مروری بر اهمیت تحلیل متغیرهای خون شناسی و بافت خونساز در مطالعات سم شناسی آبزیان

سارا مهدی زاده مود[1*]، محمود احمدی همدانی[2]

۱-گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۲-گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

*نویسنده مسئول:smehdizadeh@semnan.ac.ir

UNCORRECTED PROOF

چکیده:

بررسی خون‌شناسی در ماهی‌ها یکی از روش‌های مرسوم برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی این آبزیان به‌شمار می‌رود و به‌طور عمده شامل اندازه‌گیری پارامترهایی مانند گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها در واحد حجم خون است. این رویکرد، ابزاری پایه‌ای برای شناسایی اثرات مواد آلی و معدنی بر سلامت ماهی‌ها محسوب می‌شود و اغلب با آنالیزهای بیوشیمیایی و آسیب‌شناسی بافتی همراه است. هزینه پایین و عدم نیاز به تجهیزات پیچیده آزمایشگاهی، از مزایای اصلی این روش به‌شمار می‌آیند؛ هرچند دقت آن تا حد زیادی به مهارت و تجربه فرد انجام‌دهنده وابسته است.

برای تکمیل آنالیزهای هماتولوژیکی استاندارد، ارزیابی ترکیب سلولی و فعالیت بافت خون‌ساز نیز پیشنهاد می‌شود. با این حال، اطلاعات محدودی درباره تأثیر زنوبیوتیک‌ها (مواد شیمیایی خارجی) بر ساختار سلولی بافت خون‌ساز بخش قدامی کلیه ماهی‌ها وجود دارد؛ مسئله‌ای که بر ضرورت پژوهش‌های بیشتر در این زمینه تأکید می‌کند. ازاین‌رو، بهره‌گیری هم‌زمان از آنالیزهای هماتولوژیک و هماتوپوئتیک می‌تواند ارزیابی جامع‌تر و دقیق‌تری از آثار مواد سمی بر سلامت ماهی‌ها ارائه دهد.

واژه های کلیدی: آبزیان، پارامترهای خونی، بافت خونساز، سم شناسی

۱-تحلیل متغیرهای خون شناسی در مطالعات سم‌شناسی ماهی‌ها

تحلیل متغیرهای خون‌شناسی و ارزیابی کمی مورفولوژی سلول‌های خونی، از روش‌های مفید و مقرون‌به‌صرفه‌ای به‌شمار می‌رود که در مطالعات سم‌شناسی ماهی‌ها به‌طور گسترده به کار گرفته می‌شود. شاخص‌های خونی، به‌عنوان بیومارکرهای حساس و سریع، واکنش مطلوبی نسبت به تغییرات محیطی، از جمله آلودگی آب با عوامل سمی، نشان می‌دهند. این پارامترها، طیف وسیعی از تغییرات فیزیولوژیک(از پاسخ‌های تطبیقی گرفته تا اختلالات عملکردی) را آشکار می‌سازند و اطلاعات جامعی درباره وضعیت فیزیولوژیک موجود زنده ارائه می‌کنند.

نمونه‌گیری خون، در مقایسه با برداشت سایر بافت‌های موجود زنده، روشی کم‌تهاجمی محسوب می‌شود و در هر دو شرایط آزمایشگاهی و میدانی قابل اجراست. با حجم اندکی از خون (حدود ۲۰۰ میکرولیتر)، می‌توان شاخص‌های اصلی همچون هماتوکریت (Ht)، غلظت هموگلوبین(Hb) ، تعداد گلبول‌های قرمز(RBC) ، حجم متوسط گلبولی(MCV) ، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) را محاسبه کرد. علاوه بر این، استفاده از اسمیرهای خونی رنگ‌آمیزی‌شده برای ارزیابی کمی جمعیت گلبول‌های قرمز و سفید نیز کاربرد دارد. به این ترتیب، می‌توان درصد گلبول‌های قرمز نابالغ (اریتروبلاست‌ها)، ناهنجاری‌های سلولی و هسته‌ای گلبول‌های قرمز، شمارش تفریقی گلبول‌های سفید و تعداد پلاکت‌ها را مشخص کرد (Arvan et al., 2024). این پارامترها برای ارزیابی فعالیت بافت خونساز، بررسی اثرات سایتوتوکسیک و ژنوتوکسیک و نیز تعیین وضعیت سیستم ایمنی سودمند هستند. تحلیل متغیرهای خون‌شناسی فرایندی است که برای دستیابی به نتایج قابل‌اعتماد، نیازمند کلینیکال پاتولوژیستی مجرّب و ماهر است؛ زیرا در اغلب موارد، اندازه‌گیری‌ها با روش‌های دستی انجام می‌پذیرد. در ماهی‌ها، تمامی سلول‌های خونی هسته‌دار هستند؛ ازاین‌رو، استفاده از آنالیزورهای خودکار استاندارد که در هماتولوژی پستانداران به کار می‌رود، امکان‌پذیر نیست. بااین‌حال، به کارگیری آنالیزورهای مدرن دامپزشکی که برای خون ماهی‌ها قابل تنظیم‌اند، می‌تواند این محدودیت را برطرف کند.(Fazio, 2019)

تأثیر عوامل سمی بر خون ماهی‌ها.

عوامل سمی نظیر یون‌های فلزی، آفت‌کش‌ها و سایر آلاینده‌های آبی ناشی از فعالیت‌های انسانی، همچنین داروهایی مانند ایمونومدولاتورها، درمان‌های ضد میکروبی و ضد انگلی یا بیهوش‌کننده‌ها، تغییرات هماتولوژیک قابل توجهی در ماهی‌ها ایجاد می‌کنند (Dias et al., 2023; Kanu et al., 2023; Rohani, 2023; Duman et al., 2023; Moradi et al., 2022; Cordeiro Bentes et al., 2022; Kubra, 2022). برای مشاهده این تغییرات ناشی از سموم، تعیین مقادیر مرجع اهمیت دارد. اما به علت ویژگی خونسردی ماهی‌ها و تأثیرپذیری شدید محیط داخلی آن‌ها از شرایط خارجی، مشخص کردن مقادیر مرجع هماتولوژیکی دقیق برای یک گونه خاص دشوار است؛ زیرا این مقادیر در محدوده‌های وسیعی نوسان می‌کنند (Manna et al., 2021; Michail et al., 2022; Casanovas et al., 2021).

در مطالعه‌ای، Witeskaو همکاران (۲۰۱۶) طی هشت سال از ۱۴۶ نمونه بالینی ماهی سالم کپورمعمولی که در پژوهش‌های مختلف به‌عنوان گروه کنترل استفاده شده بودند، داده‌هایی را جمع‌آوری کردند. نتایج نشان داد میزان تغییرپذیری پارامترهای هماتولوژیکی متفاوت است؛ برخی پارامترها پایدار بودند (مانند فراوانی لنفوسیت‌ها)، برخی دیگر تغییرپذیری متوسطی داشتند (همچون غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز) و شماری دیگر، مانند تعداد پلاکت‌ها، به شدت متغیر بودند. بر این اساس، برخی پارامترها قابلیت بالاتری برای استفاده به‌عنوان بیومارکر دارند.

Ahmedو همکاران (۲۰۲۰) نیز اشاره کرده‌اند که تغییرپذیری پارامترهای هماتولوژیکی در ماهی‌ها ناشی از تغییرات محیط داخلی بدن و نیز تغییر عوامل محیطی است. ازاین‌رو، تأکید می‌شود که مقادیر مرجع (نرمال) باید در هر آزمایش یا مطالعه میدانی، به‌صورت مستقل تعیین گردد. این مقادیر لازم است از گروه شاهدی که در معرض هیچ آلاینده‌ای قرار نگرفته‌اند و در آب تمیز نگهداری می‌شوند یا از مناطق غیرآلوده به‌طور هم‌زمان نمونه‌برداری شده‌اند، به دست آید.

ازآنجاکه تغییرات هماتولوژیکی در ماهیان مواجهه‌یافته با زنوبیوتیک‌ها، بسته به نوع ماده سمی، غلظت آن، مدت زمان مواجهه، شرایط محیطی و عوامل ذاتی مانند گونه، سن و اندازه ماهی متفاوت اس(Ahmed et al., Witeska et al., 2022) ، تفسیر این تغییرات بعضا دشوار است. واکنش‌های هماتولوژیکی مشاهده‌شده می‌تواند نشانگر پاسخ تطبیقی موجود زنده به سمیت، بروز آسیب

UNCORRECTED ROOF

یا ترکیبی از هر دو باشد. همچنین، حساسیت گونه‌های مختلف و مراحل گوناگون زندگی به عوامل سمی متفاوت است. در مجموع، اغلب عوامل سمی منجر به استرس عمومی و غیراختصاصی، پاسخ استرس اکسیداتیو، تأثیرات سایتوتوکسیک و واکنش‌های جبرانی می‌شوند. نتایج مطالعات محققان مختلف در زمینه تأثیر ترکیبات سمی موجود در بسترهای آبی متنوع بر متغیرهای خون‌شناسی آبزیان در جدول ۱ مورد بررسی قرار گرفته است.

