



مخاط پوستی ماهیان آب شور: منبع جدید فعالیت ضداکسیدانی و سمیت سلولی (مطالعه موردی چهارگونه از ماهیان خلیج فارس)

فاطمه گل دوست‌بس^۱، نرگس امراللهی بیوکی^{۱،۲*}، سولماز سلیمانی^۱، مرتضی یوسف‌زادی^۳

^۱ گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

^۲ گروه فناوری‌های نوین، پژوهشکده منطقه‌ای جنگل‌های حرا، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

^۳ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

مخاط ماهی سطح اصلی تبادل بین ماهی و محیط است که دارای عملکردهای مهم زیستی و اکولوژیکی می‌باشد. در مطالعه حاضر، فعالیت ضداکسیدانی (قدرت احیاکنندگی، ظرفیت ضداکسیدانی کل و مهار رادیکال آزاد DPPH) و سمیت سلولی (تست سمیت لارو میگوی آب شور) مخاط چهار گونه ماهی *Solea elongate*، *Euryglossa orientalis*، *Netuma bilineata*، *Muraenesox cinereus* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مخاط ماهی *E. orientalis* دارای بالاترین قدرت احیاکنندگی (0.16 ± 0.02)، مخاط ماهی *N. bilineata* دارای بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (0.93 ± 0.03) و بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH (89 ± 0.02) است. در آزمون سمیت سلولی بالاترین درصد مرگ و میر تحت تأثیر مخاط ماهی *S. elongate* حدود $2/5 \pm 97/5$ گزارش شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که می‌توان مخاط ماهیان را به عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات زیستی طبیعی با فعالیت ضداکسیدانی و سمیت سلولی بالا معرفی کرد.

کلمات کلیدی:

ترکیبات طبیعی

خلیج فارس

سمیت سلولی

ضداکسیدان

مخاط ماهی

مقدمه

مخاط خارجی پوست ماهی، سطح اصلی تبادل بین ماهی‌ها و محیط اطراف آن‌ها است و بنابراین نقشی اساسی در ارتباطات شیمیایی درون و بین گونه‌ای دارد (Beklioglu et al., 2006). مخاط به عنوان یک مانع فیزیکی و بیوشیمیایی پویا عمل می‌کند، نقش‌های زیستی و اکولوژیکی متعددی از جمله تنظیم اسمزی (Shephard, 1994)، محافظت در برابر سایش ناشی از تماس با سطحی دیگر (Whittington and Friesen, 2020)، محافظت در برابر سموم محیطی و سمیت فلزات سنگین (Vaid and Hundal, 2019)، تغذیه (Wen et al., 2020)، محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا (Cámara-Ruiz et al., 2021) و ارتباطات شیمیایی (Moody et al., 2017) دارد. مخاط ماهی همچنین حاوی مولکول‌های ایمنی بی‌شمارمانند لیزوزیم‌ها، ایمونوگلوبولین‌ها، مکمل‌ها، لکتین‌ها و پپتیدهای ضد میکروبی (Salinas, 2015) و سایر مولکول‌ها مانند اسیدهای آمینه شبه میکوسپورین (Zamzow, 2007)، و سموم است (Dash et al., 2018). ترکیب مخاط ماهی و خصوصیات رئولوژیکی (روان بودن) آن برای حفظ عملکردهای مخاطی حیاتی است (Sridhar et al., 2020). ترکیبات سطوح مخاط، در بین گونه‌های ماهی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: amrollahi@hormozgan.ac.ir

و با عوامل درون‌زا (جنسیت و مرحله رشد) و عوامل برون‌زا (استرس، دمای آب، pH و عفونت‌ها) متفاوت است (Sanahuja *et al.*, 2019). شرایط استرس (به عنوان مثال، کنترل استرس، محدودیت در محرومیت از غذا، قرار گرفتن در معرض مواد سمی) می‌تواند تولید و ترکیبات مخاطی را تغییر دهد (به عنوان مثال، سطح پروتئین‌ها و مولکول‌های ایمنی بدن)، سلامت ماهی را به خطر بیندازد و حساسیت ماهی به عوامل بیماری‌زا را افزایش دهد (Al-Zaidan *et al.*, 2013; Terova *et al.*, 2011). مطالعات متعددی نشان داده است که ماهیان با افزایش ترشح و تغییر ترکیب مخاط، ممکن است از خود در برابر عوامل بیماری‌زا محافظت کنند (Gustafsson *et al.*, 2013; Rajan *et al.*, 2013; Van der Marel *et al.*, 2010). از این‌رو، انتظار می‌رود که مخاط ماهی به دلیل حضور ترکیباتی مثل اسیدهای آمینه شبه میکوسپورین دارای فعالیت ضداکسیدانی نیز باشد. ضداکسیدان‌های طبیعی می‌توانند با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و برخی اشکال سرطان اهمیت داشته باشند (Ferreira *et al.*, 2007). رادیکال‌های آزاد، یک یا چند الکترون غیرجفت در اوربیتال خالی دارند و شامل سوپراکسیدآنیون، هیدروکسیل، پراکسیل، آلکوکسیل، و نیتریک اکسید هستند که اکسیژن مرکزی آن‌ها، به عنوان گونه‌های اکسیژن فعال شناخته می‌شوند (Makarova *et al.*, 2021). آن‌ها مستقیماً به مولکول‌های زیستی، همچون لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA، RNA و آنزیم‌ها حمله می‌کنند (Ebrahimzadeh *et al.*, 2018). گمان می‌شود که مهار گونه‌های اکسیژن فعال، برای کاهش سطح استرس اکسیداتیو ارگانسیم، در جلوگیری و درمان برخی بیماری‌های مزمن و مخرب مانند پیری، بیماری‌های قلبی و عروقی، التهاب، سکت، دیابت شیرین و سرطان مؤثر باشند (Molan, 2017). بنابراین، ضداکسیدان‌هایی که می‌توانند گونه‌های اکسیژن فعال را مهار کنند، انتظار می‌رود بتوانند این اختلالات را بهبود بخشند (Hoseinifar *et al.*, 2020).

