



## بررسی اثر حفاظتی عصاره پوست انار در مهار آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از مسمومیت تجربی با کادمیوم در ماهی کپور معمولی

سیده شهربانو جعفری<sup>۱</sup>، راهله رهباریان<sup>۲\*</sup>، مجید رجیبیان<sup>۳</sup>، حسن رامشینی<sup>۴</sup>، سید امیرجعفری<sup>۵</sup>

۱. دانشجوی دکترای بیوشیمی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران.

۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران.

۴. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران.

۵. کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۹

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۰۴/۰۹

### چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر افزایش عصاره پوست انار در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بر مهار آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از مسمومیت تجربی با کادمیوم انجام شد. در این آزمایش، ماهیان با متوسط وزن ۷۰ گرم بصورت تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند. گروه اول به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. گروه دوم کلرید کادمیوم دریافت کردند، در حالیکه گروه‌های سوم تا پنجم علاوه بر کادمیوم، غلظت‌های مختلف (۱، ۲ و ۴ درصد) عصاره پوست انار را نیز دریافت کرده بودند. پس از پایان دوره آزمایش شاخص‌های کبدی آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارات‌آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز و کاتالاز در سرم خون نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. یافته‌ها نشان داد که میزان آنزیم‌های فوق در گروه‌های تیمار شده با کلرید کادمیوم در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری دارد ( $p < 0.05$ ). همچنین، افزودن غلظت‌های فزاینده (۱، ۲ و ۴ درصد) عصاره انار، باعث کاهش معنی‌دار تمام شاخص‌های کبدی در مقایسه با گروه تحت درمان با کلرید کادمیوم شده است ( $p < 0.05$ ). آنزیم کاتالاز در گروه تحت تیمار با کادمیوم در مقایسه با شاهد افزایش یافت. براساس یافته‌ها، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش عصاره پوست انار در جیره غذایی ماهی کپور معمولی می‌تواند تأثیرات تعدیل‌کننده‌ای بر تغییرات بیوشیمیایی آنزیم‌های کبدی و کاتالاز داشته باشد.

واژگان کلیدی: کادمیوم، آسیب‌های اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدانها، عصاره انار



## **Investigation of the protective effect of pomegranate peel extract in inhibiting the oxidative damage caused by experimental cadmium poisoning in common carp**

**S. Shahrbanoo Jafari<sup>1</sup>, Raheleh Rahbarian<sup>2\*</sup>, Majid Rajabiian<sup>3</sup>, Hassan Ramshini<sup>4</sup>, Amir Jafari<sup>5</sup>**

*1. PhD student in biochemistry, Department of Biology, University of Isfahan, Isfahan, Iran.*

*2. Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.*

*3. Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.*

*4. Associate Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.*

*5. MSc, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.*

**Received: 30-Jul-2021**

**Accepted: 08-Feb-2022**

### **Abstract**

This study was performed to investigate the effect of increasing pomegranate peel extract in the diet of common carp on inhibiting the oxidative damage from experimental cadmium poisoning. In this experiment, fish weight with an average of 70 grams were randomly divided into the five experimental groups. Experimental unite was an aquarium with the capacity of holding twenty 120-liter of water. The first group was considered as control. The second group received cadmium chloride, while the third group was treated with cadmium chloride and pomegranate peel extract (1% of dietary weight), the fourth group received cadmium chloride and pomegranate peel extract (2 % of diet weight) and the fifth group received cadmium chloride and pomegranate peel extract (4% of diet weight) for a 30- day culture period. At the end of the test period, hepatic markers of alanine, aminotransferase, aspartate, aminotransferase, and alkaline phosphatase and catalase were measured in the serum. The results showed that the amount of the above enzymes in the groups treated with cadmium chloride increased significantly compared to the control group ( $p < 0.05$ ). Also, the addition of increasing concentrations (1, 2, and 4%) of pomegranate extract significantly reduced all liver parameters compared to the group treated with cadmium chloride ( $p < 0.05$ ). The catalase enzyme was increased in the cadmium-treated group compared with the control. Based on the findings, it can be concluded that increasing pomegranate peel extract in the diet of common carp can have modulatory effects on biochemical changes in liver enzymes and catalase.

