نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۴۰۴؛ ۱۹(۲): ۳۷-۴۶.
http://doi.org/ 10.22034/ijvcs.2026.14894.1091

تأثیر عصاره پوست انار بر سمیت مغزی ناشی از کادمیم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)؛ ارزیابی هیستوپاتولوژیک

حسین جعفرزاده[۱]، سوده علیدادی[۲*]، داور شاهسونی[۳]

۱. دانش‌آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- ایران.
۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- ایران.
۳. گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- ایران.

دریافت: ۷ بهمن‌ماه ۱۴۰۴ **پذیرش:** ۳ خردادماه ۱۴۰۵

چکیده

این پژوهش باهدف بررسی اثرات حفاظتی عصاره پوست انار بر بافت مغز در مسمومیت تجربی با کادمیم در ماهی کپور انجام شد. ۱۵۰ ماهی کپور معمولی در سه تکرار به‌صورت تصادفی در ۵ گروه تقسیم شده و به مدت چهار هفته مورد بررسی قرار گرفتند. گروه شاهد بدون کادمیم، گروه کادمیم میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم کلرید؛ گروه کادمیم+عصاره۱٪، علاوه بر ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم کلرید در آب، مقدار ۰/۳۵ گرم عصاره پوست انار (۱ درصد وزن غذا)؛ گروه کادمیم+عصاره۲٪، علاوه بر کادمیم، ۰/۷ گرم عصاره پوست انار (۲ درصد وزن غذا)؛ و گروه کادمیم+عصاره ۴٪ نیز علاوه بر کادمیم، ۱/۴ گرم عصاره پوست انار (۴ درصد وزن غذا) را در چهار وعده غذایی به طور مساوی دریافت کردند. پس از اتمام دوره تیمار به مدت چهار هفته، از هر گروه ۶ ماهی به طور تصادفی انتخاب شده و نمونه‌های بافتی از مغز آن‌ها گرفته، در فرمالین ۱۰ درصد بافر خنثی پایدار شده، و با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ شدند. تغییرات هیستوپاتولوژیکی مشاهده شده در بافت مغز گروه کادمیم شامل پرخونی، خونریزی، دژنراسیون و نکروز نورون‌ها، ادم و حالت واکوئولاسیون، و گلیوز بودند. در مقادیر مختلف عصاره پوست انار به‌ویژه ۲ و ۴ درصد کاهش تغییرات مشاهده شد؛ ولی تنها در گروه کادمیم+عصاره ۴٪ نسبت به گروه کادمیم معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). به‌طورکلی می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که عصاره ۴ درصد پوست انار اثرات محافظتی قابل‌توجهی بر بافت مغز در مسمومیت تجربی با کادمیم در ماهی کپور دارد.

واژه‌های کلیدی: کادمیم کلرید، عصاره پوست انار، هیستوپاتولوژی، مغز، ماهی کپور معمولی

مقدمه

باوجود اهمیت بالای صنعت آبزی‌پروری در تولید مواد غذایی و پروتئینی، این صنعت همواره با چالش‌های مهمی از جمله بروز بیماری‌های عفونی، مشکلات مدیریتی، و مسائل مربوط به بهداشت خوراک و آب مواجهه می‌شود. یکی از مواردی که می‌تواند در صنعت آبزی‌پروری مشکل-ساز و تهدیدآفرین باشد، وجود آلاینده‌هایی با منشأ فلزات سنگین در اکوسیستم‌های آبی است که اغلب ناشی از فعالیت‌های صنعتی، خانگی و انسانی هستند. این فلزات می‌توانند از طریق آب و غذا وارد بدن ماهی شده، در بافت-های مختلف ماهی تجمع پیدا کرده و باعث ایجاد اثرات مضر، نقص در عملکرد و ساختار بافت‌ها یا اندام‌ها شده، و در صورت زنده‌مانی ماهی‌ها، به زنجیره غذایی انسان وارد شوند (۱ و ۱۸). کادمیم به‌عنوان یکی از فلزات سنگین مهم و خطرناک برای بهداشت عمومی شناخته می‌شود (۱۴). این فلز سنگین ممکن است از منابعی مانند سوخت‌های فسیلی، کودهای شیمیایی، باطری‌های فرسوده، رنگ‌ها، و زباله‌های شهری وارد آب شده و ماهی‌ها را در معرض مسمومیت قرار دهد (۱۸). کادمیم می‌تواند بافت‌های مختلف ماهی را تحت تأثیر قرار داده و سبب ایجاد آسیب و تغییرات بافتی در آن‌ها شود. برای مثال، نشان داده شده است که این فلز می‌تواند تغییرات بافتی مختلفی را در کبد، کلیه و آبشش ماهی‌ها ایجاد کرده و میزان تولیدمثل و باروری آن‌ها را نیز کاهش دهد (۱۳، ۱۷، ۱۸ و ۲۴).

