

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

عبدالعلی موحدی نیا^{۱*}، 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 اندوکراین 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 ۵۰ mg/kg نفتالین در ۲ μl/g روغن گیاهی به ازای وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق شد. برای گروه شاهد از ۲ μl/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 ۱۰ μl/g روغن نارگیل به تنهایی برای گروه شاهد و ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۱۰ μl/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 پلاسمایی ۱۷ بتا استرادیول و تری یدوتیرونین در استرس مزمن مشاهده شد. به نظر می رسد افزایش کورتیزول به منظور تامین نیاز بیشتر به انرژی در شرایط استرس باشد. نفتالین با اثر مهاری بر آنزیم های استروئیدوژنز به صورت مستقیم و فعال کردن رسپتور های آریل هیدروکربن به صورت غیر مستقیم سبب کاهش ۱۷ بتا استرادیول و تری یدوتیرونین می شود. بر اساس نتایج استرس PAH در ماهیان ماده می تواند منجر به آشفته گی اندوکرینی و اختلال در بلوغ و تولید مثل موفق شود.

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

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

۱. مقدمه

از مهم‌ترین آلاینده‌های آلی که پراکنش وسیعی در اکوسیستم‌های آبی دارند هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی (PAHs) می‌باشند (Meador *et al.*, 1995). خاصیت سرطان‌زایی و جهش‌زایی PAHها که موجب اختلال در فرآیند رشد، تولید مثل و تنظیم‌اسمزی می‌شود، در ماهیان به اثبات رسیده است (Nicolas, 1999). نفتالین و ترکیبات آن نظیر آلکیل‌نفتالین‌ها فراوان‌ترین ترکیبات PAH نفت خام هستند (Aas *et al.*, 2000) و فراوانی بالایی در میان آلاینده‌های محیطی دارند (Lee and Anderson, 2005).

PAHها در مهره‌داران آبی می‌توانند به عنوان آشفته‌کننده 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 می‌شود (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 تری‌یدوتیرونین (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 مقابله‌کننده 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، تخمک‌ها 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 تخمک‌زایی و نیز تحریک سلول‌های فولیکولی به سنتز ۱۷بتا استرادیول می‌شود (Davies *et al.*, 1999). ۱۷بتا استرادیول به درون پلازما 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). PAHها با اختلال در سیکل تولید ویتلوژنین می‌توانند تولید مثل موفق در ماهیان را به مخاطره بیندازند. از جمله این اختلالات می‌توان به کاهش سطح ۱۷بتا استرادیول (Thomas and Budiantara, 1995)، ممانعت از بالارفتن ویتلوژنین پلازما 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.

PAHها 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 PAHها در مسیر تولید و عملکرد هورمون‌هایی که در بالا بردن انرژی بدن نقش دارند نظیر کورتیزول و هورمون‌های تیروئیدی دخالت دارند (Teles *et al.*, 2005; Hontela *et al.*, 1992) و همچنین در فرآیندهای

شدند. در گروه تیمار مقدار 50 mg/kg نفتالین محلول در $10 \mu\text{l/g}$ روغن نارگیل به ازای وزن بدن ایمپلنت داخل صفاقی شد. در گروه شاهد از ایمپلنت $10 \mu\text{l/g}$ 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 اتانول ۰/۲ درصد بیهوش شده و به کمک سرنگ آغشته به هپارین از سیاهرگ ساقه دمی مقدار 3 cc خونگیری شد. نمونه خون را با دور ۶۰۰۰ به مدت ۷ دقیقه سانتریفوژ کرده و پلاسما حاصله را تا انجام مطالعات بعدی در نیتروژن مایع به سرعت منجمد کرده و به فریزر -80 منتقل شدند.

به منظور تعیین مرحله جنسی پس از خارج کردن گنادها، آن‌ها را در محلول بوئن به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت فیکس کرده و سپس نمونه‌ها تا انجام مراحل بافت شناسی به الکل ۷۰٪ انتقال داده شدند.

