بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه گیلان

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

عنوان

بررسی تاثیر میدان مغناطیسی ایستا بر روی برخی پارامترهای فیزیولوژیک در بچه ماهی سفید خزر (*Rutilus frisii kutum*)

از

جواد لقمان نیا

استاد راهنما

دکتر بهروز حیدری

استاد مشاور

مهندس سید علی روضاتی

اسفند 92

به نام ایزدیگانه

سپاس پروردگار یکتا و مهربان را که هستی مان بخشید و خویشتن را به ما شناساند، خداوندی که روزگارمان را به حکمت رقم زد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود.

اینک که با لطف خداوند متعال موفق به گذراندن این دوره ی تحصیلی شدم، لازم می دانم از دستانی که دستم را در راه پیشبرد این رساله حمایت و هدایت کردند تشکر و قدردانی کنم.

در ابتدا از پدر و مادر عزیز و مهربانم که همواره پشتیبان من بودند و دعای خیرشان بدرقه ی راهم بوده و هست و از دو خواهر نازنینم و دو برادر بزرگوارم که همواره مایه ی دلگرمی و آرامش خاطرم می باشند کمال تشکر را دارم.

از استاد راهنمای فرهیخته و بزرگوارم، جناب آقای دکتر بهروز حیدری به پاس رهنمود های علمی و حمایت های بی نظیرشان بی نهایت سپاسگزارم و خداوند متعال را شاکرم که افتخار فراگیری علم و ادب و اخلاق را در محضر ایشان داشتم و برایشان آرزوی توفیق روزافزون، سلامتی و شادکامی را دارم.

از استاد مشاور بزرگوارم، جناب آقای مهندس سید علی روضاتی، به خاطر راهنمایی های ارزشمند و مساعدت های بی دریغشان صمیمانه تشکر می کنم.

از اساتید گرامی، جناب آقای دکتر شعبانی پور و جناب آقای دکتر فلاحتکار که زحمت داوری پایان نامه بنده را پذیرفتند و همچنین نماینده ی محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر نورسته نیا کمال تشکر را دارم.

از کارشناسان محترم گروه زیست شناسی به خصوص سرکار خانم هادوی و سرکار خانم امیدی صمیمانه سپاسگزارم.

از هم آزمایشگاهی ها و دوستان خوبم که در پیشبرد این پایان نامه مرا یاری کردند؛ آقایان مصطفی پور نورعلی و مصطفی یوسفی و خانم ها سودابه کاظمی، بهار عبداللهی، مریم ابراهیم زاده و مرضیه زحمتکش، بسیار سپاسگزارم و تندرستی و موفقیت روزافزون در تمامی عرصه های زندگی را برایشان آرزومندم.

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است

به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

پدر بزرگوارم

مادر مهربانم

دو خواهر نازنین

و دو برادر عزیزم

به پاس تمام زحمت ها، مهربانی ها و بزرگواری هایشان

چکیده

بررسی تاثیر میدان مغناطیسی ایستا بر روی برخی پارامترهای فیزیولوژیک در بچه ماهی سفید خزر (*Rutilus frisii kutum*).

جواد لقمان نیا

در سال های اخیر استفاده از امواج مغناطیسی تشخیصی مانند کابل های زیر دریایی و سایر منابع تولید کننده امواج مغناطیسی در دریاها رو به افزایش بوده است و از طرفی ذخایر برخی ماهیان کاهش شدیدی یافته است، لذا در مطالعه حاضر تاثیر این امواج بر فیزیولوژی ماهی مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این آزمایش، بچه ماهیان سفید (وزن: 1/78±0/11 g) به تعداد 220 قطعه در تیمار های جداگانه (2/5، 5 و 7/5 میلی تسلا به همراه کنترل) نگهداری شده و مورد مطالعه قرار گرفتند. در هر دو آزمایش نیمه مزمن و نیمه حاد، روند افزایشی در فعالیت آنزیم های ALT و AST مشاهده گردید، بطوریکه این اختلاف معنی دار بود ($P<0.05$). اما فقط در مورد آنزیم ALT، روند فعالیت این آنزیم در شدت 7/5 mT با کاهش معنی داری مواجه شد ($P<0.05$). بر اساس یافته ها افزایش در فعالیت آنزیم های متابولیسمی ALT و AST می تواند به دلیل اثرات میدان مغناطیسی بر کانال های یونی حاضر در غشاء سلول ها و تغییر پتانسیل سلول باشد. در ادامه پژوهش حاضر، غلظت آنزیم لیزوزیم به عنوان شاخص ایمنی، در دو نوبت نیمه مزمن و نیمه حاد مورد بررسی قرار گرفت که در هر دو نوبت با کاهش مشخص و معنی داری همراه بود که نشان دهنده ی وجود استرس در محیط و تضعیف ایمنی بچه ماهیان با ترشح هورمون های کورتیزول و هیدروکورتیزون می باشد بطوریکه افزایش هورمون های استرس، میزان لوکوسیت ها که محل عمده ی ترشح لیزوزیم می باشند را کاهش می دهند.