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: salidadi@um.ac.ir

همچنین، این فلز سنگین می‌تواند اثرات منفی بر دستگاه‌های تنفسی، تناسلی، عصبی، ایمنی، درون‌ریز، و قلبی - عروقی انسان داشته باشد و به‌عنوان یک عامل سرطان‌زا نیز مطرح است (۱۴، ۱۸ و ۳۲). برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که سازوکارهای دخیل در ایجاد اثرات مخرب کادمیم در بافت‌های ماهی، تولید رادیکال‌های آزاد، کاهش مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون چربی‌ها، و استرس اکسیداتیو هستند (۳، ۱۶، ۲۵ و ۳۳). تاکنون در چندین مطالعه گزارش شده است که مواجهه ماهی‌ها با کادمیم کلرید از طریق تولید استرس اکسیداتیو باعث سمیت عصبی و ایجاد تغییرات بافتی و بیوشیمیایی در بافت مغز می‌شود (۲۰، ۳۰ و ۴۰). برای مثال، Zheng و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که کادمیم از طریق اختلال در بیان ژن‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، نیتریک اکسید سنتاز القایی و سیکلواکسیژناز-۲ سبب افزایش استرس اکسیداتیو و گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن، و مالون دی‌آلدئید در بافت‌های کبد و مغز ماهی زبرا می‌شود. همچنین، کادمیم سبب افزایش شدید سطوح فاکتور نکروز توموری آلفا در بافت‌های مغز، کبد و تخمدان شد که احتمالاً نشان‌دهنده فعال‌سازی پاسخ‌های التهابی و پتانسیل سمیت ایمنی آن است (۴۰). علاوه بر این، Tian و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان دادند که مواجهه ماهی زبرای مولد با کادمیم کلرید می‌تواند منجر به کاهش انتقال-دهنده‌های عصبی و اختلال در تکوین بافت عصبی و متابولیسم انتقال‌دهنده‌ها در بچه‌ماهیان نسل F1 شده و ازاین‌رو، سمیت عصبی بین‌نسلی شود (۳۰). پیشنهاد شده است که استفاده از ترکیبات و داروهای گیاهی دارای خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی ممکن است از اثرات سوء کادمیم بکاهد یا از آن‌ها پیشگیری کند (۱۶، ۱۷ و ۲۵). انار (*Punica granatum*) یکی از میوه‌های بومی ایران است که با طیف گسترده‌ای از شرایط اقلیمی سازگار است. ترکیبات مختلفی، به‌ویژه فلاوونوئیدها و ترکیبات فنولی مانند گالیک اسید، الاژیک اسید، و الاژی تانن‌ها اغلب در بخش‌های گوناگون انار متمرکز شده‌اند که می‌توانند التهاب و سایر بیماری‌ها را کاهش دهند (۵، ۲۷، ۲۸، ۳۲ و ۳۳). اثرات پیشگیرانه عصاره میوه انار در برابر سرطان، دیابت، تصلب شرائین و بیماری‌های قلبی-عروقی به اثبات رسیده است (۱۱، ۲۶ و ۲۸). این خواص تغذیه‌ای تنها به قسمت خوراکی میوه انار محدود نمی‌شود و بخش‌های غیرخوراکی آن مانند پوست نیز حاوی مقادیر فراوانی از ترکیبات مغذی و فعال بیولوژیکی (حدود ۱۰ برابر ترکیبات فنولی در آب انار) هستند. گزارش شده است که عصاره پوست انار دارای خواص ترمیم‌کنندگی زخم، مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد میکروبی، و ضد توموری است (۲، ۱۰، ۲۶، ۲۸، ۲۹ و ۳۴). برای مثال، Ahmadniaye Motlagh و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان دادند که تغذیه ماهیان حوض (*Carassius auratus*) با عصاره الکلی پوست انار، به‌ویژه در غلظت‌های ۲٪ و ۴٪ باعث بهبود عملکرد رشد، کاهش باکتری‌های گرم منفی و افزایش قارچ‌های مفید در روده آن‌ها می‌شود (۲). همچنین، Shafiei و همکاران در سال ۲۰۱۶ تأثیر قابل‌توجه عصاره الکلی پوست انار بر شاخص‌های خونی مانند هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول-های قرمز، پروتئین کل سرم، و فعالیت لیزوزیمی در ماهیان کپور معمولی را نشان دادند و آن را به‌عنوان یک محرک گیاهی برای تقویت سیستم ایمنی ماهی‌ها پیشنهاد دادند (۲۷). باتوجه‌به پتانسیل کادمیم در القای استرس اکسیداتیو و ایجاد سمیت و آسیب در بافت عصبی و همچنین، خواص آنتی‌اکسیدانی پوست انار، هدف از این پژوهش بررسی پتانسیل عصاره پوست انار در کاهش اثرات سمی احتمالی ناشی از کادمیم کلرید در بافت مغز ماهی کپور با روش هیستوپاتولوژی است.

مواد و روش کار

برای تهیه عصاره پوست انار، پوست‌های انار کاشمر (کاشمر، خراسان رضوی، ایران) به‌خوبی با آب مقطر شسته شده، در آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز خشک، و سپس آسیاب شدند. در مرحله بعد، ۱۰ گرم از پودر تهیه‌شده با دستگاه عصاره‌گیری سوکسله با استفاده از مخلوط مساوی چهار حلال آب، اتیل استات، استون، و