**Key words:** cadmium, oxidative damage, antioxidants, pomegranate.

## ۱. مقدمه

پیشرفت فناوری و ازدیاد جمعیت در شهر و روستا منجر به ورود آلاینده‌های مختلفی مانند عناصر سنگین، از طریق پساب‌های صنعتی، کشاورزی و فاضلاب‌های شهری به آنها شده است (Adams *et al.*, 2012). تعدادی از این عناصر سنگین در طبیعت پایدارند و مشکلات زیادی را برای موجودات آبی ایجاد می‌کنند (Liu *et al.*, 2007; Monserrat *et al.*, 2007; Kashmiri *et al.*, 2019). بنابراین فلزات سنگین به دلیل تخریب ناپذیری در محیط زیست به عنوان یک منبع مهم آلودگی آب‌ها محسوب می‌شوند (Sancho *et al.*, 2003). علاوه بر این، امروزه نگرانی مهم دنیا، ورود فلزات سنگین به دریا است. اثبات شده است که فلزات سنگین به دلیل سمیت و تجمع دارای اهمیت بوم شناختی زیادی‌اند. این فلزات روی اکوسیستم و تنوع جانداران دریایی اثرات زیان باری دارند (Sancho *et al.*, 2003; Beširović *et al.*, 2010; Kashmiri *et al.*, 2019). آبریزان به طور پیوسته در برخورد با فلزات سنگین آبهای آلوده هستند و برخی از این فلزات سنگین غیرضروری مثل جیوه، کادمیوم و سرب حتی در مقادیر خیلی کم برای موجودات آبی سمی هستند و در بین بافت‌های مختلف بدنشان تجمع می‌یابند (Li *et al.*, 2011). این عناصر پس از ورود به اکوسیستم‌های آبی در بافت‌ها و اندام‌های آبریزان تجمع یافته و در نهایت وارد زنجیره غذایی می‌شوند (Monserrat *et al.*, 2007). از بین این عناصر کادمیوم به عنوان یکی از سمی‌ترین آلوده‌کننده‌های آب شناخته شده است (Saei-Dehkordi *et al.*, 2010) و مضررات آن در رشد، تکثیر و تنظیم اسمزی ماهیان نیز اثبات گردیده است (Kazemizadeh *et al.*, 2016). کادمیوم در اندام‌های مختلف آبریزان مثل استخوان، کلیه، مغز و سیستم عصبی مرکزی تجمع می‌یابند و به این ترتیب اثرات مخربی را روی عملکرد سیستم ایمنی، تولیدمثل، کبد و سیستم گردش خون ایجاد می‌کنند (Abolhasani *et al.*, 2016). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که استفاده از ترکیبات فنولی در جیره غذایی

آبریزان می‌تواند به میزان قابل توجهی از اثرات سوء فلزات سنگین بکاهد. عصاره پوست انار، دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط آزمایشگاهی است که به مقدار زیاد ترکیبات فنولی موجود در آن مرتبط است (Monserrat *et al.*, 2007). اجزای مختلف انار شامل پوست، دانه، گل و آب انار، حاوی ترکیبات مفیدی با ویژگی‌های ضد میکروبی، ضدسرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی هستند (Beriz *et al.*, 2016). پوست انار دارای پروتئین، کربوهیدرات و ویتامین ث است و عصاره قسمت‌های مختلف آن نیز، سرشار از ترکیبات فنولی است. عصاره پوست انار و روغن دانه آن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی‌ای دارند که از آن در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد می‌توان استفاده کرد (Mohebbi *et al.*, 2012). بیشترین میزان ترکیبات فنولی در پوست انار مشاهده شده است به گونه‌ای که میزان آن تقریباً ۱۰ برابر آب انار برآورد شده است (Salvato *et al.*, 2003). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالای پوست انار به دلیل وجود فنول‌هایی نظیر الایژیک، تانن‌ها، اسید الایژیک و اسید گالیک است. استفاده از عصاره پوست انار به عنوان یک عنصر غذایی غنی از ضد اکسایند در حال افزایش است (Hosseini *et al.*, 1999) و امروزه نیز در صنایع غذایی به عنوان نگه‌دارنده در مواد غذایی مستعد فساد اکسیداتیو استفاده می‌شود (Khosravi *et al.*, 2009). در سال‌های اخیر نیز تحقیقات نشان داده است که عصاره الکلی پوست انار باعث کاهش تجمع بافتی کادمیوم و محافظت در برابر اثرات سوء کادمیوم در بلدرچین می‌شود (Rakhnareh *et al.*, 2019). اثرات سوء نانوذرات نقره (AgNPs) بر واکنش‌های هموبیوشیمیایی، اکسیدکننده/آنتی‌اکسیدانی و پاسخ‌های ایمنولوژیکی در تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) نقش مفید پودر پوست انار را در کاهش اثرات سوء نانوذرات نقره در این گونه نشان داده است (Hamed and Abdel-Tawwab., 2021). نشان داده شده است که قرار گرفتن در معرض AgNPs به تنهایی رشد ماهی را سرکوب کرده و نشانگرهای

شرکت داروسازی کاسپین، تعداد ۱۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی سالم با وزن متوسط ۷۰ گرم، تعداد ۵ عدد اکواریوم به ظرفیت ۱۲۰ لیتر.

## ۲.۱. روش انجام پژوهش

تعداد ۱۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی و سالم با وزن متوسط ۷۰ گرم خریداری شدند و پس از ضدعفونی با محلول نمک ۳ درصد به اکواریوم انتقال یافتند و به مدت ۱۰ روز جهت کاهش تنش و سازگاری با محیط جدید نگهداری شدند. بعد از سازگاری ماهیان به ۵ گروه ۲۰ تایی در آکواریوم‌های ۱۲۰ لیتری تقسیم شدند. گروه اول که شاهد بودند و در آب معمولی قرار داده شدند. گروه دوم در معرض کلریدکادمیوم به میزان ۵ میلی گرم در لیتر قرار داده شدند (Sancho *et al.*, 2003). گروه سوم در معرض کلریدکادمیوم (۵ میلی گرم در لیتر) و عصاره انار (۰/۳۵ گرم پودر خشک عصاره انار) معادل ۱ درصد وزن جیره غذایی قرار داده شدند. گروه چهارم در معرض کلریدکادمیوم (۵ میلی گرم در لیتر) و عصاره انار (۰/۷ گرم پودر خشک عصاره انار) معادل ۲ درصد وزن جیره غذای قرار داده شدند. گروه پنجم در معرض کلریدکادمیوم (۵ میلی گرم در لیتر) و عصاره انار (۱/۴ گرم پودر خشک عصاره انار) معادل ۴ درصد وزن جیره غذایی قرار داده شدند. ماهیان سه بار در روز غذادهی شدند. مقدار غذا ۲/۵ درصد وزن بدن محاسبه شد. هفته‌ای دو بار تعویض آب آکواریوم صورت گرفت و دمای ثابت آب  $20 \pm 1$  درجه سانتیگراد در تمام گروهها بود. میزان pH ۷/۵ و اکسیژن آب ۶-۶/۵ میلی گرم در لیتر تنظیم گردید. طول دوره آزمایش ۳۰ روز بود و در طی این زمان ماهیها از لحاظ سلامتی ظاهری نیز مورد بررسی قرار گرفتند.

