

مطالعه تجربی اثرات هیستوپاتولوژیکی داروی جنتامایسین بر روی کلیه

ماهی اسکار

محمد حسن علوی^۱، بابک شعبی عمرانی^{۲*}، سهیل علی نژاد^۳، فریبرز معیر^۴

چکیده

جنتامایسین در درمان عفونت‌های حاصل از باکتری‌های گرم‌منفی بکار می‌رود. سمیت شدید این دارو در کلیه حتی با دزهای درمانی نیز مشاهده می‌شود. باتوجه به اهمیت موضوع، اثرات جنتامایسین روی کلیه ماهی اسکار بعنوان یکی از گونه‌های آب شیرین در این تحقیق بررسی گردید. تعداد ۹۰ قطعه ماهی اسکار نژاد قرمز با میانگین وزنی ۱۰ گرم در گروه‌های ۵ تایی در هجده آکواریم ۳۰ لیتری قرار گرفتند. شاهد یک: تزریق سرم فیزیولوژی بمدت ۵ روز، شاهد دو: تزریق سرم فیزیولوژی بمدت ۱۰ روز، تیمار یک: تزریق ۵mg/kg جنتامایسین بمدت ۵ روز، تیمار دو: تزریق ۵mg/kg جنتامایسین بمدت ۱۰ روز، تیمار سه: تزریق ۲۰mg/kg جنتامایسین بمدت ۵ روز، تیمار چهار: تزریق ۲۰mg/kg جنتامایسین بمدت ۱۰ روز. حجم همه تزریقات یکسان و معادل ۱ ml/kg و در محوطه صفاقی انجام شد. این آزمایش در ۶ گروه و با سه تکرار انجام شد. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، نمونه‌گیری از کلیه جهت بررسی ضایعات بافتی انجام گرفت. نمونه‌ها با روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ آمیزی شدند. در دو گروه شاهد، بهم ریختگی بافتی یا ضایعه مشخصی دیده نشد. در همه تیمارها علائم هیستوپاتولوژیک در بافت کلیه مشاهده شد. این ضایعات شامل نکروز، کوچک شدن گلومرول‌ها، حضور سلول‌های آماسی، گشاد شدن لوله‌های ادراری، پرخونی، خون‌ریزی، ادم بینابینی، دژنراسانس آبکی سلول‌های جدار توبول‌های ادراری و نهایتاً نکروز یا از بین رفتن بافت کلیه بود. با افزایش دز و مدت زمان استفاده از دارو میزان آسیب وارده افزایش یافت.

واژگان کلیدی: جنتامایسین، ماهی اسکار، کلیه، ضایعات پاتولوژیک.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۶

مقدمه

آبزیان و ماهیان زینتی به دلایل فرهنگی و بهداشتی در کشور ما از توجه خاصی برخوردارند. همین موضوع موجب رشد این صنعت و افزایش تولید در کشور شده است. به عنوان مثال در سال ۱۳۹۶ تولید ماهیان زینتی ۲۴۴،۱۰۳ هزار قطعه بود که از

افزایش قابل توجهی نسبت به سال‌های قبل برخوردار می‌باشد(۱). محیط‌های پرورشی، همواره در معرض بروز بیماری‌های مختلف عفونی و غیرعفونی می‌باشند(۲). امروزه عوامل باکتریایی رایج‌ترین عوامل بیماریزا در آبزی‌پروری بوده که موجب بروز مشکلات و خسارات فراوان می‌شوند(۳، ۴). راه اصلی کنترل بیماری‌های باکتریایی آبزیان ترکیبی از درمان آنتی بیوتیکی و اعمال اصول مدیریتی می‌باشد(۴، ۵). در واقع استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در کنترل و درمان بیماری‌های باکتریایی به عنوان بخشی از برنامه تولیدی پرورش دهندگان ماهی محسوب می‌شود و شاید بتوان گفت که اولین سیاست برخوردی آبزی‌پروران با تلفات مشکوک به عفونت‌های باکتریایی استفاده از این ترکیبات است. ضمن اینکه باید نوع دارو، طرز استفاده، میزان و دوره مصرف و رعایت زمان پرهیز از مصرف نیز مورد توجه قرار گیرد(۶). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی برای برطرف نمودن مشکلات آبزی‌پروری نسبت به حیوانات خشکی‌زی نیاز به دقت بیشتری دارد. مصرف این ترکیبات علاوه بر دارا بودن اثرات حاشیه‌ای و هزینه بالا موجب انباشتگی این ترکیبات در محیط زیست و بدن ماهی می‌شود(۷). طعم داروها، عوارض جانبی آنها، دوره درمان و راحتی مصرف دارو از عواملی هستند که ممکن است منجر به شکست درمان، عدم مصرف دارو و افزایش هزینه‌های درمانی شود(۸). ضمن اینکه در مواردی ممکن است آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بدون در نظر گرفتن عوارض جانبی و دوره دفع دارویی توسط افرادی نظیر پرورش دهندگان مورد استفاده قرار گیرند که می‌تواند موجب بروز عوارض زیانبار شود(۹). از آنجائیکه در اکثر موارد در ماهیان آکواریمی دزهای درمانی ذکر شده خاص آن گونه نیستند، تجویز این

