Arch Original Article

مقاله تحقیقی

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۲، دوره ۶۸، شماره ۲، ۲۰۲-۱۹۷

Journal of Veterinary Research. 68,2:197-202, 2013

اثر مواجهه با بیس فنل آ بر سطوح پلاسمایی هورمون‌های استروئیدی جنسی در جنس نر ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*)

احمد نگین تاجی عبدالعلی موحدی نیا*

گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر - ایران

(دریافت مقاله: ۲۱ آذر ماه ۱۳۹۱ ، پذیرش نهایی: ۲۲ اسفند ماه ۱۳۹۱)

چکیده

زمینه مطالعه: بیس فنل آ (BPA) یک ترکیب شیمیایی صنعتی با حجم تولید زیاد، به عنوان یک ماده خام اولیه به طور وسیعی در تولید پلاستیک‌های پلی کربناته، رزین‌های اپوکسی و بسیاری از تولیدات صنعتی دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد. **هدف:** برای نشان دادن اثر BPA بر تغییرات هورمون‌های استروئیدی در معرض این ماده قرار داده شد. **روش کار:** ماهی شانک زردباله (*Acantho pagrus latus*) به صورت تزریق درون صفاقی، غلظت‌های ۱۰µg/g، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ بر هفته از ماده بیس فنل آ حل شده در روغن نارگیل را در دو هفته دریافت نمودند. نمونه‌های پلاسما در روزهای ۰، ۷ و ۱۴ تهیه شد. سطوح هورمون‌های استروئیدی پلاسما (تستوسترون و ۱۷بتا-استرادیول) به روش رادیوایمونواسی اندازه گیری شد. **نتایج:** سطوح پلاسمایی هورمون ۱۷بتا-استرادیول ماهیان تیمارشده با BPA در یک رفتار وابسته به غلظت، پس از ۷ و ۱۴ روز از در معرض گذاری افزایش معنی‌داری پیدا کرد ($p<0/05$). سطوح تستوسترون پلاسما در پاسخ به غلظت‌های مختلف BPA کاهش یافت. البته این کاهش سطوح تستوسترون، از لحاظ آماری تنها در غلظت‌های ۱۰۰µg/g و ۱۵۰ از BPA معنی دار بود ($p<0/05$). **نتیجه‌گیری نهایی:** مواجهه کوتاه مدت ماهی شانک زردباله (*Acantho pagrus latus*) با بیس فنل آ می تواند اثرات مخرب در سیستم تولیدمثلی ایجاد کند.

واژه‌های کلیدی: ۱۷بتا-استرادیول، تستوسترون، بیس فنل آ، شانک زردباله، *Acantho pagrus latus*

مقدمه

در سال‌های اخیر نگرانی‌های زیادی در رابطه با تأثیرات سوء برخی آلاینده‌های محیطی بر سلامت انسان و سایر جانداران در محافل علمی ایجاد شده است. این آلاینده‌ها که توسط برخی دانشمندان به نام مختل کننده‌های اندوکرینی، هورمون‌های محیطی و یا استروژن‌های محیطی نامیده شده‌اند، سرمنشأ نگرانی‌های بسیاری گردیده‌اند (۱،۲،۲۲). در بین ترکیبات مختل کننده اندوکرینی بیس فنل آ بواسطه اثرات زیانبار بر سیستم اندوکرینی گونه‌های مختلف جانوری بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بیس فنل آ (BPA; CAS 80-05-7) یک ترکیب شیمیایی صنعتی با حجم تولید بالا در کل دنیا است و به عنوان یک مونومر به طور وسیعی در تولید پلاستیک‌های پلی کربناته، رزین‌های اپوکسی، مواد پرکننده دندان، PVC و بسیاری از تولیدات صنعتی دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳). حضور این ماده در فاضلاب شهری و پساب‌های صنعتی و ورود به اکوسیستم‌های آبی تأثیر زیان باری بر روی موجودات آبزی می‌گذارد.