جدول ۱. نتایج مطالعات مرتبط با تأثیر ترکیبات سمی موجود در بسترهای آبی متنوع بر متغیرهای خون‌شناسی آبزیان

ردیف	نام محقق و سال	گونه ماهی	کشور محل انجام مطالعه	یافته‌های کلیدی
۱	John (2007)	Mystus vittatus	هند	افزایش زمان لخته و کاهش سرعت رسوب گلبول‌های قرمز و هموگلوبین در مواجهه با آفت کش‌های متاسیستوکس و سوین
۲	Dias de Moraes et al., (2018)	Brycon amazonicus	برزیل	افزایش هماتوکریت و هموگلوبین پس از مواجهه با حشره‌کش سیپرمترین.
۳	Shiogiri et al., (2017)	Oreochromis niloticus	برزیل	افزایش هماتوکریت و هموگلوبین ناشی از مصرف آزیترومایسین.
۴	Javed et al., (2016)	Channa punctatus	پاکستان	کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت به دلیل مواجهه با پساب‌های صنعتی حاوی فلزات سنگین.
۵	Ramesh et al., (2009)	Cyprinus carpio	هند	کاهش هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز و افزایش تعداد گلبول‌های سفید در در مواجهه با آترازین (علف کش)
۶	Mahboub et al., (2021)	Oreochromis niloticus	مصر	افزایشتعداد گلبول‌های سفید و اختلال عملکرد ایمنی در تیلاپیای نیل در مواجهه با جیوه.
۷	Ligina et al., (2022)	Anabas testudineus	هند	کاهش هماتوکریت و افزایش میانگین حجم گلبولی در مواجهه با آکریلامید.
۸	Fredianelli et al., (2019)	Rhamdia quelen	برزیل	ترومبوسیتوپنی در مواجهه با فایپرونیل.
	Yonar et al., (2012)	Cyprinus carpio	ترکیه	کاهش هموگلوبین و حجم متوسط گلبولی در واجهه آفت‌کش‌ها.

UNCORRECTED PROOF

۹	Javed and Usmani (2014)	Channa punctatus (spotted snakehead)	هند	ایجاد کمخونی ماکروسیتیک-هایپوکرومیک و لکوسیتوز در مواجهه با فاضلاب نیروگاه حرارتی حاوی فلزات سنگین
۱۰	Ololade and Oginni (2010)	African catfish و Clarias gariepinus و fingerlings	نیجریه	کاهش تمام پارامترهای خونی با افزایش غلظت نیکل
ردیف	**نام محقق و سال**	**گونه ماهی**	**کشور محل انجام مطالعه**	**یافته‌های کلیدی**
۱۱	Shah and Altindag (2005)	Tinca tinca L.	ترکیه	تغییر پارامترهای خون شناسی پس از مواجهه با جیوه، کادمیوم و سرب
۱۲	Ramesh and Saravanan (2008)	Cyprinus carpio	هند	کاهش هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز و افزایش تعداد گلبول‌های سفید در در مواجهه با کلرپیریفوس
۱۳	Singh et al. (2008)	Channa punctatus	هند	کاهش هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز و افزایش تعداد گلبول‌های سفید در مواجهه با مس
۱۴	Ovie et al. (2009)	Clarias gariepinus	نیجریه	کاهش هموگلوبین، هماتوکریت در مواجهه با غلظت‌های پایین پرمنگنات پتاسیم
۱۵	Al-Ghanim (2012)	Parachanna africana	عربستان سعودی	کاهش هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول-های قرمز، میانگین حجم گلبولی و میانگین وزنی هموگلوبین گلبولی در مواجهه با کادمیوم و مالاتیون
۱۶	Siakpere and Ikomi (2011)	Oreochromis niloticus	نیجریه	کاهش هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول-های قرمز، میانگین حجم گلبولی و میانگین وزنی هموگلوبین گلبولی، کاهش لکوسیت ها و افزایش میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی در مواجهه با کادمیوم
۱۷	Shaheen and Akhtar (2012)	Cyprinus carpio	ترکیه	کاهش هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول-های قرمز، میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی و میانگین وزنی هموگلوبین گلبولی و افزایش لکوسیت ها، میانگین حجم گلبولی و سرعت رسوب گلبول‌های قرمز در مواجهه با کروم

CORRECTED PROOF

۱۸	Hanan et al. (2013)	Clarias gariepinus	مصر	تأثیر آلودگی آب با فلزات سنگین در کانال زهکشی الراحاوی بر پارامترهای خون‌شناسی و اندام‌های ماهیان آب شیرین
۱۹	Talukdar et al. (2017)	Channa punctata	هند	پساب اسیدی معادن باعث کاهش هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز و افزایش تعداد لکوسیت‌ها و تعداد تفریقی انواع گلبول‌های سفید می شود

UNCORRECTED PROOF

۱-۱-تغییرات پارامترهای گلبول قرمز ناشی از مواد شیمیایی

پارامترهای مرتبط با گلبول قرمز شامل هماتوکریت(Ht) ، غلظت هموگلوبین(Hb) ، تعداد گلبول‌های قرمز(RBC) ، حجم متوسط گلبولی(MCV) ، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) هستند. تجزیه و تحلیل میکروسکوپی گسترش های خونی، اطلاعات بیشتری را درباره سیستم گلبول قرمز فراهم می‌کند: درصد گلبول‌های قرمز نابالغ (اریتروبلاست‌ها) به‌عنوان شاخصی از فعالیت بافت خونساز و درصد ناهنجاری‌های متنوع گلبول‌های قرمز ـ شامل تغییرات سلولی و هسته‌ای ـ به‌منزله نشانگرهای سایتوتوکسیک و ژنوتوکسیک مد نظر قرار می‌گیرد.

تغییرات ناشی از سمیت می‌تواند متفاوت باشد و ممکن است افزایش یا کاهش در مقادیر همه یا برخی از پارامترهای گلبول قرمز مشاهده شود که بیانگر تغییر در ظرفیت انتقال اکسیژن است. برای نمونه، افزایش هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز یا MCV ممکن است در واکنش به استرس عمومی ناشی از عامل سمی، به‌عنوان یک مکانیسم جبرانی جهت تسهیل انتقال اکسیژن رخ دهد. چنین شرایطی زمانی بروز می‌کند که عامل سمی با تأثیر بر اپیتلیوم آبشش موجب اختلال در تبادل گاز شده، یا متابولیسم ماهی را (به‌ویژه از طریق افزایش مسیرهای سم‌زدایی) فعال می‌کند. این واکنش‌ها با تغییرات فیزیولوژیک و تلاش‌های جبرانی ماهی برای مقابله با تأثیرات عوامل سمی در ارتباط‌اند و می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های کارآمد در ارزیابی مطالعات سم‌شناسی ماهی‌ها مورد استفاده قرار گیرند

تأثیر عوامل شیمیایی بر پارامترهای گلبول قرمز در ماهی‌ها

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که عوامل سمی گوناگون می‌توانند در پارامترهای مرتبط با گلبول‌های قرمز ماهی تغییرات چشم‌گیری ایجاد کنند. تغییر در متغیرهایی همچون هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز، حجم متوسط گلبولی، هموگلوبین متوسط گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی می‌تواند نشانگر واکنش‌های تطبیقی یا بروز آسیب‌شناسی باشد.

Carvalho و Fernandes (۲۰۰۶) گزارش کردند که مس باعث افزایش هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در گونه *پروچیلودوس اسکروفا* [1] شده است. آنان این تغییرات را به اختلال‌های تنظیم یونی یا تنفسی نسبت دادند که سبب افزایش مصرف انرژی به منظور جبران عملکرد مختل‌شده شد.

[1] *Prochilodus scrofa*

همچنین، Dias de Moraes و همکاران(۲۰۱۸) افزایش هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در را در ماهی *بریکون آمازونیکوس* [۲] پس از مواجهه با حشره‌کش پایروتروئیدی سیپرمترین گزارش کردند و این افزایش را پاسخی تطبیقی به هیپوکسی ایجادشده بر اثر تغییرات مورفولوژیک آبشش قلمداد کردند. علاوه بر این، گزارش‌ها حاکی از آن است که آزیترومایسین نیز باعث افزایش وابسته به دوز در هماتوکریت و هموگلوبین تیلاپیای نیل شده است .(Shiogiri et al., 2017) در ماهی سوف حاجی طرخان [۳] ، افزایش هماتوکریت و حجم متوسط گلبولی پس از بیهوشی با اتومیدات گزارش شده است. همچنین، Guimaraes و همکاران (۲۰۱۴) افزایش وابسته به غلظت هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز را در تیلاپیای نیل تغذیه‌شده با رژیم‌های حاوی ویتامین A ثبت کردند.

در مواردی که عامل سمی موجب آسیب به گلبول‌های قرمز در گردش خون، همولیز مستقیم یا کاهش طول عمر گلبول‌ها می‌شود یا فعالیت بافت خونساز را مختل می‌سازد، کاهش در پارامترهای گلبول قرمز مشاهده می‌شود.Ligina و همکاران (۲۰۲۲) کاهش هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در کنار افزایش حجم متوسط گلبولی را در *آناباس تستودینئوس* [۴] تحت تیمار آکریلامید گزارش کردند. همچنین، Yonar و همکاران (۲۰۱۲) کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی، هموگلوبین متوسط گلبول ، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی را در کپور معمولی در معرض حشره‌کش ارگانوفسفره کلرپیریفوس مشاهده کردند و این تغییرات را ناشی از اختلال در اریتروپوئتیک، تغییر در تعادل اسمزی یا تسریع فرایند اریپتوزیس دانستند. در این راستا، Jayaprakash و Shettu(۲۰۱۳) نیز کاهش قابل توجهی در هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز، حجم متوسط گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی در ماهی سر ماری خال دار [۵] مواجه‌شده با دلتامترین گزارش کردند و این پاسخ آنمیک را به اختلال در جذب آهن یا مهار آنزیم‌های دخیل در سنتز هموگلوبین نسبت دادند.