کلید واژه : میدان مغناطیسی ایستا، ماهی سفید دریای خزر، لیزوزیم، ALT، AST

فهرست مطالب

عنوان **شماره**

صفحه

چکیده فارسی ..... ذ

چکیده انگلیسی ..... ر

فصل اول / مقدمه و کلیات

1- کلیات 2

1-1- میدان مغناطیسی و انواع آن 2

1-1-1- میدان های مغناطیسی زمین 3

1-1-2- میدان های مغناطیسی مصنوعی 3

1-1-3- میدان مغناطیسی ایستا 4

1-2- آمینوترانسفرازها یا ترانس آمینازها 4

1-2-1- آلانین آمینوترنسفراز (ALT) یا ترانس آمیناز پیرووبک گلوتامیک (GPT) 5

1-2-2- آسپارتات آمینوترنسفراز (AST) یا گلوتامیک اگزالواستیک ترانس آمیناز (GOT) 6

1-3- لیزوزیم 7

1-4- ماهی سفید دریای خزر 9

1-4-1- سیستماتیک 9

1-4-2- بیولوژی ماهی سفید دریای خزر 9

1-5- سابقه ی تحقیق 11

1-6- فرضیات تحقیق 12

1-7- ضرورت و اهداف 13

فصل دوم / مواد و روش ها

2-1- دستگاه مولد میدان مغناطیسی ایستا 15

2-1-1- نحوه ی ساخت دستگاه 15

2-1-2- قفس فارادی 17

2-1-3- نحوه ی تنظیم شدت میدان 17

2-2- تهیه و نگهداری نمونه ها 18

2-3- قرارگیری نیمه مزمن در میدان مغناطیسی ایستا 18

2-4- قرارگیری نیمه حاد در میدان مغناطیسی ایستا 19

2-5- آماده سازی نمونه های بافتی 20

2-6- نحوه ی سنجش فعالیت آمینوترانسفرازها 20

2-6-1- سنجش فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) 20

2-6-2- سنجش فعالیت آلانین آمینوترانسفراز (ALT) 21

2-7- نحوه ی سنجش فعالیت آنزیم لیزوزیم 21

2-7-1- تهیه مواد مورد نیاز و آماده سازی محلول جهت سنجش میزان لیزوزیم 22

2-7-2- کشت باکتری 22

2-7-3- سنجش لیزوزیم بافت ها 22

2-7-4- تهیه منحنی استاندارد 23

2-8- تجزیه و تحلیل آماری 23

فصل سوم / نتایج

3-1- تغییرات فعالیت آنزیم ALT در مواجهه ی نیمه مزمن با میدان مغناطیسی ایستا 25

3-2- تغییرات فعالیت آنزیم AST در مواجهه ی نیمه مزمن با میدان مغناطیسی ایستا 25

3-3- تغییرات فعالیت آنزیم ALT در مواجهه ی نیمه حاد با میدان مغناطیسی ایستا 26

3-4- تغییرات فعالیت آنزیم AST در مواجهه ی نیمه حاد با میدان مغناطیسی ایستا 28

3-5- تغییرات غلظت آنزیم لیزوزیم در مواجهه ی نیمه مزمن با میدان مغناطیسی ایستا 29

3-6- تغییرات غلظت آنزیم لیزوزیم در مواجهه ی نیمه حاد با میدان مغناطیسی ایستا 30

فصل چهارم / بحث

4- بحث 31

منابع 36

پیوست ها 41

فهرست اشکال

شکل 1-1 سیستم سونار LFA 4

شکل 1-2 واکنش تسریع شده توسط آلانین آمینوترانسفراز 6

شکل 1-3 واکنش تسریع شده توسط آسپارتات آمینوترانسفراز 7

شکل 1-4 ساختار اولیه آنزیم لیزوزیم 8

شکل 1-5 محل تاثیر آنزیم لیزوزیم 9

شکل 1-6 ماهی سفید دریای خزر 9

شکل 2-1 دستگاه مولد میدان مغناطیسی ایستا 15

شکل 2-2 تصویر شماتیک پیچه ی هلمهولتز 16

شکل 2-3 قفس فارادی بدور دستگاه مولد میدان 17

شکل 2-4 توری آلومینیمی 17

شکل 2-5 ترانس متغیر DC 18

شکل 2-6 رئوستا 18

شکل 2-7 تسلامتر HT201 18

شکل 2-8 شرایط نگهداری ماهی ها برای انجام آزمایش 19

شکل 2-9 بشر 2 لیتری حاوی بچه ماهی های قرار گرفته در میدان 19

شکل 3-1 فعالیت آنزیم ALT تحت تاثیر میدان نیمه مزمن 25

شکل 3-2 فعالیت آنزیم AST تحت تاثیر میدان نیمه مزمن 26

شکل 3-3 فعالیت آنزیم ALT تحت تاثیر میدان نیمه حاد 27

شکل 3-4 فعالیت آنزیم AST تحت تاثیر میدان نیمه حاد 28

