فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال دوم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۳

اثرات زنواستروژن نونیل‌فنول بر تعادل هورمون‌های تیروئیدی و هیپوفیزی (GH، FSH و TSH) ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

ایمان شیردل[۱]، محمدرضا کلباسی[۲]*

۱- کارشناسی ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- استاد گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

نونیل‌فنول ماده‌ای است که در تولید شوینده‌ها و آفت‌کش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد و در سیستم درون‌ریز موجودات زنده اختلال ایجاد می‌کند. مقادیر زیادی از این ماده از طریق پساب‌های صنعتی، کشاورزی و شهری به محیط‌های آبی وارد می‌شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر غلظت محیطی نونیل‌فنول بر تعادل هورمون‌های تیروئیدی و هیپوفیزی در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) انجام گرفته است. برای این منظور، ماهیان با وزن ۱۰±۴۰ گرم به مدت ۲۱ روز در معرض تک‌غلظت محیطی ۳۰µg/L نونیل‌فنول قرار داده شدند و سپس مقدار هورمون‌های تیروئیدی (T_3 و T_4) و هیپوفیزی (TSH، FSH و GH) پلاسمای خون و نیز شاخص‌های GSI و HSI در دو جنس نر و ماده مورد بررسی قرار گرفت. T_3، T_4 و GH که جزء هورمون‌های حیاتی بدن محسوب می‌شوند، در ماهیان قرار گرفته در معرض نونیل‌فنول نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری تغییر پیدا کردند. همچنین جنس‌های نر و ماده حساسیت متفاوتی در برابر غلظت به‌کار گرفته شده از نونیل‌فنول داشتند. بنابراین با توجه به اثرات مخرب غلظت محیطی نونیل‌فنول بر ماهی آزاد دریای خزر، ضروری است تدابیر لازم جهت کاهش ورود این مواد به دریا، حفاظت لازم از ماهیانی که در معرض این مواد هستند و همچنین تنظیم مکان مناسبِ رهاسازی که واجد حداقل آلودگی باشد، مد نظر مسئولین امر قرار گیرد.

واژگان کلیدی: *نونیل‌فنول*، *T_3*، *تیروکسین*، Salmo trutta caspius

تاریخ دریافت: تیر ۹۳ تاریخ پذیرش: شهریور ۹۳

* نویسنده مسئول: mkalbassi@gmail.com

مقدمه

نونیل‌فنول در محیط‌های آبی در اثر تجزیه میکروبی نونیل‌فنول اتوکسیلات‌ها به وجود می‌آید. اتوکسیلات‌های نونیل‌فنول به طور گسترده در تولید شوینده‌ها، رنگ‌ها، آفت‌کش‌ها و روغن‌های روان‌کننده مورد استفاده قرار می‌گیرند (Soares et al., 2008). استفاده از محصولات ذکر شده در صنایع مختلف منجر به رهایش مقادیر زیادی نونیل‌فنول از طریق پساب‌های صنعتی، کشاورزی و شهری به اکوسیستم‌های آبی شده است. نونیل فنول تا حدودی در آب قابل حل است و نسبت به ترکیب مادری خود یعنی نونیل‌فنول اتوکسیلات در محیط، سمی‌تر و پایدارتر است (Soares et al., 2008). در آب‌های نواحی جنوبی دریای خزر، مقادیر بالایی از نونیل‌فنول (۲۹µg/g) در تالاب انزلی گزارش شده است (Mortazavi et al., 2012). نونیل‌فنول شباهت ساختاری بسیار زیادی با هورمون ۱۷- بتا استرادیول دارد و برای اتصال به گیرنده‌های استروژنی، با این هورمون رقابت می‌کند. به دلیل وجود چنین شباهت‌هایی، نونیل‌فنول اثری مشابه هورمون طبیعی ۱۷- بتا استرادیول دارد. بنابراین انتظار می‌رود که نونیل‌فنول اثرات متنوعی بر موجودات زنده داشته باشد (Soares et al., 2008).

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) یکی از ۹ زیرگونه قزل‌آلای قهوه‌ای است که در سواحل جنوبی و غربی دریای خزر پراکنده شده‌اند. این گونه به شدت در معرض خطر انقراض (Critically Endangered) است و در سواحل جنوبی دریای خزر برنامه‌هایی جهت حفاظت از آن در حال اجرا است (Kiabi et al., 1999). در بسیاری از مناطق جنوبی دریای خزر که در گذشته ماهی آزاد دریای خزر به وفور یافت می‌شد، امروزه اثری از آن وجود ندارد و جمعیت وحشی این گونه نزدیک به انقراض کامل است (Vera et al., 2011). افزایش میزان آلودگی رودخانه‌ها، صید بی‌رویه و تخریب محل‌های تخم‌ریزی ماهی طی چند سال اخیر به عنوان مهم‌ترین عوامل کاهش جمعیت این گونه مطرح شده‌اند (Kiabi et al., 1999). خطر ورود آلاینده‌ها به محیط‌های آبی برای گونه‌های در معرض خطر به مراتب بیش‌تر از سایر گونه‌ها است. زیرا گونه‌های در معرض خطر، در مقایسه با سایر گونه‌ها حساس‌تر هستند و پراکنش آن‌ها نیز بسیار محدودتر است. بنابراین ورود آلاینده‌ها به محیط زیستِ این گونه‌ها به فرآیند انقراض آن‌ها سرعت می‌بخشد.

