

# کاربرد نشانگرهای زیستی در سم‌شناسی آلاینده‌های محیطی

دکتر پیمان اقتصادی عراقی

گروه علوم زیستی دریا، مرکز اقیانوس‌شناسی

## ■ خلاصه

امروزه ورود مواد آلاینده به محیط زیست و مطالعات محیطی با اقبال فراوان روبرو شده است و یکی از بحث‌انگیزترین ابزارهای موجود در این زمینه، توسط علم سم‌شناسی و به جهت تخمین اثرات زیستی این آلاینده‌ها معرفی شده است. غلظت بعضی از آلاینده‌ها در محیط بسیار پایین و حتی پایین‌تر از حد تشخیص ابزارهای سنجش آزمایشگاهی موجود می‌باشد. از این رو، بدون دیده شدن آلودگی در منطقه، اثرات این مواد بر اجزای زنده جاری است و نشانگرهای زیستی برای حل این مشکل تعریف شده‌اند. زیرا، پاسخ‌های توکسیکولوژیک به یک ماده شیمیایی، از اندرکنش بین آن ماده و رسپتور آن حاصل می‌گردد و در نتیجه، پاسخ‌های ملکولی

فوری‌ترین پاسخ می‌باشد. علاوه بر این، ارگانسیم‌ها معمولاً در محیط واقعی تحت تاثیر چندین نوع آلاینده فیزیکی و شیمیایی قرار می‌گیرند و نشانگرهای زیستی دارای این توانایی هستند که اثرات تجمعی این عوامل استرس‌زا را در سطح زیرارگانیسمی نشان دهند. در این مقاله پس از بیان پایه علمی و تاریخچه تعریف نشانگرهای زیستی، به تعاریف مختلف و دسته‌بندی آن‌ها بر حسب کاربرد و پاسخ جانداران اشاره شده و با ارایه مثال‌های عملی، به کاربرد نشانگرهای زیستی در پایش‌های محیطی به منظور تشخیص و شناسایی اثرات موقت و مزمن آلاینده‌ها در محیط پرداخته شده و در پایان نیز نظرات نگارنده در جمع‌بندی استفاده از نشانگرهای زیستی در سم‌شناسی

آلاینده‌های محیطی ارایه گردیده است.

## ■ مقدمه

از آغاز دهه هشتاد میلادی، استفاده از تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و هیستولوژیک به منظور تخمین تاثیرپذیری (Exposure) ارگانسیم‌ها از مواد شیمیایی و آلاینده محیط زیست اهمیت روزافزونی یافته است. بسیاری از دانشمندان علوم محیطی عبارت نشانگر زیستی یا بیومارکر (Biomarker) را برای این دسته تغییرات برگزیده‌اند. بیومارکرها نشان دهنده تماس (Exposure) یا تغییر (Effect) حاصل در ارگانسیم‌ها هستند که در سطوح زیرارگانیسمی (Suborganismal)، جمعیتی یا اکوسیستمی مورد مطالعه قرار می‌گیرند ولی رایج‌ترین کاربرد این اصطلاح در مورد نشانگرها بیوشیمیایی، فیزیولوژیک یا بافت‌شناختی (هیستولوژیک) تماس یا تغییر ناشی از یک ماده شیمیایی آلاینده در سطح زیرارگانیسمی یا ارگانیسمی می‌باشد.

تحقیق بر روی تشخیص تماس یا تغییر حاصل از مواد شیمیایی، مرهون افزایش دانش ما از تحقیقات در مورد مکانیسم اثر مواد شیمیایی مختلف در ارگانسیم‌ها می‌باشد. بیومارکرها شواهد عمومی تماس یا تغییر را فراهم می‌آورند (۱).

در اینجا لازم است برای روشن‌تر شدن تفاوت میان تماس (Exposure) و تغییر (Effect) توضیح بیشتری داده شود. تماس با یک ماده شیمیایی آلاینده در سطوح ارگانیسمی یا

زیرارگانیسمی می‌تواند به ایجاد یک پاسخ یا رویداد یک تغییر در اجزای بیولوژیک بیانجامد؛ به این دو واقعه به ترتیب تماس و تغییر اطلاق می‌گردد. واضح است که هر تماس با یک ماده شیمیایی لزوماً به ایجاد تغییر در اجزای بیولوژیک منجر نخواهد شد. کاربرد بیومارکرها در مطالعات پایش میدانی (Field Monitoring) به منظور تشخیص و شناسایی اثرات موقت و مزمن آلاینده‌ها در محیط است.