## ۲.۲. نمونه گیری

در پایان دوره آزمایش پنج ماهی از هر گروه بصورت تصادفی انتخاب شدند و پس از بیهوشی با پودر گل میخک به میزان ۰/۵ گرم در لیتر، عمل خون‌گیری توسط سرنگ هیپارینه صورت گرفت. پلاسمای خون نیز توسط

زیستی استرس (قند خون و کورتیزول) را افزایش می‌دهد، باعث آسیب کبدی (آلانین و آسپارات آمینوترانسفرازها) و نارسایی کلیه (کراتینین و اسید اوریک) می‌شود. علاوه بر این، قرار گرفتن در معرض AgNPs به طور معنی‌داری پشاک‌های ایمنی سرم (فعالیت لیزوزیم، فعالیت پشت سر هم تنفسی و ایمونوگلوبولین کل) را کاهش می‌دهد و نشانگرهای زیستی نشانگرهای اکسید کننده/آنتی اکسیدان کبدی و کلیوی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، مالون دی آلدهید و کاهش گلوتاتیون) را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مکمل غذایی پودر پوست انار به تنهایی عملکرد ماهی را کاهش می‌دهد اما فعالیت آنتی اکسیدانی و ایمنی را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. علاوه بر این، رژیم غذایی پودر پوست انار به طور معنی‌داری اثرات ناشی از AgNPs را کاهش می‌دهد، آسیب کبدی کلیوی، استرس اکسیداتیو و نشانگرهای زیستی ایمنی را کاهش می‌دهد. در نتیجه، AgNPs بر عملکرد تیلاپیا نیل تأثیر منفی گذاشته‌اند، با این حال، مکمل غذایی ۵ درصد پودر پوست انار به طور موثری استرس اکسیداتیو و سرکوب ایمنی ناشی از قرار گرفتن در معرض AgNPs را کاهش می‌دهد (Hamed and Abdel-Tawwab., 2021). در تحقیق حاضر تأثیر افزایش سطوح مختلف عصاره پوست انار در جیره غذایی ماهی کپور معمولی تحت تنش اکسیداتیو و آسیب کبدی ناشی از مسمومیت با کادمیوم بررسی شد. علاوه بر این اثر افزایش عصاره پوست انار در جیره غذایی ماهی کپور معمولی بر میزان آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز ماهی کپور معمولی، در مسمومیت تجربی با کادمیوم ارزیابی شد.

## ۲. مواد و روش‌ها

کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون جهت اندازه‌گیری پارامترها، کلرید کادمیوم شرکت مرک آلمان، انار کاشمر، هیپارین سدیم ۵۰۰۰ واحد در میلی لیتر

test در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده گردید. نمودارها و جداول نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۰۷ تهیه شد.

### ۳. نتایج

۳.۱. اثر درصدهای مختلف عصاره پوست انار بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز

چنانچه در جدول ۱ مشاهده می‌شود، اثر تیمارهای مختلف شامل کادمیوم و درصدهای مختلف عصاره پوست انار بر تمامی آنزیم‌های مورد بررسی در سطح یک درصد معنی‌دار است. که در ادامه، اثر این تیمارها بر آنزیم‌های مورد نظر بصورت مجزا در نمودار شکل‌های ۱ تا ۵ مورد بررسی قرار گرفته است.

سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد (Hamed et al., 2021).

### ۲.۳. اندازه‌گیری فاکتورهای سرمی

جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های موجود در نمونه پلاسما شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و کاتالاز (CAT)، از کیت‌های مربوط به هر آنزیم شرکت پارس آزمون استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نیز با روش Claiborn و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (Bogomolets, 1985).

### ۲.۴. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. بعد از تحقق دو شرط اصلی آزمون‌های پارامتریک تجزیه واریانس شامل هموزن بودن واریانس و نرمال بودن داده‌ها (Zar, 1996)، از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه استفاده شد. همچنین جهت مقایسه دو به دوی میانگین‌ها از آزمون Tukey post hoc

جدول ۱ - اثر تیمارهای مختلف شامل کادمیوم و درصدهای مختلف عصاره پوست انار بر فعالیت آنزیم‌های ALT، AST، ALP و LDH

منابع تغییر	درجه آزادی	CAT	AST	ALT	ALP	LDH
تیمار	۴	**۹,۸۱۵	**۱۵۳۷۲,۰۸۴	**۵۷,۲۶۷	**۱۶۴۴۳,۱۱۲	**۶۲۴۱۰,۳۷۷
خطا	۱۰	۱۳۰	۲,۲۱۰	۱,۱۱۷	۲۱۷	۱۴۰,۵۸۴
کل	۱۴					

\*, \*\* و n به ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۰,۰۵، ۰,۰۱ و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

دو و چهار درصد، میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت.

