

بررسی اثر استرس بنزوآلفاپایرن بر بافت‌های آبشش و سطوح کورتیزول پلازما در ماهی شانک زردباله *Acanthopagrus latus*

سارا رستگار، عبدالعلی موحدی نیا* و زهرا یاراحمدی

خرمشهر، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده علوم دریایی، گروه زیست‌شناسی دریا

تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۳

چکیده

زمینه مطالعه: هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک از آلاینده‌های آلی خطرناک برای موجودات زنده در محیط‌های آبی می‌باشند. **هدف:** مطالعه حاضر به بررسی اثر هیدروکربن بنزوآلفاپایرن (BaP) بر ساختار آبشش و تغییرات سطوح کورتیزول ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) پرداخته است. روش کار: ماهیان در سه گروه پایه، شاهد و تیمار بررسی شدند. در گروه تیمار از ایمپلنت داخل صفاقی ۵۰ mg/kg بنزوآلفاپایرن به ازای وزن بدن در ۱۰ µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن، در گروه شاهد ۱۰ µl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن استفاده شد و گروه پایه بدون دستکاری باقی ماند. ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نمونه‌گیری صورت گرفت. برای نمونه‌گیری پس از بی‌هوش کردن ماهی، نمونه خون و کمان آبششی تهیه شد. **نتایج:** نتایج افزایش معنی‌دار سطوح کورتیزول پلازما را در دو گروه شاهد و تیمار BaP نشان داد. ارزش‌گذاری تغییر بافت بیانگر آسیب سخت آبششی تحت تیمار BaP بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** به نظر می‌رسد BaP با تغییر سطوح کورتیزول پلازما و ایجاد عوارض آبششی می‌تواند در تنظیم اسمزی و تنفس ماهیان اختلال ایجاد نماید و از این طریق در ادامه در موازنه هیدرومینرال و بقای ماهی اثرات مخربی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: هیستوپاتولوژی، هورمون، تنظیم اسمزی، هیدروکربن حلقوی آروماتیک، آلودگی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۶۱۵۳۵۳۳۳۲۲، پست الکترونیکی: amovahedinia@yahoo.com

مقدمه

منطقه خلیج فارس تامین‌کننده نیمی از نفت جهان است. در حدود ۴۰ درصد از ترافیک تانکرهای نفتی جهان در خلیج فارس جریان دارد و سالانه ۳ تا ۸ میلیون تن پساب نفتی به این منطقه تخلیه می‌شود (۳۰). هیدروکربن‌های نفتی مهمترین مواد سمی و آلاینده‌های نفت خام هستند (۱۶). اثرات بیولوژیک مخربی همچون آثار سرطان‌زایی و جهش‌زایی بالا در این ترکیبات به اثبات رسیده است، آبشش‌ها اندام‌های چندکاره‌ای هستند که علاوه بر تبادل گازها پروسه‌های فیزیولوژیک مهم دیگری نظیر تنظیم اسمزی و یونی، موازنه اسید-باز (pH) و نیز دفع مواد زائد نیتروژنه را بر عهده دارند (۳).

آبشش‌ها حساسیت ویژه‌ای به تغییرات فیزیکی و شیمیایی آب داشته و اندام اصلی در معرض آلاینده‌ها به حساب می‌آیند (۴). از شاخص هیستوپاتولوژیک به عنوان بیومارکر در تشخیص سلامت ماهیانی که در معرض آلاینده‌ها قرار دارند در آزمایشگاه (۲۶) و در محیط طبیعی (۲۵) استفاده می‌شود. از جمله بیومارکرهای مهم هیستوپاتولوژیک که در پایش یک اکوسیستم بکار گرفته می‌شوند، بیومارکرهایی هستند که به طور اختصاصی اندام‌های حیاتی نظیر آبشش‌ها را درگیر می‌کنند (۶). آسیب‌های بافتی وارده به آبشش در حقیقت با اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیک، از قبیل نارسایی تنظیم اسمزی و تنفس همراه

اکوسیستم‌های ساحلی مهم‌ترین مکان‌های آلوده به PAH محسوب می‌شوند و با توجه به این که مطالعات بافت‌شناختی و هیستولوژی یک ابزار مفید برای ارزیابی درجه آلودگی به ویژه برای اثرات مقادیر زیر کشنده آلاینده‌ها در شرایط مزمن است، هدف از این مطالعه تشخیص اثر رهایش آرام دوز مشخصی از هیدروکربن بنزوآلفاپایرن (به عنوان یک مدل آزمایشگاهی) بر بافت آبشش ماهی شانک زرد باله که یکی از اولین اندام‌های هدف آلاینده‌هاست با استفاده از روش امتیاز دهی و توجه به توسعه تغییرات پاتولوژیک و همچنین تغییرات هورمون کورتیزول به عنوان شاخصه استرس پرداخته شده است.