تحقیقات در مورد مخاط ماهی در ده سال گذشته بیشتر به دلیل کشف مولکول‌های زیست فعال متعدد (ضدباکتری، ضدویروس، ضدقارچ و ضدانگلی) و کاربرد بالقوه آن‌ها در پزشکی انسانی و پرورش آبزیان افزایش یافته است (Adams, 2019; Sinha and Shukla, 2019; van den Bogaard *et al.*, 2021). تا به امروز، بیشتر تحقیقات در مورد مخاط ماهی بر روی مولکول‌های مرتبط با سیستم ایمنی بدن و پپتیدهای ضد میکروبی متمرکز شده است، اما مطالعات کمی در مورد سایر مولکول‌های مخاط و نقش‌های زیستی و اکولوژیکی آن‌ها در محیط انجام شده است. به عنوان مثال متابولیت‌های ثانویه، حتی اگر نقش مهمی در برقراری ارتباط طیف گسترده‌ای از گونه‌ها از جمله گیاهان، بی‌مهرگان و میکروارگانسیم‌ها شناخته شده باشد، به ندرت در مخاط ماهی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Hay, 2009). با توجه به مطالب گفته شده، هدف از این مطالعه بررسی پتانسیل ضداکسیدانی مخاط چهار گونه ماهی آب شور و سمیت آن‌ها در مقابل لارو میگوی آب شور (*Artemia salina*) است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

دو گونه کفشک‌ماهی (*Solea elongate* و *Euryglossa orientalis*)، یک گونه گربه‌ماهی (*Netuma bilineata*) و یک گونه مارماهی (*Muraenesox cinereus*) در زمستان ۱۳۹۶ در استان هرمزگان و شهر بندرعباس به صورت تصادفی به کمک صیادان بومی از آب‌های خلیج فارس صید شد. تعداد ماهیان نمونه‌برداری شده از هر یک از گونه‌های کفشک‌ماهی و گربه‌ماهی ۲۰ عدد و گونه مارماهی به دلیل فراوانی اندک این گونه ۷ عدد بود. ماهیان مورد مطالعه به کمک کلید شناسایی معتبر شناسایی شدند (Carpenter *et al.*, 1997; Coad, 1992).

جمع‌آوری مخاط پوست

جهت جمع‌آوری مخاط پوست ماهیان پس از بیهوشی با ۵ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک به صورت جداگانه درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار قرار گرفته و پس از ۲ دقیقه ماهی‌ها از کیسه‌ها خارج

شدند. مخاط جمع‌آوری شده در آزمایشگاه به لوله‌های سانتریفیوژ استریل منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شده و فاز رویی با استفاده از دستگاه لیوفیلیز خشک شده و جهت انجام تست‌های ضداکسیدانی و سمیت سلولی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Ross *et al.*, 2000).

ارزیابی فعالیت ضداکسیدان

اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدان به روش توان احیاکنندگی

این آزمایش بر مبنای احیا کردن کلرید آهن III (سه ظرفیتی) به کلرید آهن II (دو ظرفیتی) توسط عصاره‌هایی که دارای قدرت احیاکنندگی است، مورد ارزیابی قرار گرفت. مبنای سنجش قدرت احیاکنندگی شدت تغییر رنگ زرد به آبی است. توانایی مخاط ماهیان برای احیا آهن سه ظرفیتی ارزیابی شد. در این روش، غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نمونه با ۱/۲۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (۰/۱ مولار، pH = ۶/۶) و ۱/۲۵ میلی‌لیتر فری‌سیانیدپتاسیم (۰/۱٪) مخلوط شد و برای ۲۰ دقیقه در حمام آب (کره جنوبی، Wise Bath) با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط را برداشته و به آن ۱/۲۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (۰/۱٪) و ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و در نهایت ۰/۲۵ میلی‌لیتر کلروفریک (۱٪) اضافه گردید. بلافاصله جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (انگلستان، مدل ۶۸۵۰) خوانده شد. افزایش مقدار جذب خوانده شده در نمونه‌ها به معنی افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها می‌باشد. آب مقطر به‌عنوان بلانک و آسکوربیک اسید نیز به‌عنوان استاندارد استفاده گردید (Oyaizu, 1986; Soleimani *et al.*, 2016).