Haidarو Rauf (2014) کاهش قابل‌توجه هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز، حجم متوسط گلبولی و هموگلوبین متوسط گلبولی را در کپور هندی مریگال [6] پس از مواجهه مزمن با دیازینون گزارش کردند و این تغییرات را به سرکوب بافت خونساز در این ماهی نسبت دادند. همچنین، Javed و همکاران (۲۰۱۶) بروز آنمی ماکروسیتیک هایپوکرومیک همراه با کاهش قابل‌ملاحظه هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی و نیز افزایش حجم متوسط گلبولی و هموگلوبین متوسط گلبولی را در ماهی سرماری خال‌دار مواجه‌شده با پساب‌های صنعتی حاوی مخلوط یون‌های فلزی (کبالت، کروم، مس، آهن، منگنز، نیکل و روی) مشاهده کردند و این آنمی را ناشی از مهار خونسازی دانستند. افزون بر این، Ko و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای بر کفشک ستاره ای [۷] مسموم‌شده با کروم شش‌ظرفیتی، کاهش وابسته به غلظت در هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز را گزارش کرده و آن را به اختلالات اسمزی، هموفیلیا یا اثرات مستقیم کروم بر سلول‌های بنیادی بافت خونساز نسبت دادند.

بر اساس مطالعات Bishkoul و همکاران (۲۰۱۵)، استفاده از داروی بیهوشی MS-222 در ماهی استرلیاد [۸] باعث کاهش هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز شد. Dawood و همکاران (۲۰۲۰) نیز بیان کردند که دلتامترین باعث کاهش هموگلوبین و

---

[2] *Brycon amazonicus*
[3] *Perca fluviatilis*
[4] *Anabas testudineu*
[5] *Channa punctatus*
[6] *Cirrhinus mrigala*
[7] *Platichthys stellatus*
[8] *Acipenser ruthenus*

UNCORRECTED PROOF

تعداد گلبول‌های قرمز در ماهی تیلاپیای نیل[9] گردیده است. در همین راستا، Omoregie و Oyebani (۲۰۰۲) گزارش کردند که اکسی‌تتراسایکلین نیز هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز را در همان گونه کاهش داده است.

بررسی میکروسکوپی جمعیت گلبول قرمز یکی از ابزارهای سودمند برای ارزیابی تأثیر عوامل سمی بر ماهی‌ها به‌شمار می‌رود. در اسمیرهای خون رنگ‌آمیزی‌شده با پاپنهایم (مای گرونوالد-گیمسا)(Akhlaghi & Ahmadi-Hamedani, 2019) ، گلبول‌های قرمز به‌صورت سلول‌هایی بیضی‌شکل، منظم، با سیتوپلاسم اسیدوفیلیک و هسته مرکزی قابل مشاهده‌اند. هرگونه تغییر در شکل سلول یا هسته و ویژگی‌های رنگ‌آمیزی می‌تواند به‌عنوان ناهنجاری تفسیر شود.

بنا برگزارش Pala و Dey (۲۰۱۶) در ماهی *Channa gachua* که در معرض فاضلاب شهری قرار داشت، گلبول‌های قرمز غیرطبیعی متعددی مشاهده شد؛ این گلبول‌های غیرطبیعی شامل سلول‌های چروکیده، ترک‌خورده، اکینوسیت‌ها، اسفروسیت‌ها، برآمدگی‌های شبه پای کاذب و فرورفتگی‌های غشایی بودند. Kaur و Kaur در سال ۲۰۱۵ نیز ناهنجاری‌های متعدد هسته‌ای و سلولی را با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی در ماهی کپور هندی روهو[10] که تحت مواجهه حاد و نیمه‌مزمن با رنگ ویولت-۱ قرار داشت، شناسایی کردند. قابل توجه است که این ناهنجاری‌ها پیش از بروز سایر علائم سمیت، ازجمله تغییرات رفتاری یا مرگ ومیر، ظاهر شدند و نشان‌دهنده اهمیت آنالیز هماتولوژیک و مورفولوژی سلول‌های خونی در شناسایی و بررسی اثرات سموم بر سلامت ماهی‌ها هستند.

در ماهی سرماری خال‌دار مواجه شده با پساب نیروگاه حرارتی حاوی مخلوطی از فلزات سنگین، فراوانی بالای میکرونوکلئی و هسته‌های لوب‌دار گزارش شد (Javed et al., 2016). همچنین، طبق اظهارات Farag و Alagawany (۲۰۱۸)، گلبول‌های قرمز هسته‌دار ماهی می‌توانند برای ارزیابی ژنوتوکسیک زنوبیوتیک‌ها با استفاده از روش‌هایی مانند تست کامت، تجزیه DNA یا تست میکرونوکلئوس به کار روند. علاوه بر این، این سلول‌ها در بررسی آپوپتوز ناشی از سمیت، استرس اکسیداتیو و سایر شاخص‌های آسیب سلولی نیز سودمند هستند.

۱-۲-تغییرات پارامترهای گلبول سفید ناشی از مواد شیمیایی

شمارش گلبول‌های سفید[11] و لکوسیت‌گرام(به آن شمارش تفریقی لکوسیت‌ها[12] نیز گفته می‌شود که شامل درصد انواع مختلف لکوسیت‌ها است) از رایج‌ترین شاخص‌های مورد استفاده برای ارزیابی وضعیت سیستم ایمنی ماهی‌ها هستند. عوامل سمی اغلب بر تعداد گلبول‌های سفید تأثیر می‌گذارند و مشابه پارامترهای گلبول قرمز، ممکن است افزایش یا کاهش در تعداد آن‌ها مشاهده شود. افزایش گلبول های سفید (لکوسیتوز) معمولاً به‌عنوان فعال شدن پاسخ ایمنی به دلیل آسیب بافتی ناشی از عامل سمی تفسیر می‌شود. در این حالت، اغلب افزایش نوتروفیل‌ها (نوتروفیلیا) یا مونوسیت‌ها (مونوسیتوز) مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده یک پاسخ التهابی است. در مقابل، کاهش گلبول های سفید (لکوپنی) به پاسخ استرس عمومی ناشی از سمیت نسبت داده می‌شود، که منجر به لنفوپنی (کاهش لنفوسیت‌ها) و افزایش نسبت نوتروفیل به لنفوسیت می‌شود، یا به دلیل اثرات سمی خاصی است که بر گلبول‌های سفید در گردش یا لکوسیت‌زایی تأثیر می‌گذارد و در نهایت باعث سرکوب سیستم ایمنی می‌شود. لکوسیتوز (افزایش تعداد تمام

[9] *Oreochromis niloticus*
[10] *Labeo rohita*
[11] White Blood Cell
[12] LDC: leukocyte differential count

UNCORRECTED PROOF

انواع لکوسیت ها) در موارد ذیل گزارش شده اند. Ligina و همکاران در سال ۲۰۲۲، افزایش تعداد انواع مختلف گلبول‌های سفید را در *آناباس تستودینئوس* در زمان مسمومیت با آکریلامید گزارش کردند.

