اثر نفتالین بر اختلالات آندوکرینی مراحل پیش زرده سازی و زرده سازی ماهی ماده مید *Liza klunzingeri*

عبدالعلی موحدی نیا[۱و۲*]، زهرا یاراحمدی[۱] و سارا رستگار

۱. دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، گروه بیولوژی دریا
۲. پژوهشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر.

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر نفتالین بر سیستم اندوکرین در ماهیان ماده در دو مرحله پیش زرده سازی و زرده سازی است. در آزمایش اول ماهیان ماده مید (*Liza klunzingeri*) به دو گروه شاهد و تیمار تقسیم شدند. به گروه تیمار محلول ۵۰mg/kg نفتالین در ۲µl/g روغن گیاهی به ازای وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق شد. برای گروه شاهد از۲µl/ g به ازای وزن بدن روغن گیاهی استفاده شد. از هر دو گروه پس از ۳ ساعت نمونه گیری صورت گرفت. طراحی آزمایش دوم مانند آزمایش اول شکل گرفت، و به منظور رهایش آرام نفتالین از ایمپلنت درون صفاقی ۱۰µl/g روغن نارگیل به تنهایی برای گروه شاهد و ایمپلنت ۵۰mg/kg نفتالین محلول در۱۰µl/ g روغن نارگیل به ازای وزن بدن استفاده شد. ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نمونه گیری انجام شد. داده های بدست آمده در هر دو حالت استرس حاد و مزمن افزایش معنی دار کورتیزول را نشان داد. در مقابل کاهش معنی دار سطوح پلاسمایی۱۷ بتا استرادیول و تری یدوتیرونین در استرس مزمن مشاهده شد. به نظر می‌رسد افزایش کورتیزل به منظور تامین نیاز بیشتر به انرژی در شرایط استرس باشد. نفتالین با اثر مهاری بر آنزیم‌های استروئیدوژنز به صورت مستقیم و فعال کردن رسپتور های آریل هیدروکربن به صورت غیر مستقیم سبب کاهش ۱۷ بتا استرادیول و تری یدوتیرونین می‌شود. بر اساس نتایج استرس PAH در ماهیان ماده می‌تواند منجر به آشفتگی اندوکرینی و اختلال در بلوغ و تولید مثل موفق شود.

واژگان کلیدی: زرده سازی،۱۷- بتا استرادیول،کورتیزول، تری یدوتیرونین، هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک

*نویسنده مسوول، پست الکترونیک: amovahedinia@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

از مهم‌ترین آلاینده‌های آلی که پراکنش وسیعی در اکوسیستم‌های آبی دارند هیدروکربن های آروماتیک حلقوی (PAHs) می‌باشند (Meador *et al*., 1995). خاصیت سرطان زایی و جهش زایی PAH ها که موجب اختلال در فرآیند رشد، تولید مثل و تنظیم اسمزی می‌شود، در ماهیان به اثبات رسیده است (Nicolas, 1999). نفتالین و ترکیبات آن نظیر آلکیل نفتالین از فراوان‌ترین ترکیبات PAH نفت خام هستند (Aas *et al*., 2000) و فراونی بالایی در میان آلاینده‌های محیطی دارند (Lee and Anderson, 2005).

PAH ها درمهره داران آبزی می‌توانند به عنوان آشفته کننده آندوکرینی عمل کنند (Cooper and Kavlock, 1997; Stahlschmidt-Allner *et al*., 1997). این ترکیبات می‌توانند موجب اختلال در سنتز استروئیدها در گنادها و ترشحات اینترنال در ماهیان شوند، که این اثر از طریق اختلال در محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد (HPG) و وظایف محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- اینترنال (HPI) اعمال می شود (Hontela *et al*., 1997; Wilson *et al*., 1998; Evanson and Van der Kraak, 2001; Navas *et al*., 2004).

ترکیبات هیدروکربنی می‌توانند به طور مستقیم سبب اختلال در ترشحات بافت تیروئیدی به خصوص فرم فعال بیولوژیک هورمون‌های تیروئیدی یعنی تری یدوتیرونین (T3) شوند و یا به طور غیر مستقیم بر محور هیپوتالاموس- هیپوفیز-تیروئید (HPT) اثر منفی خود را اعمال کنند (Teles *et al*., 2005). به این ترتیب تولید مثل موفق و فرآیندهای فیزیولوژیک مقابله کننده با استرس و تامین انرژی را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

