پاسخ های هورمونی طی استرس حاد و مزمن مواجهه با بنزوآلفاپایرن در ماهی شانک زردباله، *Acanthopagrus latus*

سارا رستگار[1]، عبدالعلی موحدی نیا[1و2]* و زهرا یاراحمدی[1]

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

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تاثیر بنزوآلفا پایرن (BaP) به عنوان یکی از مهم‌ترین هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) بر سطوح پلاسمایی هورمون‌های کورتیزول و تری یدوتیرونین (T_3) در جنس نر ماهیان شانک زرد باله(*Acanthopagrus latus*) صورت گرفت. بدین منظور و برای بررسی اثرات کوتاه مدت بنزوآلفاپایرن، به یک گروه از ماهیان بنزوآلفاپایرن محلول در روغن گیاهی (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۲ میکرولیتر بر گرم روغن به ازای وزن بدن) به صورت درون صفاقی تزریق شد و به گروه شاهد 2 میکرولیتر بر گرم به ازای وزن بدن روغن گیاهی به تنهایی تزریق شد. از هر دو گروه پس از ۳ ساعت نمونه خون تهیه شد. برای بررسی اثرات دراز مدت، ایمپلنت ۱۰ میکرولیتر بر گرم روغن گیاهی حاوی ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بنزوآلفاپایرن به ازای وزن بدن انجام گرفت. برای ماهیان شاهد ایمپلنت درون صفاقی با روغن به میزان ۱۰ میکرولیتر بر گرم انجام و پس از ۷۲ ساعت نمونه‌گیری صورت گرفت. بر اساس نتایج سطوح پلاسمایی کورتیزول در شانک زرد باله هم در استرس کوتاه مدت و هم در بلند مدت مواجهه با BaP افزایش یافت. در حالیکه سطوح هورمون T_3 تنها پس از استرس مزمن کاهش معنی‌داری را نشان داد. به نظر می‌رسد افزایش کورتیزول پاسخی سازشی به نیاز بیشتر به انرژی باشد، زیرا کورتیزول با افزایش فرایند گلیکونئوژنز موجب افزایش قند در دسترس سلول‌ها برای تامین انرژی مورد نیاز می‌شود. کاهش T_3 احتمالاً به علت فعال شدن رسپتورهای آریل هیدروکربن تحت تاثیر BaP و اثر باز دارندگی آنها بر این هورمون بوده است.

واژگان کلیدی: هیدروکربن آروماتیک چندحلقه ای، اکوفیزیولوژی، کورتیزول، تری یدوتیرونین

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

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی (PAHs) از جمله مهمترین مواد سمی و پایدار در اکوسیستم‌های آبی می‌باشند، که در نتیجه تولیدات نفتی به دریا آزاد می‌شوند. این آلاینده‌های آلی در همه اکوسیستم‌های آبی یافت می‌شوند (Leonard and Hellou, 2001).

این ترکیبات می‌توانند اثرات مخربی بر سیستم‌های بیولوژیکی بگذارند، برخی از این اثرات شامل جهش زایی و سرطانزایی (Malins*et al.*, 1987) و اثرات ژنوتوکسیک (Pacheco and Santos, 2001) در ماهیان تایید شده است. PAHها و سایر آلاینده‌های آلی علاوه بر اثرات سمی در سطح سلول و بافت موجب ایجاد پاسخ‌های جامعی در جمعیت‌های ماهیان می‌شوند (Wendelaar Bonga, 1997).

به نظر می‌رسد تعدادی ازPAHها می‌توانند با سیستم درون ریز در ماهیان بر هم کنش داشته و به دلیل شباهت با هورمون‌ها و یا با بلوکه کردن رسپتورهای هورمونی در وظایف اندوکرینی و ترشح هورمون‌ها اختلال ایجاد کنند (Navas*et al.*, Hontela, 1997 ; 2004).این مواد شیمیایی همچنین می‌توانند موجب اختلال در وظایف محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- اینترنال (HPI) و محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- تیروئید (HPT) شوند (Brar*et al.*, 2010). PAHها سبب فعال شدن رسپتورهای آریل هیدروکربن (AhR) در ماهیان می‌شوند، این فعال شدن با محدوده وسیعی از واکنش‌های آگونیستیک و آنتاگونیستیک از قبیل تاثیر بر رسپتورهای بافت هدف، تغییر در مسیرهای سنتز هورمون‌های تیروئیدی و یدزدایی از بافت‌ها همراه است، که نتیجه آن اختلالاتی در محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- تیروئید(HPT) می‌باشد (Teles*et* Crofton, 2008 ; 2005 *al.*). فعال شدن AhR با تغییر در بیوسنتز استروئیدها، تنظیمات فیدبکی آنها و همچنین حساسیت زدایی و اختلال در ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) و سایر مکانیسم‌های دخیل در پاسخ به استرس، محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- اینترنال (HPI) را دچار آشفتگی می کند (Tintos*et al.*,2007; Hontela, 2005; Wilson*et al.*, 1998; Tintos*et al.*, 2008). پاسخ‌های فیزیولوژیک مرتبط با تحریک ترشح کورتیزول نقش مهمی را در مقاومت موجود در شرایط استرس بر عهده دارند (Vijayan*et al.*, 1997).