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

DPPH یک رادیکال آزاد است که در حضور مواد دارای خواص ضداکسیدان و با گرفتن الکترون تغییر رنگ می‌دهد. تغییر رنگ آن از بنفش به زرد مبنای بررسی خاصیت ضداکسیدانی می‌باشد. در این آزمون ابتدا غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نمونه با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ میلی‌مولار DPPH حل شده در متانول، با کمک ورتکس مخلوط شد. مخلوط نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در تاریکی نگهداری شد. جذب نمونه در دستگاه الیزاریدر (آلمان، Hiperion) و در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. می‌توان گفت که در کنترل، متانول به جای محلول مخاط و در بلانک، متانول به‌جای DPPH استفاده شد (Duan *et al.*, 2006; Soleimani *et al.*, 2016). در نهایت، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = 100 \times (A_s - A_0 / A)$$

که در آن، A_s جذب مخلوط واکنش، A_0 جذب بلانک و A جذب کنترل می‌باشد. Butylated hydroxytoluene (BHT) نیز به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

ارزیابی ظرفیت ضداکسیدانی کل

ظرفیت ضداکسیدانی کل مخاط ماهیان ارزیابی شد. برای تهیه محلول معرف، ۷/۴۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۰/۶ مولار، ۰/۹۹ گرم سولفات سدیم و ۱/۲۳ گرم آمونیوم مولیبدات را مخلوط و با آب مقطر به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نمونه با یک میلی‌لیتر از محلول معرف مخلوط شد. پس از ورتکس، ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. جذب نمونه‌ها به معنی افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها می‌باشد. آب مقطر به‌عنوان بلانک و آسکوربیک اسید نیز به‌عنوان استاندارد استفاده شد (Soleimani *et al.*, 2017; Zarei Jeliani, 2020).

ارزیابی فعالیت سمیت سلولی با استفاده از لارو میگوی آب شور *Artemia salina*

ابتدا یک گرم سیست خشک آرتمیا به مدت یک ساعت در ۳۰ میلی‌لیتر آب شهری هیدراته شد. سپس سیست‌های آرتمیا با کاغذ صافی واتمن شماره یک از آب جدا و به ظرف استوانه‌ای شکل حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب با شوری ۳۵ ppm و دمای 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد منتقل شد. سیست‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب دریا با هوادهی و نوردهی ۱۲ ساعت روز: ۱۲ ساعت شب (لامپ فلورسنت ۴۰ وات) قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت، لاروهای ناپلیوس از سیست خارج شدند و با استفاده از ویژگی نورگرایی مثبت آن‌ها در گوشه‌ای از ظرف استوانه‌ای شکل شیشه‌ای تجمع داده شدند و از محیط کشت اولیه خارج شدند.

بررسی اثر سمیت مخاط ماهیان مورد مطالعه بر روی آرتمیا سالینا (*Artemia salina*) طبق متد Ferreira و همکاران (۲۰۰۷) با اندکی تغییر انجام شد. در میکروپلیت‌های ۲۴ خانه‌ای، ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نمونه در هر چاهک ریخته شد. در نهایت حجم هر چاهک به کمک آب دریا محتوی لارو تازه تفریخ شده آرتمیا به یک میلی‌لیتر رسانده شد. از هر کدام از غلظت‌ها حداقل ۴ تکرار در نظر گرفته می‌شود. میزان اثر سمیت، با شمارش لاروهای زنده در هر غلظت و در حضور کنترل (بدون مخاط)، سنجیده شد (Ferreira et al., 2007).

میزان درصد سمیت مخاط ماهیان از فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 \times \left[\frac{\text{تعداد لارو زنده در کنترل}}{\text{تعداد لارو زنده در آرتمیا} - \text{تعداد لارو زنده در کنترل}} \right] = \text{درصد سمیت سلولی}$$

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه، تمامی آزمایش‌ها در چهار تکرار انجام شد و چگونگی همسان بودن پراش و پیروی داده‌ها از توزیع طبیعی توسط آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و همچنین مقایسه میانگین به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد توسط نرم‌افزار آماری SPSS 21 انجام شد. همچنین رسم نمودار با نرم‌افزار Excel 2013 صورت گرفت.