Zahran و همکاران (۲۰۱۸) در تیلاپیای نیل که در معرض حشره‌کش کلرپیریفوس قرار داشت، لکوسیتوز گزارش کردند. آن‌ها افزایش تعداد نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها را مشاهده کردند که افزایش نوتروفیل‌ها برجسته‌تر بود. این تغییرات به‌عنوان واکنش جبرانی برای مقابله با اختلالات احتمالی عملکرد ایمنی تفسیر شد. Bujjamma و Padmavathi (۲۰۱۸) افزایش وابسته به غلظت گلبول های سفید را در *Heteropneustes fossilis* در معرض کادمیوم گزارش کردند و این تغییر را ناشی از ایمنی‌مدولاسیون به دلیل آسیب بافتی ناشی از کادمیوم دانستند Javed و همکاران (۲۰۱۶) افزایش تعداد گلبول های سفید را در ماهی سرماری خال دار که در معرض پساب نیروگاه حاوی مخلوط یون‌های فلزی قرار داشت، مشاهده کردند. این افزایش را به شدت آسیب و استرس ناشی از فلزات سنگین نسبت دادند که احتمالاً باعث تحریک سیستم دفاع ایمنی شده بود Shiogiri .و همکاران (۲۰۱۷) لکوسیتوز ناشی از آزیترومایسین را در تیلاپیای نیل گزارش کردند Mahboub و همکاران(۲۰۲۱) افزایشWBC ، لنفوپنی و نوتروفیلیا همراه با اختلال عملکرد ایمنی را در تیلاپیای نیلدر معرض جیوه (Hg) مشاهده کردند Oluah .و همکاران (۲۰۲۰) لکوسیتوز، لنفوسیتوز، نوتروپنی و مونوسیتوپنی را در *گربه ماهی تیزدندان افریقایی* [13] که در معرض علف‌کش رونستار قرار داشت، گزارش کردند. این مشاهدات نشان می‌دهد که تغییرات پارامترهای گلبول سفید می‌توانند ابزار مهمی برای درک مکانیسم‌های پاسخ ایمنی ماهی‌ها به عوامل سمی باشند. پاسخ‌های متفاوت لکوسیتی اغلب به ماهیت و شدت آسیب وارد شده به سیستم ایمنی مرتبط هستند.کاهش تعداد گلبول‌های سفید (لکوپنی) در ماهی لوتی قهوه ای [14] که در معرض آمونیاک قرار داشت، گزارش شد(Won et al,2016). طبق نظر محققین، این کاهش ناشی از استرس بود. Tavares-Dias و همکاران (۲۰۱۱) کاهش گلبول های سفید (هم لنفوسیت و هم نوتروفیل) را در ماهی پاکوی سیاه [15] که در معرض مس قرار داشت، مشاهده کردند. در تیلاپیای نیلکه در معرض نونیل‌فنول قرار داشت، لکوپنی همراه با لنفوپنی و مونوسیتوپنی گزارش شد، که نشان‌دهنده سرکوب سیستم ایمنی بود (Ismail and Mahboub,2016). لنفوپنی و گرانولوسیتوز در ماهی سفید اروپایی [16] که در معرض بیهوش‌کننده پروپوفول قرار داشت، مشاهده شد و نشان‌دهنده استرس بود (omułka et al.,2014). همچنین Omoregie و Oyebani در سال ۲۰۰۲، لکوپنی در درمان با اکسی‌تتراسایکلین را گزارش کردند Maklakovaو همکاران(۲۰۱۱) مونوسیتوز و نوتروپنی را در قزل آلای رنگین کمان [17] که تحت درمان با بنزیل‌پنی‌سیلین یا اکسی‌تتراسایکلین قرار داشت، مشاهده کردند.

۱-۳- تغییرات تعداد ترومبوسیت ها ناشی از مواد شیمیایی

تعداد ترومبوسیت‌ها (TC) که شاخصی برای تخمین انعقاد خون و همچنین نشانگری برای عملکردهای ایمنی غیراختصاصی است، به ندرت اندازه‌گیری می‌شود. معمولاً این تعداد به صورت غیرمستقیم و با شمارش ترومبوسیت‌ها در اسمیر خون و سپس تخمین از طریق نسبت آن‌ها به تعداد گلبول های سفید یا گلبول های قرمز به دست می‌آید. تعداد ترومبوسیت‌ها در ماهی بسیار متغیر است (Witeska et al.,2016). این سلول‌ها گاهی در جمعیت لکوسیت‌ها گنجانده می‌شوند زیرا هم در انعقاد خون و هم در مکانیسم‌های دفاعی نقش دارند(Tavares-Dias and Oliveira, 2009; Stosik et al.,2019). ترومبوسیت‌ها علاوه بر نقش اصلی خود در انعقاد خون،

[13] *Clarias gariepinus*
[14] *Sebastes schlegelii*
[15] *Colossoma macropomum*
[16] *Coregonus lavaretus*
[17] *Oncorhynchus mykiss*

UNCORRECTED PROOF

به‌عنوان بخشی از سیستم دفاعی غیراختصاصی نیز در برابر آسیب‌ها و عوامل سمی نقش مهمی ایفا می‌کنند. بنابراین، تحلیل تغییرات آن‌ها می‌تواند ابزار مفیدی برای ارزیابی اثرات مواد شیمیایی بر سیستم ایمنی و هموستاز ماهی‌ها باشد. تعداد ترومبوسیت‌ها ممکن است در اثر مسمومیت تغییرات مختلفی را نشان دهد، اما به دلیل تنوع گونه ای بالای این پارامتر، نتایج اغلب غیرقطعی است.

Witeskaو Kosciuk (۲۰۰۳) ترومبوسیتوز ناشی از استرس را در کپور معمولی که به طور حاد در معرض روی قرار گرفته بود، گزارش کردند. Lemly در سال ۲۰۰۲ ترومبوسیتوز را در خورشید ماهی سبز [۱۸]که در دریاچه بلووس [۱۹] آلوده به سلنیوم زندگی می‌کرد، مشاهده کرد. همچنین Corredor-Santamaria و همکاران (۲۰۱۶) ترومبوسیتوز را در تترای دو خال [۲۰]و ماهی آکار زرد [۲۱]که در رودخانه‌ای آلوده به فاضلاب‌های صنعتی و خانگی زیست می‌کردند، گزارش کردند. این تغییرات به طور عمده به افزایش فعالیت‌های دفاعی بدن در واکنش به آلودگی نسبت داده شده است. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که ترومبوسیت‌ها می‌توانند به عنوان شاخصی مهم برای ارزیابی اثرات آلودگی زیست محیطی بر سلامت ماهیان مورد استفاده گیرد.

Fredianelli و همکاران (۲۰۱۹)ترومبوسیتوپنی را در گربه ماهی امریکای جنوبی که به‌طور تحت کشنده در معرض سموم دفع آفات فایپرونیل قرار گرفته بود، گزارش کردند. این کاهش را به ترشح کورتیزول ناشی از استرس و تأثیر آن بر کاهش کمیت و کیفیت ترومبوسیت‌ها نسبت دادند. Khan و همکاران (۲۰۱۶) واکنش‌های متفاوتی از ترومبوسیت‌ها به علف‌کش‌های گلیفوسات و آترازین گزارش کردند؛ گلیفوسات باعث افزایش تعداد ترومبوسیت‌ها شد، در حالی که آترازین کاهش تعداد آن‌ها را به همراه داشت. ترومبوسیتوپنی همچنین توسط Omoregie و Oyebani (۲۰۰۲) در تیلاپیای نیل پس از درمان با اکسی‌تتراسایکلین مشاهده شد . تفسیر تابلوی خونی یکی از ابزارهای رایج برای ارزیابی سلامت و رفاه ماهی‌ها در شرایط پرورش و مطالعات علمی برای بررسی تأثیر عوامل محیطی بر ماهی‌ها است. مطالعه‌ای که توسط Bojarski و همکاران(۲۰۲۲) انجام شد، نشان داد که شاخص‌های هماتولوژیکی حساس‌ترین و قابل‌اعتمادترین بیومارکرهای مواجهه کپور معمولی با علف‌کش رانداپ هستند. تغییرات کمتری در مقایسه با پارامترهای هماتولوژیکی در شاخص‌های بیوشیمیایی خون مشاهده شد، در حالی که میکروساختار اندام‌های بررسی‌شده (آبشش، کبد و کلیه تنه) بدون تغییر باقی ماند. نویسندگان نتیجه گرفتند که تحلیل هماتولوژیکی ابزاری پایه و ضروری برای ارزیابی اثرات مواجهه با رانداپ) در مورد کپور معمولی است.

مزایا و معایب تحلیل هماتولوژیکی:

پارامترهای خون شناسی بدون شک شاخص‌های حساس و اولیه تغییرات فیزیولوژیکی هستند و اطلاعات ارزشمند و گسترده‌ای در مورد تأثیر مواد شیمیایی مختلف بر ماهی‌ها ارائه می‌دهند. این شاخص‌ها ظرفیت انتقال اکسیژن، وضعیت ایمنی، پاسخ استرس، سایتوتوکسیک و ژنوتوکسیک را نشان می‌دهند. نمونه‌گیری خون نسبتاً غیرتهاجمی و حتی در شرایط میدانی آسان است. ارزیابی پارامترهای پایه هماتولوژیک هزینه پایینی دارد و نیاز به تجهیزات آزمایشگاهی پیچیده ندارد، اما برای دستیابی به نتایج قابل‌اعتماد، باید توسط افراد ماهر و مجرب انجام و تفسیر شود. با این حال، تغییرات مشاهده شده معمولاً غیراختصاصی هستند و در موارد مواجهه با آلاینده‌های ناشناخته، کمک چندانی به شناسایی علت مسمومیت نمی‌کنند. برای ارزیابی هماتوتوکسیک بودن یک ترکیب خاص یا یک محیط آلوده، لازم است نتایج با مقادیر به‌دست‌آمده در همان زمان و همان گونه ماهی تحت شرایط کنترل‌شده مقایسه شود،

[18] *Lepomis cyanellus*
[19] Belews Lake
[20] *Astyanax bimaculatus*
[21] *Aequidens metae*

UNCORRECTED PROOF

زیرا مقادیر مرجع هماتولوژیکی برای اکثر ماهی‌ها به طور قطعی وجود ندارد.با توجه به مزایای تفسیر تابلوی خونی، این روش برای ارزیابی سمیت در ماهی‌ها توصیه می‌شود.