### ۳.۲. فعالیت آنزیم CAT

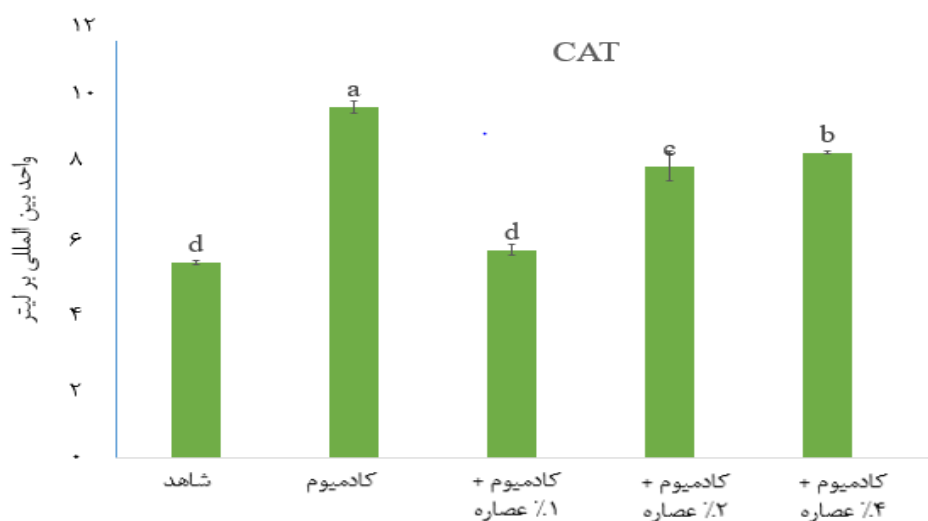
مطابق با نمودار شکل ۱، تیمار کادمیوم موجب تحریک معنی‌دار فعالیت آنزیم CAT نسبت به شاهد شده است ( $p < 0.05$ ). با افزایش عصاره پوست انار میزان فعالیت آنزیم CAT روند کاهشی نشان داد. در بررسی تغییرات غلظت عصاره بر میزان فعالیت آنزیم مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره از یک درصد به مقادیر

### ۳.۳. فعالیت آنزیم LDH

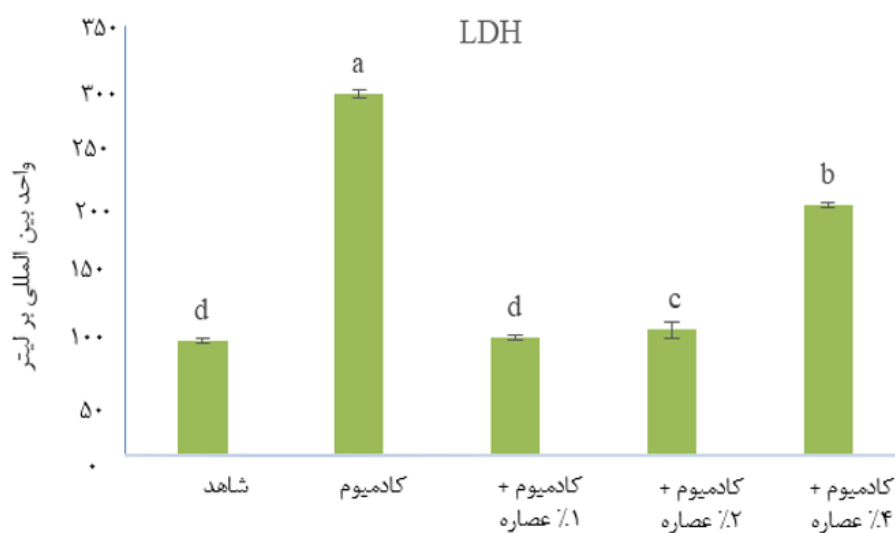
چنانچه در نمودار شکل ۲ مشاهده می‌شود تیمار کادمیوم باعث افزایش چشمگیر محتوای آنزیم LDH نسبت به شاهد شده است ( $p < 0.05$ ), با افزایش عصاره پوست انار میزان فعالیت آنزیم LDH روند کاهشی نشان

درصد به مقادیر دو و چهار درصد، میزان فعالیت این آنزیم مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره از یک

داد. در بررسی تغییرات غلظت عصاره بر میزان فعالیت آنزیم مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره از یک



شکل ۱- نمودار میزان آنزیم CAT (واحد بین المللی بر لیتر) در گروه‌های تحت تنش کادمیوم و تحت تیمار با عصاره پوست انار (n=5) بیان داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه اختلاف معنی داری ( $p < 0.05$ ) دارند.

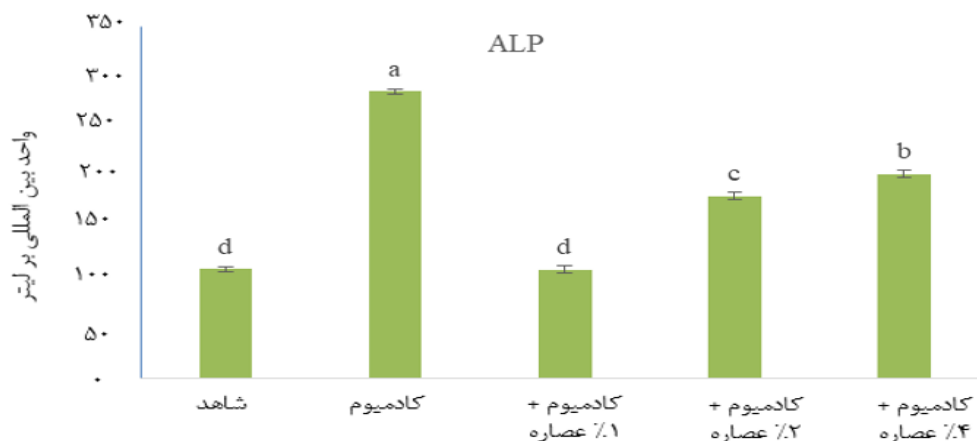


شکل ۲- نمودار میزان آنزیم LDH (واحد بین المللی بر لیتر) در گروه‌های تحت تنش کادمیوم و تحت تیمار با عصاره پوست انار (n=5) بیان داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه اختلاف معنی داری دارند ( $p < 0.05$ ).