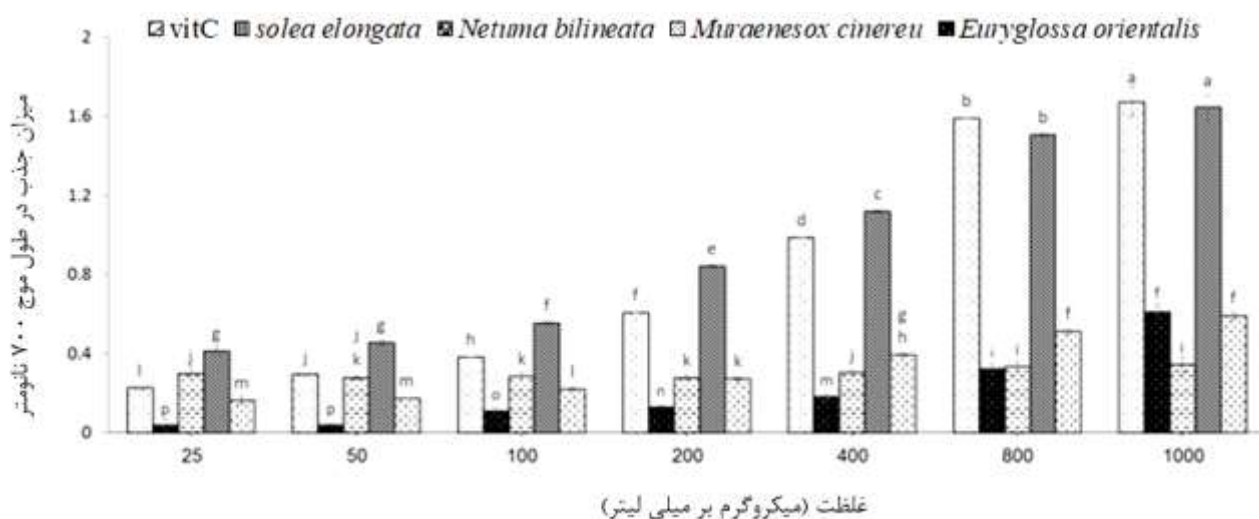
نتایج

ارزیابی فعالیت ضد اکسیدانی

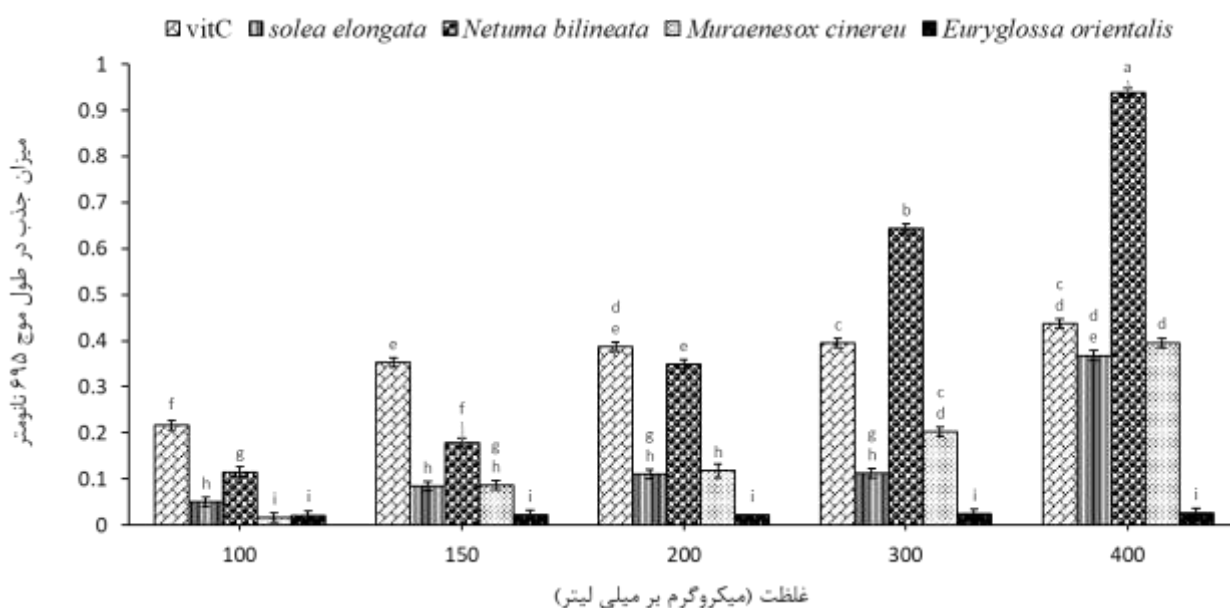
نتایج سنجش توان احیاکنندگی مخاط ۴ گونه ماهی در احیای کلرید آهن سه ظرفیتی به کلرید آهن دو ظرفیتی در شکل ۱ قابل مشاهده است. مقایسه مخاط ماهیان مورد مطالعه، نشان داد که مخاط ماهی *E. orientalis* در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای بیش‌ترین فعالیت احیاکنندگی نسبت به سایر نمونه‌های مورد مطالعه است. همچنین، تفاوت معنی‌داری بین مخاط ماهی *E. orientalis* در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و آسکوربیک اسید با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده نشد ($P \leq 0/05$). کم‌ترین فعالیت احیاکنندگی مربوط به مخاط ماهی *S. elongata* در غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد ($P \leq 0/05$). بر اساس نتایج کلی، فعالیت احیاکنندگی مخاط ماهیان در غلظت‌های مختلف، دارای تفاوت معنی‌داری هستند ($P \leq 0/05$).

ظرفیت ضد اکسیدانی کل مخاط چهار گونه ماهی در شکل ۲ نشان داده شده است. از مقایسه بین مخاط ماهیان با غلظت‌های مختلف، مشاهده شد که مخاط ماهی *N. bilineata* دارای بیش‌ترین ظرفیت ضد اکسیدانی کل است. همچنین مخاط ماهی *N. bilineata* در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد نیز دارای ظرفیت ضد اکسیدانی کل بیش‌تری است. کم‌ترین ظرفیت ضد اکسیدانی کل مربوط به مخاط ماهی *M. cinereu* در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و مخاط ماهی *E. orientalis* در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد که بین آن‌ها تفاوت معنی‌داری

وجود نداشت ($P \leq 0.05$). بر اساس نتایج کلی، میزان ظرفیت ضداکسیدانی کل مخاط ماهیان در غلظت‌های مختلف، دارای تفاوت معنی‌داری بودند ($P \leq 0.05$).