در مطالعات گذشته گزارش شده است که نونیل‌فنول می‌تواند بیان FSH در هیپوفیز و ترشح FSH به پلاسمای ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) را کاهش دهد که ممکن است ناشی از تاثیر مستقیم نونیل‌فنول بر هیپوفیز و یا از طریق فیدبک‌های ایجاد شده توسط هورمون‌های استروئیدی باشد (Harris et al., 2001; Sayed et al., 2012). همچنین در مطالعات قبلی اختلال در مقدار تولید هورمون‌های T_3 و T_4 در گونه‌های مختلف ماهیان در مواجهه با نونیل‌فنول مشاهده شد (Naderi et al., 2013; Robertson and McCormick, 2012; Sayed et al., 2012). در این مطالعات، تغییر در میزان تولید T_4 به افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم TPO و تغییر در مقدار هورمون T_3 به اختلال در فعالیت آنزیم دِیُدیناز نسبت داده شد (Lima et al., 2006; Naderi et al., 2013; Robertson and McCormick, 2012; Sayed et al., 2012). در مجموع، از آن‌جایی‌که هورمون‌های مرتبط با تیروئید (TSH، T_3 و T_4) و هورمون رشد (سوماتوتروپین) جزء فاکتورهای کلیدی در رشد، تکامل، تولیدمثل، مهاجرت و تنظیم اسمزی ماهیان محسوب می‌شوند، بنابراین، اختلال در مقدار و عملکرد این هورمون‌ها در اثر مواجهه با نونیل‌فنول می‌تواند بر فرآیندهای حیاتی مختلف در بدن و همچنین بر رشد و ساختار جمعیت ماهی تاثیر منفی داشته باشد (Hanson et al., 2012; Shved et al., 2008). بنابراین، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی میزان حساسیت ماهی آزاد دریای خزر در برابر غلظت محیطی نونیل‌فنول با استفاده از نشانگرهای هورمونی (هورمون‌های تیروئیدی و هیپوفیزی) و نیز مقایسه حساسیت دو جنس نر و ماده انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

ماهی مورد مطالعه و شرایط نگهداری آن‌ها

تعداد ۴۰ عدد ماهی آزاد دریای خزر با وزن ۱۰±۴۰ گرم و طول کل ۳±۱۵ سانتی‌متر (۱$^{+}$) از مزارع پرورش ماهی خصوصی خریداری و به سالن پرورش ماهی دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس (مازندران، نور) انتقال یافت و در تانک فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری حاوی آب شهر کلرزدایی و هوادهی شده نگهداری شد. قبل از شروع آزمایش ماهی‌ها به مدت ۱ هفته به شرایط سالن پرورش سازگار شدند. در طول دوره سازگاری، ماهی‌ها روزانه به مقدار۲ درصد وزن بدن با

غذای تجاری قزل‌آلا (تهیه شده از شرکت خوراک دام و آبزیان مازندران) تا ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش سمیت، تغذیه شدند. در طول دوره سازگاری و همچنین دوره آزمایش سمیت، ماهی‌ها تحت شرایط نوری ۱۲:۱۲ (تاریکی:روشنایی) و دمای ۲±۱۳ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شدند (ستوده و همکاران، ۱۳۹۲؛ Dorafshan et al., 2008).

آزمون سمیت

به منظور بررسی اثر تحت حاد نونیل‌فنول بر ماهی آزاد دریای خزر، ماهی‌ها به طور تصادفی به ۲ تیمار با دو تکرار در تانک‌های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری (حاوی ۱۰۰ لیتر آب) دسته‌بندی شدند. ۱۰ عدد ماهی برای هر تکرار در نظر گرفته شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه کنترل و غلظت ۳۰µg/L (معادل ۰/۰۳ppm) نونیل‌فنول (Sigma-Aldrich, PESTANAL, Technical Mixture, 85%) بود. لازم به ذکر است که غلظت مورد استفاده بر اساس غلظتی که در نواحی جنوبی دریای خزر توسط Mortazavi و همکاران (2012) گزارش شده است، انتخاب شد. به خاطر جلوگیری از اثرات استروژن‌های گیاهی موجود در غذا، در طول دوره انجام آزمون سمیت هیچ‌گونه غذادهی انجام نمی‌شد. آزمایش به صورت نیمه‌ساکن (Semi-static) انجام شد و محلول موجود در تانک‌ها هر ۴۸ ساعت به صورت کامل با محلول تازه جایگزین می‌شد. طول دوره آزمایش ۲۱ روز بود.