سرعت استفاده از بیومارکرها در حال افزایش می‌باشد و به همین دلیل تحقیق در مورد یافتن انواع جدید آن‌ها از اهمیت شایانی برخوردار است زیرا استفاده صحیح از آن‌ها منافع بسیاری دربردارد. از جمله این که معمولاً غلظت بعضی از آلاینده‌ها در محیط بسیار پایین و حتی پایین‌تر از حد تشخیص (Detection Limit) ابزارهای سنجش آزمایشگاهی موجود می‌باشد. از این رو، بدون دیده شدن آلودگی در منطقه، اثرات این مواد بر اجزای زنده قابل تشخیص است زیرا پاسخ‌های توکسیکولوژیک (Toxicological Response) به یک ماده شیمیایی از اندرکنش بین آن ماده و رسپتور آن حاصل می‌شود و در نتیجه، پاسخ‌های ملکولی فوری‌ترین پاسخ هستند. علاوه بر این، ارگانسیم‌ها معمولاً در محیط واقعی تحت تاثیر چندین نوع آلاینده فیزیکی و شیمیایی قرار می‌گیرند. بیومارکرها دارای این توانایی هستند که اثرات تجمعی این عوامل استرس‌زا (Stressor) را در سطح زیرارگانیسمی نشان دهند. تاریخچه پیدایش و تکامل بیومارکرها به قرار زیر است:

دهه ۵۰ میلادی و قبل از آن با ظهور انقلاب

صنعتی مشکلات محیطی و زیست محیطی آغاز شد ولی به دلیل کم بودن مواد آلاینده پاسخ قابل توجهی از سیستم‌های زنده موجود نبود و روش‌های قضاوتی نیز در این مورد وجود نداشت.

در دهه ۶۰، سنجش‌های زیستی در ماهی‌ها موید صدمه بر بیوتا توسط مواد زئوبیوتیک (Xenobiotic) بود و دهه ۷۰ داده‌های بیوآنالیتیکال ظهور کردند و سازمان‌های حفظ محیط زیست در کشورهای پیشرفته به وجود آمدند. دهه ۸۰ را می‌توان آغاز سازماندهی استراتژی‌های سم‌شناسی محیط زیست توسط روش‌های شیمیایی/بیولوژیک دانست که همان سم‌شناسی محیط زیست (Ecotoxicology) بود. شناخت مایر در سال ۱۹۸۳ (۲) مشکل استفاده از آزمون‌های بیوشیمی بالینی را در سم‌شناسی محیط‌های آبی برشمرد. بر اساس این اظهار نظر لازم است که دانش ما در مورد سم‌شناسی بیوشیمیایی ارگانسیم‌ها افزایش یابد تا کمبود موجود در علم بیوشیمی پایه در این مورد جبران شود چرا که این مشکل، کاربرد بسیاری از بیومارکرها را محدود می‌سازد. بنابراین، فراهم آوردن یک مجموعه اطلاعاتی زمینه‌ای قوی در مورد تأثیرات متقابل مواد زئوبیوتیک با سطوح ارگانسمی و زیرارگانسمی بسیار حایز اهمیت می‌باشد. اما در دهه ۹۰، رشد کاربرد سم‌شناسی ریزنگر (Ecotoxicology Microscale) به دلیل قیمت ارزان و قابلیت‌های شایان این ابزارهای زیستی (سرعت، پتانسیل اتوماسیون و غیره) به طور قابل توجهی آغاز گردید (۳).

### ■ سرنوشت آلاینده‌ها در جانداران

مواد آلاینده در ارگانسیم دچار فرآیند می‌شوند که معمولاً شامل جذب، پخش، متابولیسم و دفع آلاینده است:

□ جذب آلاینده معمولاً از سه طریق خوراکی، تنفسی و جذب پوستی انجام می‌گیرد.

□ پخش آلاینده در یک ارگانسیم: در این فرآیند آنچه معمولاً مورد نظر است، جذب یک آلاینده توسط بافت‌ها است. در اینجا اصطلاح Bioconcentration به معنای جمع شدن آلاینده در یک ارگانسیم خاص بدن و Biomagnification به معنای افزایش غلظت آلاینده در یک زنجیره غذایی است.

□ متابولیسم یک آلاینده که گاهی به Biotransformation تعبیر می‌شود، همیشه به معنای از بین بردن خاصیت سمی یک آلاینده نیست به این معنا که گاهی مواد متابولیت حاصل سمی‌تر از مواد اولیه هستند. مثال‌های این قضیه تبدیل بنزن به اکسید بنزن است که به مغز استخوان صدمه می‌زند و نیز تبدیل چند حلقه‌ای‌های آروماتیک هیدروکربنی (PAHs) به اپوکسیدهای آن‌ها توسط آنزیم‌های سیستم چند کاره اکسیداز (MFO) می‌باشد که فعال‌تر هستند و به DNA راحت‌تر حمله می‌نمایند.

□ دفع آلاینده‌ها: توسط مواد دفعی (ادرار، مدفوع و عرق) و نیز توسط تنفس (گازهای فرار) انجام می‌پذیرد (۴).