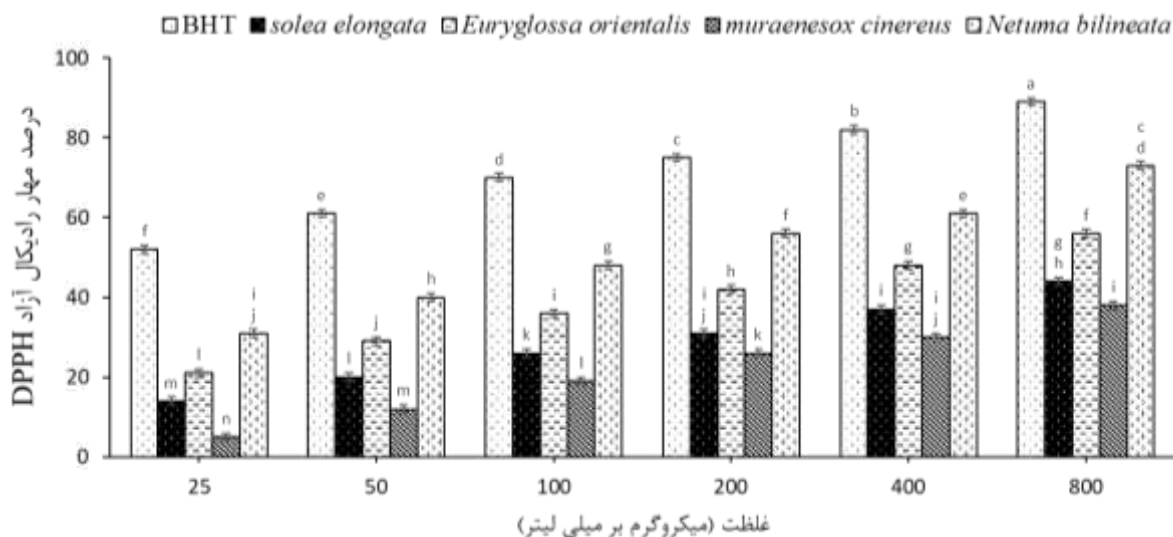


شکل ۱. مقایسه توان احیاکنندگی مخاط چهار گونه ماهیان مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف با آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد. حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها است ($P \leq 0.05$).



شکل ۲. مقایسه ظرفیت ضداکسیدانی مخاط چهار گونه ماهیان مورد مطالعه در غلظت‌هایی مختلف با آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد. حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها است ($P \leq 0.05$).

میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH تحت تأثیر مخاط چهار گونه ماهی در غلظت‌های مختلف، در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، مخاط ماهی *N. bilineata* با غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را نشان داد ($LC_{50} = 164/4$). پایین‌ترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH مربوط به مخاط ماهی *M. cinereu* با غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. بر اساس نتایج کلی، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH مخاط ماهیان در غلظت‌های مختلف، دارای تفاوت معنی‌داری بود ($P \leq 0.05$).



شکل ۳. مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH مخاط چهار گونه ماهیان مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف با BHT به عنوان استاندارد. حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها است ($P \leq 0.05$).

ارزیابی فعالیت سمیت سلولی با استفاده از لارو میگوی آب شور *Artemia salina*

نتایج حاصل از آزمون سنجش اثرات سمیت سلولی ۴ غلظت از مخاط ماهیان مورد آزمایش به صورت میانگین درصد مرگ و میر در جدول ۱ بیان شده است. بالاترین درصد مرگ و میر تحت تأثیر مخاط ماهی *S. elongata* در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. پایین‌ترین درصد مرگ و میر تحت تأثیر مخاط ماهی *S. elongata* در غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت مخاط هر چهار گونه ماهی درصد مرگ و میر آرتیمیا افزایش یافت.

جدول ۱. نتایج مربوط به اثرات سمیت سلولی مخاط چهار گونه از ماهیان خلیج فارس

| LC ₅₀ | درصد مرگ و میر (میانگین ± انحراف معیار) | غلظت مخاط (میکروگرم بر میلی‌لیتر) | گونه ماهی |
|------------------|--|--------------------------------------|------------------------------|
| | 0 ± 0 | ۱۲۵ | <i>Solea elongata</i> |
| ۵۷۶ | 6 ± 0.6 | ۲۵۰ | |
| | 46/7 ± 5/8 | ۵۰۰ | |
| | 97/5 ± 2/5 | ۱۰۰۰ | |
| ۷۲۵ | 2/5 ± 2/5 | ۱۲۵ | <i>Euryglossa orientalis</i> |
| | 20/5 ± 2/5 | ۲۵۰ | |
| | 26 ± 4/6 | ۵۰۰ | |
| | 73 ± 3/5 | ۱۰۰۰ | |
| ۲۰۳ | 21 ± 4 | ۱۲۵ | <i>Netuma bilineata</i> |
| | 70/3 ± 13 | ۲۵۰ | |
| | 81/7 ± 10/2 | ۵۰۰ | |
| | 90/7 ± 4/2 | ۱۰۰۰ | |
| > ۱۰۰۰ | 13/5 ± 1/5 | ۱۲۵ | <i>Muraenesox cinereus</i> |
| | 19/5 ± 5/7 | ۲۵۰ | |
| | 24 ± 1 | ۵۰۰ | |
| | 26 ± 1 | ۱۰۰۰ | |

LC₅₀: غلظتی از مخاط ماهی که ۵۰ درصد کشندگی دارد.