نمونه‌برداری

در روز ۲۱، سه ماهی از هر تکرار به طور تصادفی از تانک‌ها خارج شد و در محلول پودر میخک با غلظت ۲۰۰ میکروگرم در لیتر (ppm) بی‌هوش شدند. پس از توزین، با استفاده از سرنگ هپارینه ۱cc خون از ساقه دمیِ هر ماهی گرفته و در میکروتیوب‌های هپارینه جمع‌آوری شد. میکروتیوب‌های حاوی خون ماهی به مدت ۴-۳ ساعت در یخچال (۴ °C) قرار داده شدند و سپس به آزمایشگاه منتقل و به مدت ۵ دقیقه در ۵۰۰۰ g (۱۱۰۰۰ rpm) سانتریفیوژ شدند. پلاسمای حاصل، جدا و تا زمان سنجش هورمون‌ها در فریزر ۸۰- °C نگهداری شد. ماهی‌های خون‌گیری شده تشریح شدند و بافت کبد و گنادِ آن‌ها خارج شد. بافت‌های کبد و گناد به منظور محاسبه

شاخص کبدی (HSI) و شاخص گنادی (GSI) توزین شدند (شاخص GSI تنها در جنس ماده اندازه‌گیری شد، زیرا گناد جنس نر به خاطر وزن کمِ آن که خارج از محدوده دقت ترازو بود، اندازه‌گیری نشد). شاخص‌های HSI و GSI با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند (Sun et al., 2009):

HSI = (وزن کبد / وزن بدن) × ۱۰۰

GSI = (وزن گناد / وزن بدن) × ۱۰۰

سنجش هورمون‌ها

مقادیر هورمون‌های FSH و TSH بر اساس روش الایزا ساندویچ و به ترتیب با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد FSH و ضد TSH، و مقادیر هورمون‌های T_3 و T_4 بر اساس روش الایزا رقابتی و به ترتیب با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد T_3 و ضد T_4، با استفاده از کیت‌های الایزا تهیه شده از شرکت پیشتاز طب (ایران) و بر اساس دستورالعمل ارائه شده توسط شرکت سازنده کیت انجام شد. سنجش مقدار GH بر اساس روش الایزا ساندویچ و با آنتی‌بادی مونوکلونال ضد GH، با استفاده از کیت الایزا تهیه شده از شرکت پادتن علم (ایران) و بر اساس دستورالعمل ارائه شده توسط شرکت سازنده کیت صورت گرفت. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر و با استفاده از خوانشگر اتوماتیک الایزا (Avecina Touch Plate Reader Iran) تعیین شد.

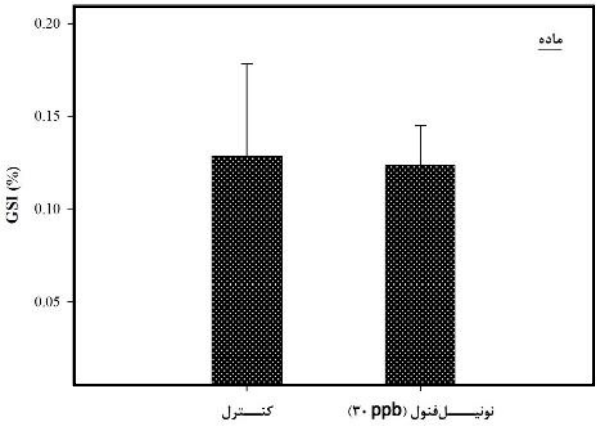
تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده شد. جهت بررسی اختلاف میانگین تیمار نونیل‌فنول با گروه کنترل از آزمون t-test در سطح ۹۵٪ استفاده شد. پردازش آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ انجام گرفت و نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot نسخه ۱۲ رسم شدند.

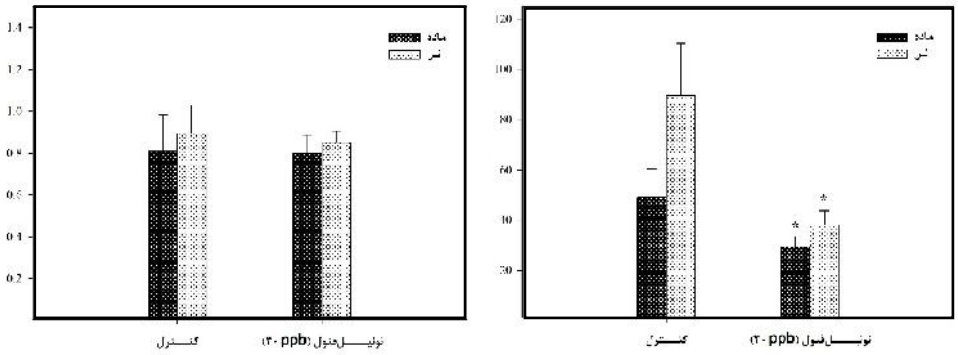
نتایج

در این مطالعه مقدار GSI ماده در دو تیمار نونیل‌فنول و کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱). HSI نیز در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی‌داری بین تیمار نونیل‌فنول و گروه کنترل

نشان نداد. سطح هورمون رشد (GH) در هر دو جنس نر و ماده در تیمار نونیل‌فنول نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده است (شکل ۲).