ماهی شانک زردباله از خانواده sparidae هرمافرودیت و پروتاندروس(Abu-Hakima, 1984)، ساکن نواحی ساحلی آب‌های اقیانوس آرام و هند و دارای اهمیت اقتصادی و تجاری(Hussain and Abdullah, 2011) می‌باشد. به منظور ارزیابی اثرات اکوفیزیولوژیک PAHها در ماهیان، در این مطالعه اثرات کوتاه مدت (۳ ساعت) و بلند مدت (۷۲ ساعت) بنزوآلفاپایرن بر سطوح پلاسمایی هورمون کورتیزول و تری یدوتیرونین (T_3) در ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) بررسی شده است.

۲. مواد و روش ها

ماهیان شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) مورد استفاده برای این مطالعه از منطقه خور موسی واقع در حاشیه شمالی خلیج فارس (ایران) با استفاده از قلاب صید و به مرکز تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی منتقل شدند.سپس تعداد ۴۰ ماهی نر شانک زردباله (میانگین وزنی۷,۲۸±۱۵۶) به تانک های ۳۰۰ لیتری منتقل و به مدت ۲ هفته جهت سازگاری با شرایط نوری و دمایی جدید نگهداری گردیدند و تا ۲۴ ساعت قبل از مواجهه با BaP ، به مقدار ۱٪ وزن بدن غذادهی شدند.

۲۴عدد ماهی به سه گروه پایه، شاهد و تیمار در تانک‌های ۳۰۰ لیتری مجزا تقسیم شدند. قبل از تزریق،ماهیان با استفاده از محلول ۲-فنوکسی اتانول (۰/۲ درصد) بیهوش و وزن شدند. به گروه تیمار مقدار۵۰mg/kgبنزوآلفاپایرن محلول در ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن بصورت داخل صفاقی تزریق شد. به گروه شاهد تنها ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن تزریق گردید.در مورد

Archive of SID

www.SID.ir

ماهیان گروه پایه به منظور تعیین اثر استرس دستکاری و تزریق، هیچ گونه تزریقی صورت نگرفت.از تمامی این ماهیان، ۳ ساعت پس از تزریق نمونه گیریبه عمل آمد.

جهت تشخیص اثرات بلند مدت بنزوآلفاپایرن بر سیستم درون ریز، ۱۶ عدد ماهی به دو گروه شاهد و تیمار تقسیم شدند. ماهیان بهکمک محلول۲-فنوکسی اتانول (۰/۲ درصد) بیهوش و توزینشدند؛ در گروه تیمار مقدار۵۰mg/kg بنزوآلفاپایرنحل شده در ۱۰µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن ایمپلنت داخل صفاقی شد. در گروه شاهد تنها از ایمپلنت۱۰µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن استفاده شد. ۳ روز پس از کاشت ایمپلنت نمونه‌گیری از ماهیان صورت گرفت.

در زمان نمونه گیری با کاهش سطح آب تانک‌ها (تا حدود ۲۰لیتر) و افزودن ۲-فنوکسی اتانول (جهت ایجاد غلظت ۰/۲ درصد) ماهیان را بیهوش کرده، با استفاده از سرنگ هپارینه، خونگیری از سیاهرگ ساقه دمی انجام و تا پایان خونگیری از سایر ماهیان نمونه‌های خون روی یخ نگهداری شدند. سپس سانتریفیوژ نمونه های خون (۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶ دقیقه) انجام و پلاسمای بدست آمده پس از انجماد سریع در نیتروژن مایع تا انجام سنجش‌های هورمونی در فریزر^{o}C۸۰− نگهداری شد.