شکل 3-5 فعالیت آنزیم لیزوزیم تحت تاثیر میدان نیمه مزمن 29

شکل 3-6 تغییرات غلظت آنزیم لیزوزیم تحت تاثیر میدان نیمه حاد 30

فهرست جداول

جدول 2-1 مواد مورد نیاز برای سنجش آنزیم لیزوزیم 22

Abstract

The study of the effects of static magnetic field on some physiological parameters in Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry.

Javad Loghmannia

In recent years, the use of diagnostic magnetic waves like underwater cables and the other producers have increased extensively in the ocean and on the other hand, the stock of some fishes has reduced dramatically, so in this study the effect of these magnetic waves on fish physiology has been evaluated. In present experiment, 220 fry Kutum (body weight 1.78 ± 0.11 g) were treated in distinct containers (2.5, 5, 7.5 mT) and exposed to static magnetic fields. In both sub-chronic and sub-acute exposure, an increased enzyme activity was seen in comparison to control ($p<0.05$), but exceptionally the activity of ALT enzyme demonstrated decrease in 7.5 mT treatment which was significant ($p<0.05$). According to studies, increase in these metabolic enzymes activity can be due to the effects of magnetic field on the ion canals of the cell membrane and changing its potential. In continuation of this study, lysozyme enzyme concentration was studied as an immune system index in to period of exposure. Concentration of lysozyme demonstrated a continuous decrease in both sub-chronic and sub-acute exposures, which were significant ($p<0.05$). This result shows the existence of environmental stress and weakened immunity in fish fry following cortisol and hydrocortisone hormones. These hormones can reduce leucocytes which are the main source of lysozyme enzyme.

Key word: Static Magnetic Field, *Rutilus frisii kutum*, Lysozyme, AST, ALT.

فصل اول

مقدمه و کلیات

1- کلیات

در طول زندگی، همه ی موجودات زنده به نحوی با میدان های مغناطیسی زمین در ارتباط هستند. به نظر می رسد که برخی از این موجودات دارای اندام حسی ویژه ی پیشرفته با حساسیت مغناطیسی بالا بوده که به منظور جهت یابی فضایی در طول مهاجرت به کار می روند. سایر موجودات از جمله انسان، نه تنها تحت تاثیر میدان مغناطیسی زمین قرار دارند، بلکه گاهی تحت تاثیر میدان های بسیار بزرگتری قرار می گیرند که توسط منابع غیر طبیعی تولید می شوند [HPA, 2008]. شواهد زیادی موجود است که نشان می دهد میدان های مغناطیسی (MF[1]) روش های بیوفیزیکی-پزشکی مهمی بوده و توانایی اعمال تاثیرات زیستی متعدد بر روی سلولها، مانند تاثیر روی پاسخ آنتی اکسیدان و یکپارچگی DNA را دارند [Li *et al.*, 2012]. جهت بررسی اثرات پیچیده ی میدان مغناطیسی ایستا روی سیستم های زیستی در محیط طبیعی، بررسی دقیق این تاثیرات در سطوح مختلف میدان، ضروری می نماید. برای بررسی و تفسیر قرار گیری انسان در معرض میدان هایی که مطالعه ی آنها روی انسان گاهی سخت و یا نا ممکن می باشد، جانوران، بویژه جانوران تحت شرایط مدل ویژه، بسیار مفید می باشند [HPA, 2008].