۲- تفسیر خون شناسی در سم‌شناسی ماهی‌ها

همان‌طور که نشان داده شد، تحلیل پارامترهای خونی به طور گسترده در تحقیقات علمی استفاده می‌شود. برای بهره‌برداری بهتر از مواد زیستی و دستیابی به دانش گسترده‌تر درباره مکانیزم‌های تغییرات هماتولوژیکی مشاهده‌شده، گسترش آزمایش‌های هماتولوژیکی استاندارد با سایر تکنیک‌های آزمایشگاهی در هر آزمایش علمی مرتبط با ماهی‌ها مورد توجه است. یکی از روش‌های مناسب برای تکمیل پارامترهای هماتولوژیکی معمول، ارزیابی فعالیت بافت هماتوپوئتیک است. بهترین اطلاعات موجود نشان می‌دهد که تعداد کمی از مطالعات در این زمینه منتشر شده‌اند. این کمبود ممکن است به این دلیل باشد که تحلیل خونسازی پیچیده‌تر و پرزحمت‌تر از اندازه‌گیری متغیرهای خونی پایه است، نمی‌توان آن را در ماهی‌های زنده انجام داد و معمولاً هزینه‌های بیشتری در مقایسه با تحلیل هماتولوژیکی استاندارد دارد (زیرا رنگ‌آمیزی‌های ایمونوسیتوشیمیایی که در این تحلیل استفاده می‌شوند نسبتاً گران هستند).

بافت خون ساز در ماهی‌ها

در بیشتر ماهی‌های استخوانی(Teleostei) ، کلیه قدامی (پرونفروس) اصلی‌ترین بافت خون ساز و مخزن سلول‌های خونی است این اندام از بافت‌های خون‌ساز، ایمنی و درون‌ریز تشکیل شده که در تولید سلول‌های خونی، آنتی‌بادی‌ها، کورتیزول و کاتکولآمین‌ها نقش دارند. مطالعات موجود نشان می‌دهد که ساختارها و مکانیزم‌های پایه‌ای هماتوپوئتیکی و تمامی سلول‌های پیش‌ساز خونی در ماهی‌ها بسیار شبیه به سایر مهره‌داران است(Kondera et al.,2019) .هیستولوژی و ساختار فوق‌العاده بافت‌های خون ساز درکلیه قدامی ماهی به‌خوبی توصیف شده است (Bjørgen and Koppang, 2022). در اسمیرهای بافت هماتوپوئتیکی رنگ‌آمیزی‌شده با پاپنهایم، سلول‌های پیش‌ساز خونی به‌راحتی بر اساس مورفولوژی آن‌ها شناسایی می‌شوند: اندازه، شکل، ویژگی‌های رنگ‌آمیزی، نوع گرانول‌های سیتوپلاسمی و اندازه، شکل و موقعیت هسته (آرون و همکاران،۱۴۰۳). پس از شناسایی سلول‌ها (که معمولاً حدود ۲۰ نوع سلول قابل شناسایی هستند)، می‌توان آن‌ها را به گروه‌های اصلی رده‌های سلولی تقسیم کرد. این رده‌ها شامل بلاست‌های اولیه، سلول‌های اریتروئیدی، گرانولوسیتی (نوتروفیلی، بازوفیلی و ائوزینوفیلی)، لنفوسیتی، مونوسیتی و ترومبوسیتی هستند که هر کدام شامل مراحل مختلف رشد و تکامل می‌باشند(Kondera, 2011; Kondera,2014). ارزیابی کمی ترکیب سلولی بافت خونساز شامل محاسبه درصد هر نوع سلول پیش‌ساز و بالغ در کل سلول‌های خونی بررسی‌شده است.

تغییرات ترکیب سلولی بافت خونساز

داده‌های موجود درباره ترکیب سلولی اندام‌های خونساز در ماهی‌های استخوانی محدود و ناقص است. مقایسه داده‌هایی که توسط نویسندگان مختلف با استفاده از معیارهای یکسان شناسایی سلول به دست آمده است، نشان می‌دهد که ترکیب سلولی بافت خونساز راس کلیه در گونه‌های مختلف ماهی مشابه است، اما تفاوت‌های کمی مشاهده شده است. ترکیب بافت خونساز ماهی بسیار متغیرتر از خون محیطی است و به عوامل مختلفی مانند سن، جنس، چرخه تولیدمثل، تغذیه، عوامل بیماری‌زا، دمای آب و سایر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب، آلودگی‌های آبی و استرس‌های دیگر بستگی دارد. این تغییرات نشان می‌دهد که ترکیب بافت هماتوپوئتیک و فراوانی رده های سلولی مختلف حتی در گونه یکسان ماهی نیز متفاوت است و بازتابی از سازگاری ارگانیسم‌ها با شرایط متغیر محیطی است. این ویژگی، یک مزیت است که امکان مقایسه بین‌گونه‌ای و استفاده از سیستم خونساز به‌عنوان شاخصی از تأثیرات محیطی را فراهم می‌کند. از سوی دیگر، تفاوت‌هایی ممکن است حتی در گونه یکسان رخ دهد اگر روش‌شناسی‌ها و نام‌گذاری سلول‌ها

UNCORRECTED ROOF

متفاوت باشد. این تناقضات نیاز به استانداردسازی نام‌گذاری و معیارهای شناسایی سلول‌ها در مطالعات مربوط به اندام‌های خونساز را نشان می‌دهد(Kondera, 2014).

فعالیت بافت خونساز کلیه قدامی ماهی‌ها

بدون شک، بافت خونساز کلیه قدامی ماهی بسیار فعال است. فعالیت خونسازی این بافت به نرخ تکثیر سلول‌های بنیادی خونساز چندقوه ای و پیش‌سازهای اولیه تمام رده های سلول های خونی، تمایز و بلوغ آن‌ها، و همچنین نرخ آپوپتوز سلول‌های خونساز بستگی دارد. این فرآیندها عوامل کلیدی تعیین‌کننده کارایی خونسازی هستند.

تعادل تکثیر و آپوپتوز در بافت خونساز:

نوسازی سلول‌های بنیادی خون ساز و تکثیر سلول‌های پیش رس توسط آپوپتوز در سلول‌های غیرفعال یا کاملاً تمایزیافته متعادل می‌شود (McKenna and Cotter,1997). سلول‌های در حال تکثیر پروتئین آنتی‌ژن هسته‌ای تکثیری (PCNA) را بیان می‌کنند، که تنها در سلول‌هایی که در حال تقسیم میتوزی هستند حضور دارد. نشانگر پروتئینی سلول‌های آپوپتوزی کاسپاز ۳ است(آنزیمی که در تجزیه پروتئین‌های هسته‌ای و سیتوپلاسمی در طول فرآیند آپوپتوز مشارکت دارد و به‌عنوان کاسپاز مؤثر شناخته می‌شود) (Migliarini et al.,2005). فعالیت تکثیری و آپوپتوزی در کلیه قدامی ماهی می‌تواند با استفاده از رنگ‌آمیزی ایمونوسیتوشیمی برای مشاهده سلول‌های مثبت به PCNA (نشانگر فعالیت تکثیری) و سلول‌های مثبت به کاسپاز ۳ (نشانگر فعالیت آپوپتوزی) ارزیابی شود. ارزیابی‌های مربوط به تکثیر سلول‌های پیش رس و نرخ آپوپتوز در مطالعات خون شناسی برای بررسی نرخ جایگزینی سلولی و فعالیت خون سازی به کار می‌روند (Thiele et al.,1997). فعالیت خون سازی می‌تواند به‌صورت نسبت سلول‌های در حال تکثیر به سلول‌های آپوپتوزی محاسبه شود.

کاربرد آنتی‌بادی‌های پستانداران در تحلیل‌های ماهی‌ها:

آزمایش‌ها نشان داده‌اند که PCNA و کاسپاز ۳ ماهی‌ها با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال پستانداران (موش یا خرگوش) واکنش می‌دهند و این آنتی‌بادی‌ها برای ارزیابی تکثیر و آپوپتوز سلول‌ها در تیلاپیای نیل(Monteiro et al.,2009) ، راس زینتی[22] (Brunelli et al.,2011)، و سالمون[23] (Yousaf et al.,2012) با موفقیت استفاده شده‌اند.

تأثیر مواد سمی بر بافت خون ساز کلیه قدامی

داده‌های جمع‌آوری‌شده نشان می‌دهند که مواد سمی نرخ تخریب آپوپتوزی سلول‌های پیش‌ساز بافت خونساز را افزایش می‌دهند. از سوی دیگر، سیستم بافت خونساز ماهی‌ها پتانسیل همئوستازی بالایی دارد و تمایل به جبران از دست‌دادن سلول‌ها از طریق فعال‌سازی تقسیمات میتوزی دارد.Som و همکاران در سال۲۰۰۹ نرخ آپوپتوز سلول‌های پیش‌ساز بافت خونساز را در کپور هندی روهو که در معرض مس قرار داشت، گزارش کردند. نرخ تکثیر در شرایط تحت کشنده افزایش یافت، اما در مواجهه با غلظت‌های کشنده کاهش یافت. مواجهه با کادمیوم باعث کاهش قابل‌توجه پتانسیل خونسازی کلیه قدامی شد؛ نرخ تکثیر تغییری نکرد اما نرخ آپوپتوز به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت(Kondera et al.,2012). Berntssen و همکاران در ۲۰۰۱ وGarcia-Santos و همکاران

[22] *Thalassoma pavo*
[23] *Salmo salar*

UNCORRECTED PROOF

(۲۰۱۱) افزایش نرخ تکثیر سلولی را در سالمون و ماهی شانک سر طلایی [۲۴]که در معرض کادمیوم قرار گرفته بودند، گزارش کردند. آن‌ها این واکنش را به‌عنوان مکانیزمی محافظتی برای کاهش اثرات نامطلوب فلزات بر بافت ماهی‌ها تفسیر کردند. Kondera و همکاران(۲۰۱۸) افزایش قابل‌توجه نرخ تکثیر سلولی را در کپور معمولی که در معرض علف‌کش با غلظت‌های ۰/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر قرار داشت، مشاهده کردند.