### ■ تعاریف مختلف بیومارکرها

در تعریف بیومارکرها خصوصیات متنوعی بیان شده که به دلیل تازگی زمینه مورد مطالعه

تمرکز و تلاش فراوانی در زمینه‌های گوناگون تحقیقات بیومارکرها به خصوص در سطح ملکولی آن دیده می‌شود زیرا این مارکرها بیشتر از بقیه انواع آن می‌توانند حایز شرایط بالا باشند و در نتیجه زمینه مذکور به سرعت در حال رشد است (۳). بیومارکرها ابزارهایی مهم در تشخیص انواع مختلف استرس‌ها در جانداران هستند. این استرس‌ها ممکن است شامل مواد شیمیایی، فلزات و دیگر آلاینده‌های محیطی مانند تغییرات دمایی و تغییرات دیگر در محیط باشند. بیومارکرها شاخص‌هایی هستند که می‌توانند برای قضاوت در مورد اثرات این مزاحمت‌ها مورد استفاده قرار گیرند. انواع مختلفی از بیومارکرها امروزه استفاده می‌شوند، از انواع بیوشیمیایی و سلولی گرفته تا انواع فیزیولوژیک و مونیتورهای اکوسیستم‌ها. در این قسمت به انواع مختلف بیومارکرها در حال استفاده اشاره‌ای خواهد شد.

#### ■ دسته بندی نشانگرهای زیستی

##### (بیومارکرها) بر اساس کاربرد آن‌ها

###### □ بیومارکهای تماس

###### (Biomarkers of Exposure)

هدف اولیه از تعریف بیومارکهای تماس، تعیین دوز داخلی (Internal Dose) یک زنبویوتیک خاص است. در اینجا دوز موثر بیولوژیک (Biologically effective dose) باید توسط تعیین محل مورد حمله ملکولی (target molecular) هر ماده زنبویوتیک یا کمی نبودن (Quantization) پاسخ حاصل تعیین شود. مثال

است و در زیر به پاره‌ای از آن‌ها اشاره می‌شود:

□ هر گونه تغییر یک شاخص بیوشیمیایی، ژنتیک یا ایمنی که بتواند در یک نمونه بیولوژیک سنجیده شود (۵).

□ پاسخ‌های بیوشیمیایی یا ملکولی به موادی که به یک ارگانسیم وارد شده‌اند و به محل‌های عمل سمی خود رسیده‌اند و در حال اثرگذاری روی آن ارگانسیم هستند (۳).

□ بیومارکرها در محدوده وسیعی استفاده می‌شوند که باید حتی الامکان دربرگیرنده همه اندازه‌گیری‌هایی باشد که نشان دهنده اندرکنش بین سیستم بیولوژیک و یک عامل محیطی (اعم از شیمیایی، فیزیکی یا بیولوژیکی) هستند (۴).

□ فراسنجی که بتواند به طور کمی، نیمه کمی یا کیفی سنجیده شود و اطلاعاتی در مورد تماس با یک ماده زنبویوتیک Xenobiotic یا در مورد اثرات عملی یا پتانسیل آن تماس در یک فرد از گونه یا گروه در اختیار بگذارد (۶).

برای این که بیومارکری به عنوان یک ابزار نظارتی مفید باشد باید حداقل یکی از شرایط زیر را حایز گردد:

###### ۱- ویژگی (Specificity)

تغییر حاصل اثر مستقیمی از قرار گرفتن تحت تاثیر آلاینده می‌باشد.

###### ۲- حساسیت (Sensitivity)

این تغییر جزو اولین تغییرات ایجاد شده توسط آلاینده است.

###### ۳- عملی بودن (Practicality)

راه‌های ارزان تر برای گرفتن همین پاسخ وجود نداشته باشد.

این نوع بیومارکرها القای سیتوکروم P450 منواکسیژناز بعد از تماس با PAH های مسطح است (۷).

### □ بیومارکهای تغییر

#### (Biomarkers of effect)

اثرات اولیه مواد زنبوبیوتیک در سطح ملکولی را بیومارکر تغییر می نامند. در حقیقت این نوع بیومارکر همان اثر حاصل از سم محیطی یا استرس محیطی است. مثال این بیومارکر حلقه های حاصل از اپوکسید PAH با DNA (PAH-DNA adduct) می باشد (۷).

### □ بیومارکهای حساسیت

#### (Susceptibility Biomarkers)

شاخص های فرآیندهای مکانیسمی که باعث تغییر در میان اجزای فعال واسطه میان تماس و اثر می شوند را بیومارکهای حساسیت می نامند. به عنوان مثال، سیتوکروم P450 اگر چه احتمال وجود PAH های فعال از لحاظ بیولوژیک (bioactivated) و در نتیجه افزایش PAH-DNA adduct را افزایش می دهد ولی مقاومت نسبت به بقیه مواد شیمیایی که توسط P450 سم زدایی می شوند را نیز فزونی می دهد و در نتیجه ارگانسیم کمتر از آن ها تاثیر می پذیرد (۷).