مواد و روشها

ماهیان: ماهیان شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) از منطقه خور موسی (خلیج فارس) با میانگین وزنی $7,28 \pm 156,04$ (n=45) با استفاده از قلاب صید شدند. دوره آدپتاسیون در مرکز تحقیقات ماهیان دریایی جنوب (بندر امام خمینی) به مدت ۱ هفته در شرایط نوری و دمای طبیعی و در تانک‌های ۳۰۰ لیتری انجام و تا ۲۴ ساعت قبل از نمونه برداری به مقدار ۱٪ وزن بدن غذادهی شدند.

طراحی آزمایش: ماهیان به سه گروه پایه، شاهد و تیمار تقسیم شده، با استفاده از محلول ۲-فنوکسی اتانول ۰/۲ درصد بیهوش و وزن شدند؛ در گروه تیمار مقدار $10 \mu\text{g/kg}$ بنزوآلفاپایرن به ازای وزن بدن محلول در $10 \mu\text{l/g}$ روغن نارگیل به ازای وزن بدن ایمپلنت داخل صفاقی گردید. در گروه شاهد تنها از ایمپلنت $10 \mu\text{l/g}$ روغن نارگیل به ازای وزن بدن استفاده شد؛ و در گروه پایه هیچ گونه تغییری انجام نشد. از هر گروه ۳ روز پس از کاشت ایمپلنت نمونه‌گیری صورت گرفت. دوز مورد استفاده در این مطالعه بر اساس مطالعات قبلی که بر روی اثرات وابسته به مدت زمان تاثیر و در معرض قرارگیری و نیز غلظت هیدروکربن‌های نفتی و مشتقات آنها بر چندین

بوده که زنگ خطری برای سلامت ماهیان به حساب آمده و می‌تواند آثار مخربی بر تداوم حیات آنها بگذارد (۹)؛ از جمله مهم‌ترین آلاینده‌های آلی محیطی می‌توان به هیدروکربن‌های نفتی اشاره کرد. PAH ها به عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های محیطی می‌توانند سبب ایجاد استرس و بر هم زدن تعادل هومئوستاز بدن، و بروز عوارض و آسیب‌های بافتی متعددی شوند، که این اثرات در مورد بنزوآلفاپایرن با وزن مولکولی بالا شدیدتر است. این آلاینده اثر استرس بیولوژیکی خود را از طریق فعال کردن رسپتورهای (آریل هیدروکربن) (Aryl Hydrocarbon Receptor) اعمال می‌کند؛ AhR از خانواده فاکتورهای رونویسی هلیکس-لوب-هلیکس می‌باشد که مسیرهای بیوشیمیایی مربوط به دفع زنبیوتیک‌ها را راه اندازی می‌نماید (۲۰). عوارضی نظیر ادم و هایپر پلازی (Hyperplasia) سلول‌های مخاطی از علائم اختصاصی تاثیر هیدروکربن‌های نفتی به حساب می‌آیند (۱۴). در آبشش فلاندرهای جمع‌آوری شده از مکان‌های آلوده به PAH عوارضی مثل هایپر پلازی و هایپرتروفی سلول‌های اپی تلیوم (Hypertrophy Of Gill Epithelium)، به هم چسبیدن لاملاها (Complete Fusion Of Lamellae) و افزایش تولید موکوز گزارش شده است (۱۵).

PAH ها همچنین می‌توانند بر سطوح پلاسمایی هورمون‌هایی مانند کورتیزول اثر بگذارند (۲۷). از آنجایی که کورتیزول مهم‌ترین هورمون کورتیکواستروئیدی در ماهی است و وظایف فیزیولوژیک مختلفی از جمله تاثیر بر واسطه‌های متابولیسمی (۲۹) و تنظیم اسمزی (۱۹) را برعهده دارد اختلال در سطوح پلاسمایی کورتیزول موجب آشفتگی در وظایف مهم این هورمون شده، که این آشفتگی می‌تواند در اختلالات اسمزی موثر باشد.