۱. دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲. گروه بهداشت آبزیان، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران (babak.shoabi@kiau.ac.ir)

۳. موسسه آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴. گروه پاتوبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

می‌شود (۱۳). علاوه بر عوامل بیماری‌زای مختلف که بطور مستقیم و غیرمستقیم موجب آسیب بافت کلیه و ایجاد اختلال در فعالیت طبیعی آن می‌شوند، بعضی از ترکیبات شیمیایی از جمله داروها نیز دارای چنین اثراتی هستند. داروی جتتامایسین یکی از این ترکیبات است. تزریق داخل صفاقی (IP) جتتامایسین بعنوان یک روش ثابت شده در القای آسیب حاد کلیوی در ماهیان مطرح است. استفاده از جتتامایسین می‌تواند منجر به از بین رفتن بافت پوششی کلیه و ایجاد کست در توبول‌های کلیوی شود که در نهایت بصورت توده‌ای در مجاری مزونفریک و کلوآک تجمع پیدا می‌کند و می‌تواند توسط ماهی دفع و در آب مشاهده شوند. حضور این کست‌های ادراری بیانگر میزان دقیق صدمه ایجاد شده در کلیه‌ها است. برخلاف پستانداران، ماهیان بالغ می‌توانند در طول زندگی خود در پاسخ به نیازهای رشد و یا آسیب‌ها و صدمات، نفرون‌های جدید (نفرونوژنز) تولید کنند (۱۵). ماهی بالغ بر خلاف جنین یا لارو می‌تواند به آسیب‌ها از طریق ایجاد نفرون جدید واکنش نشان دهد و بافت‌های بیشتری را ایجاد کند (۱۶). اثرات این دارو در ماهیان مختلف متفاوت است. در حال حاضر تحقیقات محدودی بر روی چندگونه از ماهیان انجام شده که نتایج آن مشابه بوده است. بعنوان مثال در ماهی تیلایا تزریق جتتامایسین در دز ۵ و ۲۵ mg/kg و در ماهی طلائی با دز ۵۰ mg/kg، تلفات مشاهده شد (۱۲). در ماهی زبرا نیز تزریق جتتامایسین با عوارض کلیوی همراه بود (۱۵). Salice و همکاران (۲۰۰۱) ضایعات کلیوی را بدنال تزریق داخل صفاقی جتتامایسین به میزان ۵۰ mg/kg نشان دادند (۱۷). تاکنون ماهی دهان گشاد دریایی (Toadfish) بعنوان حساس‌ترین ماهی نسبت به سمیت جتتامایسین با دزهای درمانی شناخته شده است (۱۶). با توجه به عوارض جانبی مهم جتتامایسین در دزهای درمانی توصیه شده، لازم است برای تعیین دز درمانی و حداقل دوز سمی تحقیقات بر روی گونه‌های مختلف ماهیان انجام شود و گونه‌های مختلف ماهیان از نظر میزان حساسیت به

داروها می‌تواند منجر به مسمومیت شود. این مسمومیت با توجه به گونه ماهی، کیفیت آب و نحوه استفاده دارو متغیر است. داروهای شیمیایی رایجی که برای درمان در ماهیان آکواریومی استفاده می‌شوند و امکان ایجاد مسمومیت دارند شامل مس، فرمالین، پرمنگنات پتاسیم، مالاشیت‌گرین، ترکیبات چهارتایی آمونیوم، ارگانوفسفاتها و آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر جتتامایسین، سولفانامیدها و اکسی تتراسایکلین هستند. تهیه بسیاری از این داروها نیازمند به نسخه‌ی تجویزی دامپزشک نمی‌باشد (۱۰).

جتتامایسین بعنوان یک آنتی‌بیوتیک آمینوگلیکوزیدی که مانع از سنتز پروتئین باکتری‌ها می‌شود در درمان عفونت‌های حاصل از باکتری‌های گرم منفی بکار می‌رود (۱۱). تجویز این دارو بصورت تزریقی می‌باشد (۱۲). سمیت شدید جتتامایسین با دزهای درمانی یک اشکال عمده در درمان‌های معمول بحساب می‌آید. با وجود استفاده رو به افزایش این آنتی‌بیوتیک در ماهیان، مستندات زیادی در خصوص سمیت آن بویژه سمیت کلیوی در گونه‌های مختلف ماهیان وجود دارد. سمیت کلیوی جتتامایسین کاملاً در پستانداران اثبات شده است و سلول‌های پوششی لوله‌های پروکسیمال بطور انتخابی به جتتامایسین حساسیت دارند. بطوریکه دزهای سمی این دارو منجر به نکروز و ریخته شدن این سلول‌ها به داخل مجرای نفرون چند روز بعد از تجویز می‌شوند (۱۱). از عوارض جتتامایسین می‌توان به سمیت کلیه، گوش و مشکلاتی مربوط به قلب و بلاک عصبی - عضلانی اشاره کرد (۱۲). کلیه در ماهی‌های استخوانی میانی بوده و به صورت دو جسم طویل به رنگ قرمز تیره در دو طرف ستون مهره‌ها قرار گرفته و اغلب از ناحیه سر تا انتهای حفره داخلی کشیده شده‌اند (۱۳). دفع مواد زائد و حفظ تعادل اسمزی از وظایف مهم کلیه در ماهیان می‌باشد. عدم تنظیم فشار اسمزی، منجر به وقوع پدیده کشنده رقیق شدن خون در ماهیان آب شیرین و غلیظ شدن خون در گونه‌های دریایی می‌شود (۱۴). بنابراین هرگونه آسیب وارده بر کلیه موجب اختلال در سایر اندام‌ها و ترشحات غده درون‌ریز