۲-۴- بافت شناسی و تعیین مرحله

تخمدانی:

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

۲-۵- اندازه گیری هورمون‌ها:

برای اندازه گیری 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 (محصول USA) و برای سنجش کورتیزول و T3 به ترتیب از DIMETRA (ساخت ایتالیا) و Monobind (ساخت

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 اثر کوتاه 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 روش‌ها

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 وزنی $96,7 \pm 2,77$ 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 اتانول ۰/۲ درصد ماهیان را بیهوش کرده، وزن شدند. سپس مقدار 50 mg/kg نفتالین به همراه $2 \mu\text{l/g}$ روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن به داخل صفاق گروه تیمار تزریق شد. در گروه شاهد برای تزریق تنها از $2 \mu\text{l/g}$ 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

۳. نتایج

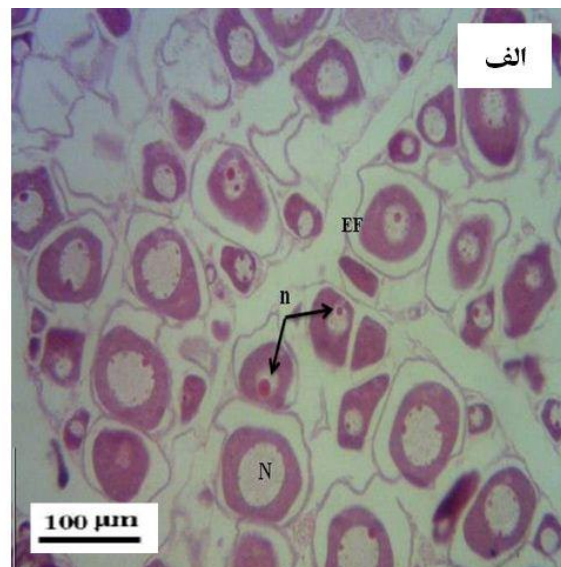
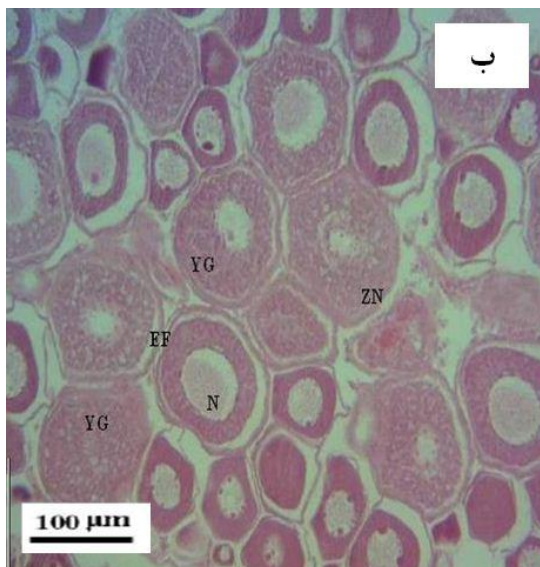
۳-۱- تعیین مرحله جنسی :

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).

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

۲-۶- آنالیز آماری:

برای مقایسه هورمون‌های کورتیزول، T3 و ۱۷ 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 $0.05/p \leq 0.05$ است. در تحلیل داده ها و رسم نمودار از نرم افزار Sigma plot ver.11 استفاده شد.



شکل ۱. مقاطع بافتی گنادهای ماهی مید (رنگ آمیزی H&E). الف: مرحله پرویتلوژنز و ب: مرحله ویتلوژنز.

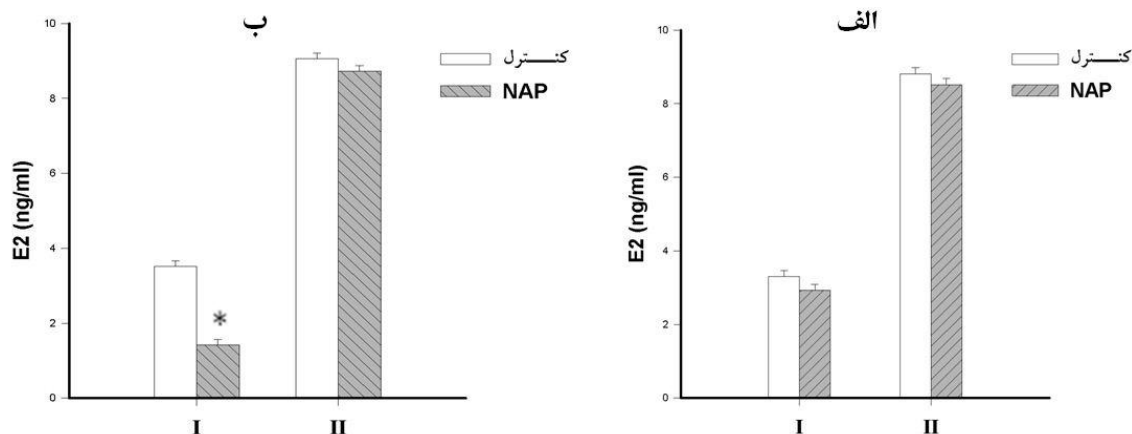
EF: اپیتلیوم فولیکول، N: هسته، n: هسته، YG: گرانول زرده و ZR: زونا رادیاتا.