### ■ دسته بندی نشانگرهای زیستی

#### (بیومارکرها) بر حسب نوع پاسخ

#### موجود زنده

با توجه به تنوع فراوان پاسخ ها یا اندرکنش های ممکن در موجودات زنده به مواد ضد حیات، بیومارکهای مربوط نیز دارای

چندگونگی فراوان خواهند بود که انواع این پاسخ ها و اندرکنش ها را که می توان به عنوان بیومارکر تعریف نمود، در گروه های زیر دسته بندی می نمایند:

#### ۱- محصولات متابولیک

#### ۲- تغییرات DNA

#### ۳- بیومارکهای هیستوپاتولوژیک

#### ۴- بیومارکهای ایمونولوژیک

#### ۵- سنتز آنزیم و پروتئین ها به عنوان شاخص تماس و تغییر حاصل از آلاینده ها

### □ محصولات متابولیک به عنوان بیومارکر

تاثیر پذیری یک ارگانسیم از مواد شیمیایی زنبوبیوتیک پایداری مانند هیدروکربن های چندحلقه ای آروماتیک (PAH ها) و "بی فنیل های چندحلقه ای" (Biphenyls: PCBs) را می توان با اندازه گیری مستقیم آثار بدنی این مواد سنجید ولی تماس از بعضی آلاینده های محیطی مهم و آمین های آروماتیک را نمی توان با آنالیز مستقیم غلظت آن ها سنجید، زیرا این مواد به سرعت توسط ارگانسیم متابولیزه شده و به متابولیت های متنوعی تبدیل می شوند. در چنین شرایطی اندازه گیری متابولیت های حاصل می تواند شواهدی از تماس با این مواد آلاینده به دست دهد. متابولیت های مواد زنبوبیوتیک ممکن است در مقادیر بالا در بعضی بافت های خاص یا مایعات بدن جمع شوند یا به بعضی ماکروملکول های خاص یک بافت به نحوی متصل شوند که تعیین اثرات تماس را تسهیل نموده و پتانسیل صدمه زنی آن ماده شیمیایی خاص را برای ارگانسیم تعیین نماید (۸).

عوامل استرس زای محیطی به کار می‌روند. این گروه از بیومارکرها این امتیاز را دارند که می‌توانند ارگان‌ها و سلول‌های خاص مورد حمله آلاینده را در حالت طبیعی زندگی جاندار نشان دهند. علاوه بر این که در شرایط سنجش‌های میدانی، بیومارکرهای هیستوپاتولوژیک سریع‌ترین روش تشخیص اثرات حاد و مزمن تماس در بافت‌ها و ارگان‌های مختلف ماهی و کفزیان می‌باشند (۱).

آلاینده‌های محیطی اگر چه خیلی فراوان هستند ولی به تعداد محدودی مکانیسم‌های توکسیک ختم می‌شوند که شمار خاصی از ضایعات هیستوپاتولوژیک را ایجاد می‌نماید. مثلاً ممانعت مستقیم آنزیم ATPase غشای پلاسمایی به افزایش غلظت سدیم در سیتوزول و در نتیجه افزایش حجم سلول می‌انجامد. در این رابطه، بزرگ شدن کبد (هپاتومگالی) می‌تواند به عنوان یک بیومارکر هیستوپاتولوژیک، نشان‌دهنده آن ممانعت آنزیمی اولیه باشد.

این نوع بیومارکرها در واقع در سطوح بالای پاسخ جاندار در مقابل زنبیوتیک‌ها قرار دارند و در واقع نشان‌دهنده تغییری اولیه در خصوصیات بیوشیمیایی یا فیزیولوژیک جاندار بوده‌اند. اگر چه کبد به دلیل داشتن مقادیر فراوان آنزیم چندکاره سیستم اکسیداز سیتوکروم P450 و وظیفه متابولیزه یا غیرفعال کردن بسیاری از زنبیوتیک‌ها به عنوان کاندید اصلی مطالعات بیومارکرهای هیستوپاتولوژیک مصوب می‌شود، ولی نظر بسیاری نیز بر این است که سیستم اعصاب مرکزی (CNS) (شامل مغز و نخاع) به زودی به عنوان شاخص حساس و

## □ تغییرات DNA

تأثیرپذیری یک ارگانیسم از مواد ژنوتوکسیک شیمیایی می‌تواند باعث ایجاد سلسله‌ای از وقایع ژنتیکی گردد. در مرحله اول، تغییراتی ساختمانی در DNA رخ می‌دهد. سپس صدمه به DNA به صورت محصولات ژن موتان بیان می‌شود. بالاخره بیماری‌ها نیز از این صدمه ژنتیکی حاصل می‌شوند. شناخت و تعیین مقدار وقایع مختلف در این روند، می‌تواند به عنوان بیومارکر تماس و تغییر در ارگانیسم‌هایی که در معرض این مواد ژنوتوکسیک قرار گرفته‌اند، مورد استفاده قرار گیرد (۹).