پس از اتمام دوره زمانی در هر گروه و گذشت ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، نمونه برداری از بافت کلیه انجام شد. نمونه‌ها در فرمالین سالین ۱۰٪ به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال شدند. آماده سازی نمونه‌ها با روش تثبیت بافت در پارافین طی مراحل آب گیری، شفاف سازی، آغشتگی با پارافین، قالب گیری، برش بافت، چسباندن برش‌ها بر روی لام، رنگ آمیزی و چسباندن لامل صورت پذیرفت. ضمناً بررسی و اسکوربندی شدت ضایعات بر اساس روش ذکر شده توسط Gibson-Corley و همکاران (۲۰۱۳) انجام گردید (۱۸).

نتایج

گروه‌های شاهد: مشاهدات ریزینی مقاطع تهیه شده از بافت کلیه گروه شاهد یک و دو مشابه یکدیگر بود. در مقاطع پاتولوژیک هیچگونه بهم ریختگی بافتی و یا ضایعه بافت شناسی مشخصی دیده نشد. ضمناً تمامی لوله‌های ادراری و گلومرول‌ها به طور منظم در کنار هم قرار داشتند و دارای هسته و سیتوپلاسم مشخصی بودند و هیچگونه افزایشی در فضای ادراری و گشاد شدن لوله‌ها دیده نشد و هیچ سلول آماسی در اطراف آنها قابل مشاهده نبود.

تیمار یک: در این تیمار نکروز و گشاد شدن لوله‌های ادراری و نیز کوچک شدن گلومرول‌ها مشاهده شد. در نکروز این لوله‌ها، هسته سلول‌های مکعبی جدار لوله‌های ادراری متراکم شده و سیتوپلاسم آنها نیز نامشخص بود (نگاره ۱).

تیمار دو: در تیمار مذکور حضور سلول‌های آماسی (التهاب)، نکروز سلول‌های جدار لوبول‌های ادراری، ادم بینابینی لوله‌های ادراری، پرخونی، افزایش فضای ادراری و نیز کوچک شدن گلومرول دیده شد در برخی موارد حضور گلبولهای قرمز در داخل مجرای توبول‌ها نیز مشاهده شد (نگاره ۲ و ۳)

این دارو مورد بررسی قرار گیرند. به همین جهت ماهی اسکار بعنوان یکی از گونه‌های مهم آب شیرین بررسی گردید. ماهی اسکار که در برخی مناطق به آن طاووس ماهی یا سیکلید مخملی هم گفته می‌شود، یکی از مهم‌ترین ماهیان زینتی آکواریومی است. این ماهی از خانواده‌ی سیکلیده می‌باشد و نام علمی آن *Astronotus ocellatus* است و اسکار قرمز، اسکار آلبینو، اسکار تایگر، اسکار سلطنتی و اسکار مسی از نژادهای آن می‌باشند. *Astronotus* به معنی نشانه‌ی ستاره مانند در پشت است و واژه‌ی *ocellatus* به معنی دارا بودن لکه‌ی چشم مانند است. بیشتر آنها ساکن آب شیرین هستند و معمولاً در آفریقا و آمریکا یافت شده و تعداد کمی از آنها در آسیا زیست می‌کنند. سیکلیدها از لحاظ اندازه، شکل بدن، رنگ آمیزی، خلق و خو و عادات تولید مثلی بسیار متنوع و متفاوتند (۱۷).

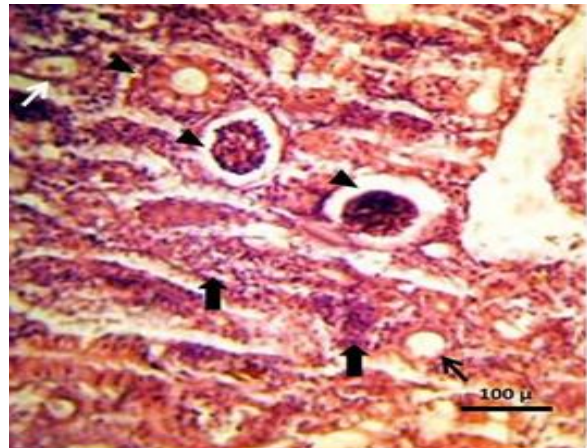
مواد و روش کار

از موسسه عداد، ۹۰ قطعه ماهی اسکار نژاد قرمز با میانگین وزنی ۱۰ گرم در گروه‌های ۵ تایی و در هجده آکواریوم ۳۰ لیتری قرار گرفتند (دمای 24 ± 1 سانتی گراد و $pH 7/3$) ماهی‌ها جهت سازگاری، به مدت ۱ ماه در این شرایط نگهداری شده و با جیره‌ی تجاری شرکت ماهیران تغذیه شدند. گروه‌های شاهد و تیمار بشرح ذیل می‌باشند:

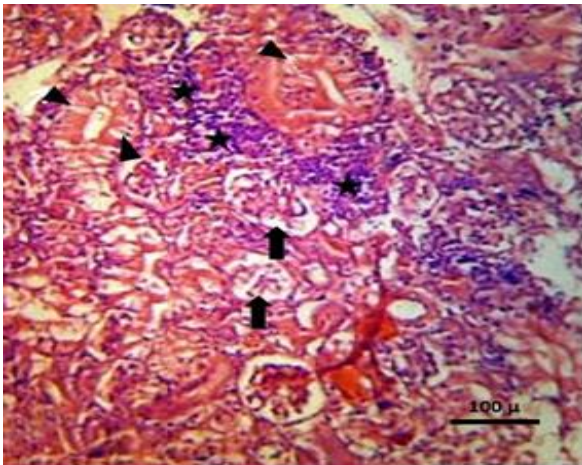
شاهد یک: تزریق سرم فیزیولوژی بمدت ۵ روز، شاهد دو: تزریق سرم فیزیولوژی بمدت ۱۰ روز، تیمار یک: تزریق جنتامایسین 5 mg/kg بمدت ۵ روز، تیمار دو: تزریق جنتامایسین 5 mg/kg بمدت ۱۰ روز، تیمار سه: تزریق جنتامایسین 20 mg/kg بمدت ۵ روز، تیمار چهار: تزریق جنتامایسین 20 mg/kg بمدت ۱۰ روز. حجم همه تزریقات یکسان و معادل 1 ml/kg و در محوطه صفاقی انجام شد. این آزمایش در ۶ گروه و با سه تکرار انجام شد.

تزریق در خط میانی و ناحیه خلفی باله‌ی شکمی، در فضای صفاقی و بدون آسیب دیدن اندام‌های داخلی صورت گرفت.

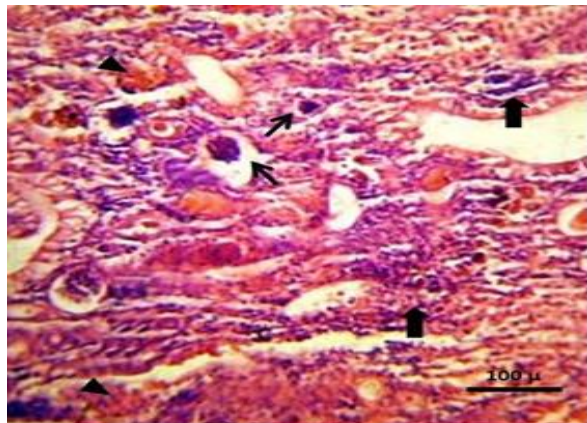
حضور سلول‌های آماسی (پیکان بزرگ) و پرخونی (نوک پیکان) (بزرگنمایی 400X-H&E).
 تیمار سه: در این تیمار میزان التهاب و نکروز در لوله‌های ادراری نسبت به تیمار دو بیشتر بود و سلول‌های جدار توبول‌های ادراری دچار دژنراسانس آبکی شده بودند (نگاره ۴ و ۵).



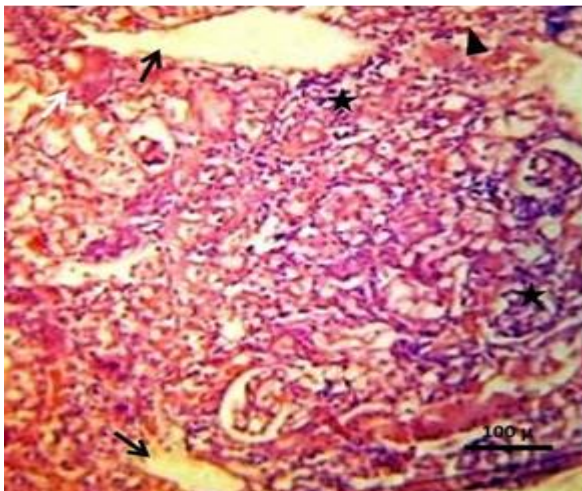
نگاره ۱، نمای میکروسکوپی کلیه ماهی اسکار در تیمار یک: افزایش فضای ادراری و کوچک شدن گلوبومول مالیگی (نوک پیکان)، نکروز و تخریب لوله‌ی ادراری (پیکان کوچک)، تجمع سلول‌های آماسی و افزایش فضای ادراری (پیکان بزرگ)، (بزرگنمایی 400X-H&E).



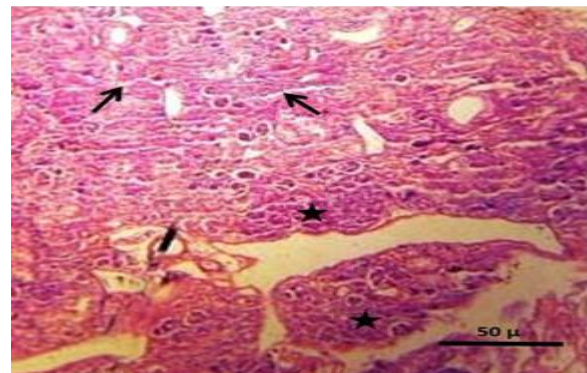
نگاره ۲، نمای میکروسکوپی کلیه ماهی اسکار تیمار دو (سمت چپ): دژنراسانس آبکی در سلول‌های جداره‌ی لوله‌های ادراری (نوک پیکان)، سلول‌های آماسی (ستاره) و گشاد شدن لوله‌های ادراری و بازوفیلی شدن آنها (پیکان) (بزرگنمایی 100X-H&E).