در ماهیان ماده ویتلوژنز فرآیند کلیدی تولید مثل است که طی آن در تخمدان‌های بالغ، تخمک ها زرده ذخیره می‌کنند (Tintos *et al*., 2006a). این فرآیند با آزاد شدن ناگهانی گنادوتروپین به درون خون و حمل آن به سمت تخمدان‌ها آغاز می‌شود، گنادوتروپین موجب رشد و تحریک تخمک زایی و نیز تحریک سلول‌های فولیکولی به سنتز ۱۷بتا استرادیول می شود (Davies *et al*., 1999). ۱۷بتا استرادیول به درون پلاسما آزاد می‌شود و هنگامی که به کبد می‌رسد موجب تحریک تولید پروتئین اولیه سازنده زرده (ویتلوژنین) می‌شود (Davies *et al*., 1999; Tyler *et al*., 1996). PAH ها با اختلال درسیکل تولید ویتلوژنین می‌توانند تولید مثل موفق در ماهیان را به مخاطره بیندازند. از جمله این اختلالات می‌توان به کاهش سطح۱۷بتا استرادیول (Thomas and Budiantara, 1995)، ممانعت از بالارفتن ویتلوژنین پلاسما در طی فرآیند ویتلوژنز (Navas *et al*., 2004; Anderson *et al*., 1996)، ویتلوژنز زودرس(Janssen *et al*., 1997) و اختلال در بلوغ جنسی (Thomas and Budiantara, 1995) اشاره کرد.

PAH ها با فعال کردن رسپتورهای آریل هیدروکربن (AhR) سبب واکنش در رسپتورهای استروژن (ER) و مسیرهای سنتز آن می‌شوند (Aluru *et al*., 2005). این ترکیبات می‌توانند با اثر بر گیرنده‌های استروژن موجب عدم تعادل استروژنیک در بافت هدف شوند (Monteiro *et al*., 2000).

گزنوبیوتیک‌هایی نظیر PAH ها در مسیر تولید و عملکرد هورمون‌هایی که در بالا بردن انرژی بدن نقش دارند نظیر کورتیزول و هورمون-های تیروئیدی دخالت دارند (Teles *et al*., 2005; Hontela *et al*., 1992) و همچنین در فرآیندهای

Archive of SID
www.SID.ir

فیزیولوژیکی که به وسیله کورتیزول و T3 تنظیم می‌شوند نظیر تولید مثل ، رشد و تنظیم اسمزی دخالت می‌کنند (Hontela, 2005).

هدف از این مطالعه بررسی اثرکوتاه مدت و بلند مدت نفتالین به عنوان سبک‌ترین هیدروکربن حلقوی آروماتیک بر اختلالات آندوکرینی مراحل جنسی پیش زرده سازی و زرده سازی می‌باشد.

۲. مواد و روش ها

۲-۱- ماهیان بررسی شده:

در آذر و دیماه ۱۳۸۹ از منطقه خور موسی واقع در شمال خلیج فارس(خوزستان، ایران) با استفاده از تورگوشگیر تعداد ۱۰۰ ماهی مید ماده با میانگین وزنی۲,۷۷±۹۶,۷ صید گردید. سپس به مرکز تحقیقات ماهیان دریایی جنوب (بندر امام خمینی،ایران) منتقل شدند. ماهیان به مدت ۱ هفته در تانک های ۱۵۰ لیتری در شرایط نوری و دمای طبیعی آداپته کرده و تا ۲۴ ساعت قبل از نمونه برداری، به مقدار ۱٪ وزن بدن غذادهی شدند.

۲-۲- طراحی آزمایش:

به منظور بررسی اثر حاد نفتالین تعداد ۵۰ ماهی به دو گروه شاهد و تیمار تقسیم شدند. با استفاده از ۲-فنوکسی اتانول۰/۲ درصد ماهیان را بیهوش کرده، وزن شدند. سپس مقدار mg/kg ۵۰ نفتالین به همراه ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن به داخل صفاق گروه تیمار تزریق شد. در گروه شاهد برای تزریق تنها از ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن استفاده شد. از این گروه ۳ ساعت پس از تزریق نمونه گیری شد.

به منظور بررسی اثر مزمن نفتالین تعداد ۵۰ ماهی (دو گروه شاهد و تیمار) به کمک ۲-فنوکسی اتانول ۰/۲ درصد بیهوش کرده، وزن شدند. در گروه تیمار مقدار mg/kg ۵۰ نفتالین محلول در ۱۰µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن ایمپلنت داخل صفاقی شد. در گروه شاهد از ایمپلنت ۱۰µ l/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن استفاده شد. ۳ روز پس از کاشت ایمپلنت از هر دو گروه نمونه گیری صورت گرفت.

۲-۳-نمونه گیری:

ماهیان با استفاده از ۲-فنوکسی اتانول۰/۲ درصد بیهوش شده و به کمک سرنگ آغشته به هپارین از سیاهرگ ساقه دمی مقدارcc ۳ خونگیری شد. نمونه خون را با دور۶۰۰۰ به مدت ۷ دقیقه سانتریفوژ کرده و پلاسمای حاصله را تا انجام مطالعات بعدی در نیتروژن مایع به سرعت منجمد کرده و به فریزر ۸۰- منتقل شدند.

به منظور تعیین مرحله جنسی پس از خارج کردن گنادها، آن‌ها را در محلول بوئن به مدت ۲۴ تا۴۸ ساعت فیکس کرده و سپس نمونه ها تا انجام مراحل بافت شناسی به الکل ۷۰٪ انتقال داده شدند.