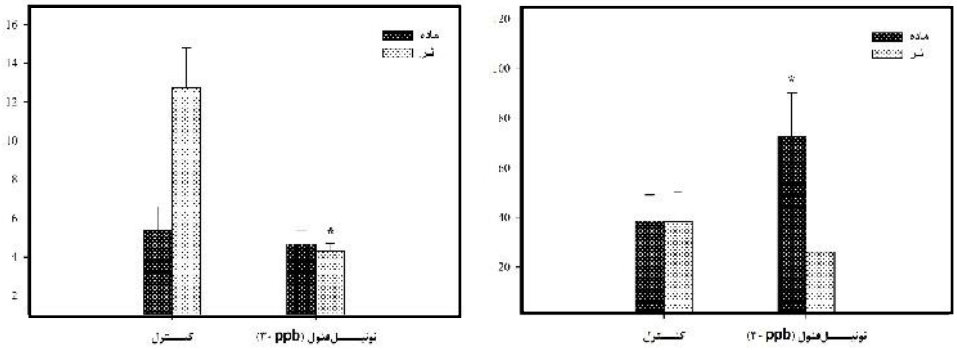
شکل ۱: شاخص GSI در ماهی آزاد دریای خزر بعد از ۲۱ روز قرار گرفتن در معرض ۳۰µg/L نونیل‌فنول.



شکل ۲: شاخص HSI و مقدار هورمون رشد در پلاسمای خون ماهی آزاد دریای خزر بعد از ۲۱ روز قرار گرفتن در معرض ۳۰µg/L نونیل‌فنول. *: نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل است (P<۰/۰۵).

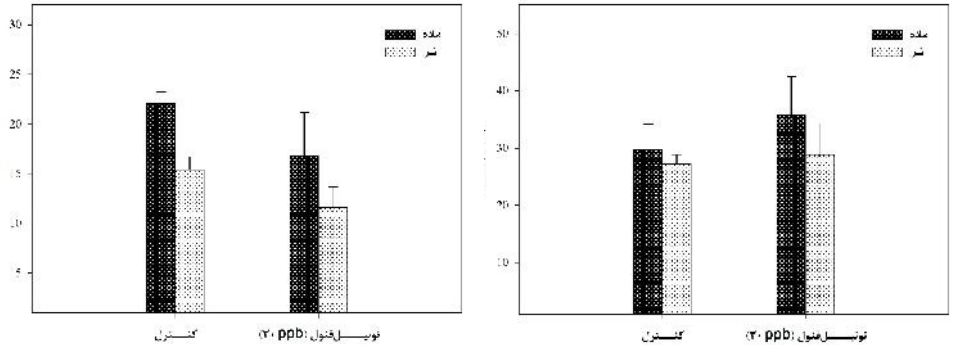
مقدار هورمون T_3 در پلاسمای جنس نر در تیمار نونیل‌فنول نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵)، در صورتی که چنین اختلاف معنی‌داری در جنس ماده مشاهده نشد. مقدار هورمون تیروکسین (T_4) در جنس ماده در تیمار نونیل‌فنول به طور معنی‌داری

در مقایسه با گروه کنترل افزایش پیدا کرد ($P<۰/۰۵$)، اما مقدار این هورمون در جنس نر، تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار نشان نداد (شکل ۳).



شکل ۳: مقدار هورمون‌های T_3 و T_4 در پلاسمای خون ماهی آزاد دریای خزر بعد از ۲۱ روز قرار گرفتن در معرض ۳۰µg/L نونیل‌فنول. *: نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل است ($P<۰/۰۵$).

مقدار هورمون محرک تیروئید (TSH) اگرچه در هر دو جنس نر و ماده به طور جزئی در تیمار نونیل‌فنول نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرد، اما در هیچ‌یک از دو جنس، این اختلاف معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). مقدار هورمون محرک فولیکولی (FSH) نیز در دو جنس نر و ماده قرار گرفته در معرض نونیل‌فنول نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری پیدا نکرد (شکل ۴).