روش‌های پایش تماس از مواد شیمیایی ژنوتوکسیک به سه گونه زیر انجام می‌گیرند:

- ۱- اندازه‌گیری مستقیم تغییر ساختمانی DNA
- ۲- شناخت پیامدهای تأثیرات حاصل توسط سنجش مستقیم یا غیرمستقیم تعمیرات در DNA

- ۳- تولید موتاسیون در ژنوم ارگانیسم

یکی از مثال‌های معروف بیومارکرهای تغییر مستقیم DNA تعداد adduct‌های حاصل در DNA است. این adduct‌ها هنگامی به وجود می‌آیند که مواد خارجی یا یکی از محصولات متابولیک فعال آن یک باند کووالان با DNA بسازد و یک حلقه با آن تشکیل دهد. این حلقه‌ها توسط HPLC (High performance liquid chromatography) مجهز به دکتور فلورسانس شمارش می‌شوند (۹).

## □ بیومارکرهای هیستوپاتولوژیک

تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت‌های ماهی‌ها به عنوان بیومارکر تماس یا تغییر از

## ■ بیومارکرهای ایمونولوژیک برای بررسی استرس محیطی

روش‌های متعددی برای بررسی اثرات مواد شیمیایی و تعیین نوع اثر آن‌ها بر ارگان‌های زنده به وجود آمده است. اگر چه بسیاری سنجش‌های موجود اثرات توکسیک مربوط را گونه‌های تاثیر پذیرفته، نشان داده است ولی ایمنی‌شناسان به تازگی به محدوده وسیع زئوبیوتیک‌هایی که فعالیت‌های ایمنی را تحت تاثیر قرار می‌دهند، پی برده‌اند (۱۱).

واضح است که سیستم ایمنی پتانسیل‌هایی برای قضاوت در مورد اثرات توکسیک مواد شیمیایی دارد. از آنجا که اطلاعات قابل توجهی از اجزای سلولی، ترشحات و ملکولی سیستم ایمنی موجود است، پاسخ‌های ایمنی نیز ابزارهای مناسبی برای سنجش‌های مقایسه‌ای بین سمیت مواد توکسیک به نظر می‌رسند. زیرا، سیستم ایمنی، سیستمی بسیار تکامل یافته است که وظیفه آن فراهم نمودن شرایط نابودی اجزای بیگانه، عوامل عفونی و تخریب سلول‌های دارای رشد غیرعادی است. لازمه انجام این مهم، دارا بودن دقت فراوانی در انتخاب سوژه حمله و سرعت عمل است؛ عواملی که به ترتیب برای رفع نقص کم بودن حد دقت دستگاه‌های سنجشگر مواد زئوبیوتیک و پاسخ‌های دیر هنگام در پاسخ‌های ناشی از عوامل استرس‌زای مزمن ضروری به نظر می‌رسند. نمونه‌هایی از بیومارکرهای ایمونولوژیک که تا به حال به کار رفته‌اند از قرار زیر می‌باشند:

پیش‌بینی کننده استرس‌های محیطی شناخته خواهد شد (۱) زیرا CNS ارگانی پیچیده از لحاظ آناتومی و عمل است که اصولاً اهمیت فراوان در فراهم آوردن هموستاز بدن دارد. سد خونی - مغزی (blood brain barrier) نیز جلوی عبور بعضی از مواد شیمیایی را به CNS می‌گیرد. سلسول‌های گلیال نیز از ورود بعضی ماکروملکول‌ها جلوگیری می‌نمایند ولی مواد محلول در چربی مانند حلال‌ها می‌توانند به سرعت اجازه ورود به داخل CNS را به دست آورند. سیستم عصبی از لحاظ سیستم‌های متابولیزه نمودن مواد سمی بسیار فقیر است ولی به دلیل فعالیت متابولیک بالا به مواد سمی بسیار حساس می‌باشد. اجزای اصلی تشکیل دهنده CNS که می‌توانند به عنوان بیومارکر کاربرد سم‌شناسی بیوشیمیایی (Ecotoxicology Biochemical) داشته باشند، عبارتند از: نورون‌ها، سلول‌های حمایت‌کننده (مثل الیگودندروسیت‌ها، سلول‌های شوان و آستروسیت‌ها) و سلول‌های سیستم حمایت‌کننده بافت عروقی (Support System Vascular) (۱).

اصولاً اطلاعات در دسترس در زمینه هیستوپاتولوژی CNS که توسط عوامل توکسیک یا عفونی روی می‌دهد اندک است و این مهم به دلیل پیچیدگی این سیستم و کم بودن مطالعات در این زمینه می‌باشد (۱۰). با توجه به اهمیت CNS در حیات یک ارگان‌سیم، شناسایی بیومارکرهای CNS از نوع هیستوپاتولوژیک، بیوشیمیایی یا ملکولی می‌تواند به عنوان یک اولویت در نظر گرفته شود (۱).