نگاره ۳، نمای میکروسکوپی کلیه ماهی اسکار تیمار دو (سمت چپ): ادم بینابینی (پیکان) و حضور سلول‌های آماسی (ستاره) (بزرگنمایی 100X-H&E).



نگاره ۴، نمای میکروسکوپی کلیه ماهی اسکار تیمار سه (سمت راست): دژنراسانس آبکی در سلول‌های جداره‌ی لوله‌های ادراری (نوک پیکان)، سلول‌های آماسی (ستاره) و نکروز لوله‌ها و تخریب مجرا (پیکان بزرگ) (بزرگنمایی 100X-H&E).



نگاره ۵، نمای میکروسکوپی کلیه ماهی اسکار تیمار دو (سمت راست): افزایش فضای ادراری و کوچک شدن گلوبومول (پیکان کوچک)،

جدول ۱: شمارش موارد اتساع لوله های ادراری و تعداد سلولهای نکروزه کلیه ماهی اسکار در تیمارهای مختلف

شاهد	تیمار یک	تیمار دو	تیمار سه	تیمار چهار
اتساع لوله های ادراری	۳	۵	۵	۶
نکروز لوله های ادراری	۳	۴	۴	۶

- افزایش فضای ادراری: اندازه فضای ادراری گلوبول ها و گشاد شدن (اتساع) لوله های ادراری در هر شان میکروسکوپی (به طور میانگین از میان ۱۰ شان میکروسکوپی شمارش شد)
 - تعداد سلولهای نکروز شده یا لوله های ادراری حاوی سلولهای جداری نکروز شده در هر شان میکروسکوپی (به طور میانگین از میان ۱۰ شان میکروسکوپی شمارش شد)

جدول ۲: اندازه گلوبول ها و شدت تجمع سلولهای التهابی، ادم بینابینی و پرخونی کلیه ماهی اسکار در تیمارهای مختلف

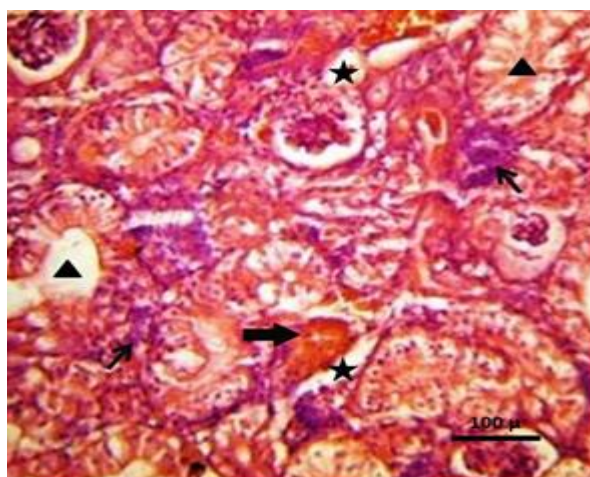
شاهد	تیمار یک	تیمار دو	تیمار سه	تیمار چهار
اندازه گلوبول (μ)	۹/۹	۶/۸	۶/۳	۵/۹
تجمع سلولهای التهابی	۲	۲	۲	۳
ادم بینابینی	۱	۲	۲	۳
پرخونی	۲	۳	۳	۳

- کوچک شدن اندازه گلوبول ها در هر شان میکروسکوپی (به طور میانگین از میان ۱۰ شان میکروسکوپی شمارش شده)
 - تجمع سلولهای آماسی، ادم بینابینی و پرخونی (به طور میانگین از میان ۱۰ شان میکروسکوپی شمارش شده) در چهار اسکور: ۰: عدم وجود سلول آماسی؛ ۱: خفیف؛ ۲: متوسط؛ ۳: شدید

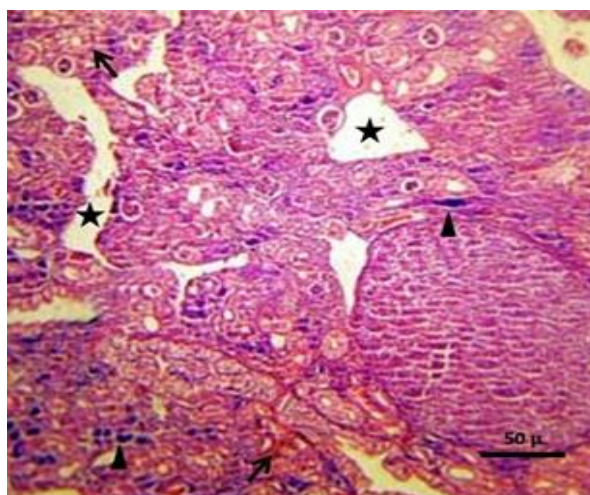
بحث

در تحقیق حاضر میزان ضایعات ایجاد شده در کلیه با دز و مدت زمان مصرف دارو نسبت مستقیم داشت. یعنی با افزایش غلظت داروی مصرفی و زمان استفاده، شدت

تیمار چهار: افزایش نسبی التهاب در ناحیه، افزایش نکروز سلولهای لوله های ادراری نسبت به تیمار سه و ادم بینابینی مشاهده شد. پرخونی در تیمار ۴ بیشتر از سایر تیمارها دیده شد.