هورمون‌ها دارای توانایی بسیار بالایی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی هستند بطوریکه در غلظت‌های بسیار پایین در حد قسمت در تریلیون و یا حتی کمتر، اثرات خود را اعمال می‌کنند. اکثر هورمون‌ها به وسیله خون منتقل شده و به گیرنده‌های پروتئینی سلولی متصل می‌گردند. در نتیجه کمپلکس هورمون-گیرنده تشکیل شده که با توالی ویژه‌ای از DNA در هسته سلول واکنش می‌دهد. این عمل منجر به ترجمه ژن‌های خاصی به پروتئین شده و ادامه این تغییرات به صورت یک اثر نهایی (همانند تولید زرده تخم) که هورمون محرک آن بوده است، پدیدار می‌شود. از اینرو بدیهی است که هرگونه تداخل در عملکرد این سیستم می تواند نتایج بسیارگسترده و زیانباری را برای موجودات زنده در پی داشته باشد (۱۷). آلاینده‌های شیمیایی با سرکوب تولید و رهاسازی هورمون‌ها از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد از یک سو و تغییر متابولیسم هورمون‌ها توسط کبد از سوی دیگر باعث اختلال در هورمون‌های جنسی و نهایتاً تغییر ساختار و عملکرد قابلیت تولید مثلی آبزیان می‌شوند (۲۵). اگرچه برخی از ترکیبات مختل کننده اندوکرینی به سرعت در محیط زیست یا بدن موجودات تجزیه می‌گردند، با این حال قرارگیری کوتاه مدت در معرض این ترکیبات در دوره‌های حیاتی رشد می تواند مهلک باشد. بطور کلی، ترکیبات مختل کننده اندوکرینی به دو دسته ترکیبات غیر استروژنیک (همانند برخی از فلزات سنگین نظیر سرب و جیوه) و مواد با توانایی ایجاد اثر استروژنیک تقسیم می‌گردند (۱۶). به مواد خارجی با خواص استروژنیک زنواستروژن می‌گویند. مختل کننده‌های اندوکرینی، سیستم اندوکرینی موجودات را به وسیله مکانیسم‌های مختلفی تحت تأثیر قرار می‌دهند. این مسیرها شامل اتصال به گیرنده استروژن، ممانعت از اتصال استروئید به گیرنده و همچنین اختلال در سنتز زیستی یا متابولیسم هورمون‌های استروئیدی و گیرنده‌های هورمونی می‌باشد (۲۳،۲۴). علاوه بر عملکرد آگونیستیک یا آنتاگونیستیک، برخی از ترکیبات شیمیایی می توانند متابولیسم

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۶۳۲-۴۲۳۴۴۰۱ نمابر: ۰۶۳۲-۴۲۳۳۳۲۲ Email: amovahedinia@yahoo.com