۲-۴- بافت شناسی و تعیین مرحله تخمدانی:

ازگنادهای فیکس شده پس از انجام مراحل معمول بافت شناسی (ثبوت، آبگیری، شفاف سازی، قالب‌گیری) برش هایی با ضخامت ۶-۴ میکرون تهیه و با رنگ هما توکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شدند. برای تعیین مرحله جنسی از میکروسکوپ نوری استفاده شد (Barciela *et al*., 1993).

۲-۵- اندازه‌گیری هورمون‌ها:

برای اندازه‌گیری مقادیر هورمون‌های کورتیزول، ۱۷ بتا استرادیول و T3 در ماهیان هم مرحله از روش ELISA استفاده شد. برای سنجش ۱۷ بتا استرادیول از کیت تجاری DRG (محصولUSA) و برای سنجش کورتیزول و T3 به ترتیب از DIMETRA (ساخت ایتالیا) و Monobind (ساخت

Archive of SID
www.SID.ir

فرانسه) استفاده شد (Tintos *et al*., 2006b; Tintos *et al*., 2007)

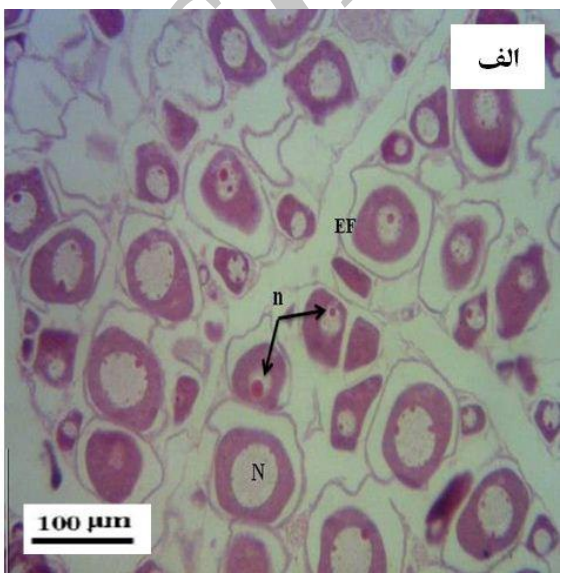
۲-۶- آنالیز آماری:

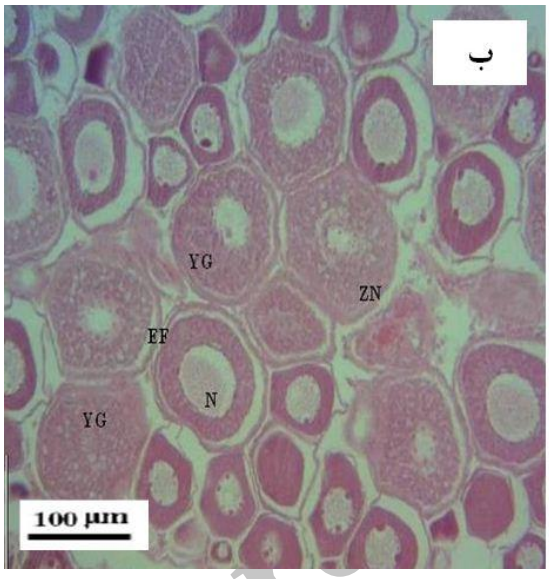
برای مقایسه هورمون‌های کورتیزول، T3 و۱۷ بتا استرادیول در دو گروه شاهد و تیمار در دو مرحله جنسی از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد، جهت مقایسات چندگانه پس آزمون Student-Newman-Keuls به عمل آمد، ضریب اطمینان در این آزمون ۰/۰۵ (p≤ ۰/۰۵) است. در تحلیل داده ها و رسم نمودار از نرم افزار Sigma plot ver.11 استفاده شد.

۳. نتایج

۳-۱-تعیین مرحله جنسی :

در طی دوره آزمایش مرگ و میری در ماهیان مشاهده نشد. پس از انجام مراحل بافت شناسی ، اسلایدهای بافتی تهیه شده به وسیله میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند و بر اساس روش تعیین مرحله (El-Halfawy *et al*., 2007) دو مرحله ویتلوژنز و پرویتلوژنز تعیین شد (شکل ۱).