مقادیر هورمون‌های کورتیزول و تری یدوتیرونین به روش ELISA و به ترتیب با به کار گیری کیت‌های تجاری DIMETRA (ساخت ایتالیا) و Monobind (ساخت فرانسه) اندازه گیری شد.(Barry*et al.*, 1993; Tintos*et al.*, 2006)

برای مقایسه میانگین مقادیر هورمون کورتیزول در سه گروه پایه، شاهد و تیمار از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) استفاده شد، جهت مقایسات چندگانه پس آزمون Student-Newman-Keuls به عمل آمد. مقایسه هورمونT_3 در دو گروه شاهد و تیماربا آزمون t-test انجام گرفت. ضریب اطمینان در هر دو آزمون۰/۹۵ ($p\leq$ ۰/۰۵) است. در تحلیل داده‌ها و رسم نمودار از نرم افزار Sigma plot ver.11 استفاده شد.

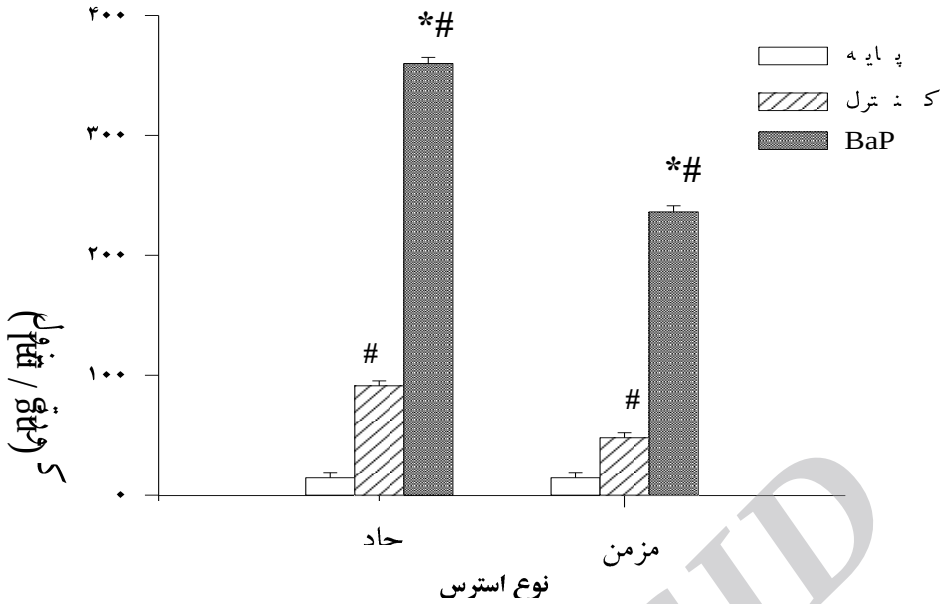
۳. نتایج

در طی دوره آزمایش هیچ گونه رفتار غیر عادی در شنا و حرکات و همچنین مرگ و میری در ماهیان دیده نشد. در بررسی استرس مواجهه حاد و مزمن با بنزوآلفاپایرین، سطوح کورتیزول پلاسما در گروه های پایه(بدون تزریق)، شاهد (تزریق یا ایمپلنت شده تنها با روغن گیاهی) و تیمار (تزریق یا ایمپلنت بنزوآلفاپایرن محلول در روغن گیاهی) با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان دادند. بدین صورت که سطوح کورتیزول در نمونه‌های گروه تیمار نسبت به هر دو گروه شاهد و پایه افزایش معنی‌داری را نشان داد. همچنین میزان کورتیزول پلاسما در گروه شاهد که مورد تزریق روغن قرار گرفته بود نسبت به گروه پایه بیشتر بود (شکل ۱).