.ir

هورمون‌های درونی را تحت تأثیر قرار دهند. به عنوان مثال برخی از مختل کننده‌های اندوکرینی، توانایی تغییر در میزان کلسترول مورد نیاز برای آغاز استروئیدزایی را دارند. همچنین آنزیم‌های خانواده سیتوکروم P450 که در تغییر و تبدیل هورمون‌های استروئیدی نقش دارند مستعد تأثیرپذیری از این ترکیبات هستند (۶،۱۴). نمونه بارز در این زمینه توانایی TBT در بازدارندگی از فعالیت آنزیم آروماتاز P450 است که توسط آن تستوسترون به استرادیول تبدیل می‌گردد (۱۹). همینطور، Kishida و همکاران در سال ۲۰۰۱، نشان دادند که BPA می‌تواند فعالیت آروماتاز را در ماهی گوره‌خری (Danio rerio) القا کند. در مطالعاتی که برروی حیوانات به وسیله در معرض‌گذاری به BPA در مرحله پیش از تولد و نوزادی صورت گرفته است؛ رسیدگی جنسی (۹)، توسعه و تکامل و سازماندهی بافت غده‌های پستانی (۱۵)، اندازه اندام‌های تولیدمثلی را تحت تأثیر قرار داده است و در نهایت منجر به کاهش تولید اسپرم در فرزندان شده است (۲۶). تاکنون بررسی‌های اندکی در ارتباط با تأثیرات مواد زنواستروژن در ماهیان دریایی انجام شده است. ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) از گونه‌های مهم و تجاری خلیج فارس به شمار می‌آید. این ماهی قادر به زندگی در آب‌های شیرین، لب شور و محیط‌های دریایی بوده و ارزش اقتصادی بالا، سازگاری آسان با اسارت و در دسترس بودن تکنولوژی پرورش آن (۸،۲۱) باعث شده است که پرورش این گونه، در آب‌های جنوبی کشور به صورت جدی دنبال گردد. این ماهی به دلیل رژیم گوشتخواری در سطح بالای زنجیره غذایی قرار دارد و اغلب نزدیک رسوبات زندگی می‌کند بنابراین، گونه هدف مناسبی جهت مطالعات سم‌شناسی است. یکی از زیستگاه‌های اصلی شانک زردباله در آبهای جنوبی کشور، منطقه خورموسی است. از اینرو ورود پساب‌های متنوع تأسیسات پتروشیمی به این خور می‌تواند منجر به مواجهه این گونه با طیف وسیعی از ترکیبات آلاینده به ویژه موادی با داشتن اثرات استروژنیک از جمله بیس فنل آ گردد. ماهی شانک زردباله یک ماهی هرمافرودیت پروتاندروس است (۸). بنابراین، آلاینده‌های زنواستروژن می‌توانند تمایز جنسی و به دنبال آن سلامت تولید مثلی این گونه را تحت تأثیر قرار داده و منجر به کاهش جمعیت‌های آن شوند. هدف از انجام این مطالعه اثبات استروژنیک بودن BPA با استفاده از تغییر تعادل هورمون‌های استروئیدی و استفاده از این هورمون‌ها به عنوان بیومارکر در مواجهه با ماده آلاینده BPA است.

مواد و روش کار

صید ماهی و دوره سازگاری: تعداد ۷۲ قطعه ماهی شانک زرد باله نر نابالغ (میانگین وزنی ۱۲/۱g±۱۳۳/۷) از خورزنگی و جعفری (از انشعابات خورموسی، خلیج فارس) صید شدند. ماهی‌ها پس از انتقال به سوله مرکز تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) به صورت تصادفی در ۶ تانک ۳۰۰L (۱۲ ماهی در هر تانک) با آب فیلترشده دریا که توسط اشعه UV تیمار شده بود (شوری ۲±۴۸، pH ۰/۲±۸/۲، دمای °C ۲±۲۵) و تحت سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی قرار داده شدند. ماهیان روزانه غذادهی می‌شدند و ۵۰٪ از حجم آب هرتانک به صورت روزانه تعویض گردید. جهت سازگاری ماهی‌ها با شرایط جدید ۷ روز در نظر گرفته شد.

تزریق ماهیان: به منظور مواجهه ماهی شانک زرد باله با ماده بیس فنل آ در مطالعه حاضر، از روش تزریق استفاده شد (۲۸). بدین منظور پس از بیهوش کردن با ۲-فنوکسی اتانول ۰/۲٪ (Merck, Germany)، ماهیان ۴ تیمار با دوزهای ۱۰μg، ۵۰، ۱۰۰، و ۱۵۰ به ازای هر گرم وزن بدن بر هفته از BPA (Sigma-Aldrich Co) حل شده در ۱mL روغن نارگیل به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، در طول ۲ هفته و به صورت دورن صفاقی تزریق شدند (۲۰). تزریق‌ها در نصف دوز و دوبار در هفته انجام پذیرفت. گروه کنترل حلال تنها میزان معینی از حلال (روغن نارگیل) را دریافت کردند در حالیکه بر روی ماهیان کنترل هیچگونه تزریقی صورت نگرفت. عملیات تزریق در روزهای ۴، ۸ و ۱۱ بعد از اولین تزریق نیز تکرار شد. همه تزریق‌ها نیز در فاصله زمانی ۸ تا ۱۰ صبح انجام پذیرفت.