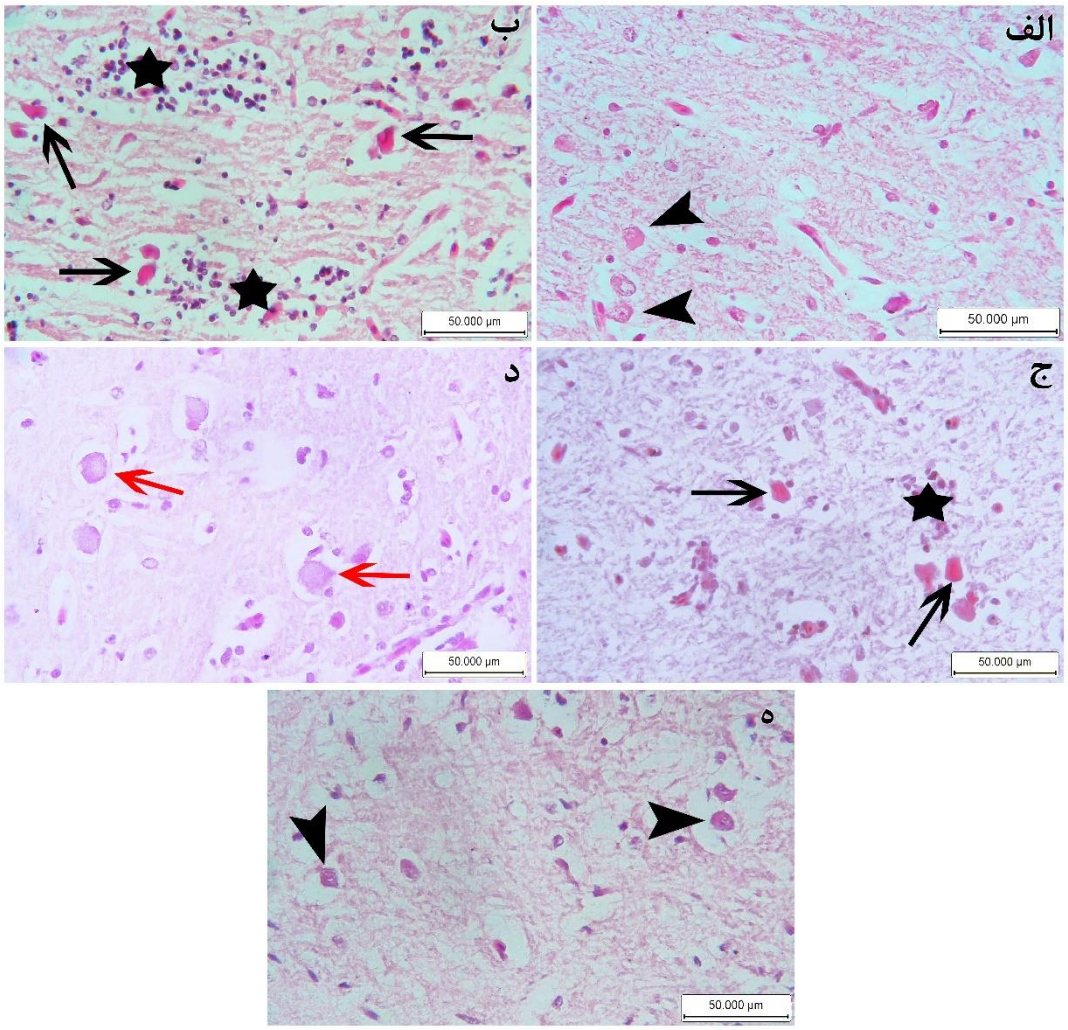
اتانول عصاره‌گیری شد. فرایند عصاره‌گیری در سه تکرار و هر کدام به مدت شش ساعت به طول انجامید. عصاره‌های به‌دست‌آمده در ۴۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت سه دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن (شماره ۴۱) صاف شدند تا ذرات ریز از آن‌ها خارج و حذف شوند. در نهایت، عصاره تهیه شده در یک آون خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و خشک شد. عصاره پوست انار آسیاب شده، و پودر به‌دست‌آمده تا زمان استفاده در دمای منفی ۱۸ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (۳۹).

این پژوهش مطابق با دستورالعمل و تأیید کمیته استفاده و مراقب از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد (کد اخلاق: IR.UM.REC.1401.133). در این طرح پژوهشی، ۱۵۰ ماهی کپور معمولی با وزن تقریبی ۰/۸۵ ± ۶۵ گرم استفاده شد که به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط در آزمایشگاه نگه‌داری شده و به میزان ۳ ٪ وزن بدن در دو وعده غذا دریافت کردند. پس از دوره سازگاری و همچنین آماده‌سازی برای ورود به آزمایش، ۱۵۰ عدد ماهی کپور مورد آزمایش به طور تصادفی به ۵ گروه با سه تکرار (۳۰ ماهی در هر گروه) در ۱۵ اکواریوم شیشه‌ای تقسیم‌بندی و توزیع شده و به‌مدت چهار هفته بررسی شدند. در گروه شاهد، ماهی‌ها ۲/۵ درصد وزن بدن جیره معمولی بدون کادمیم کلرید را در چهار وعده غذایی به‌طور مساوی دریافت کردند. ماهی‌های گروه کادمیم علاوه بر ۲/۵ درصد وزن بدن جیره معمولی، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم کلرید نیز در آب دریافت کردند. در گروه‌های کادمیم+عصاره ۱٪، کادمیم+عصاره ۲٪، و کادمیم+عصاره ۴٪، ماهی‌ها علاوه بر ۲/۵ درصد وزن بدن جیره معمولی و میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم کلرید در آب، به ترتیب ۰/۳۵ گرم (۱ درصد وزن غذا)، ۰/۷ گرم (۲ درصد وزن غذا)، و ۱/۴ گرم (۴ درصد وزن غذا) عصاره پوست انار را در چهار وعده غذایی دریافت کردند) (۱۱ و ۱۶). پس از گذشت چهار هفته از شروع پژوهش، دو ماهی از هر تکرار انتخاب شده و با استفاده از پودر فلفل سیاه (۰/۵ گرم بر لیتر) بیهوش شده و کالبدگشایی شدند (۲ و ۱۶). در کالبدگشایی، بافت مغز ماهی‌ها خارج شده و جهت بررسی هیستوپاتولوژی از آن نمونه‌برداری شد. نمونه‌های بافتی جمع‌آوری شده از مغز ماهی‌ها بلافاصله در ظروف حاوی محلول فرمالین ۱۰ درصد بافر خنثی پایدار شده و ۲۴ ساعت بعد با محلول فرمالین تازه تعویض شد. جهت تهیه اسلایدهای هیستوپاتولوژی به روش معمول، نمونه‌های بافتی در دستگاه اتوتکنیکون قرار گرفته و مراحل آب‌گیری با درجات مختلف اتانول و شفاف‌سازی با گزیلل انجام گرفت. نمونه‌های بافتی توسط پارافین مذاب قالب‌گیری شده و از نمونه‌های حاصله با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. در نهایت، مقاطع بافتی تهیه‌شده با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شده و از نظر وجود تغییرات بافتی مانند پرخونی عروق مغزی، دژنراسیون و نکروز نورونی، ادم و واکوئولاسیون، و گلیوز در زیر میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکس‌برداری (الیمپوس، ژاپن) مورد ارزیابی قرار گرفتند و رتبه‌دهی شدند. برای رتبه‌دهی تغییرات هیستوپاتولوژیک نمونه‌های بافت مغز از سیستم زیر استفاده شد: (–): بافت سالم و بدون تغییرات؛ (+): تغییرات بافتی در کمتر از ۲۰ درصد میدان‌های میکروسکوپی مورد بررسی؛ (++): تغییرات بافتی در ۲۰٪-۶۰ میدان‌ها؛ و (+++): تغییرات بافتی در بیش از ۶۰٪ میدان‌های میکروسکوپی (۳۸). به‌منظور ارزیابی آماری داده‌های حاصل از پژوهش حاضر، نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ مورد استفاده قرار گرفت. جهت مقایسه و آنالیز نتایج به‌دست‌آمده از بررسی هیستوپاتولوژیک، از آزمون‌های کروسکال-والیس و من ویتنی استفاده شد. مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