تصویر ۶، نمای میکروسکوپی کلیه ماهی اسکار تیمار چهار (سمت چپ): سلولهای آماسی (نوک پیکان)، گشاد شدن مجرای لوله ادراری (ستاره) و پرخونی و نکروز لوله‌ی ادراری (پیکان کوچک) (بزرگنمایی H&E-100X).



تصویر ۷، نمای میکروسکوپی کلیه ماهی اسکار تیمار چهار (سمت راست): ادم بینابینی (ستاره)، گشاد شدن لوله ادراری (مثلث)، تجمع سلولهای آماسی (پیکان کوچک) و پرخونی شدید (پیکان بزرگ) (بزرگنمایی H&E-400X).

لوله‌های ادراری شد. در اغلب لوله‌های ناحیه‌ی درگیر، گلبول‌های قرمز به صورت متراکم و منتشر مشاهده شد که بیانگر پرخونی در موضع التهاب بود. این پرخونی در تیمار ۴ بیشتر از سایر تیمارها دیده شد. ضایعات ذکر شده بخوبی در جداول شدت ضایعات پاتولوژیک در بخش نتایج قابل مشاهده هستند. بطور کلی ضایعات مشاهده شده در همه تیمارها شامل حضور سلول‌های آماسی، نکروز سلول‌های جدار لوله‌های ادراری، ادم بینابینی لوله‌های ادراری و فاصله گرفتن آنها از هم، پرخونی، افزایش فضای ادراری و کوچک شدن گلوامرول‌ها بود و همانطور که گفته شد بطور قابل ملاحظه‌ای با افزایش دز و طول مدت تجویز افزایش یافته بودند. تلفاتی در این تحقیق مشاهده نشد، این در حالی است که در ماهی تیلاپیا در تزریق با دز ۵ و ۲۵ mg/kg به ترتیب ۱/۳٪ و ۳۰٪ تلفات مشاهده شد. ماهی طلایی نیز که بعنوان یک گونه مقاوم در نظر گرفته می‌شود در تزریق با دز ۵۰ mg/kg جتتامایسین، تلفات پائینی نشان داد. مقادیر متغیر ملایم تا شدید ادم بینابینی و همچنین اتساع لوله‌های کلیوی دو علامت معمول در آسیب کلیوی هستند که با توجه به دز و زمان مصرف با شدت‌های مختلف دیده می‌شوند (۱۲). در تحقیقی بر روی ماهی زبرا تزریق جتتامایسین با سه دز ۴۰ mg/kg، ۶۰ و ۸۰ صورت گرفت. یک روز پس از تزریق دز ۴۰، کستی مشاهده نشد اما در دز ۶۰، کست‌هایی با اندازه متوسط و در دز ۸۰، کست‌هایی با اندازه بزرگ که همراه با لایه‌هایی از بافت بودند ایجاد شد که نشان‌دهنده ضایعه ایجاد شده هستند (۱۵). در کاری مشابه روی ماهی طلایی، جتتامایسین با تزریق صفاقی با میزان ۵۰ mg/kg در سه تزریق و در دو تیمار متفاوت با فاصله ۹ و ۲۴ هفته آزمایش شد. نتیجه کار مشابه سایر تحقیقات بود. یعنی نکروز لوله‌های کلیوی ۳ روز پس از تزریق ایجاد و سلول‌های مرده زیادی نیز در مجرای نفرون‌ها مشاهده شد. یک ماه پس از تزریق، نفرون‌های متعدد در حال تشکیل

ضایعات نیز بیشتر می‌شد. این روند افزایشی در تیمارهای ۱ الی ۴ بخوبی قابل مشاهده بود که با نتایج تحقیقات مشابه همخوانی دارد (۱۱، ۱۲ و ۱۹). ضمن اینکه در گروه شاهد نیز هیچ علائمی مشاهده نشد. در دز ۵ mg/kg به مدت ۵ روز، ضایعات بافتی شامل بسته شدن مجرای لوله‌های ادراری ناشی از نکروز و نیز گشاد شدن تعدادی از آنها بود. در تیمار دوم التهاب ناحیه با افزایش اندک سلول‌های آماسی (اغلب از نوع لنفوسیت و ماکروفاژ) نسبت به تیمار یک به صورت نقاط آبی رنگ در اطراف لوله‌های ادراری دیده شد. تغییر رنگ سیتوپلاسم از صورتی به قرمز حاکی از مراحل از بین رفتن هسته و ناپایداری غشاء سلول، نکروز سلول‌های جدار لوبول‌های ادراری بود. انسداد مجرای لوله نیز در اثر تخریب سلول‌های جدار ایجاد شد. تجمع مایعات داخل سلولی در اطراف لوله‌های ادراری موجب فاصله گرفتن لوله‌ها از هم و ایجاد فضای خالی بین لوله‌ها گردید که نشانگر ادم بینابینی لوله‌های ادراری بود. پرخونی با تجمع گلبول‌های قرمز بصورت منتشر در اطراف لوبول‌های ادراری از دیگر ضایعات مشاهده شده بود. در دز ۲۰ mg/kg به مدت ۵ روز، سلول‌های آماسی غالباً از نوع لنفوسیت و ماکروفاژ در اطراف لوله‌های ادراری زیاد گردید که نشان از افزایش التهاب در ناحیه بود. نکروز قابل توجه سلول‌های ادراری در مقایسه با تیمار دو مشاهده شد. از دیگر ضایعات ایجاد شده، دژنراسانس آبکی سلول‌های جدار لوبول‌های ادراری بود که حاکی از تغییرات برگشت پذیر سلول و مرحله قبل از نکروز بحساب می‌آید. در تیمار آخر، سلول‌های آماسی در اطراف لوله‌های ادراری نسبت به تیمار سه افزایش نسبی داشتند که نشان از افزایش التهاب در ناحیه بود. نکروز سلول‌های ادراری در مقایسه با تیمار سه به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داشت. تجمع مایعات داخل سلولی در اطراف لوله‌های ادراری موجب فاصله گرفتن لوله‌ها از هم و ایجاد فضای خالی بین لوله‌ها یا همان ادم بینابینی