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از ماهیان در زمان‌های ۰، ۷ و ۱۴ روز پس از اولین تزریق، صورت گرفت. جهت نمونه‌برداری، پس از بیهوش نمودن و ثبت طول و وزن، از ساقه دمی ماهیان به وسیله سرنگ ۲mL تیمار شده با هپارین خونگیری شد. سپس نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰×g سانتریفوژ و پلاسما به میکروتیوب‌های ۱/۵mL منتقل گردید. نمونه‌های پلاسما تا زمان آنالیز در دمای $80^{\circ}C$- نگهداری شدند.

سنجش هورمون‌ها: سنجش میزان هورمون‌های استروئیدی پلاسما به روش رادیوایمونواسی و با استفاده از کیت رادیوایمونواسی شرکت Immunotech کشور فرانسه انجام شد.

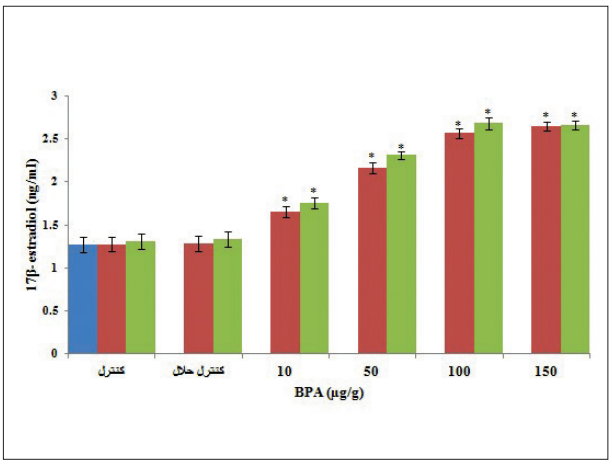
آنالیز آماری: جهت آنالیز آماری از نرم افزار SPSS 16 استفاده شد. تمامی مقادیر به صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش شده است. نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها توسط تست Shapiro-wilk بررسی شد ($p<0/05$). از آنالیزواریانس دو طرفه (Two-Way ANOVA) به منظور تعیین معنی‌داری اثر غلظت‌های مختلف، زمان و برهمکنش آنها استفاده گردید. سپس با استفاده از پس آزمون دانکن معنی‌داری اختلاف میان تیمارهای مختلف مشخص گردید.

نتایج

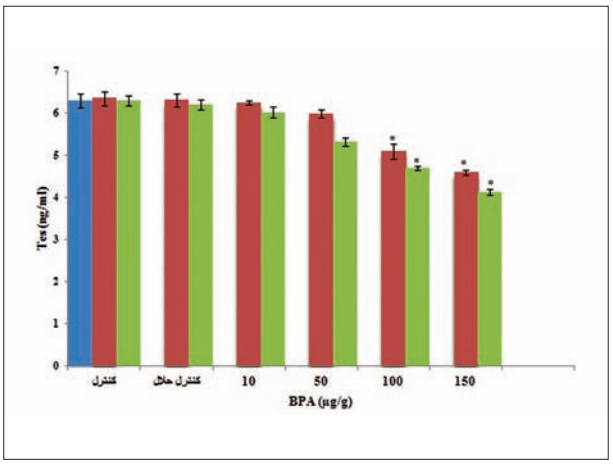
سطوح هورمون‌های جنسی β۱۷- استرادیول و تستوسترون ماهی شانک زردباله پس از در معرض قرارگیری به BPA تغییراتی را نشان داد. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌کنید اختلاف معنی‌داری در سطوح هورمون β۱۷- استرادیول پلاسمای ماهیان شانک زردباله تیمار شده نسبت به گروه کنترل وجود دارد. سطوح هورمون استرادیول پلاسمای ماهیان تیمار شده با BPA در یک رفتار وابسته به غلظت، پس از ۷ و ۱۴ روز از در معرض گذاری افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند ($p<0/05$). این افزایش وابسته به غلظت حتی در پایین‌ترین غلظت

www.SID.ir

Arch ۱۹۹ of SID



نمودار ۱. غلظت ۱۷β ـ استرادیول در پلاسمای جنس نر ماهیان شانک زرد باله در ارتباط با غلظت‌های مختلف BPA بعد از ۷ و ۱۴ روز از در معرض گذاری. (*) بیانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در (p<۰/۰۵).
۱۴ ۷ ۰