اهمیت تحلیل بافت خون ساز در مطالعات سم‌شناسی ماهی:

مطالعات بافت خونساز به ندرت در ارزیابی اثرات فیزیولوژیکی عوامل سمی در ماهی‌ها لحاظ می‌شود، در حالی که این دانش می‌تواند در تفسیر تغییرات خون محیطی و سیستم ایمنی ماهی‌ها مفید باشد. ترکیب تحلیل استاندارد خون شناسی با تحلیل ترکیب سلولی بافت خونساز اطلاعات کامل‌تری درباره تغییرات در ارگانیسم ماهی‌ها فراهم می‌کند. تغییرات پارامترهای خون محیطی اغلب غیرخطی هستند که ممکن است تأثیر عوامل خاصی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف را نشان دهد. تحلیل بافت خونساز می‌تواند مشخص کند که آیا تغییرات خون شناسی مشاهده‌شده در ماهی ناشی از تأثیر مستقیم عوامل محیطی (مانند مواد سمی موجود در محیط آبی) بر سلول‌های خونی در گردش است یا از اختلال در فرآیندهای خونسازی (اثر غیرمستقیم) ناشی می‌شود

تأثیر مواجهه طولانی‌مدت با سموم بر فعالیت خونسازی و پارامترهای خون محیطی

Kondera و Witeska در سال ۲۰۱۲ اشاره کردند که فراوانی بالای گلبول‌های قرمز غیرطبیعی در خون محیطی کپور معمولی پس از مواجهه طولانی‌مدت با غلظت ۰.۶۵ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم با افزایش اریترپوئز همراه بود، در حالی که اثر کم‌تر کادمیوم پس از مواجهه کوتاه‌مدت (۶.۵ میلی‌گرم در لیتر) باعث فعال‌سازی اریترپوئز نشد. تمام ماهی‌هایی که در معرض کادمیوم قرار داشتند، کاهش فراوانی لنفوسیت‌ها در بافت کلیه قدامی و کاهش قابل‌توجهی در فعالیت متابولیکی فاگوسیت‌های خون را نشان دادند. محققین این تغییرات را به‌عنوان جبرانی برای از دست دادن گلبول‌های قرمز به دلیل سمیت سلولی ناشی از فلز و با فعال‌سازی اریترپوئز تفسیر کردند.کاهش پتانسیل خونسازی و تغییر به سمت اریترپوئز در ماهی‌هایی که در معرض کادمیوم طولانی‌مدت قرار داشتند، احتمالاً باعث کاهش تأمین فاگوسیت‌ها (نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها) به خون شد. با این حال، کاهش فعالیت فاگوسیت‌ها در ماهی‌هایی که در معرض کادمیوم کوتاه‌مدت قرار داشتند نیز مشاهده شد، حتی زمانی که افزایش تعداد گلبول های سفید و عدم تغییر در سطح فاگوسیت‌های خون مشاهده شد. این یافته نشان می‌دهد که کادمیوم نه تنها بر تعداد بلکه بر عملکرد فاگوسیت‌ها نیز تأثیر می‌گذارد. کاهش غلظت هموگلوبین در خون محیطی کپور معمولی پس از مواجهه با غلظت‌های ۰/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر سموم علف کش، نشان‌دهنده واکنش آنمیک بود که با کاهش تعداد گلبول های قرمزیا افزایش آسیب گلبول‌های قرمز و همولیز همراه نبود. افزایش فعالیت خونسازی همراه با فراوانی بیشتر اریتروبلاست‌های کلیه قدامی در ماهی‌های در معرض علف کس در مقایسه با ماهی‌های کنترل، ممکن است نشان‌دهنده اریترپوئز تسریع‌شده باشد که احتمالاً به دلیل کوتاه شدن طول عمر گلبول‌های قرمز رخ داده است (Kondera et al.,2018). ترکیب سلولی و فعالیت بافت خونساز ماهی‌ها می‌تواند به‌عنوان بیومارکر مورد استفاده قرار گیرد و نشانه‌های اولیه آلودگی محیطی را ارائه دهد. مطالعه‌ای توسط Kondera و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داد که پارامترهای خون سازی حتی نسبت به شاخص‌های خون محیطی پاسخ بیشتری به درمان آنتی‌بیوتیکی نشان می‌دهند. این یافته تأکید می‌کند که تحلیل‌های بافت خونساز می‌توانند اطلاعات ارزشمندی درباره تغییرات فیزیولوژیکی ناشی از مواجهه با زنوبیوتیک‌ها ارائه دهند. به طور کلی، استفاده از تحلیل بافت خونساز، به‌عنوان مکمل تحلیل‌های استاندارد هماتولوژیک، می‌تواند اطلاعات جامع‌تر و دقیق‌تری درباره اثرات

[24] *Sparus aurata*

UNCORRECTED PROOF

مواد سمی و آلودگی‌های محیطی بر ماهی‌ها ارائه دهد. ترکیب سلولی و فعالیت بافت خونساز ماهی‌ها می‌تواند به‌عنوان بیومارکرهای مهم مورد استفاده قرار گیرد و نشانه‌های اولیه آلودگی محیطی را ارائه دهد (Kondera et al.,2018). علاوه بر این، مطالعه Kondera و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داد که پارامترهای خون سازی حتی نسبت به شاخص‌های خون محیطی پاسخ بیشتری به درمان آنتی‌بیوتیکی نشان می‌دهند. همچنین، مشخص شده است که مواجهه با زنوبیوتیک‌ها می‌تواند تغییراتی در ساختار فوق‌العاده بافت خون ساز کپور معمولی ایجاد کند.(Lutnicka et al.,2018)

۳-نتیجه‌گیری‌ها:

متغیرهای خون شناسی شاخص‌های حساس و قابل‌اعتمادی برای ارزیابی تأثیرات محیطی بر ماهی‌ها، از جمله عوامل سمی هستند. این متغیرها ممکن است اثرات تخریبی سمیت، مانند آنمی و سرکوب ایمنی، یا اثرات جبرانی، مانند افزایش ظرفیت انتقال اکسیژن خون یا التهاب را نشان دهند. اغلب، تغییرات هماتولوژیکی در ماهی‌هایی که در معرض سمیت قرار دارند، یک پاسخ کلی و غیراختصاصی به استرس را منعکس می‌کنند و نتیجه‌گیری درباره مکانیزم‌های آن دشوار است. ترکیب سلولی و فعالیت بافت خونساز می‌تواند اطلاعات بیشتری درباره اثرات فیزیولوژیک سمیت ارائه دهد. تفسیر تابلوی خونی و خونسازی ترکیبی می‌توانند تصویری کامل‌تر از تغییرات ایجاد شده در ارگانیسم ماهی‌ها ارائه دهند. به همین دلیل، تغییرات در ترکیب سلولی و فعالیت بافت خونسازمی‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر اضافی مهم و مکمل آزمایش‌های هماتولوژیکی پایه مورد استفاده قرار گیرد. با این حال، به دلیل تنوع زیاد پارامترهای خون شناسی و بافت خونساز در ماهی‌ها و نبود مقادیر مرجع قطعی، اهمیت دارد که در هر مطالعه تجربی یا میدانی، یک گروه کنترل مناسب در نظر گرفته شود تا مقایسه دقیق‌تری از نتایج ممکن شود.

UNCORRECTED PROOF

References

Ahmed, I., Reshi, Q. M., & Fazio, F. (2020). The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: A review. *Aquaculture International, 28*, 869–899.

Akhlaghi, A., & Ahmadi-Hamedani, M. (2019). Introducing a combined Leishman-Giemsa stain as a new staining technique for avian blood smears. *Iranian Journal of Veterinary Research, 20*(2), 147.

Al-Ghanim, K. A. (2012). Malathion toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)—A haematological and biochemical study. *African Journal of Agricultural Research, 7*(4), 561–567.

Arvan, E., Mood, S. M., & Ahmadi-Hamedani, M. (2024). Comparison the efficiency of three staining methods including Giemsa, Leishman and Leishman-Giemsa for evaluation fish blood smear. *Iranian Journal of Veterinary Medicine.*

Berntssen, M. H. G., Aspholm, O. O., Hylland, K., Wendelaar Bonga, S. E., & Lundebye, A. K. (2001). Tissue metallothionein, apoptosis and cell proliferation responses in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) parr fed elevated dietary cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 128*, 299–310.

Bishkoul, G. R., Halimi, M., Norousta, R., Zamani, N., & Heidari, L. (2015). The anesthetic effects of MS-222 (tricaine methanesulfonate) on some hematological parameters of sterlet, *Acipenser ruthenus*. *Comparative Clinical Pathology, 24*, 89–92.

Bjørgen, H., & Koppang, E. O. (2022). Anatomy of teleost fish immune structures and organs. In *Principles of Fish Immunology: From Cells and Molecules to Host Protection* (pp. 1–30).