(بصورت نکروز یا آپوپتوز) متعاقب خوردن سموم میکروسیستین جلبکی، آنتی بیوتیک‌های متعدد (جنتامایسین، اریترومایسین و سولفامرازین) یا هیدروکربن‌هایی مثل هگزاکلوروبوتادیان رخ می‌دهد. نکروز حاد در بافت پوششی لوله‌های پروکسیمال در ماهی دهان‌گشاد متعاقب تزریق دز پایینی از جنتامایسین به میزان 3 mg/kg وزن بدن رخ می‌دهد. سلول‌های نکروزه نیز از غشای پایه جدا شدند. از آنجائیکه این ماهی فاقد گلومرول است تنها راه دفع جنتامایسین از طریق بافت پوششی لوله‌ها است به همین جهت منجر به تخریب دسته جمعی سلولی می‌گردد. دوره زمانی آسیب به کلیه، ترمیم و ایجاد نفرون‌های جدید وابسته به دما است (۲۰). ضایعات و نکروز ایجاد شده در کلیه پس تزریق جنتامایسین توسط Augusto و همکاران (۱۹۹۶) در ماهی تیلایپای نیل (*Oreochromis nilotica*) نیز همانند سایر تحقیقات با بازسازی سلول‌های پوششی لوله‌ها و همچنین ایجاد نفرون جدید ترمیم شد (۱۲). با توجه به تحقیقات طولانی مدت طی ۱۰۰ سال در خصوص توانایی کلیه پستانداران برای ترمیم صدمات سمی تحت‌کشنده این اصل ثابت شده که ممکن است دوره زمانی ترمیم کلیه متغیر باشد اما بازسازی این بافت بعد از تماس با سموم کلیوی مشابه است. اگر آسیب به نفرون‌های کلیوی شدید باشد غشای پایه تخریب شده و نفرون‌ها دژنره شده و همچنین در گلومرول‌ها فیروز بروز می‌کند. بعد از آسیب‌های ناشی از سموم کلیوی تعدادی نفرون در ماهی بالغ و جوان بطور معنی‌داری ایجاد می‌شود (۱۶). در تحقیق فعلی روی ماهی اسکار اثرات تخریبی مشاهده شده مشابه سایر تحقیقات بود. ضمن اینکه باتوجه به نتایج، ماهی اسکار از مقاومت بیشتری نسبت به ماهی تیلایپا برخوردار است. باتوجه به نتایج چند تحقیق ذکر شده (۱۱، ۱۲، ۱۹) این مقاومت بیشتر میتواند به ساخت نفرون‌های جدید مربوط باشد. بنابراین می‌توان جنتامایسین را در این ماهی توصیه نمود. پیشنهاد می‌شود

بودند. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که در ماهی طلایی بعد از مسمومیت کلیوی ناشی از دزهای مکرر جنتامایسین، نفرون‌های جدید باز هم تشکیل می‌شوند که در ماهیان بالغ می‌تواند در محیط‌های آبی حاوی ترکیباتی با خاصیت سمیت کلیوی هستند کمک کننده باشد (۱۹). گزارش کورمیر و همکاران (۱۹۹۵) نیز تاییدکننده این موضوع است. طبق گزارش آنها تعداد نفرون‌های جدید در ماهی Tomcod (*Microgadus tomcod*) صید شده از رودخانه هادسون در مقایسه با نمونه‌های صید شده از رودخانه‌های Roval و Saco، بیشتر بود. علت این افزایش، آلودگی بیشتر در رودخانه هادسون ذکر شد. نتایج مشابهی در ماهی سرگاوی (*Ictalurus nebulosus*) از رودخانه Cuyahoga در مقایسه با رودخانه توسیانت که کمتر آلوده بودند نیز مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که ظهور نفرون‌های جدید در ماهی بالغ بیانگر آن است که کدام محیط از لحاظ حضور عوامل سمی کلیه آلوده‌تر است. تعیین تشکیل نفرون که بطور طبیعی در ماهیان استخوانی رخ می‌دهد بعنوان یک بیومارکر ارزشمند در سموم کلیوی محیطی مطرح است (۱۹). در تحقیقی دیگر بر روی ماهی طلایی انجام شد 50 mg/kg جنتامایسین تزریق شد. نمونه‌برداری بافت کلیه روز ۱، ۴، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از تزریق انجام شد. در گروه روز یک بعد از تزریق بافت پوششی لوله‌های پروکسیمال، ائوزنوفیلی شدید و نکروز نشان دادند و سلول‌های پوششی به داخل مجرای لوله‌ها ریختند. در گروه روز ۱۴ بافت پوششی بازوفیلی که مسطح شده بود در لوله‌های آسیب دیده مشاهده شد که بیانگر بازسازی در طول نفرون بود (مشابه آنچه که در کلیه پستانداران مشاهده می‌شود). توانایی کلیه بالغ برای ایجاد نفرون‌های جدید در پاسخ به عوامل سمی یا آسیب‌های ناشی از مسمومیت در ماهی منحصر بفرد است (۱۱). در ماهی طلایی روند تولید نفرون‌های جدید ۲ تا ۴ هفته بعد از آسیب اتفاق می‌افتد. مرگ سلول در لوله‌های ادراری