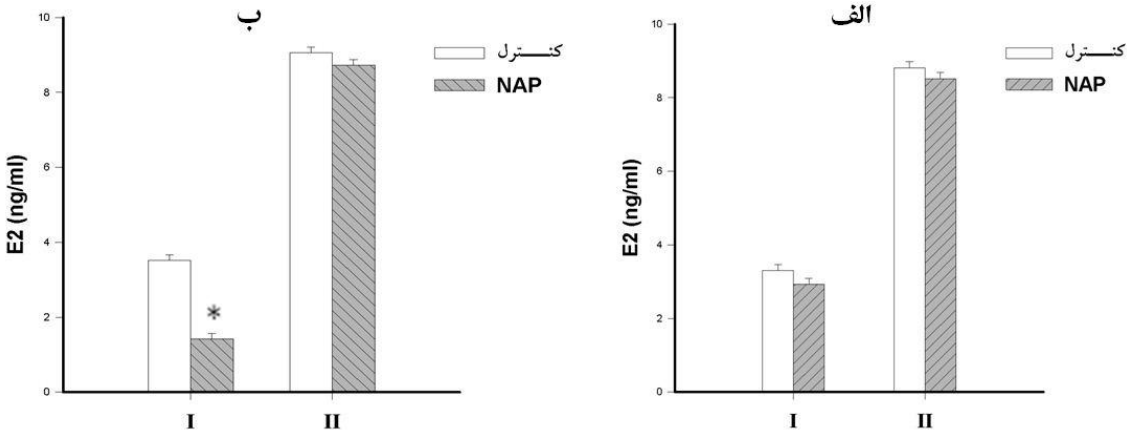


شکل۱. مقاطع بافتی گناد ماهی مید (رنگ آمیزی H&E). الف: مرحله پرویتلوژنز و ب: مرحله ویتلوژنز.
EF: اپیتلیوم فولیکول، N: هسته، n: هستک، YG: گرانول زرده و ZR: زونا رادیاتا.

۳-۲- تغییرات ۱۷ بتا استرادیول در پلاسما:

در استرس حاد اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و تیمار در دو گروه ویتلوژنز و پرویتلوژنز مشاهده نشد . اما پس از استرس مزمن نفتالین کاهش معنی داری در هر دو گروه مشاهده گردید (شکل ۲).

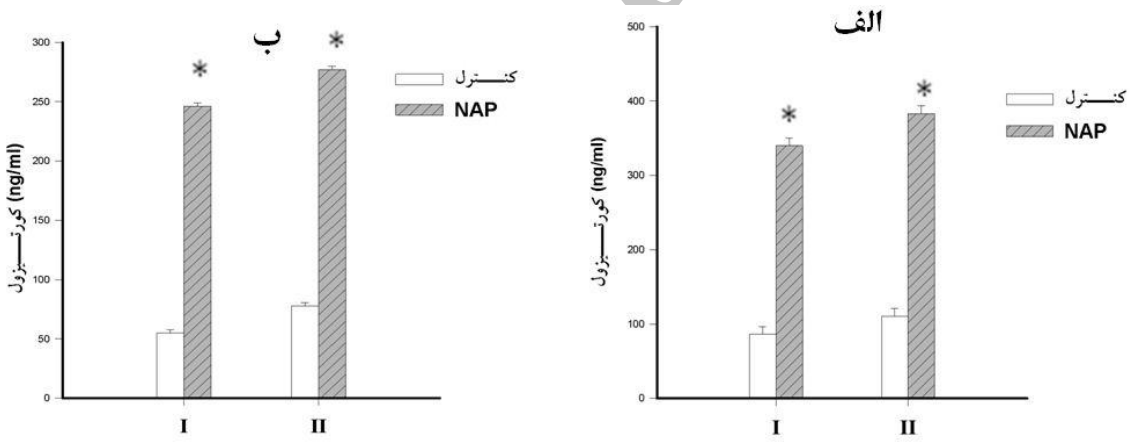
www.SID.ir



شکل ۲. الف: تغییرات سطوح E2 ۳ ساعت پس از تزریق NAP: گروه شاهد: تزریق ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن. ب: تغییرات سطوح E2 ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین. گروه شاهد: ایمپلنت ۱۰µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۱۰µ l/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن. نمودار بر اساس (mean ± SE)،*: اختلاف معنی دار بین گروه شاهد و تیمار (P<0.05).

۳-۳- تغییرات سطح کورتیزول پلاسما:

نفتالین در هر دو آزمایش حاد و مزمن، سبب افزایش سطح کورتیزول پلاسما شد (شکل ۳).