نتایج

در مقایسه با گروه شاهد که نورون‌های طبیعی با سیتوپلاسم فراوان و هسته وزیکولر و روشن حاوی هستک مشخص قابل‌رؤیت بودند (شکل ۱الف)، مقاطع بافت مغز در گروه کادمیم پرخونی یا احتقان و خونریزی را نشان دادند. تجمع کانونی سلول‌های گلیال به‌صورت گلیوز در کنار نورون‌های نکروزه مشاهده شدند. نورون‌های دارای سیتوپلاسم به شدت ائوزینوفیلیک حاوی هسته پیکنوزه بدون هستک مشخص نکروز نورونی را نشان دادند (شکل

۱ب). همچنین، ادم و واکوئولاسیون در بافت‌های مغز مربوط به ماهی‌های این گروه مشهود بود. در گروه کادمیم+عصاره ۱٪، مقاطع بافت مغز همچنان به طور قابل-ملاحظه‌ای تغییرات نکروتیک در نورون‌ها و گلیوز را نشان دادند (شکل ۱ج). در گروه دریافت‌کننده کادمیم به همراه عصاره ۲٪ پوست انار، دژنراسیون و نکروز نورونی و ادم همچنان مشهود بود، هر چند از شدت آن‌ها کاسته شده بود ($p>0/05$). در بافت مغز ماهی‌های این گروه گلیوز مشاهده نشد (شکل ۱د). در بررسی میکروسکوپی مقاطع بافتی مربوط به مغز ماهی‌های گروه کادمیم+عصاره ۴٪ بهبود قابل‌توجهی در ضایعات پرخونی، دژنراسیون و نکروز نورون‌ها دیده شد ($p<0/05$)، گلیوز قابل‌مشاهده نبود، و از شدت ادم و واکوئولاسیون بافت مغز نیز در مقایسه با گروه کادمیم تاحدی کاسته شده بود ($p>0/05$) (شکل ۱ه، جدول ۱).



شکل ۱- تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت مغز پس از ۲۸ روز در ماهی‌های کپور معمولی مربوط به گروه‌های شاهد (**الف**)، کادمیم (**ب**)، کادمیم+عصاره پوست انار ۱٪ (**ج**)، کادمیم+عصاره ۲٪ (**د**)، و کادمیم+عصاره ۴٪ (**ه**). نوک پیکان: نورون سالم دارای هسته وزیکولر و روشن با هستک مشخص. پیکان سیاه: نورون‌های نکروزه با سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک و هستک نامشخص. ستاره‌ها: گلیوز به‌صورت تجمع کانونی سلول‌های گلیال. پیکان قرمز رنگ: دژنراسیون نورون‌ها یا کروماتولیز مرکزی همراه با جسم سلولی متورم. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگ‌نمایی ۴۰۰×، مقیاس خطی=۵۰ میکرون.

جدول ۱- بررسی هیستوپاتولوژیک بافت مغز ماهی‌های کپور در گروه‌های مختلف پس از ۴ هفته

یافته‌های هیستوپاتولوژیک	پرخونی و احتقان	ادم و واکوئولاسیون	دژنراسیون و نکروز نورون‌ها	گلیوز
گروه شاهد	+	-	-	-
گروه کادمیم	+++	+++	+++	++
گروه کادمیم+عصاره۱٪	++	++	+++	+
گروه کادمیم+عصاره۲٪	+	++	++	-
گروه کادمیم+عصاره۴٪	+	++	+	-

(-): بافت سالم و بدون تغییرات؛ (+): تغییرات بافتی در کمتر از ۲۰ درصد میدان‌های میکروسکوپی؛ (++): تغییرات بافتی در ۶۰-۲۰٪ میدان‌ها؛ و (+++): تغییرات بافتی در بیش از ۶۰٪ میدان‌های میکروسکوپی (۳۸).