### ۳.۴. فعالیت آنزیم ALP

آنزیم ALP روند کاهشی نشان داد. در بررسی تغییرات غلظت عصاره بر میزان فعالیت آنزیم مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره از یک درصد به مقادیر دو و چهاردرصد، میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت.

مطابق با نمودار شکل ۳ تیمار کادمیوم موجب تحریک معنی دار میزان آنزیم ALP نسبت به شاهد شده است ( $p < 0.05$ ). با افزایش عصاره پوست انار میزان فعالیت

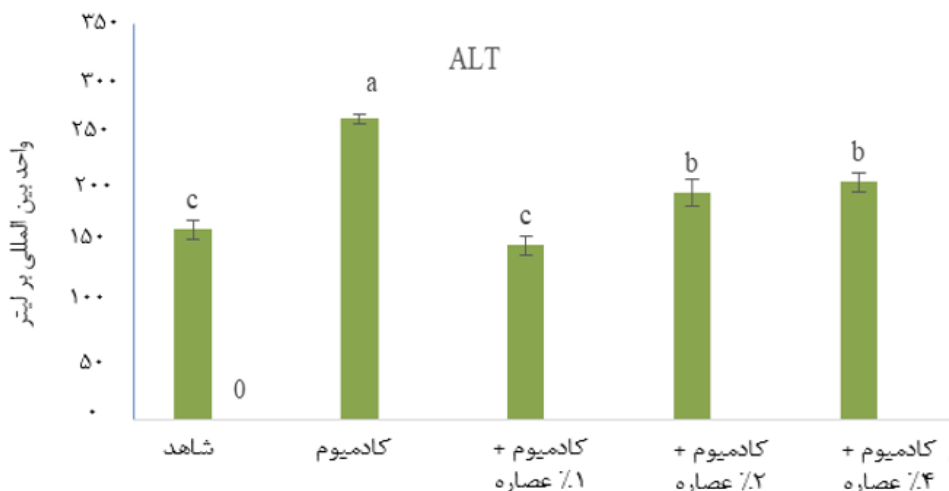


شکل ۳- نمودار میزان آنزیم ALP (واحد بین المللی بر لیتر) در گروه‌های تحت تنش کادمیوم و تحت تیمار با عصاره پوست انار ( $n=5$ ) بیان داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه اختلاف معنی داری ( $p < 0.05$ ) دارند.

### ۳.۵. فعالیت آنزیم ALT

داد. در بررسی تغییرات غلظت عصاره بر میزان فعالیت آنزیم مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره از یک درصد به مقادیر دو و چهاردرصد، میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت.

مطابق با نمودار شکل ۴ حضور کادمیوم در محیط رشد ماهی کپور موجب افزایش معنی دار میزان آنزیم ALT در مقایسه با شاهد شد ( $p < 0.05$ ). با افزایش عصاره پوست انار میزان فعالیت آنزیم ALT روند کاهشی نشان

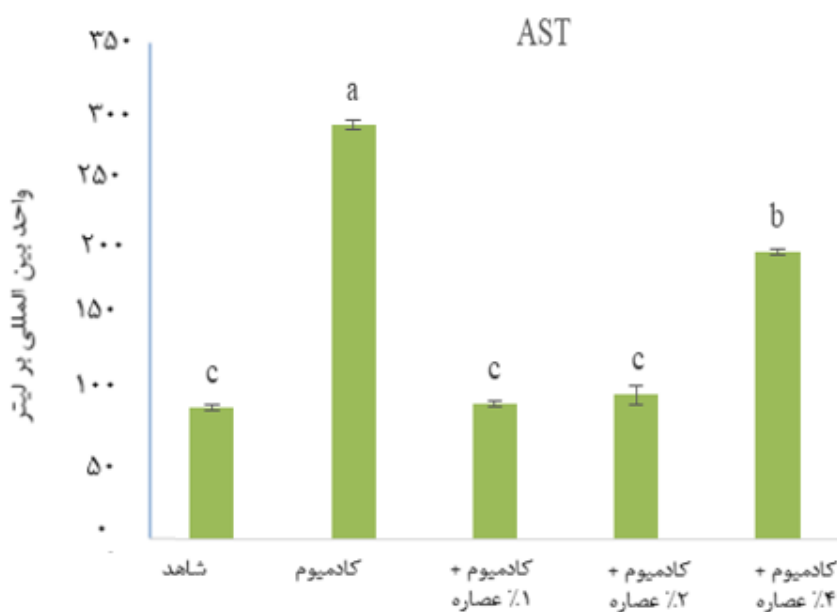


شکل ۴- نمودار میزان آنزیم ALT (واحد بین المللی بر لیتر) در گروه‌های تحت تنش کادمیوم و تحت تیمار با عصاره پوست انار ( $n=5$ ) بیان داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه اختلاف معنی داری دارند ( $p < 0.05$ ).