نمودار ۲. غلظت تستوسترون در پلاسمای جنس نر ماهیان شانک زرد باله تیمار شده با غلظت‌های مختلف BPA پس از ۷ و ۱۴ روز از در معرض گذاری. (*)بیانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در (p<۰/۰۵).
۱۴ ۷ ۰

BPA به کار برده شده در این مطالعه(۱۰µg/g) مشاهده شد. با این وجود اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های کنترل و کنترل حلال در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری مشاهده نگردید. سطوح استرادیول ماهیان تیمار شده در بین غلظت‌های مختلف BPA نیز به جز غلظت‌های ۱۵۰µg/g و ۱۰۰ اختلاف معنی‌داری با همدیگر نشان دادند. در روز ۱۴ سطوح بالاتری از هورمون استرادیول در بین ماهیان تیمار شده نسبت به روز ۷ اندازه‌گیری شد.

تغییرات مقادیر هورمون تستوسترون موجود در پلاسمای ماهیان تیمارهای مختلف در نمودار ۲ نشان داده شده است. سطوح تستوسترون پلاسمای ماهیان شانک زردباله تیمار شده با غلظت‌های متفاوت از BPA در یک رفتار معکوس با غلظت و زمان در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (p<۰/۰۵). با این وجود، این کاهش سطح تستوسترون وابسته به غلظت، از لحاظ آماری تنها در غلظت‌های ۱۰۰µg/g و ۱۵۰ از BPA معنی‌دار بود.

سطوح تستوسترون همانند استرادیول نیز در بین گروه‌های کنترل در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان نداد. در تیمارهای ۱۰ و ۵۰ نیز اختلاف معنی‌داری در سطوح تستوسترون پلاسما در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نگردید.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که BPA می‌تواند تغییراتی را در سطوح هورمون‌های استروئیدی ماهی شانک زردباله ایجاد نماید. گزارش‌های مختلف نشان داده است که BPA قادر است سطوح هورمون‌های استروئیدی را در گونه‌های مختلف جانوری تحت تأثیر قرار دهد (۵،۱۰،۱۳). سطوح هورمون ۱۷β ـ استرادیول پلاسمای ماهی شانک زردباله به طور آشکاری در پاسخ به کمترین دوز مورد استفاده از BPA پس از ۷ و ۱۴ روز از در معرض گذاری تحت تأثیر قرار گرفت. این تغییرات در پاسخ به افزایش غلظت BPA روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد (نمودار ۱). در مطالعه‌ای، Yang و همکاران در سال ۲۰۰۸، با در معرض قرار دادن جنس نر ماهی طلایی *Carasius auratus* با نونیل فنل به روش محلول در آب، افزایش سطوح هورمون استرادیول و کاهش سطوح هورمون تستوسترون را در بین گروه‌های تیمار شده، در مقایسه با گروه کنترل، گزارش نمودند. در مطالعه‌ای دیگر، Pait و همکاران در سال ۲۰۰۳، با تزریق درون صفاقی BPA به جنس نر ماهی *Fundulus heteroclitus* و با دوزهایی مشابه با مطالعه حاضر، افزایش تولید ویتلوژنین را در یک رفتار وابسته به دوز در پاسخ به BPA گزارش کردند. این افزایش ویتلوژنین، می‌تواند با تغییر در سطوح استروئیدی‌های جنسی به ویژه ۱۷β ـ استرادیول همراه باشد. تولید هورمون‌های استروئیدی بوسیله آنزیم‌های متعدد سیتوکروم P450 بسیار اختصاصی و تعدادی از رداکتازها و دهیدروژنازهای استروئیدی کنترل می‌گردد. آنزیم سیتوکروم P450 آروماتاز یک آنزیم کلیدی در تولید استروژن‌ها است (۷). این آنزیم تبدیل آندروژن‌های تستوسترون و آندروستندیون را به استرادیول کاتالیز می‌کند (۴). افزایش بیان پروتئین آروماتاز در سلول‌های لیدیگ بیضه‌ای در موش در یک رفتار وابسته به غلظت و زمان، در مواجهه با BPA اثبات شده است (۱۲). بنابراین افزایش ۱۷β ـ استرادیول پلاسمای ماهی شانک زرد باله در پاسخ به BPA ممکن است ناشی از افزایش فعالیت آنزیم سیتوکروم P450 در پاسخ به BPA باشد. همینطور، ممکن است ناشی از کاهش فعالیت آنزیم‌های متابولیزه کننده استرادیول در مواجهه با BPA باشد.