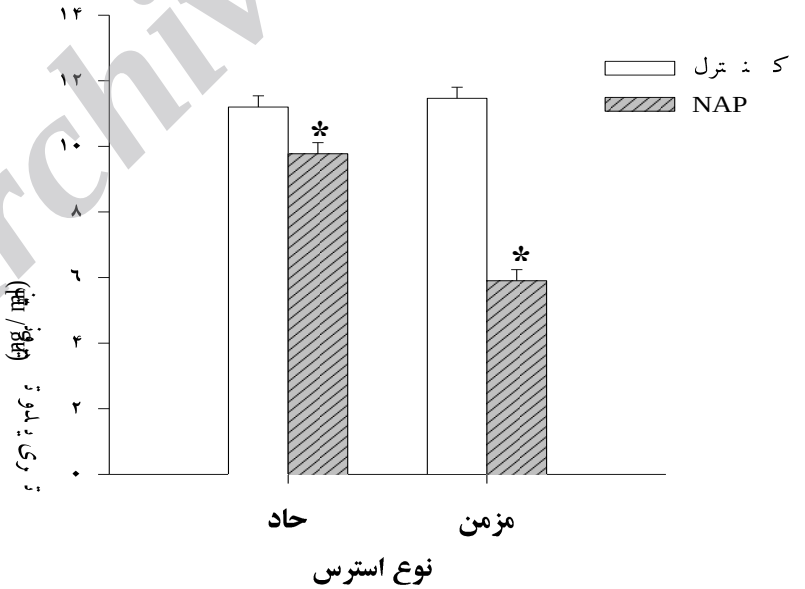
در بررسی استرس مواجهه حاد با بنزوآلفاپایرن در مقدار تری یدوتیرونین پلاسما بین دو گروه شاهد و تیمار ۳ ساعت پس از تزریق تغییر معنی‌داری دیده نشد ($P>$۰/۰۵). اما در استرس طولانی (۷۲ ساعت پس از ایمپلنت)، سطوح هورمون T_3 کاهش معنی داری بین گروه شاهد و تیمار را نشان داد($P<$۰/۰۵)،(شکل ۲).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱. تغییرات سطوح کورتیزول پلاسما پس از تزریق بنزوآلفا پایرن. مواجهه حاد (۳ ساعت): گروه پایه؛ بدون تزریق،گروه شاهد؛ تزریق درون صفاقی ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن، گروه تیمار بنزوآلفاپایرن؛ تزریق مقدار ۵۰mg/kg بنزوآلفاپایرن در ۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن. مواجهه مزمن (۷۲ ساعت) گروه پایه؛ بدون تزریق،گروه شاهد؛ تزریق درون صفاقی ۱۰µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن، گروه تیمار بنزوآلفاپایرن؛ تزریق مقدار ۵۰mg/kg بنزوآلفاپایرن در ۱۰µg/l روغن نارگیل به ازای وزن بدن. داده‌ها بر اساس میانگین (mean ± SEM) می‌باشد. * نشاندهنده اختلاف معنی دار بین گروه پایه و شاهد و # نشاندهنده اختلاف معنی دار بین گروه شاهد و تیمار بنزوآلفاپایرن است (P <۰/۰۵).



شکل۲. تغییرات سطح تریدوتیرونین (T_3) پس از تیمار با بنزوآلفاپایرن. مواجهه حاد (۳ ساعت): گروه شاهد؛ تزریق داخل صفاقی۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن، گروه تیمار بنزوآلفاپایرن؛ تزریق مقدار ۵۰mg/kg بنزوآلفاپایرن در۲µl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن. مواجهه مزمن (۷۲ ساعت): گروه شاهد؛ ایمپلنت داخل صفاقی ۱۰µl/gروغن نارگیل به ازای وزن بدن، گروه تیمار؛ ایمپلنت مقدار ۵۰mg/kg بنزوآلفاپایرن در ۱۰µl /g روغن نارگیل به ازای وزن بدن. داده‌ها بر اساس میانگین (mean ± SE) می‌باشد. * نشاندهنده اختلاف معنی دار بین گروه شاهد و تیمار بنزوآلفاپایرن است (P <۰/۰۵).

Archive of SID
www.SID.ir

۴. بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر نتایج حاکی از آن است که بنزوآلفاپایرن موجب افزایش معنی‌داری در سطوح کورتیزول پلاسما در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد و پایه شده است. از آنجایی که در هنگام استرس سطوح پلاسمایی کورتیکواستروئیدها نسبت به کتکول آمین‌ها به آرامی بالامی رود (Grutter and Pankhurst, 2000)، تغییر در سطوح کوتیزول معیار با ارزشی است که شرایط استرس را به خوبی نشان می‌دهد. همانگونه که انتظار می‌رفت استرس ناشی از تزریق و دستکاری نیز سبب افزایش سطوح کورتیزول پلاسما شود (Hontela, 1997)، افزایش کورتیزول در گروه پایه نسبت به گروه شاهد نیز مشاهده شد.مطالعه Thomas و همکاران (۱۹۸۰) در مورد کفال راه راه و همچنین مطالعه Tintos و همکاران (۲۰۰۸) در قزل‌آلای رنگین‌کمان که پیرامون اثر هیدروکربن‌های حلقوی بر سطوح کورتیزول پلاسما صورت گرفته اند، نتایج این مطالعه را تایید می‌کنند. البته کاهش کورتیزول پلاسما در اثر مواجهه با این آلاینده‌ها که به دلیل غیرکارآمد شدن محورHPI یا از کار افتادن آنزیم‌های میتوکندریایی سنتز کورتیزول می‌باشد، نیز گزارش شده است(Wilson*et al.*, 1998). بنزوآلفاپایرن به محض ورود به بدن ماهی سبب فعال کردن رسپتورهایآریل هیدروکربن (AhRs) می‌شود این رسپتورها با اختلال در بیان ژن‌های کورتیکوتروپ در هیپوتالاموس سبب فعال شدن بیش از اندازه آنها و به دنبال آن بالا رفتن سطح کوتیزولمی‌شوند(Hinton*et al.*, 1992). بر اساس نتایج، سطوح کورتیزول در استرس مزمن پایین‌تر از استرس حاد بود که علت آن را می توان به خستگی محور HPI و حساسیت زدایی ACTH نسبت داد (Hontela, 2005).