### ۳.۶. فعالیت آنزیم AST

بررسی تغییرات غلظت عصاره بر میزان فعالیت آنزیم مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره از یک درصد به مقادیر دو و چهار درصد، میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت.

چنانچه در نمودار شکل ۵ مشاهده می‌شود تیمار کادمیوم باعث افزایش چشمگیر میزان آنزیم AST نسبت به شاهد شد ( $p < 0.05$ )، با افزایش عصاره پوست انار میزان فعالیت آنزیم AST روند کاهشی نشان داد.



شکل ۵- نمودار میزان آنزیم AST (واحد بین المللی بر لیتر) در گروه های تحت تنش کادمیوم و تحت تیمار با عصاره پوست انار ( $n=5$ ) بیان داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. میانگین های دارای حروف غیر مشابه اختلاف معنی داری ( $p < 0.05$ ) دارند.

سال اخیر پیش آمده است، آلوده شدن آبهای شیرین با تعداد زیادی از آلاینده‌ها ست. فلزات سنگین در آب‌ها به خودی خود به میزان کم یافت می‌شوند، اما به خاطر فعالیت‌های کشاورزی، صنعتی و معدنی میزان آنها افزایش یافته است (Al-Weher *et al.*, 2008).

عناصر سنگین به دلیل پایداری و تمایل به انباشتگی در بدن موجودات آبی، جزو عوامل مهم آلوده کننده محیطی به حساب می‌آیند (Al-Weher *et al.*, 2008). کادمیوم یک عنصر غیر ضروری گسترده در طبیعت است که از فعالیت‌های انسانی ناشی می‌شود که می‌تواند به بدن موجودات آبی نفوذ کند و اثرات منفی در گونه‌های آبی و حتی سلامت انسان ایجاد کند. سمیت کادمیوم می‌تواند

### ۴. بحث و نتیجه گیری

به هم خوردن تعادل اکسیدان-آنتی اکسیدان به سمت ترکیبات اکسیدانی (تولید رادیکال‌های آزاد) به طوری که اگر از توان دفاعی آنتی اکسیدانی بالاتر رود، منجر به آسیب اکسیداتیو می‌شود، و به دنبال آن آسیب اندام‌های مختلف ایجاد می‌شود (Dean *et al.*, 1997; Flora *et al.*, 2012). در زمینه آلودگی فلزات سنگین در محیط‌های آبی تحقیقات متعددی صورت گرفته است که از نظر سلامت انسان و بهداشت عمومی بسیار با اهمیت اند. از سوی دیگر هدف ثانویه این نوع تحقیقات، نگهداری حالت تعادل اکوسیستم‌های آبی است (Ebrahimi, 2021). یکی از مشکلات بزرگی که در چند



دادند. نشان داده شده است که عصاره میوه انار و داروی کلوفیبرات در گونه از موش‌ها (Rat)، بطور معنی‌داری از افزایش آنزیم‌های کبدی بخصوص AST و ALT جلوگیری می‌کند (Amiri *et al.*, 2018). اثر حفاظتی عصاره انار بر تنش اکسیداتیو و سمیت متوترکسات بررسی شده است و نشان داده شده است که مصرف عصاره انار باعث کاهش معنی‌دار آنزیم‌های ALP، ALT و AST می‌شود (Tahvilian *et al.*, 2014). در تحقیق حاضر نیز مطابق با تحقیقات فوق آنزیم‌های کبدی تحت تاثیر کادمیوم روند افزایشی را نشان دادند، که با تجویز عصاره پوست انار این آنزیم‌ها بطور معنی‌داری روند کاهشی را نشان دادند. اثر عصاره الکلی پوست انار بر فاکتورهای خون ماهی انگشت قد کپور معمولی، نشان داد که شاخص‌های هماتولوژیک و فعالیت لیزوزیمی ماهیان تحت تیمار با سطح ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی پوست انار بر کیلوگرم غذا بهبود یافتند (Shafi'I *et al.*, 2015). در این مطالعه نیز شاخص‌های سرمی گروه‌های کادمیوم و عصاره پوست انار در مقایسه با گروه کادمیوم کاهش داشت. ترکیب عصاره آبی میوه انجیر، زیتون و انار روی آنزیم‌های کبدی کاهش معنی‌دار آنزیم‌های AST، ALT، ALP و LDH را نشان داده است (Emamian *et al.*, 2012). نتایج فوق با نتایج این تحقیق که از غلظت‌های یک، دو و چهار درصد عصاره پوست انار استفاده شد مشابهت دارد، بویژه در غلظت‌های یک و دو درصد اختلاف معنی‌داری با گروه دو (کادمیوم ۵ میلی‌گرم در لیتر) این موضوع را اثبات کرد. در غلظت چهار درصد عصاره پوست انار به دلیل تلخی زیاد، ماهیان کمتر تغذیه کردند به همین خاطر اثر بخشی آن از غلظت‌های یک و دو درصد عصاره پوست انار کمتر شد. به طور کلی افزایش آنزیم‌های AST، ALT، ALP و LDH در ماهی کپور معمولی در مواجهه با کادمیوم را به آسیب کبدی و آبشش‌ها نسبت دادند. در مورد کاتالاز نیز به طور کلی بیان شده است که افزایش رادیکال‌های آزاد در مسمومیت با کادمیوم باعث تحریک افزایش فعالیت این آنزیم شده است (Khandan *et al.*, 2018). در مجموع نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های