سطوح تستوسترون نیز در ماهی شانک زردباله در مواجهه با BPA در دوزهای بالا (۱۰۰ و ۱۵۰) کاهش یافت. در مطالعه‌ای Labadie و Budzinski در سال ۲۰۰۶، اثر BPA را در شرایط آزمایشگاهی بر روی سطوح هورمون‌های استروئیدی سپر ماهی Psetta maxima مورد بررسی قرار

www.SID.ir

دادند؛ نتایج مطالعه آنها نشان دهنده کاهش سطوح هورمون تستوسترون و کاهش نسبت آندروژن‌ها به استروژن‌ها در ماهیان تیمار شده بود. در مطالعه دیگر، Nakamura و همکاران در سال ۲۰۱۰، با در معرض‌گذاری موش‌های نر با غلظت‌های ۲۰µg/g، ۱۰۰ و ۲۰۰ بر روز از BPA و غلظت‌های ۱۰µg/kg و ۱۰۰ بر روز از ۱۷β-استرادیول، کاهش سطوح هورمون تستوسترون را در پلاسما و بیضه موش‌های تیمار شده با BPA مشابه با ۱۷β- استرادیول گزارش نمودند. همینطور، Kim و همکاران در سال ۲۰۱۰، با مطالعه اثر BPA بر روی سلول‌های لیدیگ بیضه‌ای موش، کاهش سطوح هورمون تستوسترون را در این سلول‌ها در یک روند وابسته به دوز، پس از ۱۸ ساعت از در معرض‌گذاری و در مقایسه با نمونه کنترل نشان دادند. همچنین، DCruz و همکاران در سال ۲۰۱۲، با در معرض‌گذاری موش به غلظت‌های ۵۰۰µg/kg و ۵۰، ۰/۵، ۰/۰۰۵ وزن بدن بر روز با BPA، دریافتند که سطوح تستوسترون پلاسما در موش‌های تیمار شده در یک روند وابسته به دوز به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، تغییرات هورمون‌های استروئیدی پلاسمای ماهی شانک زردباله در مدت زمان کوتاه در مواجهه با BPA، نشانگر این است که، این فاکتورها می‌توانند بیومارکرهای مناسبی برای بررسی وضعیت آلایندگی زنواستروژن‌ها در محیط و سلامت تولید مثلی آبزیان و خصوصا ماهیان باشند. همچنین با توجه به نقش مهم هورمون‌های استروئیدی در تولید مثل آبزیان، بنابراین، تغییرات ایجاد شده در هورمون‌های استروئیدی در اثر BPA می‌تواند منجر به تأثیرات مخربی بر روی تولیدمثل ماهی شانک زردباله گردد. در نتیجه، BPA می‌تواند تمایز جنسی و موفقیت تولیدمثلی ماهی شانک زردباله، که یک ماهی اقتصادی و هرمافرودیت است را تحت تأثیر قرار دهد و در نهایت منجر به تغییرات نامطلوبی در نسبت جنسی و جمعیت این گونه ارزشمند شود.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر در قالب سمینار کارشناسی ارشد مصوب گروه بیولوژی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام شده است. در انجام این پروژه از کمک‌های محققین و کارشناسان متعددی بویژه جناب آقای مهندس علی وابونیان، آقای دکتر اسکندری، آقای مهندس محمدرضا صحرائیان و پرسنل محترم ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) استفاده شده است، که بدینوسیله تشکر و قدردانی از ایشان بعمل می‌آید.