1-1- میدان مغناطیسی و انواع آن

میدان مغناطیسی توسط شدت شار مغناطیسی (B) که با واحد تسلا (T) اندازه گیری می شود، توصیف می گردد. میدان مغناطیسی بوسیله ی جریان های الکتریکی (بار های در حرکت) ایجاد می شود و به دو صورت متناوب (AC) و ایستا (DC) می باشد [Ohman *et al.*, 2007].

[1] Magnetic Field

در وضعیت ایستا، میدان مغناطیسی بدون همراهی میدان الکتریکی وجود دارد، در حالیکه در وضعیت متناوب هر دو میدان (مغناطیسی و الکتریکی) به طور همزمان وجود دارند. در وضعیت ایستا، میدان های مغناطیسی تنها تحت تاثیر مواد مغناطیسی مانند سنگ معدن مغناطیسی، چدن و یا کابل های با روکش فلزی، قرار دارند.

میدان مغناطیسی زمین نمونه ای از میدان های مغناطیسی ایستا می باشد. این میدان شاری در حدود 60 میکروتسلا در قطبین، جایی که میدان عمود می باشد، داشته و شاری در حدود 30 میکرو تسلا در استوا که خطوط میدان افقی می باشند، داراست. همچنین میدان مغناطیسی متناوب طبیعی با فرکانس پائین نیز وجود دارد که توسط حرکات اقیانوسی ایجاد می شود.

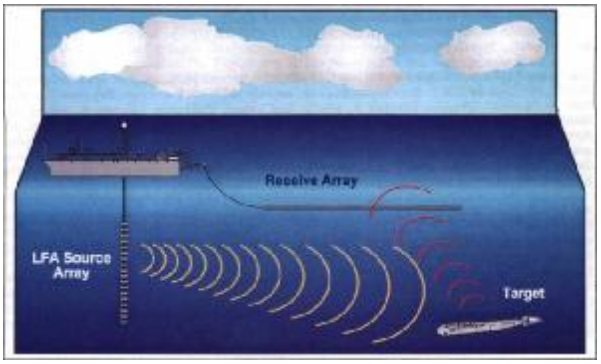
میدان های مغناطیسی متناوب و ایستا، به طرق مختلفی با مواد واکنش می دهند. میدان متناوب در مواد رسانا، جریان های الکتریکی ایجاد می کند، در حالیکه هر دو با مواد مغناطیسی موجود در بدن موجودات، واکنش دارند [Ohman *et al.*, 2007].

1-1-1- میدان های مغناطیسی زمین

در هسته ی زمین یک هسته ی آهنی وجود دارد که در آن شاری از جریان الکتریکی وجود داشته و از اینرو موجب پیدایش میدان مغناطیسی ایستا می شود. میدان های موجود در سطح زمین، ساختار مشابهی با میدان های حاصل از آهنربای میله ای داشته و شیبی حدود 11 درجه نسبت به محور چرخش زمین دارند. بطور کلی میدان مغناطیسی تقریبا موازی با سطح کره ی زمین در استوا وجود داشته و هرچه به سمت قطب های شمال و جنوب پیش می رویم شیب عمودی بیشتر می شود. در واقع ساختار منبع میدان مغناطیسی در داخل زمین پیچیده بوده و در طول زمان تغییر می کند [HPA, 2008].

1-1-2- میدان های مغناطیسی مصنوعی

منابع انسانی میدان های مغناطیسی مانند کابل های زیر دریایی و سیستم های ارتباطی دریایی مانند سونار (شکل 1-1)، امروزه بسرعت در حال افزایش هستند. موجودات حساس به میدان های الکترومغناطیسی در محیط های دریایی، اندازه های کوچک و بزرگ این میدان ها را قادرند درک کنند [Gill and Bartlett, 2010].