بحث

در پژوهش حاضر، بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک مسمومیت تجربی با کادمیم کلرید در ماهی کپور نشان داد کادمیم در بافت مغز سبب ایجاد تغییرات مختلفی مانند پرخونی یا احتقان، خونریزی، ادم و ایجاد واکوئولاسیون بافت مغز، دژنراسیون و نکروز نورونی، و گلیوز شدید می‌گردد. در نورون‌ها شواهدی از هسته وزیکولر و روشن با موقعیت مرکزی در سلول سالم و هستک مشخص نبود. هسته‌های سلولی در مواردی محو و ناپدید یا پیکنوزه شده بودند و تغییرات نکروتیک را نشان دادند. به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که آسیب وارده به بافت مغز ماهی‌های کپور به‌واسطه مواجهه با کادمیم کلرید شدید بود. مطالعات قبلی نیز مؤید آسیب شدید وارده به بافت‌های مختلف ماهی‌ها پس از مواجهه با کادمیم هستند. برای مثال، Jafarzadeh و همکاران در سال ۲۰۲۴ در پژوهش قبلی خود نشان دادند که پس از چهار هفته مواجهه، کادمیم کلرید می‌تواند باعث تخریب شدید بافت‌های آبشش، کبد، و کلیه در ماهی‌های کپور شود. این بافت‌ها دچار تغییراتی نظیر دژنراسیون و نکروز شدید هپاتوسیت‌های کبد، و احتقان، خونریزی، چماقی-شدگی و جوش‌خوردگی تیغه‌های ثانویه و تلانژیکتازی آن‌ها در بافت آبشش شدند (۱۷). همچنین، متعاقب مواجهه ماهی-های کپور با کادمیم به مدت چهار هفته احتقان، خونریزی، دژنراسیون و نکروز سلول‌های پوششی مفروش‌کننده لوله‌های کلیه، و کست‌ها یا قالب‌های هیالینی در داخل مجرای لوله-های بافت کلیه مشاهده شدند (۱۷). در یک پژوهش، Al-Sawafi و همکاران در سال ۲۰۱۷ اثرات مسمومیت حاد با کادمیم را بر هیستوپاتولوژی بافت مغز در ماهی‌های زبرا بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند که مواجهه ماهی‌ها با کادمیم به‌خصوص در غلظت‌های بالاتر تغییرات قابل‌توجهی مانند نکروز سلول‌های عصبی و گلیوز را در روزهای ۵ و به‌ویژه ۲۵ پس از مواجهه ایجاد کرد که ممکن است در صورت زنده‌مانی ماهی‌ها، رفتار و عملکرد طبیعی آن‌ها را نیز تحت تأثیر قرار دهد. در این مطالعه مغز به‌عنوان یکی از بافت‌های حساس و آسیب‌پذیر در برابر سمیت کادمیم کلرید معرفی شد (۶). گزارش شده است که کادمیم یک مهارکننده غیررقابتی استیل کولین استراز است و فعالیت این آنزیم در مواجهه با ۵/۷ mM کادمیم به مدت ۷۷ دقیقه تا ۵۰ درصد کاهش پیدا می‌کند و می‌توان از این آنزیم به‌عنوان شاخصی مهم برای بررسی نوروتوکسیسیتی یا سمیت عصبی ناشی از کادمیم بهره برد (۱۲ و ۳۵).

همچنین، نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های Topal و همکاران در سال ۲۰۱۴ همخوانی داشت، به‌نحوی که آن‌ها نشان دادند مواجهه ماهی‌های قزل‌آلا با میزان ۲ ppm کادمیم کلرید سبب ادم و دژنراسیون و نکروز شدید نورون‌ها در لایه پورکنژ مخچه می‌شود که نشان‌دهنده اثرات نوروتوکسیک کادمیم است. آن‌ها این اثرات کادمیم را به رخ-داد استرس اکسیداتیو در بافت مغز نسبت دادند؛ بدین ترتیب که تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافت مغز سبب آسیب به DNA میتوکندری و هسته، پروتئین‌ها، و غشای سلولی شده که ممکن است در نهایت به مرگ سلول منتهی گردد (۳۱).

در پژوهشی دیگر، Patnaik و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش دادند که غلظت تحت‌کشنده کادمیم کلرید (ppm ۱/۶) پس از ۲۸ روز سبب ایجاد ضایعاتی در آبشش، کبد، و مغز ماهیان کپور می‌شود. هم‌راستا با پژوهش حاضر، کادمیم سبب دژنراسیون و نکروز شدید نورون‌ها و حالت واکوئولاسیون در بافت مغز شد که نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر را تأیید می‌کند. آن‌ها پیشنهاد دادند که واکوئولاسیون در بافت مغز ممکن است ناشی از گلیکولیز و آسیب میتوکندریایی باشد (۲۴).

چندین پژوهش پاتوژنز کادمیم را به سرکوب مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی مرتبط دانسته و نشان داده‌اند که این فلز سنگین می‌تواند سبب پراکسیداسیون لیپیدها و استرس اکسیداتیو، و در نتیجه، آسیب به بافت‌های مختلف شود (۱۶ و ۲۴)؛ بنابراین، این اثرات سمی و مخرب کادمیم بر اهمیت به‌کارگیری روش‌هایی مؤثر مانند ترکیبات طبیعی در به‌حداقل‌رساندن یا جلوگیری از اثرات مضر فلزات سنگینی مانند کادمیم تأکید می‌کند. برای مثال، Hamed و Abdel-Tawwab در سال ۲۰۲۱ نشان دادند که افزودن پودر پوست انار به رژیم غذایی ماهی تیلاپیا نیل می‌تواند اثرات نامطلوب ناشی از نانوذرات نقره را کاهش دهد (۱۵). در آن پژوهش، پوست انار به طور قابل‌توجهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد و آسیب بافتی ناشی از نانوذرات را در کبد و کلیه کاهش داد (۱۵). همچنین، پژوهش دیگری نشان داد که عصاره پوست انار به طور قابل‌ملاحظه‌ای پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داده و آسیب بافتی و مرگ سلولی را در کبد موش‌های ویستار در معرض سرب بهبود می‌بخشد (۸). Jafari و همکاران در سال ۲۰۲۳ نیز بیان نمودند که عصاره پوست انار به طور مؤثری کاهش سطح آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی کبد و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از مواجهه با کادمیم را طی یک دوره ۱۴۰ روزه در ماهی‌های کپور معکوس می‌کند (۱۶). در پژوهش حاضر نیز اثرات محافظتی عصاره پوست انار بر بافت مغز ماهیان کپور بررسی شد و نتایج نشان دادند که به‌ویژه عصاره ۴٪ می‌تواند تغییرات هیستوپاتولوژیک ایجاد شده در بافت مغز به‌واسطه مواجهه با کادمیم کلرید را به طور قابل‌توجهی کاهش دهد.