شکل ۴: مقدار هورمون‌های TSH و FSH در پلاسمای خون ماهی آزاد دریای خزر بعد از ۲۱ روز قرار گرفتن در معرض ۳۰µg/L نونیل‌فنول.

بحث

ارزیابی میزان حساسیت گونه‌های در معرض خطر در برابر آلاینده‌ها می‌تواند در برنامه‌ریزی حفاظت از این گونه‌ها سودمند باشد (Dwyer et al., 2005). از این‌رو مطالعه حاضر جهت ارزیابی میزان حساسیت ماهی آزاد دریای خزر در برابر نونیل‌فنول با استفاده از نشانگرهای هورمونی (هورمون‌های هیپوفیزی و تیروئیدی) انجام گرفته است.

HSI و GSI اغلب به عنوان شاخص‌های غیراختصاصی در پاسخ به اثرات آلاینده‌ها در نظر گرفته می‌شوند (Naderi et al., 2014b). در این مطالعه اثر واضحی از نونیل‌فنول بر GSI ماهیان ماده مشاهده نشد. تعدادی از مطالعات قبلی افزایش معنی‌دار GSI در جنس ماده را در اثر مواجهه با نونیل‌فنول در طی دوره فعال رشد گنادی گزارش کردند (Cardinali et al., 2004). بنابراین عدم وجود تاثیر معنی‌دار نونیل‌فنول بر GSI جنس ماده در مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل کوتاه بودن طول دوره مواجهه با نونیل‌فنول و همچنین شروع نشدن دوره فعال تخمک‌زایی در این ماهیان نابالغ باشد. بنابراین، GSI نمی‌تواند شاخص مناسبی برای بررسی اثرات کوتاه‌مدت آلاینده‌های استروژنی در این ماهی، به ویژه قبل از شروع رشد فعال گنادی در ماهیان نابالغ باشد. HSI نیز در مطالعه حاضر در مقایسه با گروه شاهد تغییر معنی‌داری نداشت که علت آن نیز می‌تواند کم بودن غلظت مورد استفاده و یا کوتاه بودن طول دوره باشد. در مطالعات قبلی افزایش مقدار HSI در پاسخ به نونیل‌فنول در جنس نر و ماده به دلیل افزایش غیرعادی تولید ویتلوژنین در کبد گزارش شد (Naderi et al., 2012; Zha et al., 2008).

مقدار هورمون FSH در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری در هیچ‌یک از دو جنس بین تیمار نونیل‌فنول و گروه کنترل نشان نداد. درحالی‌که در مطالعات گذشته کاهش بیان FSH در هیپوفیز و نیز کاهش ترشح FSH به پلاسما در پاسخ به نونیل‌فنول گزارش شده است (Harris et al., 2001; Sayed et al., 2012). در این مطالعات بیان شده است که اثر نونیل‌فنول بر میزان FSH ممکن است از اثر مستقیم بر هیپوفیز و یا از طریق فیدبک‌های ایجاد شده توسط هورمون‌های استروئیدی ناشی شود. عدم مشاهده اثر معنی‌دار نونیل‌فنول بر ماهی آزاد دریای خزر در مطالعه حاضر، ممکن است به خاطر پایین بودن غلظت مورد استفاده و یا پایین بودن سن ماهی باشد که هنوز دوره فعال تولیدمثلی در آن آغاز نشده است.