مشاهده نشد. اما پس از استرس مزمن نفتالین کاهش معنی داری در هر دو گروه مشاهده گردید (شکل ۲).

۳-۲- تغییرات ۱۷ بتا استرادیول در

پلازما:

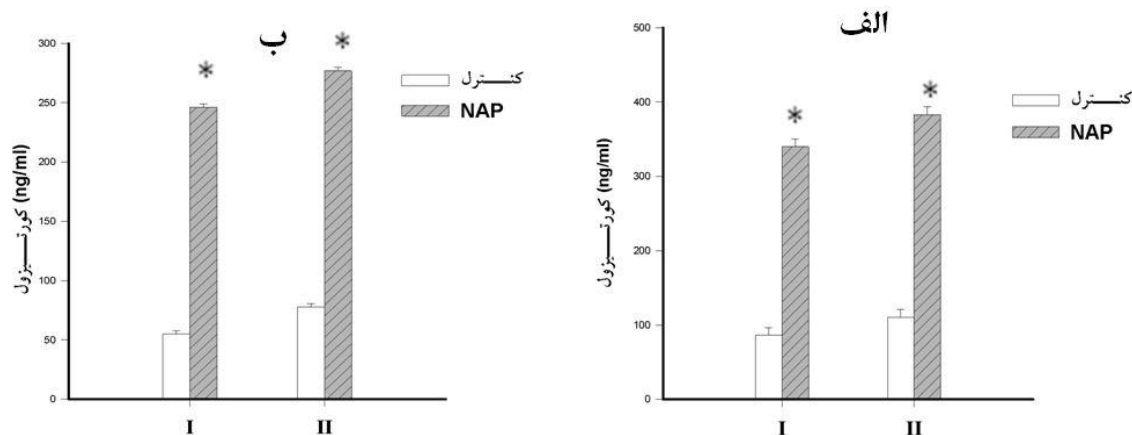
در استرس حاد اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و تیمار در دو گروه ویتلوژنز و پرویتلوژنز



شکل ۲. الف: تغییرات سطوح E2 ۳ ساعت پس از تزریق NAP: گروه شاهد: تزریق ۲ μl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۲ μl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن. ب: تغییرات سطوح E2 ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین. گروه شاهد: ایمپلنت ۱۰ μl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۱۰ μl/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).

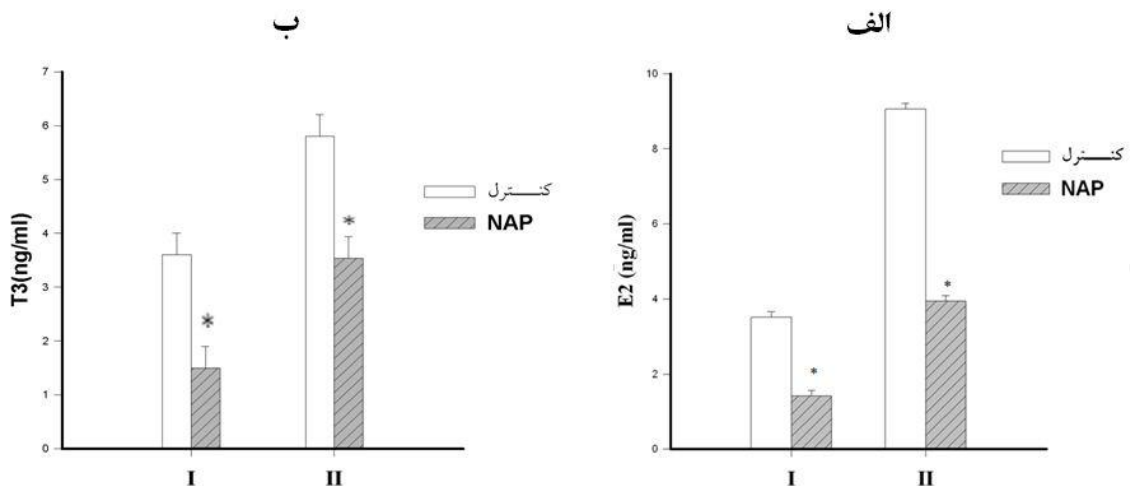


شکل ۳. الف) تغییرات سطوح کورتیزول ۳ ساعت پس از تزریق NAP: گروه شاهد: تزریق ۲ μl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۲ μl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن. ب) تغییرات سطوح کورتیزول ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین. گروه شاهد: ایمپلنت ۱۰ μl/g روغن نارگیل به ازای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

هورمون T3 به طور معنی داری کاهش یافت (شکل ۴).