مطالعات مختلف پیشنهاد داده‌اند که فعالیت آنتی-اکسیدانی پوست انار عمدتاً به وجود ترکیباتی مانند ویتامین C، فلاوونوئیدها، کورستین، اسید الاژیک، الاژی تانن‌ها، اسید گالیک، تانن‌ها، الاژیتانین‌ها و گالوتانن‌ها ارتباط دارد (۵، ۲۱، ۲۸ و ۳۷). این ترکیبات می‌توانند فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش، پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش، کادمیم را شلاته کرده، و رسوب و تجمع بافتی آن را مهار کنند (۱۹، ۲۳ و ۳۲). همچنین، گزارش شده است که فلاوونوئیدها و اسید الاژیک موجود در پوست انار می‌توانند به‌عنوان جاذب‌هایی قوی و عوامل شلاته و خنثی‌کننده قوی برای رادیکال‌های آزاد $O2^-$ و OH تولید شده از طریق متابولیسم فلزات سنگین عمل کنند (۹، ۱۹ و ۳۲). گزارش شده است که وجود اتم‌های هیدروژن در ساختار اسید گالیک می‌تواند گونه‌های فعال اکسیژن را از موضع خارج کند (۲۲ و ۲۳). علاوه بر این، اسید گالیک دارای پتانسیل ضدالتهابی است و می‌تواند واسطه‌های التهابی ناشی از کادمیوم، از جمله میلوپراکسیداز، اینترلوکین-۶ و نیتریک اکسید را در مغز موش کاهش داده و به‌عنوان یک ضدالتهاب عمل کند (۲۱-۲۳). یک بررسی مروری با ارزیابی پژوهش‌های انجام شده بر روی اثرات الاژی تانن‌ها بر سیستم عصبی نشان داده است که پلی‌فنول‌های اسید الاژیک و الاژی تانن‌های موجود در انار دارای اثرات ضدالتهابی، ضدسرطانی، و آنتی‌اکسیدانی بوده و این ترکیبات به‌واسطه اثرات محافظت عصبی خود، دارای فواید بسیاری برای سلامت مغز و فرایندهای عصبی می‌باشند (۹ و ۲۳). Winiarska-Mieczan و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که اسید تانیک موجود در پوست انار می‌تواند تجمع کادمیم را در ریه و قلب موش کاهش دهد (۳۶). علاوه بر این، Al-Onazi و همکاران در سال ۲۰۲۱ با موفقیت کربن فعال و عصاره پوست انار را به‌عنوان جاذبی برای حذف سرب و کادمیم کلرید (رایج‌ترین شکل کادمیم و بسیار محلول در آب) از اکوسیستم‌های آبی استفاده کردند (۴). علاوه بر این،

Amri و همکاران در سال ۲۰۱۷ اثر عصاره دانه، برگ، آب، و پوست انار بر فعالیت کولین استراز مغز، و استرس اکسیداتیو و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز موش‌های چاق ناشی از مصرف جیره فروکتوز بالا-چربی بالا را بررسی کردند. عصاره پوست انار تا حد زیادی فعالیت کولین استراز مغز را کاهش داد، از تجمع لیپید در مغز پیشگیری کرد، و از مغز در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کرده و سطح فعالیت آنتی‌اکسیدانی مغز را افزایش داد. آن‌ها عصاره‌های انار را به‌عنوان یک ترکیب با خواص محافظ عصبی پیشنهاد دادند و مکانیسم آن را به مهار کولین استراز و تحریک ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز ارتباط دادند (۷). اثبات شده است که افزایش فعالیت کولین استراز در مغز سبب کاهش حافظه و استرس اکسیداتیو شده و در بیماری‌زایی پارکینسون و آلزایمر نقش دارد؛ بنابراین، ترکیبات یا داروهای مهارکننده این آنزیم می‌توانند برای درمان این بیماری‌های نورودژنراتیو مورد استفاده قرار گرفته و مؤثر واقع شوند (۷).

در مجموع، اثرات مثبت عصاره پوست انار بر ضایعات ناشی از کادمیم کلرید در بافت مغز احتمالاً نشان‌دهنده پتانسیل محافظت از مغز و خواص آنتی‌اکسیدانی آن است. عصاره پوست انار به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر (۴٪) توانست نوروتوکسیسیتی و ضایعات هیستوپاتولوژیک ناشی از کادمیم کلرید در بافت مغز را کاهش دهد که می‌تواند نشان‌گر اثر وابسته به دوز آن باشد. اگرچه عصاره پوست انار ۴٪ آسیب بافتی ناشی از کادمیم کلرید را به طور قابل‌توجهی کاهش داد، اما همچنان ادم و واکوئولاسیون در بافت مغز مشهود بود. وجود ترکیبات گیاهی فعال در عصاره پوست انار و نقش محافظتی آن در برابر سمیت مغزی ناشی از کادمیم، پتانسیل آن را در زمینه سم‌شناسی آبزیان نشان می‌دهد.

قدردانی و تشکر

نویسندگان مراتب قدردانی خود را از آقای محمد محمدنژاد کارشناس آزمایشگاه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی فردوسی مشهد به‌واسطه کمک‌های فنی ایشان ابراز می‌دارند.

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد به انجام رسید (کد ۵۸۳۱۰).