سازماندهی بیولوژیک در نشانگرهای زیستی که در زیر آمده است مشاهده نمود: (۱ و ۱۳).

- ecosystem
- community
- population
- individual
- organ
- tissue
- cell
- organelle
- pathway
- molecules

کاربرد سیستم‌های پروتئینی و آنزیمی به عنوان شاخص‌های تماس و تغییر از مواد شیمیایی به عنوان بیومارکر، به دو دلیل اصلی حایز امتیازات مشخصی است. اول این که تغییرات بیوشیمیایی یا ملکولی معمولاً اولین پاسخ‌های قابل تشخیص و اندازه‌گیری به تغییرات محیطی (شامل محیط شیمیایی) هستند. دوم این که تغییرات بیوشیمیایی می‌توانند به عنوان بیومارکر تماس و نیز تغییر عمل نمایند. طبق تعریف، تغییر شیمیایی حاصل در سیستم‌های بیوشیمیایی نشان دهنده یک اثر و تغییر از ماده شیمیایی است.

تغییرات در سیستم‌های بیوشیمیایی عموماً شاخص‌های حساس‌تری نسبت به سطوح بالاتر سازماندهی بیولوژیک هستند. در حقیقت، تغییر در سطح ملکولی است که منتج به یک اثر یا تغییر در سطوح بالاتر سازماندهی بیولوژیک می‌گردد. این تغییرات بیوشیمیایی هستند که می‌توانند نشان دهنده اثرات اضافی بعدی (در سطح اندام

۱- افزایش اتوفاگوسیتوز

۲- کاهش فعالیت سیتوتوکسیک طبیعی

۳- کاهش فعالیت لیزوزوم

۴- افزایش ابتلا به عفونت‌های باکتریایی

۵- افزایش تعداد ماکروفاژها و ساختمان‌های دژنره آنان

۶- افزایش پنتوسیتوز و افزایش یا کاهش فاگوسیتوز

۷- هیپرتروفی گرانولوسیت‌ها و ماکروفاژها

۸- کاهش پاسخ میتوژنیک لنفوسیت‌ها

۹- کاهش تعداد لنفوسیت‌ها (۱۲).

## ■ سیستم‌های پروتئینی و آنزیمی

### به عنوان اندیکاتورهای تماس و تغییر از مواد شیمیایی

شناخت و ارزیابی تغییرات بیولوژیک که نتیجه آلودگی شیمیایی هستند، قدم‌های مهمی برای تخمین اهمیت این آلودگی‌ها است و می‌تواند به شناخت مواد آلوده فعال و منبع آن‌ها کمک کند. تغییرات بیولوژیک حاصل از تماس با مواد شیمیایی را می‌توان در پایش بیولوژیک (Biological Monitoring) مورد استفاده قرار داد. تغییرات خاصی در این دسته می‌توانند به عنوان نشانگرهای تماس با مواد شیمیایی خاص و یا نشانگرهای تغییرات زیانبار این تماس، مورد استفاده قرار گیرند (۱۳).

اثرات آلاینده‌های شیمیایی را می‌توان در سطوح مختلف سازماندهی بیولوژیک (Biological Organization)، از سطوح ملکولی و بیوشیمیایی گرفته تا سطح فیزیولوژیک و انفرادی و بالاخره جمعیتی و اکوسیستمی در سطوح



یا فرد) به وقوع خواهد پیوست یا خیر. حال به تعدای از آنزیم‌ها و پروتئین‌هایی می‌پردازیم که در مقابل آلاینده‌ها پاسخ نشان می‌دهند.

## ■ نمونه‌هایی از انواع بیومارکرها

### □ سیتوکروم P450 منواکسیژناز

فامیلی از پروتئین‌ها هستند که در بیوترانسفورماسیون (Biotransformation) مواد شیمیایی آلاینده دخالت دارند و باعث تغییرات ساختمانی در آن‌ها می‌شوند که باعث می‌شود گاهی متابولیت حاصل سمی‌تر یا غیر سمی شود. بنابراین، القای P450 می‌تواند به عنوان شاخصی بسیار حساس به تحمیل مواد شیمیایی به ارگانیزم تلقی گردد. آنزیم‌های P450 در انواع بافت‌ها شامل کبد، گنادها، کلیه‌ها، روده، آبشش و قلب وجود دارند. القای مسیر فوق باعث افزایش فعالیت P450 می‌شود که باعث افزایش سنتز mRNA و بنابراین، افزایش مقدار پروتئین آنزیمی می‌گردد. روش‌های استفاده از این شناساگر به عنوان بیومارکر شامل فعالیت آنزیم‌های P450، مقدار پروتئین و مقدار mRNA در سلول‌ها است (۱۴).