۴-۳- تغییرات سطح تری یدوتیرونین:

اگرچه ۳ ساعت پس از تزریق نفتالین تغییر معنی داری در مقدار هورمون T3 مشاهده نشد، اما ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین سطح



شکل ۴. الف: تغییرات سطوح تری یدوتیرونین ۳ ساعت پس از تزریق NAP: گروه شاهد: تزریق ۲ μl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۲ μl/g روغن آفتابگردان به ازای وزن بدن. ب: تغییرات سطوح تری یدوتیرونین ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین. گروه شاهد: ایمپلنت ۱۰ μl/g روغن نارگیل به ازای وزن بدن، گروه تیمار: ایمپلنت ۵۰ mg/kg نفتالین محلول در ۱۰ μl/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 اندوکراین که تحت تاثیر گزنوبیوتیک ها به وجود می آید، می تواند 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 می شود. مطالعاتی که بر روی ماهی مولت راه راه (Thomas et al., 1980)، آزاد ماهی کوهو (Thomas and Rice, 1987)، هرینگ اطلس (Kennedy and Farrell, 1987)، و قزل آلی رنگین کمان (Aldegunde et al., 2005) صورت گرفت، افزایش سطوح کورتیزول پلازما را طی مواجهه با هیدروکربن های حلقوی نشان داده است. با این وجود کاهش سطوح کورتیزول در اثر این آلاینده ها که به دلیل غیر کارآمد شدن محور HPI یا از کار افتادن آنزیم های میتوکندریایی سنتز کورتیزول می باشد 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 می باشد. در بسیاری از مطالعات کاهش سطوح T3 پس از تیمار با آلاینده-

های 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 هیدروکربن های 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 می دهند (Navas et al., 2004).

استرس شیمیایی نفتالین با فعال کردن AhR (رستورهای آریل هیدروکربن) موجب تاثیر بر سلول های کورتیکوتروپ شده که به دنبال آن بالا رفتن سطوح کورتیزول پلازما رخ می دهد (Hinton et al., 1992). بالا رفتن سطوح کورتیزول 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 می دهد، علت این تفاوت به خوبی مشخص نیست. برخی محققین معتقدند که این

استرادیول در پلازما 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. بنابراین علت تغییر غیر عادی کورتیزول و T3 در استرس مزمن را می‌توان توجیه کرد. به علاوه هورمون‌های تیروئیدی و کورتیزول هر دو متابولیسم کربوهیدرات‌ها 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 به PAHها 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 نیز تداوم 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

تفاوت به علت فعالیت زیاد سلول‌های هیپوفیزی و خستگی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-اینترنال 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).

PAHها ترکیبات چربی دوستی هستند که می‌توانند در بافت‌های 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 می‌تواند به طور اختصاصی و مستقیم مانع از سنتز سه آنزیم مهم دخیل در ساخت ۱۷ بتا استرادیول (۱) سیتوکروم P450 ۱۷ و ۲۰ لیزاز (P450-17-20L)، (۲) بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز (β17-HSD) و (۳) سیتوکروم P450 آروماتاز (P450 arom) و در نتیجه کاهش سنتز و سطوح ۱۷ بتا استرادیول در خون شود (Monteiro *et al.*, 2000).

PAHها می‌توانند فعالیت آنتی استروژنی داشته و با استروژن‌ها در باند شدن با ERها 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

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, 17 β -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 Manipulation I. 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*

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 in marine 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 disruptors 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

pallasi, exposed to the water-soluble fraction of crude oil. *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-transferase, 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., Waggoner, K., Reyes, J. A., Faurey, 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. Impaired cortisol 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. 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: 251-263.

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

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 tootil* 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*

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., Klönisch, T., Brandsch, C., Eder, K., Fröhlich, C., Hoang-Vu, C. and Hombach-Klönisch, 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.