در مطالعات قبلی هم اثر افزاینده و هم کاهنده نونیل‌فنول بر مقدار هورمون T_4 در ماهیان مشاهده شد (Naderi et al., 2013; Robertson and McCormick, 2012; Sayed et al., 2012). در این مطالعات، افزایش یا کاهش T_4 به افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم TPO نسبت داده شده است (Lima et al., 2006; Naderi et al., 2013). TPO آنزیمی است که فرآیند یُدیناسیون و جفت کردن دو دی‌یُدوتیرونین و تبدیل آن به تیروکسین (T_4) را در فولیکول‌های تیروئید کاتالیز می‌کند (Naderi et al., 2013). در مطالعه حاضر در ماهیان ماده قرار گرفته در معرض نونیل‌فنول، مقدار T_4 در پلاسما افزایش یافت. مطابق با نتایج این مطالعه، Naderi و همکاران (۲۰۱۴a) نیز افزایش هورمون T_4 را در خون ماهیان نابالغ شانک زردباله به دنبال دو هفته تزریق ۴- نونیل‌فنول ($۱۰-۲۰۰\mu gg^{-1}week^{-1}$) گزارش کردند. هنوز دلایل و شواهد کافی وجود ندارد که چگونه مواجهه با نونیل‌فنول باعث افزایش T_4 در پلاسما می‌شود. البته در مطالعه دیگری که توسط Lima و همکاران (۲۰۰۶) بر روی موش‌های عادی و اُواریکتومی شده (که تخمدان آن‌ها خارج شده بود) انجام شد، مشخص شد که تزریق استرادیول (E_2) باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم TPO می‌شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا افزایش فعالیت آنزیم TPO در اثر مواجهه با نونیل‌فنول، باعث افزایش مقدار هورمون T_4 در پلاسمای خون ماهیان ماده آزاد دریای خزر شده است. برعکسِ جنس ماده، در جنس نر مقدار هورمون T_4 تغییر معنی-داری نداشت که این امر نشان دهنده حساسیت متفاوت هورمون‌های تیروئیدی دو جنس نر و ماده در پاسخ به نونیل‌فنول می‌باشد. همان‌طور که در مورد هورمون T_3 این تفاوت بین دو جنس مشاهده شد. به این‌صورت که در مقدار هورمون T_3 در پلاسمای خون جنس ماده تغییری معنی-داری نداشته است، اما در جنس نر، مقدار این هورمون به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. کاهش T_3 در پاسخ به مواجهه با نونیل‌فنول در مطالعات قبلی بر روی گونه‌های *Clarias gariepinus* و اسمولت *Salmo salar* نیز گزارش شده که دلیل آن اختلال در فعالیت آنزیم دِیُدیناز ذکر شده است (Robertson and McCormick, 2012; Sayed et al., 2012). دِیُدیناز آنزیمی است که با جدا کردن یک یُد از حلقه خارجی مولکول T_4، آن را به T_3، که شکل فعال هورمون‌های تیروئیدی در بدن ماهیان است، تبدیل می‌کند (Guo and Zhou, 2013). در مطالعه حاضر نیز احتمالا کاهش فعالیت آنزیم دِیُدیناز در اثر مواجهه با نونیل‌فنول موجب کاهش هورمون T_3 در

جنس نر شده است. البته برای روشن‌تر شدن علت تفاوت حساسیت هورمون‌های تیروئیدی ماهیان نر و ماده در مواجهه با ترکیبات شبه‌استروژنی باید در آینده مطالعات بیش‌تری در سطح مولکولی انجام شود.

TSH (هورمون محرک تیروئید)، یک هورمون گلیکوپروتئینی است که از سلول‌های تیروتروپ در هیپوفیز پیشین ترشح می‌شود (Ji et al., 2012). در ماهیان تلئوست، هورمون T_4 از طریق فیدبک منفی، مقدار ترشح TSH را تنظیم می‌کند (Naderi et al., 2014a). در مطالعه حاضر، با وجود اثر قابل توجه نونیل‌فنول بر میزان هورمون T_4 در جنس ماده، مقدار TSH در پلاسمای جنس ماده تغییر معنی‌داری نداشت، اگرچه تا حدودی کاهش پیدا کرد که این مقدار کاهش ممکن است به خاطر فیدبک منفی ایجاد شده بر اثر افزایش هورمون T_4 در جنس ماده باشد. مطابق با این نتایج، Naderi و همکاران (۲۰۱۴a) مشاهده کردند که نونیل‌فنول با وجود افزایش مقدار T_4، تاثیری بر مقدار TSH در ماهی شانک زردباله نداشت. بنابراین براساس نتایج مطالعه حاضر و مطالعات قبلی، TSH شاخص مناسبی برای ارزیابی اثر نونیل‌فنول در ماهی نیست. در مجموع از آن‌جایی‌که هورمون‌های تیروئیدی جزء فاکتورهای کلیدی در رشد، تکامل، تولیدمثل، مهاجرت و تنظیم اسمزی ماهی محسوب می‌شوند، بنابراین اختلال در مقدار و عملکرد هورمون‌های تیروئیدی ناشی از مواجهه با غلظت‌های محیطی نونیل‌فنول می‌تواند بر فرآیندهای حیاتی مختلف در بدن ماهیان تاثیر منفی داشته باشد.

در مطالعه حاضر، مقدار هورمون رشد در هر دو جنس نر و ماده به دنبال مواجهه با نونیل‌فنول کاهش یافت. بر عکسِ هورمون‌های تیروئیدی، هورمون رشد در جنس نر و ماده پاسخ مشابهی به مواجهه با نونیل‌فنول داد. مکانیسم اثر شبه‌استروژن‌ها بر ترشح و عملکرد هورمون رشد دقیقا شناخته نشده است (Hanson et al., 2012). البته در پستانداران نشان داده شده است که استرادیول با تنظیم بیان گیرنده‌های هورمون رشد (GHR) می‌تواند بر فعالیت هورمون رشد اثر بگذارد (Leung et al., 2004). از طرفی دیگر، در مطالعات گذشته ذکر شده است که ناحیه پروموتر ژن GH در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای Estrogen Response Element (ERE) است (Elango et al., 2006). بنابراین وجود ERE، می‌تواند توضیحی برای تاثیر نونیل‌فنول و سایر ترکیبات شبه‌استروژنی بر عملکرد هورمون رشد باشد. به طور کلی، با توجه به اثرات مخرب