ماهی شانک زرد باله از گونه‌های اقتصادی و تجاری ساحلی محسوب می‌شود که به صورت دستجات محدود از ساحل تا عمق ۵۰ متری سکونت دارند. از آنجایی که

توکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شد. اسلایدهای تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی و به کمک دوربین دیجیتال عکس برداری شدند (۲۴). در صد تغییرات هیستولوژیک در آبشش بر اساس ارزش گذاری تغییر بافت شده (Degree Of Tissue Change) (DTC) و Cerqueira و Fernandes (۲۰۰۲) و Negreiros و همکاران (۲۰۱۱) صورت گرفت. تعیین شد. در این روش تغییرات هر ارگان بر اساس مراحل تدریجی آسیب بافتی طبقه بندی می‌شود: در مرحله I تغییراتی مشاهده می‌شود که وظایف نرمال بافت را تغییر می‌دهند. مرحله II شامل آسیب‌های سخت زیادی به بافت است و مرحله III چندین آسیب سخت را شامل می‌شود که غیر قابل جبران هستند. ارزش DTC از فرمول زیر حساب می‌شود:

$$DTC=(1\times\sum I)+(10\times\sum II)+(100\times\sum III)$$

اگر مقدار به دست آمده بین ۰ تا ۱۰ باشد اندام وظیفه خود را به خوبی انجام می‌دهد. مقدار عددی بین ۱۱ تا ۲۰، آسیب اندک وارده به اندام، مقدار عددی ۲۱ تا ۵۰، تغییرات متوسط را نشان می‌دهد. مقادیر بین ۵۰ تا ۱۰۰ آسیب سخت را نشان داده و مقدار ۱۰۰ به بالا نشانه وجود آسیب‌های برگشت ناپذیر است (جدول ۱).

بافت و پرورسه سلولی صورت گرفته، انتخاب شد (۱؛ ۷؛ ۱۲).

نمونه گیری: در زمان نمونه‌گیری، ماهیان به کمک محلول ۲- فنوکسی اتانول ۰/۲ درصد بیهوش و خون‌گیری بوسیله سرنگ هپارینه از سیاهرگ ساقه دمی انجام شد، نمونه خون با دور ۶۰۰۰ در دقیقه به مدت ۷ دقیقه سانتریفوژ و پلاسما حاصله به منظور مطالعات سرولوژیک بدون تاخیر در نیتروژن مایع منجمد و سپس به فریزر ۸۰- منتقل گردید. برای بررسی‌های بافتی کمان دوم آبششی هر ماهی برداشته و در محلول بوئن به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت فیکس شد سپس نمونه‌ها تا انجام سایر مراحل بافت‌شناسی به الکل ۷۰٪ منتقل گردید.

سنجش سطوح پلاسمایی کورتیزول: غلظت هورمون کورتیزول به روش الایزا با استفاده از کیت تجاری DIMETRA (ساخت ایتالیا) اندازه‌گیری شد (۲۸).

هیستوپاتولوژی: از قطعات ۲ تا ۳ سانتی متری بافت‌های فیکس شده، پس از انجام مراحل معمول بافت‌شناسی (آبگیری، شفاف‌سازی، نفوذ پارافین، قالب‌گیری) برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و با روش هما

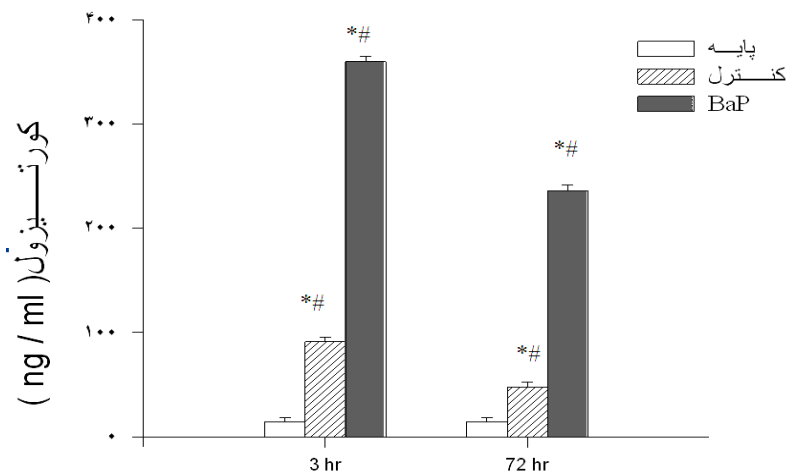
جدول ۱- DTC بر اساس طبقه‌بندی اصلاح شده (۲؛ ۲۱).