شکل 1-1- سیستم سونار LFA http://www.baomoi.com

در طول سال های اخیر افزایش چشمگیری در استفاده از تکنولوژی هایی که از میدان الکترومغناطیسی و تشعشعات (EMFs[1]) بهره می برند وجود داشته است، که تمام طیف های میدان الکترو مغناطیس (EMF) را دربر می گیرد. منابع این میدان ها شامل فرکانس میدان های برقی در سیستم شبکه ملی (50Hz)، شبکه ی تولید برق منطقه ای و برق اصلی ورودی به منازل، ادارات و سایر ساختمان ها می باشد. بعلاوه، تمام دستگاه ها و لوازم و وسایل برقی، EMF تولید می کنند.

همچنین گسترش چشمگیری در تکنولوژی هایی که از میدان های با فرکانس رادیویی (RF[2]) استفاده می کنند وجود دارد که شامل فرستنده های رادیویی و تلویزیونی، ارتباطات از راه دور و ارتباطات ماهواره ای، تلفن همراه و ایستگاه های ارتباطی آنها، مانند شبکه ی بیسیم کامپیوتری می شود [HPA, 2008].

1-1-3- میدان مغناطیسی ایستا

میدان مغناطیسی ایستا با شدت 25-60 μT از هسته ی زمین، همیشه در اطراف ما وجود دارد. بعلاوه، شدت های بیشتر میدان از منابع ایجاد شده توسط انسان، منتشر می شوند. این میدان ها، هم بصورت دستاورد تعمدی و هم بصورت محصول جانبی از عملکرد تجهیزات الکتریکی و توزیع جریان مستقیم الکتریسیته و یا مگنت های دائمی، تولید می شوند. برخی فرآیند های صنعتی شامل تولید آلومینیم و صنعت کلرالکالی تا 20 mT میدان در اطراف خود ایجاد می کنند. مشخصا شدت های بالای میدان تا حدود چندین تسلا می تواند از طریق تصویربرداری رزونانس مغناطیسی(MRI[3]) و اسپکتروسکوپی و همچنین منابع مورد استفاده در برخی مناطق تحقیقاتی، مانند سیستم سونار در دریا ها ایجاد شود. مکانیزم های تئوریکی فراوانی وجود دارد که این میدان ها از طریق واکنش های الکترودینامیک و شیمیایی مغناطیسی، می توانند بطور مستقیم عملکرد زیست

[1] Electro Magnetic Fields
[2] Radio Frequency
[3] Magnetic Resonance Imaging

شناختی جاندار را با کاهش جریان خون آئورتی و کاهش جریان ها در بافت های اطراف و تحریک اعصاب آنها و اختلال در عملکرد سیستم دهلیزی، تحت تاثیر قرار دهند [HPA, 2008].

1-2- آمینوترانسفرازها یا ترانس آمینازها

آمینو ترانسفراز ها که ترانس آمیناز ها نیز نامیده می شوند گروههایی از آنزیم ها را تشکیل می دهند که تبدیل آمینو اسید ها و آلفا کتو اسید ها را توسط انتقال گروه های آمینی، کاتالیز می کنند. جفت α-ketoglutarate/ L–glutamate به عنوان جفت گیرنده و دهنده ی گروه های آمینو در واکنش های انتقال آمینو، ایفای نقش می کنند. همچنین ALT[1] با عنوان ترانس آمیناز پیرویک گلوتامیک (GPT[2]) و AST[3] با عنوان ترانس آمیناز اگزالو استیک گلوتامیک (GOT[4]) شناخته می شوند [van der Oost *et al.*, 2003].

این آنزیم ها باعث کاتالیز واکنش های شیمیایی در سلولها می شوند و در آن گروه آمین از یک مولکول دهنده به مولکول گیرنده منتقل می شود. ویتامین B_6 بصورت فسفاته در عمل به این طبقه آنزیم ها کمک می کند. نقش این آنزیم ها تامین آمینو اسید های ضروری و نیمه ضروری برای بافت های بدن است و در متابولیسم کربوهیدراتها و پروتئین ها اهمیت دارند. موجودات در پاسخ به تخلیه ی کربوهیدرات، برای کسب انرژی مورد نیاز خود در طول گلوکونئوژنزیس، از پیش ماده های دیگری استفاده می کنند. از میان آمینو اسید ها، آلانین و آسپارتات پیش نیاز گلوکونئوژنزیس می باشند و واکنش آغازی توسط آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، کاتالیز می شود [Bhargavan, 2008].