- amoxicillin/clavulanate oral suspension for acute otitis media in young children. *Current medical research and opinion*. 2006; 22(9): 1839-47.
9. Khan-Nazer AH, Kahba H. Detection of antibiotic residues in the carcasses of poultry by four plate test method and the boiling effect on them. *Animal Science Journal*. 1999; 43: 62-65.
 10. Roberts H, Palmeiro BS. Toxicology of Aquarium Fish. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*. 2008; 11(2): 359-374.
 11. Reimschuessel R, Williams D. Development of new nephrons in adult kidneys following gentamicin-induced nephrotoxicity. *Renal failure*. 1995; 17(2): 101-106.
 12. Augusto J, Smith, B, Smith, S, Robertson J, Reimschuessel R. Gentamicin-induced nephrotoxicity and nephrogenesis in *Oreochromis nilotica*, a tilapia fish. *Disease of Aquatic organisms*. 1996; 26: 49-58.
 13. Noori Moogahi SMH, Nabavi SMB, Mahmoodzadeh Sagheb HR, Heidari Z, Morovati H, Movahednia AA. *Fish Physiology*. Tehran: University of Tehran Press; 2011. Pp. 288.
 14. Abdollah Mashaie M. *Physiology of Fish in Intensive Culture Systems*. Tehran: Daryasar Publishing; 2009. Pp. 302
 15. Caramai N, Kamei Yan Liu, Iain A, Drummond. Kidney Regeneration in Adult Zebrafish by Gentamicin Induced Injury. *Journal of Visualized Experiments*. 2015; 102:1-6.
 16. Reimschuessel R. A Fish Model of Renal Regeneration and Development. *ILAR Journal*. 2001; 42(4): 285-291.
 17. Emami Langeroodi F, Haydaripoor Sh. *Oscar fish*. Tehran: Elmi-e- abzian Publishing; 2009.
 18. Gibson-Corley KN, Olivier AK, and Meyerholz DK. Principles for valid histopathologic scoring in research. *Veterinary Pathology*. 2013; 50(6): 1-22.
- در تحقیقات بعدی جهت نتیجه گیری بهتر، ضمن بررسی ضایعات ایجاد شده بدنبال مصرف دزهای مختلف جنتامایسین روند بازسازی بافت آسیب دیده با ساختن نغرونهاى جدید مورد بررسی قرار گیرد.

فهرست منابع

1. Statistical yearbook of Iran fisheries 2012-2017: Iran fisheries organization. Management and Resources Development Deputy, the Office of Management and Budget, Department of Statistics; 2018.
2. Noga EJ. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*. Iowa, USA: Wiley-Blackwell; 2010.
3. Austin B, Austin DA. *Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish*. Switzerland: Springer International Publishing; 2016.
4. Moori Bakhtiari N, Peyghan R, Monzavi SF. Determination of isolated *Aeromonas hydrophila* antibiotic resistance profile from farmed common carp (*Cyprinus carpio*) in Khuzestan province. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 2017; 25 (5): 41-50.
5. Ismail NEDA, Atta NS, Mohamed Ahmed, AEA. Oral vaccination of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against Motile *Aeromonas Septicaemia*. *Report and Opinion*. 2010; 2(1): 46-51.
6. Fadaeifard F. Determination of enrofloxacin residue in the muscle and liver of cultured rainbow trout in Chaharmahal-va-Bakhtiary province by ELISA. *Journal of Food Hygiene*. 2012; 2(5): 53-62.
7. Sealy WM, Gatlin DM. Overview of nutritional strategies affecting the health of marine fish. Lim, C, Webster CD. (Ed) *Nutrition and fish health*. Binghamton, USA: Howorth press; 2001.
8. Block SL, Schmier JK, Notario GF, Akinlade BK, Busman TA, Mackinnon GE, 3rd, et al. Efficacy, tolerability, and parent reported outcomes for cefdinir vs. high-dose

19. Salice C J, Rokous JS, Kane AS, Reimschuessel R. New Nephron Development in Goldfish (*Carassius auratus*) Kidneys Following Repeated Gentamicin-Induced Nephrotoxicosis. 2001; 51(1): 56-59.
20. Ferguson HW. Systemic Pathology of Fish, A Text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and their Responses in Disease. London: Published by Scotian Press; 2006. Pp 367.