مرحله I	هایپرتروفی اپی‌تلیوم، لیفتینگ سلول‌های اپی‌تلیوم، نفوذ لوكوسیت‌ها به فضای ادمی، نازک شدن اپی‌تلیوم، هایپریپلازی در سلول‌های اپی‌تلیوم، هایپریپلازی نامنظم در اپیتلیوم، به هم چسبیدن دم لاملا‌های ثانویه، به هم چسبیدن دم لاملا‌های اولیه، هایپرتروفی و هایپریپلازی سلول‌های موکوسی، خالی شدن یا ناپدید شدن برخی سلول‌های موکوسی، هایپرتروفی یا هایپریپلازی سلول‌های کلراید، ظاهر شدن سلول‌های کلراید در لاملا‌های ثانویه، اتساع مویزگ‌های لاملائی، بزرگ شدن رگ‌های خونی فیلامتی، تنگی سینوسی، از هم پاشیده گی لاملا.
مرحله II	آنوریکسم، خون ریزی همراه با از بین رفتن اپی‌تلیوم، خون‌مردگی، افزایش بیش از حد ضخامت بافت، به هم چسبیدن کامل لاملا‌های ثانویه.
مرحله III	تصلب بافت‌ها، نکروز.

نتایج

کورتیزول: هیچ گونه مرگ و میری در گروه‌های مورد مطالعه دیده نشد. همچنین تغییری در شنا و حرکات ماهیان در حین آزمایش مشاهده نشد. سطوح پلاسمایی کورتیزول نمونه‌های شاهد نسبت به گروه پایه افزایش یافت و در گروه تیمار نیز نسبت به هر دو گروه شاهد و پایه افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$)، (شکل ۱).

آنالیز آماری: پس از تعیین نرمال‌یته داده‌ها (داده‌ها < 0.05). مقادیر هورمون کورتیزول در سه گروه پایه، شاهد و تیمار با استفاده از آزمون One way ANOVA مورد مقایسه قرار گرفت، سطح معنی‌داری در این آزمون 0.05 تعیین شد. تحلیل داده‌ها و رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Sigma stat v 3.5 انجام شد. برای بررسی عوارض هیستوپاتولوژیک مقدار DTC محاسبه شد.



شکل ۱- تغییرات سطوح کورتیزول پلازما پس از مواجهه با BaP. *: اختلاف معنی‌دار با گروه پایه ($P < 0.05$), #: اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل ($P < 0.05$).

پلازما در ماهی شانک زرد باله پس از ایمپلنت بنزوآلفاپایرن را نشان می‌دهد.

جدول ۲- محاسبه شدت DTC برای بافت آبشش.