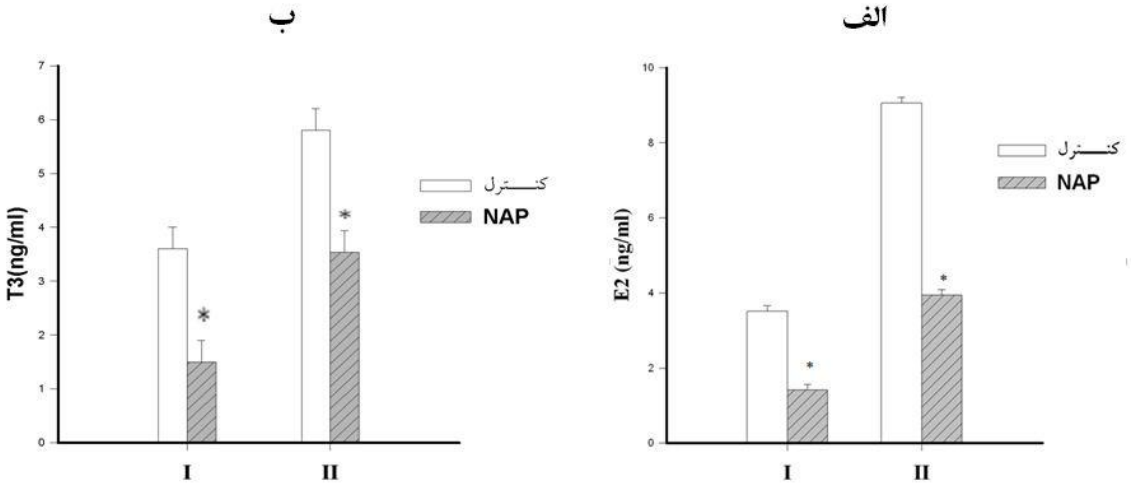


شکل۳. الف) تغییرات سطوح کورتیزول ۳ ساعت پس از تزریق NAP: گروه شاهد: تزریق ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن. ب) تغییرات سطوح کورتیزول ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین. گروه شاهد: ایمپلنت ۱۰µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۱۰µ l/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن.
نمودار بر اساس (mean ± SE)،*: اختلاف معنی دار بین گروه شاهد و تیمار (P <0.05).

۳-۴- تغییرات سطح تری یدوتیرونین:

اگرچه۳ ساعت پس از تزریق نفتالین تغییر معنی داری در مقدار هورمونT3 مشاهده نشد، اما ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین سطح هورمونT3 به طور معنی داری کاهش یافت (شکل۴).

www.SID.ir



شکل ۴. الف: تغییرات سطوح تری یدوتیرونین ۳ ساعت پس از تزریق NAP: گروه شاهد: تزریق ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن. ب: تغییرات سطوح تری یدوتیرونین ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین. گروه شاهد: ایمپلنت ۱۰µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰mg/kg نفتالین محلول در ۱۰µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن. نمودار بر اساس (mean ± SE)، *: اختلاف معنی دار بین گروه شاهد و تیمار ($P < 0.05$).

۴. بحث و نتیجه گیری

اختلال در سیستم اندوکرین که تحت تاثیر گزنوبیوتیک ها به وجود می‌آید، می‌تواند اثرات مخربی بر سلامت موجود و بقای نسل آن داشته باشد. بر اساس نتایج هیدروکربن حلقوی نفتالین سبب افزایش سطوح کورتیزول در هر دو مرحله جنسی می‌شود. مطالعاتی که بر روی ماهی مولت راه راه (Thomas *et al*., 1980)، آزاد ماهی کوهو (Thomas and Rice, 1987)، هرینگ اطلس (Kennedy and Farrell, 2005) و قزل آلای رنگین کمان (Aldegunde *et al*., 1999; Tintos *et al*., 2008; Aluru and Vijayan, 2004) صورت گرفت، افزایش سطوح کورتیزول پلاسما را طی مواجهه با هیدروکربن‌های حلقوی نشان داده است. با این وجود کاهش سطوح کورتیزول در اثر این آلاینده‌ها که به دلیل غیر کارآمد شدن محور HPI یا از کار افتادن آنزیم‌های میتوکندریایی سنتز کورتیزول می‌باشد نیز گزارش شده است (Wilson *et al*., 1998; Teles *et al*., 2003).

نتایج مطالعه فوق حاکی از کاهش معنی دار سطوح T3 پس از ۷۲ ساعت می‌باشد. در بسیاری ا ز مطالعات کاهش سطوح T3 پس از تیمار با آلاینده‌های آلی نظیر PAH ها گزارش شده است (Teles *et al*., 2005; Hood and Klaassen, 2000; Brara *et al*., 2010).

کاهش معنی دار سطوح ۱۷ بتا استرادیول در استرس مزمن در هر دو مرحله ویتلوژنز و پرویتلوژنز مشاهده شد که مطابق با نتایج سایر مطالعاتی بود که روی اثر هیدروکربن‌های حلقوی بر ماهیان ماده انجام شده است (Tintos *et al*., 2007; Thomas, 1990; Rocha Monteiro *et al*., 2000; Afonso *et al*., 1997). برخی مطالعات نیز افزایش سطوح ۱۷ بتا استرادیول را پس از تیمار با آبهای آلوده به PAH نشان می‌دهند (Navas *et al*., 2004).

استرس شیمیایی نفتالین با فعال کردن AhR (رسپتورهای آریل هیدروکربن) موجب تاثیر برسلول-های کورتیکوتروپ شده که به دنبال آن بالا رفتن سطوح کوتیزول پلاسما رخ می‌دهد (Hinton *et al*., 1992). بالا رفتن سطوح کوتیزول نتیجه توام استرس ناشی از تزریق و اثر نفتالین است. نتایج اختلافی بین سطوح کورتیزول در ماهیان تیمار در دو استرس حاد و مزمن را نشان می‌دهد، علت این تفاوت به خوبی مشخص نیست. برخی محققین معتقدند که این