منابع

1. Afshan, S; Ali, S; Ameen, U.S; Farid, M; Bharwana, S.A; Hannan, F. and Ahmad, R; Effect of different heavy metal pollution on fish. Res. J. Chem. Environ. Sci; 2014; 2(1):74-79.
2. Ahmadniaye Motlagh, H; Rokhnareh, Z; Safari, O. and Selahvarzi, Y; Growth performance and intestinal microbial changes of Carassius auratus in response to pomegranate (*Punica granatum*) peel extract-supplemented diets. J. World Aquac. Soc; 2021; 52(4):820-828.
3. Almeida, J; Diniz, Y; Marques, S; Faine, L; Ribas, B. and Burneiko, R; The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. Environ. Int; 2002; 27(8):673-679.
4. Al-Onazi, W.A; Ali, M.H.H. and Al-Garni, T; Using pomegranate peel and date pit activated carbon for the removal of cadmium and lead ions from aqueous solution. J. Chem; 2021; 2021:5514118.
5. Al-Rawahi, A.S; Rahman, M.S; Guizani, N. and Essa, M.M; Chemical composition, water sorption isotherm, and phenolic contents in fresh and dried pomegranate peels. Dry. Technol; 2013; 31(3):257-263.
6. Al-Sawafi, A.G.A; Wang, L. and Yan, Y; Cadmium accumulation and its histological effect on brain and skeletal muscle of zebrafish. J. Heavy Met. Toxicity Dis; 2017; 2:1.
7. Amri, Z; Ghorbel, A; Turki, M; Akrout, F.M; Ayadi, F; Elfeki, A. and Hammami, M; Effect of pomegranate extracts on brain antioxidant markers and

histopathology of testicular tissue in rats affected by acute toxemia induced by cadmium chloride. Iran. J. Vet. Clin. Sci; 2024; 18(2):77-88.
15. Hamed, H.S. and Abdel-Tawwab, M; Dietary pomegranate (*Punica granatum*) peel mitigated the adverse effects of silver nanoparticles on the performance, haemato-biochemical, antioxidant, and immune responses of nile tilapia fingerlings. Aquaculture; 2021; 540:736742.
16. Jafari, S; Rahbarian, R. and Noghreie, M; Protective effect of pomegranate peel (*Punica granatum*) ethanolic extract on common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to cadmium. Iran. Sci. Fish. J; 2023; 31(6):95-105.
17. Jafarzadeh, H; Shahsavani, D. and Alidadi, S; Protective effects of pomegranate peel extract on the gill, liver, and kidney in experimental cadmium poisoning in common carp (Cyprinus carpio). Iran. J. Vet. Sci. Technol; 2024; 16(2):35-43.
18. Kumar, P. and Singh, A; Cadmium toxicity in fish: an overview. GERF Bull. Biosci; 2010; 1(1):41-47.
19. Leiva, K.P; Rubio, J; Peralta, F. and Gonzales, G.F; Effect of *Punica granatum* (Pomegranate) on sperm production in male rats treated with lead acetate. Toxicol. Mech. Methods; 2011; 21(6):495-502.
20. Liu, J; Lu, W; Guo, Z.Y; Li Y.H. and Lv, W.F; Cadmium activated oxidative stress and endoplasmic reticulum stress pathway promote apoptosis in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) brain. Fish Shellfish Immunol; 2025; 165:110538.

cholinesterase activity in high fat-high fructose diet induced obesity in rat model. BMC Complement. Altern. Med; 2017; 17(1):339.
8. Azeem, A.A; El Shahat, A. and Mounir, A.M; Studying the effect of gamma-irradiated pomegranate peels aqueous extract against lead toxicity in Wistar rats. Pak. J. Zool; 2019; 51(1):347-353.
9. Banc, R; Rusu, M.E; Filip, L. and Popa, D.S; The impact of ellagitannins and their metabolites through gut microbiome on the gut health and brain wellness within the gut-brain axis. Foods; 2023; 12(2):270.
10. Bassiri-Jahromi, S; *Punica granatum* (Pomegranate) activity in health promotion and cancer prevention. Oncol. Rev; 2018; 12(1):345.
11. Chang, X; Li, H; Feng, J; Chen, Y; Nie, G. and Zhang, J; Effects of cadmium exposure on the composition and diversity of the intestinal microbial community of common carp (Cyprinus carpio L.). Ecotoxicol. Environ. Saf; 2019; 171:92-98.
12. Fadzil, N.I; Ahmad, S.A; Yasid, N.A; Sabullah, M.K; Daud, H.M; Khalid, A; Padrilah, S.N. and Shukor, M.Y; Characterisation of cholinesterase and histopathological features of brain of Clarias gariepinus following exposure to cadmium. J. Environ. Biol; 2019; 40:133-142.
13. Favorito, R; Chiarelli, G; Grimaldi, M.C; De Bonis, S. and Lancieri, M; Bioaccumulation of cadmium and its cytotoxic effect on zebrafish brain. Chem. Ecol; 2011; 27:39-46.
14. Ghazizadeh, A.A; Imani, M; Babaei, H. and Kheirandish R; The effect of homologous platelet rich plasma on