بحث

از آنجا که امروزه، اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد بر روی سیستم‌های زیستی و نقش مهمی که ضداکسیدان‌ها در جلوگیری از بیماری‌های مختلف از جمله سرطان، بیماری‌های خود ایمنی، التهاب مزمن، پیری زودرس، بیماری‌های قلبی و تصلب عروق دارند اثبات شده است؛ از این‌رو، یافتن ترکیبات ضداکسیدان جدید از اهمیت زیادی برخوردار است و کاربرد آن‌ها در صنایع مختلف دارویی، آرایشی-بهداشتی و غذایی مورد توجه قرار گرفته است. از طرفی، مصرف‌کنندگان ترجیح می‌دهند که از ترکیبات ضداکسیدانی با منشأ طبیعی استفاده کنند، چراکه در مورد اثرات خطرناک ضداکسیدان‌های مصنوعی نگران هستند. به همین دلیل، اخیراً تحقیقات برای یافتن ترکیبات ضداکسیدانی با منشأ طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Hidayati *et al.*, 2019).

عوامل احیاکننده می‌توانند رادیکال‌های آزاد را به وسیله انتقال الکترون‌های آن‌ها دفع کنند. پتانسیل اهدایی الکترون ترکیبات که به عنوان ظرفیت احیایی شناخته می‌شوند، ممکن است فعالیت ضداکسیدانی قابل توجهی را نشان دهند (Alavi and Karimi, 2018). تاکنون گزارشی مبنی بر خواص ضداکسیدانی مخاط در ماهیان خلیج فارس مشاهده نشده است و در سراسر دنیا نیز اطلاعات بسیار ناچیز از خواص ضداکسیدانی مخاط ماهی وجود دارد، گزارش حاضر اولین تلاش در خصوص نشان دادن فعالیت ضداکسیدانی مخاط در ماهیان خلیج فارس است. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که مخاط ماهیان دارای فعالیت ضداکسیدانی است.

اخیراً مطالعات گوناگونی بر روی مخاط بی‌مهرگان از جمله گونه‌های پرتاران، خارپوستان و مرجانیان انجام شده است. Stabili و همکاران در سال ۲۰۱۹ فعالیت ضداکسیدانی مخاط *Myxicola infundibulum* را با روش‌های ظرفیت ضداکسیدانی کل و جذب رادیکال آزاد اکسیژن مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که مخاط پرتاران مورد مطالعه دارای ترکیباتی هستند که فعالیت ضداکسیدانی نشان دادند (Stabili *et al.*, 2019). Domenico مخاط *Rhizostoma pulmo* از سیفوزوا را به عنوان منبع ضداکسیدانی معرفی کردند (De Domenico *et al.*, 2019). Sanahuja فعالیت ضداکسیدانی مخاط دو گونه ماهی، شانک ماهیان، باس دریایی مورد بررسی قرار دادند، نتایج آن‌ها نشان داد که مخاط شانک ماهیان و باس دریایی فعالیت ضداکسیدانی بالاتری را نشان دادند (Sanahuja *et al.*, 2019). محققان در این زمینه دریافتند که مخاط برخی آبزیان دارای ترکیبات مختلفی است که علاوه بر حفاظت موجودات در مقابل خطرات محیطی و شکارچیان، می‌تواند با استخراج این ترکیبات به عنوان مواد اولیه در صنایع مختلف از جمله داروسازی مورد استفاده قرار گیرد (De Domenico *et al.*, 2019; Stabili, 2019; Stabili *et al.*, 2019).

آرتمیا (میگوی آب شور) از سخت‌پوستان یوری هالین است که شوری مناسب برای زیست آن ۸۰-۱۲۰ گرم در لیتر در منابع مختلف بیان شده است. بر اساس تحقیقات منتشرشده، این گونه کمتر در آب‌هایی با شوری زیر ۴۵ گرم در لیتر یافت می‌شود. تاکنون سمیت مخاط ماهیان بر روی آرتمیا گزارش نشده است، اما سمیت مخاط ماهیان به روش MTT (Methyl Thiazol Terazolium) بر روی رده‌های سلولی مختلف از جمله سلول‌های بنیادی فیبروبلاست موش، رده‌های سلولی LNCap و MCF7 گزارش شده است. نتایج این آزمایش‌ها نشان داد که مخاط ماهیان دارای سمیت بالایی هستند (Devi *et al.*, 2019; Subhashini *et al.*, 2013; Zawawi *et al.*, 2020). نتایج این مطالعه نیز سمیت مخاط ماهیان مورد مطالعه بر روی لارو میگوی آب شور را نشان داد.

به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مخاط ماهیان به دلیل داشتن ترکیبات زیستی فراوان قدرت ضداکسیدانی و سمیت سلولی بالایی دارد که می‌تواند به عنوان جایگزین ترکیبات مصنوعی معرفی شود. از این‌رو، شناسایی و بررسی میزان این ترکیبات به دلیل اثرات دارویی و ضداکسیدانی بسیار مهم است. همچنین پیشنهاد می‌شود به دلیل اثرات سمیت سلولی مخاط ماهیان، بررسی‌های اختصاصی‌تری از جمله در زمینه‌های ضدسرطان و ضدتومور صورت پذیرد.