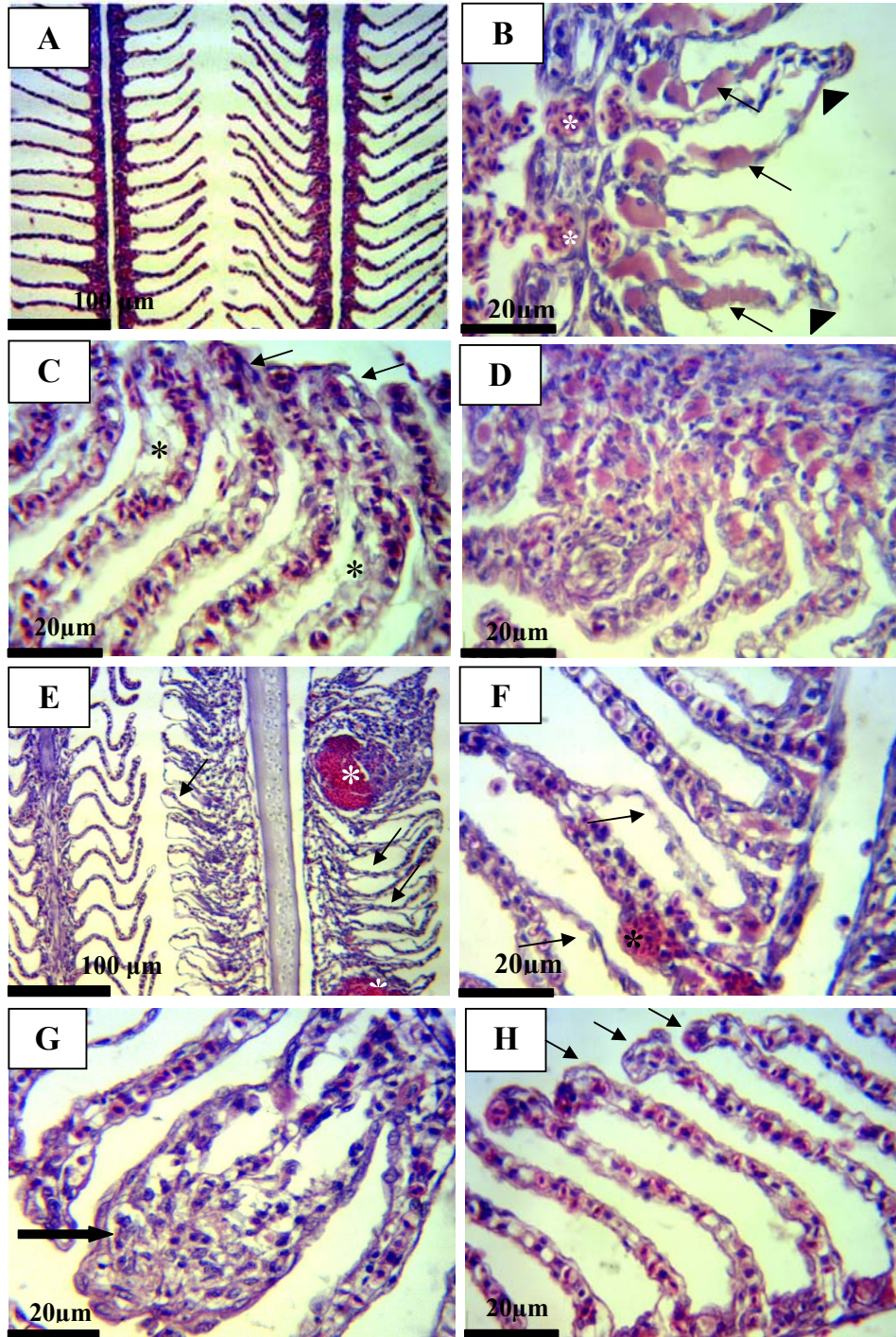
**	کنترل	مرحله I
***	تیمار BaP	
#	کنترل	مرحله II
*	تیمار BaP	
#	کنترل	مرحله III
*	تیمار BaP	

* : فراوانی اندک آسیب‌های بافتی (۱ تا ۵)، ** : فراوانی متوسط آسیب‌های بافتی (۶ تا ۲۰)، *** : فراوانی بالای آسیب‌های بافتی (۲۱ تا ۵۰) و # فاقد آسیب.

هیستوپاتولوژی: نتایج بررسی اسلایدهای بافتی بروز عوارضی در بافت آبشش شانک زرد باله در نتیجه تیمار با بنزوآلفاپایرن را نشان داد (جدول ۲) و (شکل ۲). بیشترین عوارض مشاهده شده شامل: برآمدگی و هایپر پلازی اپی تلیوم لاملائی، به هم چسبیدن لاملاهای ثانویه، ادم، اتساع مویرگ‌های لاملائی، هایپرتروفی سلول‌های اپی تلیومی و خونریزی بودند. همچنین مقدار به دست آمده از فرمول DTC نشان داد که آسیب سختی به آبشش وارد شده است.

بحث

نتایج این مطالعه افزایش معنی‌دار سطوح کورتیزول



شکل ۲- عوارض بافتی ناشی از تیمار بنزوآلفا پایرن. A: آبخش‌های سالم گروه کنترل. B: برآمدگی اپی تلیوم لاملا (سر پیکان)، به هم چسبیدن سر لاملا های ثانویه (پیکان کوچک)، ظاهر شدن سلول‌های کلراید روی تیغه‌های ثانویه (پیکان) خون ریزی (ستاره روشن). C: به هم چسبیدن سر لاملا همراه هایپر تروفی (پیکان)، ادم (ستاره تیره). D: به هم چسبیدن کامل لاملا ها. E: آنوریکسم و خون مردگی (ستاره روشن)، برآمدگی اپی تلیوم لاملا (پیکان). F: برآمدگی اپی تلیوم لاملائی و ادم (پیکان)، خونریزی و اتساع مویرگ‌های لاملائی (ستاره تیره). G: به هم چسبیدن سر لاملا (پیکان). H: هایپرپلازی سر لاملا (پیکان). رنگ آمیزی H&E.