در این مطالعه کاهش سطوح هورمون T_3 (فرم فعال بیولوژیکی هورمون‌های تیروئیدی) پس از تیمار با بنزوآلفاپایرن مشاهده شد. که با نتایج مطالعه‌ی اثر آلاینده‌های آلی نظیر PCBها و هیدروکربن حلقوی BNF بر سطوح پلاسمایی T_3 مطابقت داشت (Hood *et al.*, 2003; Hontela, 1997). زنوبیوتیک-ها با مکانیسم‌های متعددی روی سطوح هورمون T_3 اثر می‌گذارند و سبب کاهش آنها می‌شوند. این مکانیسم‌ها شامل تاثیر منفی بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز- تیروئید (Alkindi*et al.*, 1996)، تاثیر بر بیوسنتز و ترشحT_3(Capen, 1997)، اختلال در عملکرد آنزیم کبدی ۵- مونویدیناز (Waring*et al.*, 1996)و یا اختلال در کاتابولیسم و نرخ رها سازی T_3(Hontela, 1997) می‌باشند. بنزوآلفاپایرن همچنین سبب تاثیر بر بیان ژن CYP1A1 و گیرنده-های آریل هیدروکربن می‌شود که بیان این ژن‌ها سبب تغییر در تولید رسپتورهای هورمون‌های تیروئیدی و آشفتگی در بیان ژن‌های مربوط به آنها می‌شود (Brar*et al.*, 2010). دو محور HPT و HPI نقش اساسی را در حفظ هومئوستاز در بدن ماهیان بازی می‌کنند و هورمون‌های تیروئیدی و کورتیزول هر دو متابولیسم کربوهیدرات‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Hontela, 1997). افزایش کورتیزول سبب تولید بیشتر انرژی و حفظ هومئوستاز در شرایط استرس حاد PAH ها می‌شود. اما در استرس مزمن (پس از گذشت مدت زمانی از شروع استرس) با وجود بالا بودن کورتیزول، فیدبک ناشی از کاهش هورمون T3 و خستگی ناشی از آتروفی سلول‌های ترشح کننده ACTH، ماهی با کمبود انرژی مواجه می‌شود. استرس شیمیایی بنزوآلفا پایرن از طریق آشفتگی در سیستم اندوکرین به صورت غیر مستقیم سبب از بین رفتن شرایط نرمال بدن و به خطر افتادن بقا در ماهیان می‌شود.

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

Alkindi, A., Brown, J., Waring, C. and Collins, J. 1996. Endocrine, osmoregulatory, respiratory and haematological parameters in flounder exposed to the water soluble fraction of crude oil. J. Fish Biol. 49(6): 1291-1305.

Abu-Hakima, R. 1984. Some aspects of the reproductive biology of Acanthopagrus spp. (Family: Sparidae). J. Fish Biol. 25: 515-526.

Barry, T. P., Lapp, A. F., Kayes, T. B. and Malison, J. A. 1993. Validationof a microtitre plate ELISA for measuring cortisol in fish and comparison of stress responses of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and lake trout (Salvelinus namaycush). Aquaculture 117(3-4): 351-363.

Brar, N. K., Waggoner, C., Reyes, J. A., Fairey, 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 Toxicol. 96(3): 203-215.

Capen, C. C. 1997. Mechanistic data and risk assessment of selected toxic end points of the thyroid gland. Toxicol. Pathol. 25(1): 39.

Crofton, K. M. 2008. Thyroid disrupting chemicals: mechanisms and mixtures. Int. J. Androl. 31(2): 209-223.