Archive of SID
www.SID.ir

تفاوت به علت فعالیت زیاد سلول‌های هیپوفیزی و خستگی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز- اینتررنال و نیز کاهش تولید کورتیزول پس از استرس مزمن است (Hontela, 2005). فعال شدن رسپتورهای آریل هیدروکربن همچنین می‌تواند موجب تغییر در بیان ژن هورمون‌های تیروئیدی شود (Pocar *et al.*, 2006). به علاوه نفتالین مانند سایر آلاینده‌های آلی با فعال کردن رسپتورهای Ah در بافت هدف هورمون‌های تیروئیدی موجب تغییر در ساختار رسپتورهای تیروئیدی می‌شود (Pocar *et al.*, 2006). PAHها می‌توانند با ایجاد آشفتگی در عملکرد آنزیم کبدی ۵- مونویدیناز در مسیرهای بیوسنتز هورمون T3 دخالت کنند (Scholza and Mayer, 2008).

PAH ها ترکیبات چربی دوستی هستند که می‌توانند در بافت های غنی از چربی نظیر گنادها و مغز ذخیره شوند در نتیجه تاثیر زیادی بر این ارگان‌ها می‌گذارند (Meador *et al.*, 1995). اثر نفتالین بر هورمون ۱۷ بتا استرادیول یا ناشی از بر هم کنش این ماده با محور HPG و یا تغییر در سنتز ۱۷ بتا استرادیول در گنادها می‌باشد. نفتالین می‌توانند به طور اختصاصی و مستقیم مانع از سنتز سه آنزیم مهم دخیل در ساخت۱۷ بتا استرادیول : ۱) سیتوکروم P450 ۱۷ و ۲۰ لیاز (P450-17-20L)، ۲) بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز (β17 -HSD) و۳) سیتوکروم P450 آروماتاز (P450 arom) و در نتیجه کاهش سنتز و سطوح ۱۷ بتا استرادیول در خون شود (Monteiro *et al.*, 2000) .

PAH ها می‌توانند فعالیت آنتی استروژنی داشته و با استروژن‌ها در باند شدن با ER ها رقابت کنند، بعلاوه می‌توانند از بیان ژن‌های مربوط به آنزیم آروماتاز (ژن P450 A19) جلوگیری به عمل آورند و در نتیجه از فعالیت این آنزیم که سبب القای حلقه آروماتیک در هورمون‌های آندروژن و تبدیل آنها به ۱۷ بتا استرادیول می‌شود، جلوگیری کنند (Scholza and Mayer, 2008). نتیجه این فرآیند کاهش ۱۷ بتا استرادیول در پلاسما و به طبع آن کاهش ویتلوژنین در ماهیان است.

۱۷ بتا استرادیول به طور واضحی ترشح کورتیزول و T3 را در ماهیان کنترل می‌کند (Scholza and Mayer, 2008; McQuillan *et al.*, 2003)، در نتیجه تغییر در مقدار این هورمون می‌تواند در تغییرات کورتیزول و T3 نیز موثر واقع شود. بنابرین علت تغییر غیر عادی کورتیزول و T3 در استرس مزمن را می توان توجیه کرد. به علاوه هورمون‌های تیروئیدی و کورتیزول هردو متابولیسم کربوهیدرات ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند و در تولید انرژی بدن نقش اساسی دارند (Hontela *et al.*, 1997). از آنجایی در طی دوره زرده سازی ماهی نیاز به مقدار بیشتری انرژی دارد، اختلال در دینامیک کورتیزول و T3 می‌تواند باعث کسر انرژی و عدم موفقیت ماهی ماده در تولید تخمک و تولید مثل موفق شود.

مرحله پیش زرده سازی آسیب پذیری بیشتری نسبت بهPAH ها دارد (Nicolas, 1999)، بنابراین تغییرات هورمونی ناشی از استرس شیمیایی در این مرحله مشهودتر است. نتایج این مطالعه نشان داد استرس نفتالین موجب آشفتگی اندوکرینی می‌شود که با توجه به اهمیت مراحل جنسی پیش زرده سازی و زرده سازی این اختلال اندوکرینی اثرات مخرب شدیدی را در جمعیت‌های ماهیان و نیزتداوم نسل آن‌ها ایجاد می‌کند. نظر به اینکه امروزه پیشرفت صنعت افزایش روز افزون ورود آلاینده‌های هیدروکربنی را در اکوسیستم‌های آبی به همراه دارد، اجرای اقدامات مدیریتی گریز ناپذیر می‌باشد.

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 دکتر مرتضی بهنام رسولی (استاد دانشگاه

Archive of SID
www.SID.ir

فردوسی مشهد)، آقای محمدرضا صحرائیان (کارشناس ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی(ره) و آقای حسین پاشا زانوسی (عضو هیات علمی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر) استفاده شده است، که بدینوسیله تشکر و قدردانی از ایشان بعمل می‌آید.

منابع

Meador, J. P., Stein, J. E., Reichert, W. L. and Varanasi, U. 1995. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. Rev. Environ.Contam. Toxicol. 143: 79–165.