منابع

- Adams, A. 2019. Progress, challenges and opportunities in fish vaccine development. *Fish & Shellfish Immunology*. 90(3): 210-214.
- Al-Zaidan, A.S., Endo, M., Maita, M., Gonçalves, A.T., Futami, K., Katagiri, T. 2013. A toxicity bioassay study concerning the effect of un-ionized ammonia on the mucus cells response originating from the gills of zebrafish *Danio rerio*. *Fisheries Science*. 79(1): 129-142.
- Alavi, M., Karimi, N. 2018. Characterization, antibacterial, total antioxidant, scavenging, reducing power and ion chelating activities of green synthesized silver, copper and titanium dioxide nanoparticles using *Artemisia haussknechtii* leaf extract. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 46(8): 2066-2081.
- Beklioglu, M., Telli, M., Gozen, A.G. 2006. Fish and mucus-dwelling bacteria interact to produce a kairomone that induces diel vertical migration in *Daphnia*. *Freshwater Biology*. 51(12): 2200-2206.
- Cámara-Ruiz, M., Cerezo, I.M., Guardiola, F.A., García-Beltrán, J.M., Balebona, M.C., Moriñigo, M.Á., Esteban, M.Á. 2021. Alteration of the Immune Response and the Microbiota of the Skin during a Natural Infection by *Vibrio harveyi* in European Seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Microorganisms*. 9(5): 964-982.
- Carpenter, K.E., Krupp, F., Jones, D.A. 1997. Living marine resources of Kuwait, Eastern Saudi Arabia, Bahrain, Qatar, and the United Arab Emirates. Food & Agriculture Org.
- Coad, W. 1992. Check list and bibliography of Persian Gulf fish. Available in: <http://sharkyear.com/2012/checklist-of-sharksof-the-persian-gulf.html>.
- Dash, S., Das, S., Samal, J., Thatoi, H. 2018. Epidermal mucus, a major determinant in fish health: a review. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 19(2): 72-81.
- De Domenico, S., De Rinaldis, G., Paulmery, M., Piraino, S., Leone, A. 2019. Barrel jellyfish (*Rhizostoma pulmo*) as source of antioxidant peptides. *Marine Drugs*. 17(2): 134-155.
- Devi, N.P., Das, S., Sanjukta, R., Singh, S. 2019. A comparative study on antibacterial activity of integumentary extract of selected freshwater fish Species and Neem extracts against gram-positive and gram-negative bacteria. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 7(2): 1352-1355.
- Duan, X.-J., Zhang, W.-W., Li, X.-M., Wang, B.-G. 2006. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chemistry*. 95(1): 37-43.
- Ebrahimzadeh, M.A., Khalili, M., Dehpour, A.A. 2018. Antioxidant activity of ethyl acetate and methanolic extracts of two marine algae, *Nannochloropsis oculata* and *Gracilaria gracilis*-an in vitro assay. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 54(1): e17280.
- Ferreira, I.C., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L. 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*. 100(4): 1511-1516.
- Gustafsson, J.K., Navabi, N., Rodriguez-Piñeiro, A.M., Alomran, A.H., Premaratne, P., Fernandez, H.R., Banerjee, D., Sjövall, H., Hansson, G.C., Lindén, S.K. 2013. Dynamic changes in mucus thickness and ion secretion during *Citrobacter rodentium* infection and clearance. *PLoS One*. 8(12): e84430.
- Hay, M.E. 2009. Marine chemical ecology: chemical signals and cues structure marine populations, communities, and ecosystems. *Annual Review of Marine Science*. 1: 193-212.
- Hidayati, J.R., Yudiati, E., Pringgenies, D., Arifin, Z., OktaviyanI, D.T. 2019. Antioxidant activities, total phenolic compound and pigment contents of tropical *Sargassum* sp. extract, macerated in different solvents polarity. *Jurnal Kelautan Tropis*. 22(1): 73-80.
- Hoseinifar, S.H., Jahazi, M.A., Mohseni, R., Raeisi, M., Bayani, M., Mazandarani, M., Yousefi, M., Van Doan, H., Mozanzadeh, M.T. 2020. Effects of dietary fern (*Adiantum capillus-veneris*) leaves powder on serum and mucus antioxidant defence, immunological responses, antimicrobial activity and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*. 106(1): 959-966.