carpio) fingerling. J. Fish. Sci. Technol. (JFST); 2016; 5(2):59-72.
28. Singha, B; Singhb, J; Pal Kaurb, A. and Singh, N; Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (Punica granatum L.) peel: a review. Food Chem; 2018; 261:75-86.
29. Soyer Sarıca, Z; Karabacak, M; Kanbur, M; Eraslan, G; Liman, B.C. and Tekeli, M.Y; Antioxidant effects of pomegranate seed oil against pentachlorophenol toxicity in rat tissues. Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg; 2018; 15(3):230-237.
30. Tian, J; Hu, J; Liu, D; Yin, J; Chen, M; Zhou, L. and Yin, H; Cadmium chloride-induced transgenerational neurotoxicity in zebrafish development. Environ. Toxicol. Pharmacol; 2021; 81:103545.
31. Topal, A; Atamanalp, M; Alak, G; Oruc, E; Kocaman, E.M. and Saglam, Y.S; Effect of humic acid on the brain tissue of brown trout treated with cadmium. Int. J. Fish. Aquat. Stud; 2014; 1(5):18-21.
32. Unsal, V; Dalkıran, T; Çiçek, M. and Kolukçu, E; The role of natural antioxidants against reactive oxygen species produced by cadmium toxicity: a review. Adv. Pharm. Bull; 2020; 10(2):184-202.
33. Valavanidis, A; Vlahogianni, T; Dassenakis, M. and Scoullos, M; Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicol. Environ. Saf; 2006; 64(2):178-189.
34. Vanella, L; Di Giacomo, C; Acquaviva, R; Barbagallo, I; Cardile, V; Kim, D.H; Abraham, N.G. and Sorrenti, V; Apoptotic markers in a prostate cancer cell line: effect of ellagic acid. Oncol. Rep; 2013; 30(6):2804-2810.
35. Vivek, K.G; Abhishek, K; Nikhat, J.S. and Bechan, S; Rat brain acetyl cholinesterase as a biomarker of
21. Magangana, T.P; Makunga, N.P; Fawole, O.A. and Opara, U.L.; Processing factors affecting the phytochemical and nutritional properties of pomegranate (Punica granatum L.) peel waste: a review. Molecules; 2020; 25(20):4690.
22. Nayeem, N; Asdaq, S.M.B; Salem, H. and AHEl-Alfqy, S; Gallic acid: A promising lead molecule for drug development. J. Appl. Pharm; 2016; 8(2):213-218.
23. Ojo, O.A; Rotimi, D.E; Ojo, A.B; Ogunlakin, A.D. and Ajiboye, B.O; Gallic acid abates cadmium chloride toxicity via alteration of neurotransmitters and modulation of inflammatory markers in Wistar rats. Sci. Rep; 2023; 13(1):1577.
24. Patnaik, B.B; Howrelia, H; Mathews, T. and Selvanayagam, M; Histopathology of gill, liver, muscle and brain of Cyprinus carpio communis L. exposed to sublethal concentration of lead and cadmium. Afr. J. Biotechnol; 2011; 10(57):12218-12223.
25. Rahbarian, R; Rajabiian, M; Ramshini, H. and Jafari, S.A; Investigation of the protective effect of pomegranate peel extract in inhibiting the oxidative damage caused by experimental cadmium poisoning in common carp. J. Fish; 2022; 75(1):99-109.
26. Romeo, F.V; Ballistreri, G; Fabroni, S; Pangallo, S; Nicosia, M.G; Schena, L. and Rapisarda, P; Chemical characterization of different sumac and pomegranate extracts effective against Botrytis cinerea rots. Molecules; 2015; 20(7):11941-11958.
27. Shafiei, F; Soofiani, N.M; Ebrahimi, E; Nematollahi, A. and Mohebbi, A; Effect of alcoholic extract of pomegranate peel (*Punica granatum* L.) on blood parameters of common carp *(Cyprinus*

cadmium induced neurotoxicity. J. Toxicol; 2016; 1(1):555553.
36. Winiarska-Mieczan, A; Krusiński, R. and Kwiecień, M; Tannic acid influence on lead and cadmium accumulation in the hearts and lungs of rats. Adv. Clin. Exp. Med; 2013; 22(5):615-620.
37. Wolfe, K.L; Kang, X; He, X; Dong, M; Zhang, Q. and Liu, R.H; Cellular antioxidant activity of common fruits. J. Agric. Food Chem; 2008; 56:8418-8426.
38. Xing, H; Li, S; Wang, Z; Gao, X; Xu, S. and Wang, X; Histopathological changes and antioxidant response in brain and kidney of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos. Chemosphere; 2012; 88:377-383.
39. Zarezadeh Mehrizi, R.A; Emam-Djomeh, Z; Shahedi Bagh Khandan, M; Loni, E; Akhavan, H.R. and Biabani, J; Identification and quantification of anthocyanins in pomegranate peel extract. Iran. J. Food Sci. Technol; 2016; 12(49):31-40.
40. Zheng, J.L; Yuan, S.S; Wu, C.W. and Lv, Z.M; Acute exposure to waterborne cadmium induced oxidative stress and immunotoxicity in the brain, ovary and liver of zebrafish (Danio rerio). Aquat. Toxicol; 2016; 180:36-44.

Vol. 19 / No. 2
Fall & Winter 2025/2026

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2025; 19(2): 37-46.
http://doi.org/ 10.22034/ijvcs.2026.14894.1091

Effect of Pomegranate Peel Extract on Cadmium-Induced Brain Toxicity in Common Carp (*Cyprinus Carpio*); Histopathological Evaluation

Hossein Jafarzadeh[1]; Soudeh Alidadi[2*]; Davar Shahsavani[3]

1. Graduated of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad- Iran.
2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad- Iran.
3. Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Corresponding Author Email:

Received: 31 January 2026 ***Accepted***: 24 May 2026

Summary

This research was conducted to investigate the protective effects of pomegranate peel extract on brain tissue in experimental cadmium poisoning in common carp. 150 common carp were randomly divided into 5 groups in triplicate and evaluated for four weeks. The control group did not receive cadmium, the cadmium group received 0.5 mg/L of cadmium chloride; the cadmium+1% extract group received 0.35 g of pomegranate peel extract (1% of food weight) in addition to 0.5 mg/L of cadmium chloride in water; the cadmium+2% extract group received 0.7 g of pomegranate peel extract (2% of food weight) in addition to cadmium; and the cadmium+4% extract group received 1.4 g of pomegranate peel extract (4% of food weight) in addition to cadmium equally in four meals. After the four-week treatment period, six fish from each group were randomly selected and tissue samples were taken from their brains, fixed in 10% neutral buffered formalin, and stained with hematoxylin and eosin. Histopathological changes observed in the brain tissue of the cadmium group included hyperemia, hemorrhage, degeneration and necrosis of neurons, edema and vacuolation, and gliosis. Different amounts of pomegranate peel extract, especially 2% and 4%, reduced changes, but only the cadmium+4% extract was significant compared to the cadmium group ($p<0.05$). In general, it can be concluded that 4% pomegranate peel extract has significant protective effects on brain tissue in experimental cadmium poisoning in common carp.

Keywords**:** Cadmium chloride, Pomegranate peel extract, Histopathology, Brain, Common carp

* Corresponding Author: salidadi@um.ac.ir