شاخص‌های خونی، اختلال در هموستاز کلسیم، تغییرات بافتی و مورفولوژیکی ایجاد کند (Guardiola *et al.*, 2016; Kazemizadeh *et al.*, 2016). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که استفاده از ترکیبات فنولی در جیره غذایی آبزیان می‌تواند به میزان قابل توجهی از اثرات سوء فلزات سنگین بکاهد. اجزای مختلف انار شامل پوست، دانه، گل و آب انار، حاوی ترکیبات مفیدی با ویژگی‌های ضد میکروبی، ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی‌اند (Flora *et al.*, 2012). پوست انار دارای پروتئین، کربوهیدرات و ویتامین‌ها است و عصاره قسمت‌های مختلف آن نیز، سرشار از ترکیبات فنولی است. بیشترین میزان ترکیبات فنولی در پوست انار مشاهده شده، به گونه‌ای که میزان آن در پوست این میوه حدود ۱۰ برابر آب انار برآورد شده است (Bogomolets, 1985). در سال‌های اخیر نیز تحقیقات نشان داده است که عصاره الکلی پوست انار باعث کاهش تجمع بافتی کادمیوم و محافظت در برابر اثرات سوء کادمیوم در بلدرچین می‌شود (Kazemizadeh *et al.*, 2016). در این تحقیق اثر حفاظتی غلظت‌های یک، دو و چهار درصد عصاره پوست انار بر آنزیم کاتالاز و برخی آنزیم‌های مهم سرم خونی ماهی کپور معمولی در مسمومیت با کادمیوم مورد مطالعه قرار گرفت. در این تحقیق کادمیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های ALP، ALT، AST و CAT در مقایسه با شاهد شد. مطابق با این پژوهش، Rajamanickam و همکاران (2008) سطح آنزیم‌های ALP، AST و ALT در کبد کپور معمولی در برخورد با ترکیبی از فلزات سنگین محلول در روزهای یک، هشت، شانزده و سی دو را بررسی کردند. نتایج نشان داد که آنزیم ALP از روز اول تا روز سی دو بتدریج نسبت به گروه شاهد افزایش داشتند. تجمع زیستی فلزات سنگین محرک تنش اکسیداتیو در سلول‌های کبدی است که به خاطر تولید گونه‌های فعال اکسیژنی است و به عنوان پاسخ انطباقی در کاهش مسمومیت ناشی از فلزات سنگین نسبت داده شده است (Rajamanickam *et al.*, 2008). در مطالعه حاضر نیز آنزیم‌های ALP، AST، ALT و CAT در گروه دو نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان

بررسی اثر افزایش عصاره پوست انار در جیره غذایی ماهی کپور معمولی بر مهار آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از مسمومیت تجربی با کادمیوم نشان داد که افزایش غلظت‌های یک و دو درصد عصاره پوست انار می‌تواند اثر تعدیل‌کنندگی موثری بر مسمومیت ناشی از کادمیوم داشته باشد و باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های AST، ALT، ALP و LDH در ماهی کپور معمولی شود.

ALP، ALT، AST، LDH و CAT سرمی گروه تحت تنش کادمیوم، در مقایسه با شاهد به دنبال مسمومیت با کادمیوم افزایش قابل توجهی دارد و تجویز غلظت‌های یک و دو درصد عصاره پوست انار به ویژه غلظت یک درصد می‌تواند اثر تعدیل‌کنندگی بر مسمومیت ناشی از کادمیوم را داشته باشد و باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های فوق گردد.

## ۵. نتیجه‌گیری نهایی

## ۶. منابع

## References

- Al-Weher, S.M., 2008. Levels of heavy metal Cd, Cu and Zn in three fish species collected from the Northern Jordan Valley. *Jordan journal of biological sciences* 1(1), 41-46.
- Adams, S.V., Passarelli, M.N., Newcomb, P.A., 2012. Cadmium exposure and cancer mortality in the Third National Health and Nutrition Examination Survey cohort. *Occupational and environmental medicine* 69(2), 153-156.
- Abolhasani, A., Barzegar, M., 2016. A review on the application of different parts of in food industry. First international congress of 24 th national congress of Iranian food science and technology. (in Persian).
- Amiri, H., Fakour, S., Akradi, L., 2018. Biochemical and histopathological study on preventive effects of *Punica granatum L.* extract on fatty liver disease in the rats receiving high fat diet. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences SJKU* 23(3), 45-55. (in Persian).
- Bogomolets, B., 1985. CRC handbook of methods for oxygen radical research: RA Greenwald. editor. Boca Raton. FL. CRC Press 464 pp.
- Beširović, H., Alić, A., Prašović, S., Drommer, W., 2010. Histopathological effects of chronic exposure to cadmium and zinc on kidneys and gills of brown trout (*Salmo trutta fario*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 10(2), 255-262.
- Beriz, E., Shekarforoush, S.S., Hosseinzadeh, S., 2016. Investigation of the antioxidant properties of metanolic peel extract of pomegranate (*Punica granatum var. Rabbab*). *Food Hygiene* 63(23), 13-21. (in Persian).
- Dean, R.T., FU, S., Stocker, R., Davis, M.J., 1997. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal* 324(1), 1-18.
- Emamian, A.Z., Saeedi, N., Farahmand, N., 2012. The effect of aqueous extract of fig fruit (*Ficus carica L.*), olive (*Olea earopaea L.*) and pomegranate (*Punica granatum L.*) on liver health indices in male Wistar rats. *Animal Physiology and Development (Biological Sciences)* 5(4), 49-57. (in Persian).
- Ekhlesi, G., Shidfar, F., Agah, S., Merat, S., Hosseini, K.A.F., 2013. Effect of pomegranate juice intake on lipid profile in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *RJMS* 20, 39-40. (in Persian).
- Ebrahimi, M., 2021. Is Diabetes Associated with Infection?. *Journal of Reviews in Medical Sciences* 1(2)135-141. (in Persian).
- Flora, G., Gupta, D., Tiwari, A., 2012. Toxicity of lead: a review with recent updates. *Interdisciplinary toxicology* 5(2), 47-58.