References

1. Amaral Mendes, J. (2002) The endocrine disrupters: A major medical challenge. Food Chem Toxicol. 40: 781-788.
2. Damstra, T., Page, S., Herrman, J., Meredith, T., (2002) Persistent organic pollutants: Potential health effects?. J Epidemiol Community Health. 56: 457-465.
3. D'Cruz, S.C., Jubendradass, R., Jayakanthan, M., Rani, S.J.A. (2012) Bisphenol A impairs insulin signaling and glucose homeostasis and decreases steroidogenesis in rat testis: An in vivo and in silico study. Food Chem Toxicol. 50: 1124-1133.
4. Diotel, N., Page, Y.L., Mouriec, K., Tong, S.K., Pellegrini, E., Vaillant, C., et al. (2010) Aromatase in the brain of teleost fish: Expression, regulation and putative functions. Front Neuroendocrinol. 31: 172-192.
5. Feng, Y., Yin, J., Jiao, Z., Shi, J., Li, M., Shao, B. (2012) Bisphenol AF may cause testosterone reduction by directly affecting testisfunction in adult male rats. Toxicol Lett. 211: 201-209.
6. Hallgren, P., Martensson, L., Mathiasson, L., Martensson, L. (2009) Improved spectrophotometric vitellogenin determination via alkali-labile phosphate in fish plasma-a cost effective approach for assessment of endocrine disruption. Int J Environ Anal Chem. 89: 1023-1042.
7. Heneweer, M., Vanden Berg, M., Sanderson, J.T. (2004) A comparison of human H295R and rat R2C cell lines as invitro screening tools for effects on aromatase. Toxicol Lett. 146: 183-194.
8. Hesp, S.A., Potter, I.C., Hall, N.G. (2004) Reproduction biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. Environ Biol Fish. 70: 252-272.
9. Howdeshell, K.L., Hotchkiss, A.K., Thayer, K.A., Vandenbergh, J.G., VomSaal, F.S. (1999) Exposure to bisphenol A advances puberty. Nature. 401: 763-764.
10. Jones, B.A., Shimell, J.J., Watson, N.V. (2011) Pre- and postnatal bisphenol A treatment results in persistent deficits in the sexual behavior of male rats, but not female rats, in adulthood. Horm Behav. 31: 172-192.
11. Kishida, M., Mc Lellan, M., Mirande, J.A., Callard, G.V. (2001) Estrogen and xenoestrogens upregulate

www.SID.ir

the brain aromatase isoform (P450aromB) and perturb markers of early development in zebrafish (*Danio rerio*). Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol. 129: 261-268.