منظور سازگاری ماهی با حضور آلاینده و جلوگیری از ورود بیشتر آلاینده به درون خون رخ داده اند. Oliveira و Ribeiro و همکارانش (۲۰۰۵) عوارضی نظیر هایپر پلازی و هایپرتروفی، آنوریسم و به هم چسبیدن لاملاها را در آبشش مار ماهی اروپایی پس از تیمار با آلاینده‌هایی نظیر آفت‌کش‌ها، فلزات سنگین و هیدروکربن‌های نفتی مشاهده کرده‌اند (۲۲). عوارضی نظیر برآمدگی اپی تلیوم تیغه‌های ثانویه، هایپر پلازی و هایپرتروفی سلول‌های اپی تلیومی، به هم چسبیدن نسبی لاملاهای ثانویه از جمله مکانیسم‌های دفاعی اند، که نتیجه آن افزایش فاصله بین محیط خارج و خون جهت ایجاد یک سد دفاعی برای جلوگیری از ورود آلاینده‌ها می‌باشد (۵). بخش مهمی از عوارض آبششی ناشی از آسیب به سلول‌های پیلار، در اثر افزایش جریان خون به درون لاملاها می‌باشد؛ که سبب آسیب به مویرگ‌های لاملا و وقوع خون‌مردگی یا آنوریسم می‌گردد (۲۴). آنوریسم در واقع مربوط به تخریب سلول‌های پیلار در نتیجه اثر آلاینده بر شدت جریان خون یا اثر مستقیم آلاینده‌ها بر آبشش می‌باشد (۱۸). تجمع خون در مویرگ‌های لاملا می‌تواند به کاهش فضای بین لاملا می‌یا اتصال لاملاهای مجاور منجر شود. و بدین وسیله تا حدودی آسیب‌پذیری آبشش در زمینه نفوذ آلاینده‌ها از طریق اپی تلیوم را کاهش دهد (۱۷).

با توجه به نتایج، رهایش آرام بنزوالفاپایرن در بدن شانک زردباله موجب بروز پاسخ‌های استرس از جمله افزایش کورتیزول گشته و با جذب و انتشار آن در بدن سبب ایجاد پاسخ‌های دفاعی و عوارض بافتی آبشش تحت تاثیر آلاینده یا در جهت کاهش نفوذ مواد آلاینده از طریق سطوح اپی تلیومی گشته است.

عوارض بافتی مشاهده شده از جمله هایپر پلازی و هایپرتروفی سلول‌های اپی تلیومی و همچنین برآمدگی اپی-تلیومی تیغه‌های ثانویه سبب افزایش فاصله انتشار بین خون و محیط می‌گردند. این عوارض در صورت وجود

افزایش سطوح کورتیزول پلاسما هنگامی که ماهی در معرض آلاینده‌های آلی قرار می‌گیرد در بسیاری از ماهیان استخوانی نظیر هرینگ اقیانوس آرام (۱۳) مشاهده شده است. برخی مطالعات تاثیر هیدروکربن‌های نفتی از جمله بنزوالفاپایرن در افزایش سطوح کورتیزول پلاسما در ماهیان را نشان داده اند (۲۷؛ ۳۱). هر چند کاهش سطوح پلاسمایی کورتیزول پس از تیمار با PAH نیز گزارش شده است (۳۱). بالا رفتن سطح کورتیزول پلاسما تحت کنترل هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) بوده که از هیپوفیز ترشح می‌شود. به نظر می‌رسد ترشح ACTH در ماهیان تحت تحریک فاکتور کورتیکوتروپین (CRF) تولید شده در هیپوتالاموس است (۱۱). با ورود PAH به درون بدن این آلاینده سبب فعال شدن رسپتورهای آریل هیدروکربن (AhR) در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-اینترنال (HPI) شده (۸)، فعالیت AhR سبب اختلال در محور HPI شده که این امر سبب تغییر در بیوسنتز کورتیزول و تنظیمات فیدبکی مربوط به آن می‌گردد (۱۰؛ ۱۹). بر اساس نتایج، سطوح کورتیزول گروه شاهد نیز بالاتر از گروه پایه بود که این نشان می‌دهد تزریق در ماهیان ایجاد استرس کرده است، بنابراین تغییر سطوح کورتیزول گروه تیمار ناشی از استرس فیزیکی ایمپلنت و استرس شیمیایی بنزوالفاپایرن است. یکی از عوارض مشاهده شده ظاهر شدن سلول‌های کلراید بر تیغه‌های ثانویه است که می‌تواند نشان دهنده اختلال در عملکرد این سلول‌ها در شرایط طبیعی باشد. همچنین با توجه به اینکه هورمون کورتیزول که در فعالیت و سنتز آنزیم Na^+/K^+ ATPase نقش دارد (۱۹) دستخوش تغییراتی شده است اختلال در این هورمون به همراه تغییر در عملکرد سلول‌های کلراید می‌تواند سبب آشفتگی در فعالیت آنزیم Na^+/K^+ ATPase و به دنبال آن مختل شدن تنظیم اسمزی در آبشش‌ها گردد.