ALT و AST که به عنوان یک ارتباط استراتژیک بین متابولیسم پروتئین و کربوهیدرات بکار می روند، به عنوان گروه مهمی از آنزیم ها در مسیر گلوکونئوژنزیز نقش بازی می کنند. از سوی دیگر، ترانس آمیناز ها شناساگر های خوبی برای آسیب های بافتی می باشند و در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک، از لحاظ غلظت تغییر می کنند که موجب شده است تا بیومارکر های خوبی باشند [Bhargavan, 2008].

1-2-1- آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) یا ترانس آمیناز پیرووِیک گلوتامیک (GPT)

آلانین آمینو ترانسفراز با عنوان گلوتامات پیروات ترانس آمیناز (GPT) نیز شناخته می شود. قسمت عمده ی ALT در کبد یافت می شود. این آنزیم در نتیجه ی آسیب کبدی وارد خون می شود.

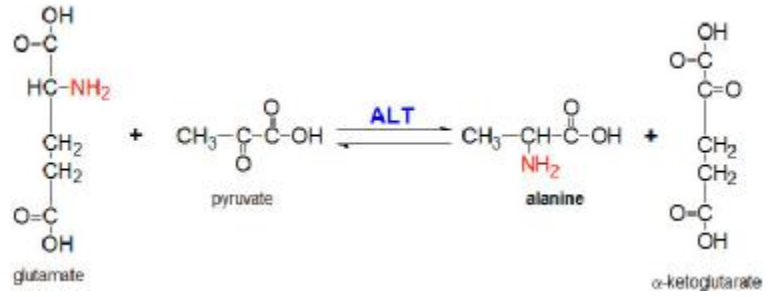
[1] Alanine Aminotransferase
[2] Glutamate Pyruvate Transaminase
[3] Aspartate Aminotransferase
[4] Glutamic Oxaloacetic Transaminase

آنزیم ALT برخلاف AST که ممکن است در بافت های بدن پراکنده باشد، بیشتر در سلول های کبدی وجود دارد. این آنزیم در تشخیص بیماری های کبدی بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد . در هپاتیت ویروسی و یا سایر ضایعات حاد کبدی سطح آن به طور قابل ملاحظه ای حتی قبل از ظهور نشانه های بالینی و علائم بیماری بالا می رود [Hayes and Pulford, 1995].

در ارزیابی نحوه ی عملکرد سلول های کبدی آنزیم ALT اختصاصی تر و حساس تر از AST است و میزان افزایش آن در ابتدای ضایعات بیشتر از AST است.

این آنزیم واکنش زیر را کاتالیز می کند (شکل 1-2):

آلفا کتو گلوتارات + آلانین ⇌ پیرووات + گلوتامات



شکل 1-2- واکنش تسریع شده توسط آلانین آمینوترانسفراز http://themedicalbiochemistrypage.org

1-2-2- آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) یا گلوتامیک اگزالواستیک ترانس آمیناز (GOT)

در واکنش کلاسیک ترانس آمیناز، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، واکنش کاملا برگشت پذیر L-aspartate با α-ketoglutarate را برای تبدیل به Oxaloacetate و L-glutamate تسهیل می کند[Frey and Hegeman, 2007].

همانند همه ی آمینو ترانسفراز ها AST هم وابسته به pyridoxal-5 ′ -phosphate (PLP) است و PLP هم در نقش کلاسیک خود یک گروه کربونیل واکنش پذیر ایجاد می کند تا برای تسهیل جدایی α -H از آسپارتات و حرکت گروه α –amino آسپارتات برای انتقال به α –ketoglutarate فعالیت کند [Snell, 1962].