Brunelli, E., Mauceri, A., Maisano, M., Bernabo, I., Gianetto, A., De Domenico, E., Corapi, B., & Tripepi Fasulo, S. (2011). Ultrastructural and immunohistochemical investigation on the gills of the teleost, *Thalassoma pavo* L., exposed to cadmium. *Acta Histochemica, 113*, 201–213.

Bujjamma, P., & Padmavathi, P. (2018). Effect of cadmium on haematological changes in a freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. *International Journal of Zoology Studies, 3*, 132–141.

Carvalho, C. S., & Fernandes, M. N. (2006). Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. *Aquaculture, 251*, 109–117.

Casanovas, P., Walker, S. P., Johnston, H., Johnston, C., & Symonds, J. E. (2021). Comparative assessment of blood biochemistry and haematology normal ranges between Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) from seawater and freshwater farms. *Aquaculture, 537*, 736464.

Cordeiro Bentes, S. P., da Cruz, M. G., Jeronimo, G. T., Coimbra, F. C., & Goncalves, L. U. (2022). Chloramine-T application for *Trichodina* sp. in *Arapaima gigas* juveniles: Acute toxicity, histopathology, efficacy, and physiological effects. *Veterinary Parasitology, 303*, 109667.

Corredor-Santamaria, W., Serrano Gomez, M., & Velasco-Santamaria, Y. M. (2016). Using genotoxic and haematological biomarkers as evidence of environmental contamination in the Ocoa River native fish, Villavicencio—Meta, Colombia. *SpringerPlus, 5*, 351.

Dawood, M. A. O., AbdEl-Kader, M. F., Moustafa, E. M., Gewaily, M. S., & Abdo, S. E. (2020). Growth and hemato-immunological responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to deltamethrin and fed immunobiotics. *Environmental Science and Pollution Research, 27*, 11608–11617.

Dias de Moraes, F., Perri Venturini, F., Rossi, P. A., Marchioni Avilez, I., da Silva de Souza, N. E., & Moraes, G. (2018).Assessment of biomarkers in the neotropical fish Brycon amazonicus exposed to cypermethrin based insecticide. Ecotoxicology, 27, 188–197.

Dias, G. M. C., Bezerra, V., Risso, W. E., dos Reis Martinez, C. B., & Simonato, J. D. (2023). Hematological and biochemical changes in the Neotropical fish *Astyanax altiparanae* after acute exposure to a cadmium and nickel mixture. *Water, Air, & Soil Pollution, 234*, 307.

Duman, S., & Sahan, A. (2023).Effects of β-1,3/1,6 glucan dietary supplements on some immunological and hematological health markers in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) infected with Aeromonas hydrophila. Polish Journal of Veterinary Sciences, 26, 109–118.

Farag, M. R., & Alagawany, M. (2018).Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity. Chemico-Biological Interactions, 279, 73–83.

Fazio, F. (2019).Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. Aquaculture, 500, 237–242.

Fijan, N. (1961).Haemopoietic function of kidneys in some species of freshwater fish. Biološki glasnik, 14, 167–208. (In Croatian, summary in German)

Fredianelli, A. C., Pierin, V. H., Uhlig, S. C., do Amaral Gurgel Galeb, L., Coatti Rocha, D. C., Ribeiro, D. R., Anater, A., & Pimpao, C. T. (2019).Hematologic, biochemical, genetic, and histological biomarkers for the evaluation of the toxic effects of fipronil for Rhamdia quelen. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 43, 54–59.

UNCORRECTED PROOF

Garcia-Santos, S., Vargas-Chacoff, L., Ruiz-Jarabo, I., Varela, J. L., Mancera, J. M., Fantainhas-Fernandes, A., & Wilson, J. M. (2011).Metabolic and osmoregulatory changes and cell proliferation in gilthead sea bream (Sparus aurata) exposed to cadmium. Ecotoxicology and Environmental Safety, 74, 270–278.

Gomułka, P., Wlasow, T., Szczepkowski, M., Misiewicz, L., & Ziomek, E. (2014).The effect of propofol anaesthesia on haematological and biochemical blood profile of European whitefish. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 14, 331–337.

Guimarães, I. G., Limb, C., Yildirim-Aksoy, M., Li, M. H., & Klesius, P. H. (2014).Effects of dietary levels of vitamin A on growth, hematology, immune response and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to Streptococcus iniae. Animal Feed Science and Technology, 188, 126–136.

Haider, M. J., & Rauf, A. (2014).Sub-lethal effects of diazinon on hematological indices and blood biochemical parameters in Indian carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). Brazilian Archives of Biology and Technology, 57, 947–953.

Hanan, S. G., El-Kasheif, M. A., Ibrahim, S. A., & Authman, M. M. N. (2013). Effect of water pollution in El-Rahawy drainage canal on hematology and organs of freshwater fish *Clarias gariepinus*. *World Applied Sciences Journal, 21*(3), 329–341.

Ismail, H. T. H., & Mahboub, H. H. H. (2016).Effect of acute exposure to nonylphenol on biochemical, hormonal, and hematological parameters and muscle tissues residues of Nile tilapia; Oreochromis niloticus. Veterinary World, 9, 616–625.

Javed, M., & Usmani, N. (2014). Assessment of heavy metals (Cu, Ni, Fe, Co, Mn, Cr, Zn) in rivulet water, their accumulations and alterations in hematology of fish *Channa punctatus*. *African Journal of Biotechnology, 13*(5), 492–501.

Javed, M., Ahmad, I., Ahmad, A., Usmani, N., & Ahmad, M. (2016).Studies on the alterations in haematological indices, micronuclei induction and pathological marker enzyme activities in *Channa punctatus* (spotted snakehead) perciformes, channidae exposed to thermal power plant effluent. SpringerPlus, 5, 761.

Jayaprakash, C., & Shettu, N. (2013).Changes in the hematology of the freshwater fish, Channa punctatus (Bloch) exposed to the toxicity of deltamethrin. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 5, 178–183.

John, P. J. (2007). Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. *Fish Physiology and Biochemistry, 33*(1), 15–20.

Kanu, K. C., Okoboshi, A. C., & Otitoloju, A. A. (2023).Haematological and biochemical toxicity in freshwater fish *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* following pulse exposure to atrazine, mancozeb, chlorpyrifos, lambda-cyhalothrin, and their combination. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 270, 109643.

Kaur, K., & Kaur, A. (2015).Fish erythrocytes as biomarkers for the toxicity of sublethal doses of an azo dye, Basic violet-1 (CI: 42535). Microscopy and Microanalysis, 21, 264–273.

Khan, A., Shah, N., Gul, A., Us-Sahar, N., Ismail, A., Aziz, F., Farooq, M., Adnan, M., & Rizwan, M. (2016). Comparative study of toxicological impinge of glyphosate and atrazine (herbicide) on stress biomarkers; blood biochemical and hematological parameters of the freshwater common carp (Cyprinus carpio). Polish Journal of Environmental Studies, 25, 1995–2001.

Ko, H.-D., Park, H.-J., & Kang, J.-C. (2019).Change of growth performance, hematological parameters, and plasma component by hexavalent chromium exposure in starry flounder, Platichthys stellatus. Fisheries and Aquatic Sciences, 22, 9.

UNCORRECTED PROOF

Kondera, E. (2011).Haematopoiesis in the head kidney of common carp (*Cyprinus carpio* L.): A morphological study. *Fish Physiology and Biochemistry, 37*, 355–362.

Kondera, E. (2014).Cell composition of the head kidney of European chub (*Squalius cephalus* L.). *Archives of Polish Fisheries, 22*, 271–280.

Kondera, E. (2019).Haematopoiesis and haematopoietic organs in fish. *Animal Science and Genetics, 15*(1), 9–16.

Kondera, E., & Witeska, M. (2012).Cadmium-induced alternations in head kidney hematopoietic tissue of common carp. *Fresenius Environmental Bulletin, 21*, 769–773.

Kondera, E., Bojarski, B., Ługowska, K., Kot, B., & Witeska, M. (2020).Effects of oxytetracycline and gentamicin therapeutic doses on hematological, biochemical and hematopoietic parameters in *Cyprinus carpio* juveniles. *Animals, 10*, 2278.

Kondera, E., Teodorczuk, B., Ługowska, K., & Witeska, M. (2018).Effect of glyphosate-based herbicide on hematological and hemopoietic parameters in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Physiology and Biochemistry, 44*, 1011–1018.

Kubra, A. K. (2022).Anesthetic efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as hematological, histopathological and echocardiographic on broodstock Danube sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Journal of Applied Ichthyology, 38*, 586–595.

Ligina, V., Martin, R., Aiswarya, M. V., Mashirin, K. R., & Chitra, K. C. (2022).Acute and sublethal effects of acrylamide on the freshwater fish *Anabas testudineus* (Bloch, 1792). *Environmental Science and Pollution Research, 29*, 90835–90851.

Lutnicka, H., Bojarski, B., Król, T., Trybus, W., Trybus, E., Kopacz-Bednarska, A., Witeska, M., Pankiewicz, L., & Pawlak, K. (2018).Hematological parameters and ultrastructure of hematopoietic tissues in common carp (*Cyprinus carpio* L.) exposed to sublethal concentration of pendimethalin. *Folia Biologica, 66*, 121–132.