بررسی بافت آبشش در مطالعه حاضر نشان داد، هیدروکربن بنزوالفاپایرن سبب بروز برخی تغییرات و عوارض بافتی شده است که به نظر می‌رسد این تغییرات به

بیشتری قرار دارند و مورد استفاده انسان قرار می‌گیرند، را فراهم می‌کند.

تشکر و قدردانی: این تحقیق در قالب طرح پژوهشی مصوب دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام شده است. مولفین بر خود لازم می‌دانند از کمک‌های علمی آقای دکتر مرتضی بهنام رسولی (استاد دانشگاه فردوسی مشهد)، سرکار خانم دکتر آهنگرپور (استادیار دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور) و همچنین کمک پرسنل و کارشناسان ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) به ویژه آقایان محمدرضا صحرائیان و مهندس مجتبی نجف‌آبادی، تشکر و قدردانی نمایند

مواد آلاینده در محیط، می‌توانند علی‌رغم کاهش کیفیت فعالیت آبشش، نفوذ مواد آلاینده را کاهش داده و از عوارض آسیب‌زننده به آن بکاهند. به نظر می‌رسد علی‌رغم اینکه ره‌ایش آلاینده با ایمپلنت‌های کار گذاشته شده در داخل بدن صورت می‌گیرد، مکانیسم‌های پاسخ استرس مشابه آنچه در آلودگی محیطی پیش‌بینی می‌شود، بروز می‌یابد. بنابراین این می‌تواند از این مدل آزمایشگاهی برای ارزیابی اثر آلاینده‌ها بر بافت آبشش بهره‌برد که این امر امکان پیش‌بینی عوارض ناشی از آلودگی را ماهیان به خصوص ماهیان ساحلی که در معرض آلاینده‌های

منابع

1. Bagchi, D., Balmoori, J., Bagchi, M., Ye X, Williams CB, Stohs SJ. 2002. Comparative effects of TCDD, endrin, naphthalene and chromium (VI) on oxidative stress and tissue damage in the liver and brain tissues of mice. *Toxicology* 175:73-82.
2. Cerqueira CCC, Fernandes MN. 2002. Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. *Ecotoxicology and environmental safety* 52:83-91.
3. Cinar K, Aksoy A, Emre Y, Aşti RN. 2009. The histology and histochemical aspects of gills of the flower fish, *Pseudophoxinus antalyae*. *Veterinary research communications* 33:453-60.
4. Fernandes C, Fontainhas-Fernandes A, Monteiro S, Salgado M. 2007. Changes in plasma electrolytes and gill histopathology in wild *Liza saliens* from the Esmoriz-Paramos coastal lagoon, Portugal. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 79:301-5.
5. Fernandes MN, Mazon AF. 2003. Environmental pollution and fish gill morphology. *Fish adaptations*. Enfield, Science Publishers:203-31.
6. Gernhöfer M, Pawert M, Schramm M, Müller E, Triebkorn R. 2001. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery (Formerly Journal of Aquatic Ecosystem Health)* 8:241-60.
7. Gesto M, Tintos A, Álvarez R, Soengas JL, Míguez JM. 2009. Alterations in the brain monoaminergic neurotransmitters of rainbow trout related to naphthalene exposure at the beginning of vitellogenesis. *Fish physiology and biochemistry* 35:453-65.
8. Hahn ME. 1998. The aryl hydrocarbon receptor: A comparative perspective. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 121:23-53.
9. Hinton DE, Lauren DJ, Holliday T, Giam C. Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure, 1988, 28.
10. Hontela A. 2005. Adrenal toxicology: environmental pollutants and the HPI axis. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes* 6:331-63.
11. Hontela A, Rasmussen JB, Audet C, Chevalier G. 1992. Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs, and mercury. *Archives of Environmental Contamination and toxicology* 22:278-83.
12. Hutz RJ, Wimpee BAB, Dasmahapatra A, Weber DN, Heimler I, Chaffin CL. 1999. Differential modulation by aromatic hydrocarbon receptor agonist of circulating estradiol-17 β and estrogen-receptor DNA-binding capability in female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Zoological science* 16:161-6.
13. Kennedy CJ, Farrell AP. 2005. Ion homeostasis and interrenal stress responses in juvenile Pacific herring, *Clupea pallasii*, exposed to the water-