12. Kim, J.Y., Han, E.H., Kim, H.G., Oh, K.N., Kim, S.K., Lee, K.Y., et al. (2010) Bisphenol A induced aromatase activation is mediated by cyclooxygenase-2 upregulation in rat testicular Leydig cells. Toxicol Lett. 193: 200-208.
13. Labadie, P., Budzinski, H. (2006) Alteration of steroid hormone balance in juvenile turbot (*Psetta maxima*) exposed to nonylphenol, bisphenol A, tetrabromodiphenyl ether 47, Diallylphthalate, Oil, and Oil Spiked with Alkylphenols. Environ Contam Toxicol. 50: 552-561.
14. Lintelmann, J., Katayama, A., Kurihara, N., Shore, L., Wenzel, A. (2003) Endocrine disruptors in the environment. Pure Appl Chem. 75: 631-681.
15. Markey, C.M., Luque, E.H., Munoz De Toro, M., Sonnenschein, C., Soto, A.M. (2001) In utero exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary gland. Biol Reprod. 65: 1215-1223.
16. Matozzo, V., Gagné, F., Marin, M.G., Ricciardi, F., Blaise, C. (2008) Vitellogenin as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic invertebrates: A review. Environ Int. 34: 531-545.
17. Matthiessen, P. (2003) Endocrine disruption in marine fish. Pure Appl Chem. 75: 2249-2261.
18. Nakamura, D., Yanagiba, Y., Duan, Z., Ito, Y., Okamura, A., Asaeda, N., et al. (2010) Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol. Toxicol Lett. 194: 16-25.
19. Oehlmann, J., Markert, B., Stroben, E., Schulte-Oehlmann, U., Bauer, B., et al. (1996) Tributyltin biomonitoring using prosobranchs as sentinel organisms. Fresenius. J Anal Chem. 354: 540-545.
20. Pait, A.S., Nelson, J.O. (2003) Vitellogenesis in male *Fundulus heteroclitus* (killifish) induced by selected estrogenic compounds. Aquat Toxicol. 64: 331-342.
21. Sa, R., Pousao-Ferreira, P., Oliva-Teles, A. (2006) Effect of dietary protein and lipid levels on growth nickel on glycogen reserves and protein levels in and feed utilization of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. Aquacult Nutr. 12: 310-321.
22. Segner, H. (2005) Developmental, reproductive, and demographic alterations in aquatic wildlife: Establishing causality between exposures to endocrine-active compounds (EACs) and effects. Acta Hydrochem. Hydrobiol. 33: 17-26.
23. Sharpe, R.M., Irvine, D.S. (2004) How strong is the evidence of a link between environmental chemicals and adverse effects on human reproductive health?. Br Med J. 328: 447-451.
24. Sonnenschein, C., Soto, A.M. (1998) An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. J Steroid Biochem Mol Biol. 65: 143-150.
25. Teles, M., Pacheco, M., Santos, M.A. (2003) Anguilla anguilla L. liver EROD, GST, erythrocytic nuclear abnormalities and endocrine responses to naphthalene and β-naphthoflavone. Ecotoxicol Environ Saf. 55: 98-107.
26. Vom Saal, F.S., Cooke, P.S., Buchanan, D.L., Palanza, P., Thayer, K.A., Nagel, S.C., et al. (1998) A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. Toxicol Ind Health. 14: 239-260.
27. Yang, L., Lin, L.,Weng, S., Feng, Z., Luan,T. (2008) Sexually disrupting effects of nonylphenol and diethylstilbestrol on male silver carp (*Carassius auratus*) in aquatic microcosms. Ecotoxicol Environ Saf. 71: 400-411.
28. Zhang, W., Yang, J., Wang, J., Xia, P., Xu, Y., Jia, H., et al. (2007) Comparative studies on the increase of uterine weight and related mechanisms of cadmium and p-nonylphenol. Toxicology. 241: 84-91.

www.SID.ir

Effect of bisphenol A exposure on plasma sex steroid hormone levels in male Yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*)

Negintaji,A., Movahedinia, A.A.*

Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr- Iran

(Received 11 December 2012 , Accepted 12 March 2013)

Abstract:

BACKGROUND: Bisphenol A (BPA), an industrially chemical compound, is abundantly used as a primary raw material for production of polycarbonate plastics, epoxy resins and many industrial productions. **OBJECTIVES:** To show the effect of BPA on plasma steroid hormone variations, male Yellowfin seabream were subjected to this compound. **METHODS:** Fish were intraperitonealy injected by dissolved BPA in coconut oil (10, 50, 100 and 150 µg/g-1 week-1) of over 2weeks. Plasma samples were collected on days 0, 7 and 14. Plasma levels of steroid hormones (testosterone and 17β-estradiol) were determined by radioimmunoassay. **RESULTS:** Plasma levels of 17β-estradiol hormone in BPA treated fish was significantly increased in a dose dependent manner, after 7 and 14 days of exposure ($p<0.05$). Plasma levels of testosterone showed decrease in response to different concentrations of BPA. However this decrease in testosterone levels was significant only in response to 100 and 150 micrograms per gram of BPA. **CONCLUSIONS:** It can be concluded that short term exposure of Yellowfin seabream (Acanthopagrus latus) to BPA can make destructive effects in reproductive system.

Key words: 17β- estradiol, bisphenol A, testosterone, yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*)

Figure Legends and Table Captions

Graph 1. Plasma levels of 17β-estradiol in *A.latus* after 7 and 14 days treatment with different doses of BPA. (*) Denotes significant differences from the control group ($p<0.05$). 14 7 0

Graph 2. Plasma levels of testosterone in *A.latus* after 7 and 14 days treatment with different doses of BPA. (*) Denotes significant differences from the control group ($p<0.05$). 14 7 0

***Corresponding author's email: amovahedinia@yahoo.com, Tel: 0632-4234401, Fax: 0632-4233322**

www.SID.ir