### □ پروتئین‌های استرس

این گروه پروتئین‌هایی هستند که سنتز آن‌ها توسط طیف وسیعی از شرایط فیزیکی، مواد شیمیایی، فلزات سنگین، زنبیوتیک، استرس اکسیداتیو و نمکی (Oxidative and Salinity Stress) تراتوژن‌ها و هپاتوکارسینوژن‌ها القا می‌شود. به نظر می‌رسد بعضی از این پروتئین‌ها نقشی در حفاظت سلول‌ها از

صدمات حاصل از فشارهای محیطی داشته باشند. بقیه ممکن است در تنظیم ژن‌های مختلف دخالت داشته باشند. استرس باعث تغییر عمده‌ای در تنظیم متابولیسم می‌شود، سپس مجموعه‌ای از پروتئین‌های استرس سریعاً سنتز می‌شوند و تولید پروتئین‌های سلولی کاهش داده می‌شود. پروتئین‌های استرس نامزدهای ایده‌آلی به عنوان بیومارکر برای آلودگی‌های محیطی به نظر می‌رسند (۱۵).

### □ پروتئین‌های شوک حرارتی

پنج نوع پروتئین شوک حرارتی وجود دارند: HSP90، HSP60، HSP30، HSP20 و یوبیکوئتین (Ub) که از بین آن‌ها فقط سه تا پتانسیل معرفی به عنوان بیومارکرها با ارزش را دارند که عبارتند از: HSP60، HSP70 و Ub. HSP70 به عنوان پایدار کننده یا حل‌کننده پروتئین‌های مورد حمله عمل می‌نماید و نقش چپرونی (Chaperone) خود را با کمک به جایگزینی پروتئین‌های تازه سنتز شده ارگانلی در غشا به انجام می‌رساند. HSP60 باعث جایگزینی و جمع شدن پروتئین‌های اولیگومتری در میتوکندری می‌شود. هم HSP70 و هم HSP60 بین گونه‌ها Conserved هستند و در شرایط بحرانی به مقدار فراوانی افزایش مقدار می‌یابند و به این ترتیب شاخص‌های ایده‌آلی برای استرس در ارگانیزم‌ها هستند. Ub به خاطر حمله به پروتئین‌های دناتوره به منظور تجزیه و حذف آن‌ها بیومارکری ایده‌آل است ولی اندازه کوچک آن لزوم وجود دستگاه‌های بسیار دقیق را برای شناسایی آن حتمی می‌سازد (۱۵).

اکسی رادیکال‌ها در سلول‌ها است که آن هم به عنوان پاسخی از حضور اکسیدان‌ها می‌باشد. چندین نوع آنزیم آنتی‌اکسیدان وجود دارد که می‌توانند در این مورد استفاده شوند و عبارتند از: سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز که به نظر می‌رسد از میان این‌ها پراکسیدازها بالاترین توان استفاده به عنوان بیومارکر را داشته باشند.

#### □ بقیه بیومارکرها

بقیه بیومارکرهایی که محققان در حال تحقیق بر روی کاربرد آن‌ها هستند، عبارتند از: انواع ATPase ها، منوآمین اکسیدازها، NADPH سیتوکروم C، ردوکتاز و آنزیم‌های سیتوکروماتیک، هورمون‌های مختلف، آنزیم‌های مسیر بیوسنتز "هم" Heme، اپوکسیدهدیدرولاز، گلوکاتایون پراکسیداز و گلوکاتایون ترانسفراز (۱).

#### ■ جمع‌بندی استفاده از نشانگرهای

**زیستی در سم‌شناسی آلاینده‌های محیطی**  
زیست‌سنجی‌های جدید بر اساس استفاده از نشانگرهای زیستی تماس (Exposure) و تغییر (Effect) می‌تواند مستقیماً سموم خاص و مورد نظر را در بسیاری از منابع نقطه‌ای آلودگی (Point Source) و مناطق آلوده مشخص سازد. پیشرفت و استفاده از محصولات تجارتي برای سنجش مقادیر کم آلاینده‌ها توسط کیت‌های زیست‌سنجی (Bioanalytical) بسیار سودمند به نظر می‌رسد و به همین دلیل تحقیقات شایان توجهی در جریان است. این روش‌ها به دلیل آسانی، حساسیت پاسخ‌ها و

#### □ پروتئین‌های تنظیم‌شونده توسط گلوکز (Glucose Regulated Proteins : GRP)

GRP‌ها در پاسخ‌های سلول که به گلوکز و glucose deprivation داده می‌شود دخیل هستند؛ اگر چه راجع به این پروتئین‌ها اطلاع کمی در دسترس است و استفاده از آن‌ها به عنوان شاخص‌های عمومی استرس محدود می‌باشد ولی قابلیت‌های موجود، به آنان پتانسیل حضور به عنوان بیومارکرهای ایده‌آلی را داده است (۱۵).