Grutter, A. and Pankhurst, N. 2000. Theeffects of capture, handling, confinement and ectoparasite load on plasma levels of cortisol, glucose and lactate in the coral reef fish Hemigymnus melapterus. J. Fish Biol. 57(2): 391-401.

Hinton, D., Baumann, P., Gardner, G., Hawkins, W., Hendricks, J., Murchelano, R., Okihiro, M., Huggett, R., Kimerle, R. and Hontela, A. 2005. Adrenal toxicology: environmental pollutants and the HPI axis. Biochem. Mol. Biol. Fish 6: 331-363.

Hontela, A. 1997. Endocrine and physiological responses of fish to xenobiotics: role of glucocorticosteroid hormones. Rev. Toxicol. 1(5): 1-46.

Hood, A., Allen, M. L., Liu, Y. P., Liu, J. and Klaassen, C. D. 2003. Induction of T4 UDP-GT activity, serum thyroid stimulating hormone, and thyroid follicular cell proliferation in mice treated with microsomal enzyme inducers. Toxicol. Appl. Pharmacol. 188(1): 6-13.

Hussain, N. andAbdullah, M. 2011. Length-weight relationship, spawning season and food habits of six commercial fishes in Kuwaiti waters. Indian Journal of Fisheries 24(1 & 2): 181-194.

Leonard, J. D. and Hellou, J. 2001. Separation and characterization of gall bladder bile metabolites from speckled trout, Salvelinus fontinalis, exposed to individual polycyclic aromatic compounds. Environ. Toxicol. Chem. 20(3): 618-623.

Malins, D. C., McCain, B. B., Brown, D. W., Varanasi, U., Krahn, M. M., Myers, M. S. and Chan, S. L. 1987. Sediment-associated contaminants and liver diseases in bottom-dwelling fish. Hydrobiol. 149(1): 67-74.

Navas, J. M., Zanuy, S., Segner, H. and Carrillo, M. 2004. Beta-Naphthoflavone alters normal plasma levels of vitellogenin, 17 [beta]-estradiol and luteinizing hormone in sea bass broodstock. Aquatic Toxicol. 67(4): 337-345.

Pacheco, M. and Santos, M. A. 2001. Biotransformation, endocrine, and genetic responses of Anguilla anguilla L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. Ecotoxicol. Environ. Safety 49(1): 64-75.

Teles, M., Oliveira, M., Pacheco, M. and Santos, M. 2005. Endocrine and metabolic changes in Anguilla anguilla L. following exposure to [beta]-naphthoflavone-a microsomal enzyme inducer. Environ. Int. 31(1): 99-104.

Tintos, A., Gesto, M., Míguez, J. M. and Soengas, J. L. 2008. Beta-Naphthoflavone and

Archive of SID

www.SID.ir

Vijayan, M. M., Feist, G., Otto, D. M. E., Schreck, C. B. and Moon, T. W. 1997. 3, 3', 4, 4'-Tetrachlorobiphenyl affects cortisol dynamics and hepatic function in rainbow trout. Aquatic Toxicol. 37(2-3): 87-98.

Waring, C., Brown, J., Collins, J. and Prunet, P. 1996. Plasma prolactin, cortisol, and thyroid responses of the brown trout (Salmo trutta) exposed to lethal and sublethal aluminium in acidic soft waters. Gen. Comp. Endocrinol. 102(3): 377-385.

Wendelaar Bonga, S. 1997. The stress responsein fish. Physiol. Rev. 77(3): 591-625.

Wilson, J., Vijayan, M., Kennedy, C., Iwama, G. and Moon, T. 1998. Beta-naphthoflavone abolishes interrenal sensitivity to ACTH stimulation in rainbow trout. J. Endocrinol. 157(1): 63.

benzo (a) pyrene treatment affect liver intermediary metabolism and plasma cortisol levels in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss.* Ecotoxicol. Environ. Safe 69(2): 180-186.

Tintos, A., Gesto, M., Miguez, J. M. and Soengas, J. L. 2007. Naphthalene treatment alters liver intermediary metabolism and levels of steroid hormones in plasma of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Ecotoxicol. Environ. Safe 66(2): 139-147.

Tintos, A., Míguez, J., Mancera, J. and Soengas, J. 2006. Development of a microtitre plate indirect ELISA for measuring cortisol in teleosts, and evaluation of stress responses in rainbow trout and gilthead seabream. J. Fish Biol. 68(1): 251-263.

Archive of SID

www.SID.ir