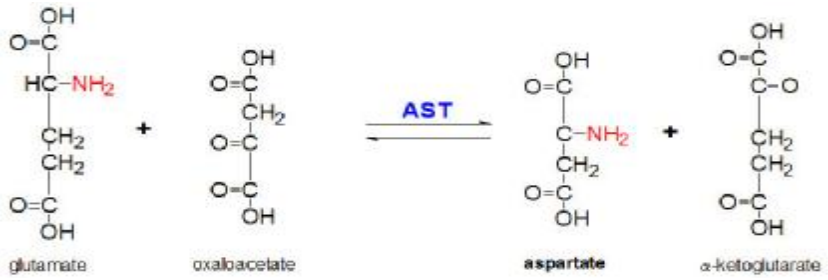
این آنزیم معمولا در گلبول های قرمز، کبد، قلب، بافت ماهیچه، پانکراس و کلیه ها یافت می شود [Srivastava *et al.*, 2004]. علاوه بر این به آن گلوتامیک اگزالو استیک ترانس آمیناز (GOT) گفته می شود. مقدار این آنزیم در خون معمولا پائین است، با آسیب بافتی مثل کبد یا قلب مقدار AST در خون بالا می رود. این آنزیم 6 تا 10 ساعت پس از آسیب بافتی بالا رفته و تا 4 روز بالا می ماند. همچنین غلظت سرمی آن در هنگام حمله های قلبی و مشکلات ماهیچه ای افزایش می یابد [Feldman *et al.*, 2010].

این آنزیم در سیتوپلاسم و میتوکندری بافت های قلب، کبد و عضلات وجود دارد. در صورتی که این بافت ها دچار ضایعه شوند میزان AST سرم افزایش می یابد. در ضایعات مزمن سلول های کبدی ایزو آنزیم AST که در سیتوپلاسم و میتوکندری وجود دارند در پلاسما افزایش می یابند (سیروز کبدی). در آنفارکتوس میوکارد فعالیت AST سرم 4 تا 6 ساعت بعد از حمله بالا می رود و در عرض 24 تا 36 ساعت به بالاترین حد رسیده و سپس شروع به کاهش می کند [Feldman *et al.*, 2010].

در دیستروفی عضلانی و بیماری های کلیوی نیز میزان AST سرم افزایش می یابد.

این آنزیم واکنش زیر را کاتالیز می کند (شکل 1-3):

آسپارتات + آلفا کتو گلوتارات ⇌ گلوتامات + اگزالو استات



شکل 1-3- واکنش تسریع شده توسط آسپارتات آمینوترانسفراز http://themedicalbiochemistrypage.org

1-3- لیزوزیم

سیستم ایمنی یک مکانیزم دفاعی مهم برای حفاظت از بدن موجودات در برابر آلودگی ها و عفونت ها، به منظور نگهداری هومئوستازی بدن می باشد [Abreu *et al.*, 2009].

سیستم ایمنی به دو دسته ی ایمنی غیر اختصاصی که یک مکانیسم دفاعی ذاتی است و ایمنی اختصاصی تقسیم می شود [Kumari *et al.*, 2006]. سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهیان به عنوان اولین خط دفاعی در برابر طیف وسیعی از پاتوژن ها عمل می نماید و اهمیت آن نسبت به ایمنی اختصاصی در ماهیان بیشتر از دیگر مهره داران گزارش شده است [Saurabh and Sahoo, 2008].

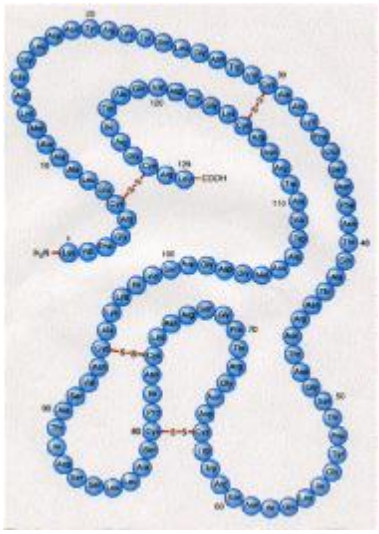
دفاع در برابر موجودات پاتوژنی که یک جانور را آلوده می کنند، در ابتدا توسط سیستم ایمنی غیر اختصاصی انجام می پذیرد[Ingram, 1980, Rijkers, 1982]. یکی از اجزاء هومورال این سیستم، لیزوزیم (شکل 1-4) می باشد که آنزیمی با فعالیت آنتی باکتریال می باشد. لیزوزیم یک پلی پپتید 120 اسید آمینه ای در ماهیان است که موجب هیدرولیز زنجیره های

بتای 1 - 4 ان استیک مورامیک اسید (شکل 1-5) می شود. این آنزیم پپتیدوگلیکان موجود در دیواره ی سلولی باکتری را می شکند (بخصوص باکتری های گرم مثبت) و بموجب آن لیز سلولهای پاتوژن صورت می گیرد [Chipman and Sharon, 1969].