- soluble fraction of crude oil. *Journal of experimental marine biology and ecology* 323:43-56.
14. Khan R. 1995. Histopathology in winter flounder, *Pleuronectes americanus*, following chronic exposure to crude oil. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 54:297-301.
 15. Khan R. 2003. Health of flatfish from localities in Placentia Bay, Newfoundland, contaminated with petroleum and PCBs. *Archives of Environmental Contamination and toxicology* 44:485-92.
 16. Leonard JD, Hellou J. 2001. Separation and characterization of gall bladder bile metabolites from speckled trout, *Salvelinus fontinalis*, exposed to individual polycyclic aromatic compounds. *Environmental toxicology and chemistry* 20:618-23.
 17. Mallatt J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42:630-48.
 18. Martinez C, Nagae M, Zaia C, Zaia D. 2004. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Brazilian Journal of Biology* 64:797-807.
 19. McCormick SD. 1995. 11 Hormonal Control of Gill Na⁺, K⁺-ATPase and Chloride Cell Function. *Fish physiology* 14:285-315.
 20. Mimura J, Fujii-Kuriyama Y. 2003. Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD. *Biochim.Biophys.Acta* 1619:263-8.
 21. Negreiros LA, Silva BF, Paulino MG, Fernandes MN, Chippari-Gomes AR. 2011. Effects of hypoxia and petroleum on the genotoxic and morphological parameters of *Hippocampus reidi*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* .
 22. Ribeiro C, Voltaire Y, Sanchez-Chardi A, Roche H. 2005. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. *Aquatic Toxicology* 74:53-69.
 23. Smith CJ, Shaw BJ, Handy RD. 2007. Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology* 82:94-109.
 24. Takashima F, Hibiya T. 1995. An atlas of fish histology: normal and pathological features. Kodansha Ltd.
 25. Teh SJ, Adams S, Hinton DE. 1997. Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquatic Toxicology* 37:51-70.
 26. Thophon S, Kruatrachue M, Upatham E, Pokethitiyook P, Sahaphong S, Jaritkhuan S. 2003. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution* 121:307-20.
 27. Tintos A, Gesto M, Miguez JM, Soengas JL. 2007. Naphthalene treatment alters liver intermediary metabolism and levels of steroid hormones in plasma of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and environmental safety* 66:139-47.
 28. Tintos A, Miguez JM, Mancera JM, Soengas JL. 2006. Development of 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.* 68:251-63.
 29. Vijayan MM, Pereira C, Grau EG, Iwama GK. 1997. Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 116:89-95.
 30. Vossoughi M, Moslehi P, Alemzadeh I. 2005. RESEARCH NOTE SOME INVESTIGATION ON BIOREMEDIATION OF SEDIMENT IN PERSIAN GULF COAST. *International Journal of Engineering* 18:45.
 31. Wendelaar Bonga S. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews* 77:591-625.

Effects of Benzo- α -Pyren exposure stress on the gill histology and plasma levels of cortisol in Yellowfin Seabream, *Acanthopagrus latus*

Rastgar S., Movahedinia A.A. and Yarahmadi Z.

Marine Biology Dept., Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, I.R. of Iran

Abstract

BACKGROUNDDS: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons are destroying organic pollutants for living organisms in aquatic environments. **OBJECTIVES:** The present study investigated effects of Benzo alpha pyrene (BaP) as one of the most important hydrocarbons on gill structure and plasma cortisol levels in Yellowfin Seabream, *Acanthopagrus latus*. **METHODS:** Fish were divided to base, control and treatment groups. Treatment fishes received 50mg Bap per kilogram body weight dissolved in 10 μ l coconut oil per gram body weight that were implanted peritoneal. Control group were implanted with coconut oil (10 μ l/g body weight) without BaP and whereas base group did not implant. Sampling was carried out 72 hours after implanting. At sampling time fish were anesthetized then blood and gill arch were sampled. **RESULTS:** According to the results plasma levels of cortisol significantly increased in both control and treatment groups. Histological investigation of the gill tissues showed intensive damages under BaP exposure stress. **CONCLUSIONS:** Bap exposure stress caused some alteration in plasma cortisol levels and increasing gill histopathological lesions. So according to the importance of these parameters for some vital process such as osmoregulation and respiration, consequently disorders in hydromineral balance and survival is expected.

Key words: Histopathology, Hormone, Osmoregulation, Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, Pollution