- Makarova, K., Sajkowska-Kozielewicz, J.J., Zawada, K., Olchowik-Grabarek, E., Ciach, M.A., Gogolewski, K., Dobros, N., Ciechowicz, P., Freichels, H., Gambin, A. 2021. Harvest time affects antioxidant capacity, total polyphenol and flavonoid content of Polish St John's wort's (*Hypericum perforatum* L.) flowers. *Scientific Reports*. 11(1): 1-12.
- Molan, A.L. 2017. Antioxidant, free radical scavenging activities and total polyphenolic content of aqueous extracts from seven blueberry cultivars grown in New Zealand. *American Journal of Life Science Researches*. 5(1): 18-29.
- Moody, K.N., Kawano, S.M., Bridges, W.C., Blob, R.W., Schoenfuss, H.L., Ptacek, M.B. 2017. Contrasting post-settlement selection results in many-to-one mapping of high performance phenotypes in the Hawaiian waterfall-climbing goby *Sicyopterus stimpsoni*. *Evolutionary Ecology*. 31(4): 489-516.
- Oyaizu, M. 1986. Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. 44(3): 307-315.
- Rajan, B., Lokesh, J., Kiron, V., Brinchmann, M.F. 2013. Differentially expressed proteins in the skin mucus of Atlantic cod (*Gadus morhua*) upon natural infection with *Vibrio anguillarum*. *BMC Veterinary Research*. 9(1): 1-11.
- Ross, N.W., Firth, K.J., Wang, A., Burka, J.F., Johnson, S.C. 2000. Changes in hydrolytic enzyme activities of naive Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of Aquatic Organisms*. 41(1): 43-51.
- Salinas, I. 2015. The mucosal immune system of teleost fish. *Biology*. 4(3): 525-539.
- Sanahuja, I., Fernández-Alacid, L., Ordóñez-Grande, B., Sánchez-Nuño, S., Ramos, A., Araujo, R.M., Ibarz, A. 2019. Comparison of several non-specific skin mucus immune defences in three piscine species of aquaculture interest. *Fish & Shellfish Immunology*. 89(3): 428-436.
- Shephard, K.L. 1994. Functions for fish mucus. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 4(4): 401-429.
- Sinha, R., Shukla, P. 2019. Antimicrobial peptides: Recent insights on biotechnological interventions and future perspectives. *Protein and Peptide Letters*. 26(2): 79-87.
- Soleimani, S., Moein, S., Yousefzadi, M., Amrollahi Bioki, N. 2017. Determination of *in vitro* antioxidant properties, anti-inflammatory effects and A-amylase inhibition of purple sea urchin extract of *Echinometra mathaei* from the Persian Gulf. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 12(3): e36547.
- Soleimani, S., Yousefzadi, M., Rezadoost, H., Bioki, N.A. 2016. Identification and antioxidant of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from sea urchin pigments of *Echinometra mathaei*. *Medicinal Chemistry Research*. 25(7): 1476-1483.
- Sridhar, A., Sekar, R.K., Manikandan, D.B., Arumugam, M., Veeran, S., Ramasamy, T. 2020. Activity profile of innate immune-related enzymes and bactericidal of freshwater fish epidermal mucus extract at different pH. *Environmental Science and Pollution Research*. 28(2): 1-13.
- Stabili, L. 2019. The mucus of marine invertebrates: Cnidarians, polychaetes, and echinoderms as case studies. *Enzymatic Technologies for Marine Polysaccharides*. CRC Press. pp. 151-162.
- Stabili, L., Licciano, M., Giangrande, A., Gerardi, C., De Pascali, S.A., Fanizzi, F.P. 2019. First insight on the mucus of the annelid *Myxicola infundibulum* (Polychaeta, Sabellidae) as a potential prospect for drug discovery. *Marine Drugs*. 17(7): 396-412.
- Subhashini, S., Lavanya, J., Jain, S., Agihotri, T. 2013. Screening of antibacterial and cytotoxic activity of extracts from epidermis and epidermal mucus of *Barbonymus schwanenfeldii* (Tinfoil barb fish). *International Journal of Research in Engineering and Technology*. 2(04): 492-497.
- Terova, G., Cattaneo, A.G., Preziosa, E., Bernardini, G., Saroglia, M. 2011. Impact of acute stress on antimicrobial polypeptides mRNA copy number in several tissues of marine sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *BMC Immunology*. 12(1): 1-19.
- Vaid, V., Hundal, S. 2019. Light microscopic studies to evaluate fish scales as non-invasive indicators of heavy metal-contaminated waters. *Environmental Monitoring and Assessment*. 191(10): 1-11.
- van den Bogaard, E., Ilic, D., Dubrac, S., Tomic-Canic, M., Bouwstra, J., Celli, A., Mauro, T. 2021. Perspective and consensus opinion: good practices for using organotypic skin and epidermal

- equivalents in experimental dermatology research. *The Journal of Investigative Dermatology*. 141(1): 203-205.
- Van der Marel, M., Caspari, N., Neuhaus, H., Meyer, W., Enss, M.L., Steinhagen, D. 2010. Changes in skin mucus of common carp, *Cyprinus carpio* L., after exposure to water with a high bacterial load. *Journal of Fish Diseases*. 33(5): 431-439.
- Wen, B., Zhou, J.Q., Gao, J.Z., Chen, H.R., Shen, Y.Q., Chen, Z.Z. 2020. Sex-dependent changes in the skin mucus metabolome of discus fish (*Symphysodon haraldi*) during biparental care. *Journal of Proteomics*. 221(3): 103784.
- Whittington, C.M., Friesen, C.R. 2020. The evolution and physiology of male pregnancy in syngnathid fishes. *Biological Reviews*. 95(5): 1252-1272.
- Zamzow, J.P. 2007. Ultraviolet-absorbing compounds in the mucus of shallow-dwelling tropical reef fishes correlate with environmental water clarity. *Marine Ecology Progress Series*. 343(2): 263-271.
- Zarei Jeliani, Z., Soleimani, S., Pirian, K., Amiri Moghadam, Sh., Yousefzadi, M. 2020. analysis of bioactive compounds in some marine seaweeds along the coastline of Bandar Abbas, Iran. *Journal of Phycological Research*. 4(1): 444-457.
- Zawawi, N.Z.M., Shaari, R., Nordin, M.L., Hamdan, R.H., Peng, T.L., Zalati, C.S.C. 2020. Antibacterial and cytotoxic activity assessment of *Channa striatus* (Haruan) extract. *Veterinary World*. 13(3): 508-514.