- Guardiola, F.A., Cuesta, A., Meseguer, J., Martínez, S., Martínez-Sánchez, M.J., Pérez-Sirvent, C., Esteban, M.A., 2013. Accumulation, histopathology and immunotoxicological effects of waterborne cadmium on gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish and shellfish immunology* 35(3), 792-800.
- Hosseinian, M., 1999. Water and Health. Tehran: Technical Publications Hosseinian. (in Persian).
- Hamed, H.S., Abdel-Tawwab, M., 2021. Dietary pomegranate (*Punica granatum*) peel mitigated the adverse effects of silver nanoparticles on the performance, haemato-biochemical, antioxidant, and immune responses of Nile tilapia fingerlings. *Aquaculture* 540, 736-742. (in Persian).
- Khosravi, A.R., Hosseinian, M., Sadat monsouri, A., 2009. Industrial wastewater treatment (electroplating industries - dairy products - textiles). Tehran: *Publication of Modern Science*. (in Persian).
- Kazemizadeh, R., Fadaei N.V., 2016. The determination of antioxidant activity, total polyphenols and microbial total count of functional flavored milk containing pomegranate peel extract and date date syrup during cold storage. *Iranian Journal Food Science and Technology Research* 12(4), 489-498.
- Khandan, H., Miri, M., 2018. Changes in the level of metabolic enzymes under the influence of heavy metals zinc and cadmium in Sistan whitefish. *Journal of Aquatic Ecology* 6(4), 39-51. (in Persian).
- Kashmiri, A., Bahadorian, S., Mohebbi, A., 2019. Evaluation of Protective Effects of ethanolic extract of *Punica granatum* peel against Oxidative Stress Following cadmium poisoning in Japanese quail. *Iranian journal of Veterinaty Clinical Science* 13(2), 57-69. (in Persian).
- Liu, Y., Zhang, S.P., Cai, Y.Q., 2007. Cytoprotective effects of selenium on cadmium-induced LLC-PK1 cells apoptosis by activating JNK pathway. *Toxicology in vitro* 21(4), 677-684.
- Li, Z.H., Li, P., Randak, T., 2011. Evaluating the toxicity of environmental concentrations of waterborne chromium (VI) to a model teleost, *Oncorhynchus mykiss*: a comparative study of in vivo and in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology* 153(4), 402-407.
- Monserrat, J.M., Martínez. P.E., Geracitano, L.A., Amado, L.L., Martins, C.M.G., Pinho, G.L.L., Bianchini, A., 2007. Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology* 146(1-2), 221-234.
- Mohebbi, A., Nematollahi, A., Dorcheh, E.E., Asad, F.G., 2012. Influence of dietary garlic (*Allium sativum*) on the antioxidative status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 43(8), 1184-1193. (in Persian).
- Rajamanickam, V., 2008. Effect of heavy metals induced toxicity on metabolic biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Maejo International Journal of Science and Technology* 2(01), 192-200.
- Rakhnareh, A., Motlagh, S.O., Armament, Y., 2019. Alteration of bacteria and yeast populations of *Carassius auratus* in response to diets containing *Punica granatum* extract. In: the 7th National Conference of Iranian Fisheries Oct 30. (in Persian).
- Sancho, E., Fernandez-Vega, C., Ferrando, M.D., Andreu-Moliner, E., 2003. Eel ATPase activity as biomarker of thiobencarb exposure. *Ecotoxicology and environmental safety* 56(3), 434-441.
- Salvato, J.A., Nemerow, N.L., Agardy, F.J., 2003. Environmental engineering. New York: John Wiley and Sons 42pp.
- Saei-Dehkordi, S.S., Fallah, A.A., Nematollahi, A., 2010. Arsenic and mercury in commercially valuable fish species from the Persian Gulf: influence of season and habitat. *Food and Chemical Toxicology* 48(10), 2945-2950. (in Persian).
- Shafi'I, F., Mahboubi, S., Ebrahimi, A., Nematollahi, M., 2016. The effect of alcoholic extract of pomegranate peel on blood factors of finger carp of common carp, Tarbiat Modares University 5(2), 59-72. (in Persian).
- Tahvilian, R., Shahriari, S., Faramarzi, A., Komasi, A., 2014. Ethno-pharmaceutical formulations in Kurdish ethno-medicine. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR* 13(3), 10-29. (in Persian).

Yadolahi-Sohrab, A., Nabavi, S.M.B., Kheyrvan, N., 2008. Relationship of some biometrics characteristics with heavy metals accumulation in muscle and gill scales of *Barbus grypus* in Arvandrod River. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 17(4), 27-34. (in Persian).

Zar, J.H., 1996. *Biostatistical Analysis*. 3rd edn. London: Prentice-Hall 2 32pp.