Nicolas, J. M. 1999. Vitellogenesis in fish and the effects of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminants. Aquatic Toxicology. 45(2-3): 77-90.

Aas, E., Baussant, T., Balk, L., Liewenborg, B. and Andersen, O. K. 2000. PAH metabolites in bile, cytochrome P4501A and DNA adducts as environmental risk parameters for chronic oil exposure: a laboratory experiment with Atlantic cod. Aquatic Toxicology. 51(2): 241-258.

Lee, R. F. and Anderson, J. W. 2005. Significance of cytochrome P450 system responses and levels of bile fluorescent aromatic compounds inmarine wildlife following oil spills. Mar. Pollut. Bull 50: 705–723.

Cooper, R. L. and Kavlock, R. J. 1997. Endocrine disruptors and reproductive development: a weight-of-evidence overview. J. Endocrinol. 152: 159–166.

Stahlschmidt-Allner, P., Allner, B., Römbke, J. and Knacker, T. 1997. Endocrine disrupters in the aquatic environment. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 4: 155-162.

Hontela, A., Daniel, C. and Rasmussen, J. B. 1997. Structural and functional impairment of the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish exposed to bleached kraft mill effluent in the St Maurice River, Quebec. Ecotoxicology. 6: 1-12.

Wilson, J. M., Vijayan, M. M., Kennedy, C. J., Iwama, G. K. and Moon, T. W. 1998. b-Naphthoflavone abolishes interrenal sensitivity to ACTH stimulation in rainbow trout. Journal of Endocrinology. 157: 63–70.

Evanson, M. and Van der Kraak, G. J. 2001. Stimulatory effects of selected PAHs on testosterone production in goldfish and rainbow trout and possible mechanisms of action. Comp. Biochem. Physiol. C130: 249–258.

Navas, J. M., Zanuy, S., Segner, H. and Carrillo, M. 2004. Beta-naphthoflavone alters normal plasma levels of vitellogenin, 17β-estradiol and luteinizing hormone in sea bass broodstock. Aquat. Toxicol. 67: 337–345.

Teles, M., Oliveira, M., Pacheco, M. and Santos, M. A. 2005. Endocrine and metabolic changes in Anguilla anguilla L. following exposure to b-naphthoflavone-a microsomal enzyme inducer. Environment International 31: 99-104.

Tintos, A., Gesto, M., Alvarez, R., Míguez, J. M. and Soengas, J. L. 2006a. Interactive effects of naphthalene treatment and the onset of vitellogenesis on energy metabolism in liver and gonad, and plasma steroid hormones of rainbowtrout *Oncorhynchus mykiss*. Comparative Biochemistry and Physiology C144: 155–165.

Davies, B., Bromage, N. and Swanson, P. 1999. The Brain-Pituitary-Gonadal Axis of Female Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*: Effects of Photoperiod Manipulation1 1. General and comparative endocrinology. 115(1): 155-166.

Tyler, C. R., Pottinger, T. G., Santos, E., Sumpter, J. P., Price, S. A., Brooks, S. and Nagler, J. J. 1996. Mechanisms controlling egg size and number in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Biol. Reprod. 54: 8-15.

Thomas, P. and Budiantara, L. 1995. Reproductive life history stages sensitive to oil and naphthalene in Atlantic croaker. Mar. Environ. Res. 39: 147-150.

Anderson, M. J., Miller, M. R. and Hinton, D. E. 1996. In vitro modulation of 17-[beta]-estradiol-induced vitellogenin synthesis: Effects of cytochrome P4501A1 inducing compounds on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* liver cells. Aquatic Toxicology. 34(4): 327-350.

Janssen, P. A. H., Lambert, J. G. D., Vethaak, A. D. and Goos, H. J. T. 1997. Environmental pollution caused elevated concentrations of oestradiol and vitellogenin in the female flounder, Platichthys flesus (L.). Aquat. Toxicol. 39: 195-214.

Aluru, N., Vuori, K. and Vijayan, M. M. 2005. Modulation of Ah receptor and CYP1A1 expression by [alpha]-naphthoflavone in rainbow trout hepatocytes. Comparative

Archive of SID
www.SID.ir

pallasi,exposed to the water-soluble fraction of crudeoil. J.Exp.Mar.Biol.Eco. 323: 43-56.

Aldegunde, M., Soengas, J., Ruibal, C. and Andres, M. 1999. Effects of chronic exposure to γ-HCH (lindane) on brain serotonergic and gabaergic systems, and serum cortisol and thyroxine levels of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish Physiology and Biochemistry. 20(4): 325-330.

Tintos, A., Gesto, M., Míguez, J. M. and Soengas, J. L. 2008. [beta]-Naphthoflavone and benzo (a) pyrene treatment affect liver intermediary metabolism and plasma cortisol levels in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Ecotoxicology and environmental safety. 69(2): 180-186.

Aluru, N. and Vijayan, M. M. 2004. [beta]-Naphthoflavone disrupts cortisol production and liver glucocorticoid responsiveness in rainbow trout." Aquatic Toxicology. 67(3): 273-285.