نونیل‌فنول بر مقدار هورمون رشد که در این مطالعه مشاهده شد، می‌توان نتیجه گرفت که نونیل‌فنول حتی در غلظت‌های محیطی نیز می‌تواند رشد جمعیت ماهی آزاد دریای خزر را تحت تاثیر قرار دهد. کم شدن هورمون رشد باعث کاهش تولید فاکتور رشد شبه‌انسولین (IGF) و در نتیجه کاهش رشد ماهی می‌شود. بنابراین انرژی دریافتی توسط ماهی به جای این که صرف رشد شود، به مصارف دیگر از جمله تولیدمثل می‌رسد که بلوغ زودرس و کاهش هماوری ماهیان را به دنبال دارد. به علاوه کاهش هورمون رشد، فرآیند تنظیم اسمزی ماهیان را نیز مختل می‌کند. در این صورت سازگاری و بازماندگی ماهیان رهاسازی شده به دریا کاهش پیدا خواهد کرد (Hanson et al., 2012; Shved et al., 2008).

به طور کلی، نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که نونیل‌فنول قادر به ایجاد اثرات مختل کننده در سیستم درون‌ریز و تعادل هورمونی ماهیان آزاد دریای خزر در مراحل قبل از آغاز گامتوژنز می‌باشد. بنابراین بسیاری از فرآیندهای حیاتی بدن در ماهی آزاد دریای خزر می‌تواند تحت تاثیر این ماده قرار گیرد. فرآیندهای مهم حیاتی از جمله رشد، تولیدمثل، بازگشت به رودخانه‌های مادری و رفتارهای تخم‌ریزی، از جمله مهم‌ترین شاخص‌های متاثر از نونیل‌فنول هستند. از طرفی دیگر، نونیل‌فنول و بسیاری از ترکیبات مشابه به دلیل عدم وجود سیستم‌های تصفیه فاضلاب با کارآیی بالا، فقدان مدیریت و کنترل ورود فاضلاب‌ها و نیز عدم مدیریت مصرف سموم کشاورزی، به فراوانی در محیط‌های آبی سواحل جنوبی دریای خزر یافت می‌شوند. بنابراین حضور این مواد در محیط‌های آبی می‌تواند تهدیدی برای حیات اکولوژیک ماهیان دریای خزر باشد، چرا که مواجهه ماهیان رهاسازی شده با ترکیبات مذکور، بازگشت آن‌ها به رودخانه‌های مادری جهت تولید نسل‌های بعدی را دچار اخلال می‌کند و به اصطلاح منجر به مرگ اکولوژیک این گونه‌ها می‌شود. به علاوه، جنس‌های نر و ماده حساسیت متفاوتی در برابر نونیل‌فنول از خود نشان داده‌اند و از این‌رو آلاینده مذکور ممکن است نسبت جنسی ماهیان را نیز تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین، کنترل و جلوگیری از ورود چنین ترکیباتی به محیط‌های آبی، قطعا ضروری است.

منابع

ستوده ا.، عابدیان کناری ع. و خدابنده ص. ۱۳۹۲. قابلیت هضم چربی و اسیدهای چرب، ابقاء چربی و عملکرد رشد در ماهی نورس آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسیدهای چرب بلند زنجیره و ویتامین E. مجله علمی شیلات ایران، سال ۲۲، شماره ۳، ص‌ص: ۷۴-۹۰.

Cardinali M., Maradonna F., Olivotto I., Bortoluzzi G., Mosconi G., Polzonetti-Magni A.M. and Carnevali O. 2004. Temporary impairment of reproduction in freshwater teleost exposed to nonylphenol. Reproductive Toxicology, 18(4): 597–604.

Dorafshan S., Kalbassi M.R., Pourkazemi M., Amiri B.M. and Karimi S.S. 2008. Effects of triploidy on the Caspian *salmon Salmo trutta* caspius haematology. Fish Physiology and Biochemistry, 34(3): 195–200.

Dwyer F.J., Mayer F.L., Sappington L.C., Buckler D.R., Bridges C.M., Greer I.E., Hardesty D.K., Henke C.E., Ingersoll C.G., Kunz J.L., Whites D.W., Augspurger T., Mount D.R., Hattala K. and Neuderfer G.N. 2005. Assessing contaminant sensitivity of endangered and threatened aquatic species: Part I. Acute toxicity of five chemicals. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 48: 143–154.

Elango A., Shepherd B. and Chen T.T. 2006. Effects of endocrine disrupters on the expression of growth hormone and prolactin mRNA in the rainbow trout pituitary. General and Comparative Endocrinology, 145(2): 116–127.

Guo Y. and Zhou B. 2013. Thyroid endocrine system disruption by pentachlorophenol: An *in vitro* and *in vivo* assay. Aquatic Toxicology, 142–143: 138–145.