Mahboub, H. H., Beheiry, R. R., Shahin, S. E., Behairy, A., Khedr, M. H. E., Ibrahim, S. M., Elshopakey, G. E., Daoush, W. M., Altohamy, D. E., Ismail, T. A., et al. (2021).Adsorptivity of mercury on magnetite nano-particles and their influences on growth, economical, hemato-biochemical, histological parameters and bioaccumulation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Toxicology, 235*, 105828.

Maklakova, M. E., Kondratieva, I. A., Mikhailova, E. S., Stupin, R. V., Khapchaev, S. Y., & Kasumyan, A. O. (2011).Effect of antibiotics on immunophysiological status and their taste attractiveness for rainbow trout *Parasalmo (=Oncorhynchus) mykiss* (Salmoniformes, Salmonidae). *Journal of Ichthyology, 51*, 1133–1142.

Manna, S. K., Das, N., Bera, A. K., Baitha, R., Maity, S., Debnath, D., Panikkar, P., Nag, S. K., Sarkar, S. D., Das, B. K., et al. (2021).Reference haematology and blood biochemistry profiles of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in summer and winter seasons. *Aquaculture Reports, 21*, 100836.

McKenna, S. L., & Cotter, T. G. (1997).Functional aspects of apoptosis in hematopoiesis and consequences of failure. *Advances in Cancer Research, 71*, 121–164.

Michail, G., Berillis, P., Nakas, C., Henry, M., & Mente, E. (2022).Haematology reference values for *Dicentrarchus labrax* and *Sparus aurata*: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Fish Diseases, 45*, 1549–1570.

Migliarini, B., Campisi, A. M., Maradonna, F., Truzzi, C., Annibaldi, G., Scarponi, G., & Carnevali, O. (2005).Effects of cadmium exposure on testis apoptosis in the marine teleost *Gobius niger*. *General and Comparative Endocrinology, 142*, 241–247.

Monteiro, S. M., dos Santos, N. M. S., Calejo, M., Fontainhas-Fernandes, A., & Sousa, M. (2009). Copper toxicity in gills of the teleost fish *Oreochromis niloticus*: Effects in apoptosis induction and cell proliferation. *Aquatic Toxicology, 94*, 219–228.

UNCORRECTED PROOF

Moradi, S., Javanmardi, S., Gholamzadeh, P., & Tavabe, K. R. (2022).The ameliorative role of ascorbic acid against blood disorder, immunosuppression, and oxidative damage of oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry, 48*, 201–213.

Ololade, I. A., & Oginni, O. (2010). Toxic stress and hematological effects of nickel on African catfish, *Clarias gariepinus*, fingerlings. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 2*(2), 14–19.

Oluah, N. S., Aguzie, I. O., Ekechukwu, N. E., Madu, J. C., Ngene, C. I., & Oluah, C. (2020).Hematological and immunological responses in the African catfish *Clarias gariepinus* exposed to sublethal concentrations of herbicide Ronstar®. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 201*, 110824.

Omoregie, E., & Oyebani, S. F. (2002).Oxytetracycline-induced blood disorder in juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Trewavas). *Journal of the World Aquaculture Society, 33*, 377–382.

Ovie, K., Gbemi, O. M., & Bemigho, I. R. (2009). Haematological response of the African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) to sublethal concentrations of potassium permanganate. *Scientific Research and Essays, 4*(5), 457–466.

Pala, E. M., & Dey, S. (2016).Microscopy and microanalysis of blood in a snake head fish, *Channa gachua* exposed to environmental pollution. *Microscopy and Microanalysis, 22*, 39–47.

Ramesh, M., & Saravanan, M. (2008). Haematological and biochemical responses in a freshwater fish *Cyprinus carpio* exposed to chlorpyrifos. *International Journal of Integrative Biology, 3*(2), 80–83.

Ramesh, M., Srinivasan, R., & Saravanan, M. (2009). Effect of atrazine (herbicide) on blood parameters of common carp *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes). *African Journal of Environmental Science and Technology, 3*(11), 453–458.

Rohani, M. F. (2023).Pesticides toxicity in fish: Histopathological and hemato-biochemical aspects—A review. *Emerging Contaminants, 9*, 100234. [CrossRef]

Rozynski, M., Demska-Zakęś, K., Sikora, A., & Zakęś, Z. (2018).Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.). *Fish Physiology and Biochemistry, 44*, 927–937.

Shah, S. L., & Altindag, A. (2005). Alterations in the immunological parameters of tench (*Tinca tinca* L. 1758) after acute and chronic exposure to lethal and sublethal treatments with mercury, cadmium, and lead. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29*, 1163–1168.

Shaheen, T., & Akhtar, T. (2012). Assessment of chromium toxicity in *Cyprinus carpio* through hematological and biochemical blood markers. *Turkish Journal of Zoology, 36*(6), 682–690.

Shiogiri, N. S., Ikefuti, C. V., Carraschi, S. P., da Cruz, C., & Fernandes, M. N. (2017).Effects of azithromycin on tilapia (*Oreochromis niloticus*): Health status evaluation using biochemical, physiological and morphological biomarkers. *Aquaculture Research, 48*, 3669–3683.

Siakpere, O. K., & Ikomi, U. (2011). Alterations in some haematological parameters of the African snakehead: *Parachanna africans* exposed to cadmium. *Notulae Scientia Biologicae, 3*(1), 29–34.

Singh, D., Nath, N., Trivedi, S. P., & Sharma, Y. K. (2008). Impact of copper on the hematological profile of freshwater fish, *Channa punctatus*. *Journal of Environmental Biology, 29*(2), 253–256.

UNCORRECTED PROOF

Som, M., Kundu, N., Bhattacharyya, S., & Homechaudhuri, S. (2009).Evaluation of hemopoietic responses in *Labeo rohita* Hamilton following acute copper toxicity. *Toxicological & Environmental Chemistry, 91*, 87–98.

Talukdar, B., Kalita, H. K., Basumatary, S., Saikia, D. J., & Sarma, D. (2017). Cytotoxic and genotoxic effects of acid mine drainage on fish *Channa punctata* (Bloch). *Ecotoxicology and Environmental Safety, 144*, 72–78.

Tavares-Dias, M., & Oliveira, S. R. (2009).A review of the blood coagulation system of fish. *Revista Brasileira de Biociências, 7*, 205–224.

Tavares-Dias, M., Ferreira, J. S., Affonso, E. G., Ono, E. A., & Martins, M. L. (2011).Toxicity and effects of copper sulfate on parasitic control and hematological response of tambaqui *Colossoma macropomum*. *Boletim do Instituto de Pesca São Paulo, 37*, 355–365.

Thiele, J., Zirbes, T. K., Lorenzen, J., Kvasnicka, H. M., Scholz, S., Erdman, A., Flucke, U., Diehl, V., & Fischer, R. (1997).Hematopoietic turnover index in reactive and neoplastic bone marrow lesions: Quantification by apoptosis and PCNA labelling. *Annals of Hematology, 75*, 33–39.

Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K., & Bojarski, B. (2022).Hematological methods in fish—Not only for beginners. *Aquaculture, 547*, 737498.

Witeska, M., Lugowska, K., & Kondera, E. (2016).Reference values of hematological parameters for juvenile common carp *Cyprinus carpio*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 36*, 169–180.

Yonar, M. E., Yonar, S. M., Ural, M. S., Silici, S., & Dusukcan, M. (2012).Protective role of propolis in chlorpyrifos-induced changes in the haematological parameters and the oxidative/antioxidative status of *Cyprinus carpio carpio*. *Food and Chemical Toxicology, 50*, 2703–2708.

Yousaf, M. N., Koppang, E. O., Skjodt, K., Köllner, B., Hordvik, I., Zou, J., Secombes, C. J., & Powell, M. D. (2012).Cardiac pathological changes of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) affected with heart and skeletal muscle inflammation (HSMI). *Fish & Shellfish Immunology, 33*, 305–315.

Zahran, E., Risha, E., Awadin, W., & Palić, D. (2018).Acute exposure to chlorpyrifos induces reversible changes in health parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Toxicology, 197*, 47–59.

UNCORRECTED ROOF

Critical Role of Hematological and Hematopoietic Tissue Evaluations in Aquatic Toxicology

UNCORRECTED ROOF

Abstract

Hematological assessment in fish is widely recognized as a standard approach to evaluate their physiological status, primarily involving measurements of red blood cells, white blood cells, and platelets per unit volume of blood. This method serves as a fundamental tool for detecting the impact of various organic and inorganic substances on fish health and is often supplemented by biochemical analyses and histopathological evaluations. Its major advantages include low cost and minimal need for complex laboratory equipment. However, the accuracy of hematological analyses is largely influenced by the skill and experience of the examiner.

To enhance the reliability of standard hematological assessments, it is recommended to also evaluate the cellular composition and functional activity of hematopoietic tissue. Despite its importance, limited information is available regarding the effects of xenobiotics—foreign chemical compounds—on the cellular structure of the anterior kidney hematopoietic tissue in fish, underscoring the need for additional research. Therefore, the combined application of hematological and hematopoietic analyses can provide a more comprehensive and precise evaluation of toxic substances' impacts on fish health.

Key Words: Fish, Hematological parameters, Hematopoietic tissue, Toxicology