#### □ هم اکسیژنازها Heme Oxygenase

هم اکسیژناز توسط فلزات، سدیم آرسینت، عوامل Thiol-reactive و استرسورهایی که باعث صدمات اکسیداتیو می‌شوند (مانند نور فرابنفش UVA) القا می‌شود. عمل این آنزیم‌ها شکستن هم و تولید بیلی‌وردین است که متعاقب آن به بیلی‌روبین احیا می‌شود. بیلی‌روبین به عنوان یک حفاظت‌کننده مهم سلولی از صدمات اکسیداتیو به عنوان یک scavenger free radical عمل می‌نماید (۱۶).

#### □ آنزیم‌های متصل‌کننده فاز دو (enzyme phase II conjugating)

آنزیم‌های متصل‌کننده فاز دو، مسئول سم‌زدایی و حذف مواد خارجی حاصل متابولیسم آنزیم‌های P450 هستند و این کار را توسط تبدیل این مواد به مواد محلول در آب انجام می‌دهند و با توجه به این‌که در بعضی موارد فعالیت این آنزیم‌ها تحت تاثیر قرارگیری در مقابل مواد خارجی است، مورد توجه قرار گرفته‌اند.

#### □ آنتی‌اکسیدان‌ها

القای آنتی‌اکسیدان‌ها حاصل تولید

قابلیت بالای پیشگویی پتانسیل سمیت آلاینده‌ها مورد توجه سنجش‌های Microscale قرار دارند و به زودی در نظارت‌های محیطی (Environmental Monitoring) نقش قابل توجهی خواهند یافت. امتیازات استفاده از نشانگرهای زیستی سلولی و بیوشیمیایی عبارتند از:

□ وقایع سلولی و بیوشیمیایی عموماً حساس‌تر، دارای تغییرات کمتر و در بین گونه‌های مختلف بیشتر Highly Conserved هستند و بنابراین، اغلب نسبت به شاخص‌های استرسی که معمولاً مورد استفاده هستند و در سطح ارگانسیم مورد مطالعه قرار می‌گیرند، راحت‌تر اندازه‌گیری می‌شوند.

□ تغییرات بیوشیمیایی و ملکولی اولین پاسخ‌های قابل تشخیص و قابل اندازه‌گیری به تغییرات محیطی هستند.

□ مارکرهای بیوشیمیایی می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی تماس (Exposure) و تغییر (Effect) در یک ارگانسیم مورد استفاده قرار گیرند.

در عین حال، استفاده از بیومارکرها دارای نقاط ضعفی نیز هست که بدین قرار می‌باشند:

□ سن، زمان (تغییرات فصلی)، رژیم غذایی، عوامل محیطی و چرخه تولیدمثلی ممکن است تعدادی از حالت‌های ساختمانی را که نشان دهنده وضعیت طبیعی هستند تغییر دهد و در شواهد ریخت‌شناسی (Morphologic) که به عنوان بیومارکرها اثر استفاده می‌شوند مشکل ایجاد کند.

□ همپوشانی محدود بین عوارض قابل انتظار سموم و بعضی جنبه‌های ریخت‌شناسی حالت

طبیعی ممکن است وجود داشته باشد. البته مشکلاتی چون همپوشانی حیطة تعاریف بیومارکرهاى Effect، Exposure و Susceptibility موجود است که باید رفع شود. در عین حال، از میان انواع فراوان پاسخ‌های بیولوژیک و ملکولی باید با انجام تحقیقات بیشتر، کارآمدترین آن‌ها روشن و معرفی شوند؛ غالباً سخت است که پاسخ‌های بیوشیمیایی را به سلامت ارگانسیم و به اثرات معکوس موجود در جمعیت نسبت دهیم چرا که این نوع اطلاعات معمولاً در انتهای خطوط نظارت زیست محیطی قرار دارند. این مشکل نیز با انتخاب بیومارک‌هایی که شامل وقایعی سلولی و بیوشیمیایی باشند (مهم‌ترین اصول دفاع و حفاظت سلول از عوارض محیطی) قابل رفع است.

#### منابع

1. Hinton DE, Baumann PC, Gardner GR. Biomarkers. In: Biomarkers: Biochemical, Physiological Markers of Anthropogenic Stress. Huggett RJ (Ed). Boca Raton: Lewis; 1991: 87-123.
2. Mayer FL. Clinical Tests in Aquatic Toxicology: A Paradox? Environ Toxicol Chem. 1983; 2: 139-140.
3. Wells PG, Kenneth L, Blaise CD. Microscale Testing in Aquatic Toxicology. Washington DC: CRC Press; 1997.

**تذکر:** از درج سایر منابع به خاطر کمبود جا خودداری گردید. بقیه منابع در دفتر نشریه موجود می‌باشد.