی بدن، درست در زیر ستون مهره ها کشیده شده اند. قسمت قدامی کلیه در ماهیان به عنوان قسمت خونساز شناخته می شود اما وظایف ترشحی (دفعی) کلیه، در بخش خلفی آن متمرکز است [ ستاری، ۱۳۸۵]. قسمت قدامی کلیه دارای چهارچوبی از سلول های رتیکولار و فاگوسیت ها می باشد. کلیه در ماهیان به عنوان اندام اصلی خونساز است و همچنین نقش اندام لنفوییدی ثانویه در ماهیان ایفا می کند. بخش قدامی کلیه بر اساس معیار بافت شناسی اولین اندامی است که حاوی بافت خونساز است. گرچه گلبول های قرمز و ماکروفاژها قبل از تمایز کلیه وجود دارند [سلطانی، ۱۳۸۷]. وجود لیزوزیم در کلیه ی ماهیان خاویاری و استخوانی رودخانه ی ولگا و انواع دیگری از ماهیان مشاهده شده است [Subbotkina and Subbotkin., 2001].

### ۱-۲-۱-۴-۲- بافت کبد

این اندام در کوسه ها و سپر ماهیان بسیار بزرگ است، خصوصا در بعضی از کوسه های پلاژیک حدود ۲۰٪ از وزن بدن را تشکیل می دهد. این اندام مشخصا دارای دو قطعه (لوب) است که توسط یک مجرای جداگانه به کیسه ی صفرا راه می یابند [ستاری، ۱۳۸۶۵]. کبد دارای نقش پاکسازی در سیستم رتیکولوآندوتلیال ماهی است. کبد در ماهیان پست تر مثل کوسه ماهیان نقش فاگوسیتوز را ایفا می کند که در بعضی موارد این نقش ۱۰ برابر ماهیان استخوانی است. در کبد ماهیان غضروفی اجتماعات لنفوییدی را می توان مشاهده کرد، به همین خاطر این اندام به عنوان اندام لنفوییدی ثانویه در این ماهیان شناخته می شود [سلطانی، ۱۳۸۷]. وجود لیزوزیم در بافت کبد ماهیان استخوانی رودخانه ی ولگا مشاهده شده است [ Subbotkina and Subbotkin., 2001].

### ۱-۲-۱-۴-۳- بافت طحال

طحال معمولا رنگ قرمز تیره دارد و غالبا هرمی شکل است. این اندام بر روی معده یا در پشت آن قرار می گیرد و توسط یک وتر (لیگامنت) نواری شکل به آن اتصال دارد. اگرچه این اندام با اندام های گوارشی در ارتباط است، اما وظیفه ی گوارشی به عهده ی