Teles, M., Pacheco, M. and Santos, M. A. 2003. Anguilla anguilla L.liver ethoxyresorufin O-deethylation, glutathione S-tranferase, erythrocytic nuclear abnormalities, and endocrine responses to naphthalene and beta-naphthoflavone. Ecotoxicol.Environ.Saf. 55: 98-107.

Hood, A. and Klaassen, C. D. 2000. Differential effects of microsomal enzyme inducers on in vitro thyroxine (T(4)) and triiodothyronine (T(3)) glucuronidation. Toxicol Sci. 55: 78-84.

Brara, K. N., Waggonera, K., Reyesb, J. A., Faireyc, R. and Kelley, K. M. 2010. Evidence for thyroid endocrine disruption in wild fish in San Francisco Bay,California, USA. Relationships to contaminant exposures. Aquatic Toxicology. 96: 203–215.

Thomas, P. 1990. Teleost model for studying the effects of chemicals on female reproductive endocrine function. Journal of Experimental Zoology. 256(S4): 126-128.

Rocha Monteiro, P. R., Reis-Henriques, M. A. and Coimbra, J. 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit in vitro ovarian steroidogenesis in the flounder *Platichthys flesus* L. Aquatic Toxicology. 48(4): 549-559.

Afonso, L., Campbell, P., Iwama, G., Devlin, R. and Donaldson, E. 1997. The Effect of the Aromatase Inhibitor Fadrozole and Two Polynuclear Aromatic Hydrocarbons on Sex Steroid Secretion by Ovarian Follicles of Coho Salmon. General and comparative endocrinology. 106(2): 169-174.

Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. 141(1): 40-49.

Monteiro, P. R. R., Reis-Henriques, M. A. and Coimbra, J. 2000. Plasma steroid levels in female flounder *Platichthys flesus* after chronic dietary exposure to single polycyclic aromatic hydrocarbons. Mar.Environ. Res. 49: 453-467.

Hontela, A., Rasmussen, J. B., Audet, C. and Chevalier, G. 1992. Impairedcortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs, and mercury. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 22: 278-283.

Hontela, A. 2005. Adrenal toxicology: environmental pollutants and the HPI axis. Amsterdam: Environmental Toxicology.Elsevier.

Barciela , P., Soengas, J. L., Rey, P., Aldegunde, M. and Rozas, G. 1993. Carbohydrate metabolism in several tissues of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, is modified during ovarian recrudescence. Comp Biochem Physiol. 106: 943–948.

Tintos, A., Miguez, J. M., Mancera, J. M. and Soengas, J. L. 2006b. Developmentof a microtitre plate indirect ELISA for measuring cortisol in teleosts, and evaluation of stress responses in rainbow trout and gilthead sea bream. J.Fish Biol. 68: 251-263.

Tintos, A., Gesto, M., Mıguez, J. L. and Soengas, J. L. 2007. Naphthalene treatment alters liver intermediary metabolism and levels of steroid hormones in plasma of rainbowtrout *Oncorhynchus mykiss*. ecotoxicology and Environmental Safety. 66: 139–147.

El-Halfawy, M. M., Ramadan, A. M. and Mahmoud, W. F. 2007. Reproductive biology and histological studies of the grey mullet, *liza ramada*,(risso, 1826) in lake timsah, suez canal.

Thomas, P., Woodin, B. R. and Neff, J. M. 1980. Biochemical responses of the striped mullet *Mugilcephalus tooil* exposure. I.Acute responses-interrenal activations and secondary stress responses. Mar.Biol. 59: 141-149.

Thomas, R. E. and Rice, S. D. 1987. Effect of water-soluble fraction of Cook Inlet crude oil on swimming performance and plasma cortisol in juvenile coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology. 87(1): 177-180.

Kennedy, C. J. and Farrell, A. P. 2005. Ion homeostasis and interrenal stress responses in juvenile Pacific herring, *Clupea*

Archive of SID

www.SID.ir

Hinton, D., Baumann, P., Gardner, G., Hawkins, W., Hendricks, J., Murchelano, R., Okihiro, M., Huggett, R., Kimerle, R. and Mehrle-Jr, P. 1992. Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress.P:230

Pocar, P., Klonisch, T., Brandsch, C., Eder, K., Fröhlich, C., Hoang-Vu, C. and Hombach-Klonisch, S. 2006. AhR-Agonist-induced transcriptional changes of genes involved in thyroid function in primary porcine thyrocytes. Toxicological Sciences. 89(2): 408.

Scholza, S. and Mayer, I. 2008. Molecular biomarkers of endocrine disruption in small model fish Molecular and Cellular. Endocrinology 293: 57-70.

McQuillan, H. J., Lokman, P. M. and Young, G. 2003. Effects of sex steroids, sex, and sexual maturity on cortisol production: an in vitro comparison of chinook salmon and rainbow trout interrenals. General and comparative endocrinology. 133(1): 154-163.

Archive of SID

www.SID.ir