لیزوزیم در خون، موکوس و اندام های ماهی های مختلف مشاهده شده است [Lindsay, 1986, Grinde, 1989].

حضور آنزیم لیزوزیم و توزیع آن در اندام های احشایی از جمله کلیه، طحال و کبد بستگی به فیلوژنی ماهی دارد [Subbotkina and Subbotkin, 2003]. در ماهیان لیزوزیم اغلب در بافتهای غنی از لوکوسیتها مانند قسمت قدامی کلیه و بافتهای پوست، آبشش و دستگاه گوارش یافت میشود و اتفاقا این محل ها در ماهیان بیشتر از سایر مناطق مورد تهاجم باکتری ها واقع می شوند. بنابراین با توجه به خاصیت ضد میکروبی این آنزیم و حضور آن در این گونه بافتها میتوان گفت که لیزوزیم نقش مهمی برای مواجهه با عوامل بیماری زای عفونی برای ماهیان ایفا می کند.

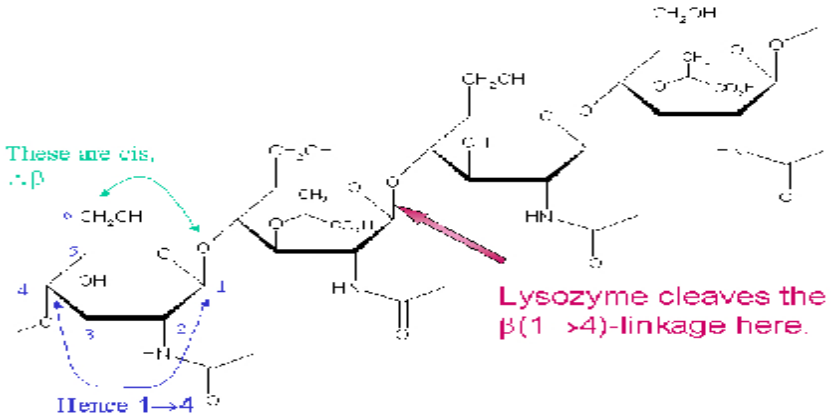
اختلاف عمده ی سیستم ایمنی از نظر تشریحی بین ماهی و پستانداران، فقدان مغز استخوان و گره های لنفاوی است. کلیه و طحال بافت های اصلی لنفوئیدی در ماهیان استخوانی حقیقی هستند [Iwama and Nakanishi, 1996].



شکل 1-4- ساختار اولیه آنزیم لیزوزیم (users.rcn.com)

فعالیت مطلوب لیزوزیم ماهیان در pH 5/5 تا 7/5 است و در pH با دامنه ی 4/8 تا 9/2 نیز فعالیت آنها ذکر شده است. البته اختلافاتی در pH مطلوب برای فعالیت آن در بین ماهیان آب شیرین و دریایی وجود دارد [سلطانی، 1387]. درجه حرارت مطلوب برای فعالیت لیزوزیم در بسیاری از ماهیان و البته در بافت های مختلف به صورت متغیر گزارش شده است [Iwama

and Nakanishi, 1996]. عوامل موثر بر میزان لیزوزیم ماهی عبارتند از 1- فصل؛ 2- مرحله ی رسیدگی جنسی؛ 3- جنس ماهی؛ 4- درجه ی حرارت محیط؛ 5- تحریک آنتی ژنی که موجب افزایش آن می شود؛ 6- گونه ی ماهی؛ 7- استرس که موجب کاهش میزان آن می شود؛ 8- مصرف مواد محرک ایمنی مانند گلوکانها و لوامیزول [سلطانی، 1387].



شکل 1-5- محل تاثیر آنزیم لیزوزیم (http://www.proteopedia.org)

1-4- ماهی سفید دریای خزر

1-4-1- سیستماتیک

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Super class : Pisces
Class : Osterichthyes
Sub class : Actinopterygii
Super order : Teleostei
Order : Cypriniformes
Family : Cyprinidae
Genus : Rutilus
Species : *R. frisii kutum*

شکل 1-6- ماهی سفید دریای خزر