Hanson A.M., Kittilson J.D., McCormick S.D. and Sheridan M.A. 2012. Effects of 17β-estradiol, 4-nonylphenol, and β-sitosterol on the growth hormone-insulin-like growth factor system and seawater adaptation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 362: 241–247.

Harris C.A., Santos E.M., Janbakhsh A., Pottinger T.G., Tyler C.R. and Sumpter J.P. 2001. Nonylphenol affects gonadotropin levels in the pituitary gland and plasma of female rainbow trout. Environmental Science and Technology, 35: 2909–2916.

Ji C., Jin X., He J. and Yin Z. 2012. Use of TSHβ: EGFP transgenic zebrafish as a rapid *in vivo* model for assessing thyroid-disrupting chemicals. Toxicology and Applied Pharmacology, 262(2): 149–155.

Kiabi B.H., Abdoli A. and Naderi M. 1999. Status of the fish fauna in the south Caspian Basin of Iran. Zoology in the Middle East, 18: 57–65.

Leung K.C., Johannsson G., Leong G.M. and Ho K.K. 2004. Estrogen regulation of growth hormone action. Endocrine reviews, 25(5): 693–721.

Lima L.P., Barros I.A., Lisboa P.C., Araujo R.L., Silva A., Rosenthal D., Ferreira A.C. and Carvalho D.P. 2006. Estrogen effects on thyroid iodide uptake and thyroperoxidase activity in normal and ovariectomized rats. Steroids, 71(8): 653–659.

Mortazavi S., Riyahi Bakhtiari A., Sari A.E., Bahramifar N. and Rahbarizade F. 2012. Phenolic endocrine disrupting chemicals (EDCs) in Anzali Wetland, Iran: Elevated concentrations of 4-nonylphenol, octhylphenol and bisphenol A. Marine Pollution Bulletin, 64: 1067–1073.

Naderi M., Mousavi S.M., Safahieh A., Ghatrami E.R. and Zargham D. 2014a. Effects of 4-nonylphenol on balance of steroid and thyroid hormones in sexually immature male yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*). Environmental Toxicology, 29: 459–465.

Naderi M., Safahieh A., Madise S.D., Zolgharnin H. and Ghatrami E.R. 2012. Induction of vitellogenin synthesis in immature male yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) exposed to 4-nonylphenol and 17β-estradiol. Toxicology and Industrial Health, 1-12. DOI: 10.1177/0748233712469646.

Naderi M., Wong M.Y. and Gholami F. 2014b. Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults. Aquatic Toxicology, 148: 195–203.

Naderi M., Zargham D., Asadi A., Bashti T. and Kamayi K. 2013. Short-term responses of selected endocrine parameters in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to 4-nonylphenol. Toxicology and Industrial Health, 1-11. DOI: 10.1177/0748233713491806.

Robertson L.S. and McCormick S.D. 2012. The effect of nonylphenol on gene expression in Atlantic salmon smolts. Aquatic Toxicology, 122: 36–43.

Sayed A.H., Mahmoud U.M. and Mekkawy I.A. 2012. Reproductive biomarkers to identify endocrine disruption in *Clarias gariepinus* exposed to 4-nonylphenol. Ecotoxicology and Environmental Safety, 78: 310–319.

Shved N., Berishvili G., Baroiller J., Segner H. and Reinecke M. 2008. Environmentally relevant concentrations of 17α-ethinylestradiol (EE_2) interfere with the growth hormone (GH)/insulin-like growth factor (IGF)-I system in developing bony fish. Toxicological Sciences, 106(1): 93–102.

Soares A., Guieysse B., Jefferson B., Cartmell E. and Lester J. 2008. Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. Environment International, 34: 1033–1049.

Sun L., Zha J. and Wang Z. 2009. Effects of binary mixtures of estrogen and antiestrogens on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Aquatic Toxicology, 93: 83–89.

Vera M., Sourinejad I., Bouza C., Vilas R., Pino-Querido A., Kalbassi M.R. and Martinez P. 2011. Phylogeography, genetic structure, and conservation of the endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877), from Iran. Hydrobiologia, 664: 51–67.

Zha J., Sun L., Spear P.A. and Wang Z. 2008. Comparison of ethinylestradiol and nonylphenol effects on reproduction of Chinese rare minnows (*Gobiocypris rarus*). Ecotoxicology and Environmental Safety, 71(2): 390–399.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 2, No. 2, Summer 2014

Effects of the xenoestrogen nonylphenol on balance of thyroid and pituitary hormones (GH, FSH and TSH) of the Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*)

Iman Shirdel[1], Mohammad Reza Kalbassi[2]*
1-M.Sc. in Fisheries, Department of Aquaculture, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran.
2- Professor in Department of Department of Aquaculture, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran.

Received: July 2014 Accepted: September 2014

Abstract

Nonylphenol, a chemical widely utilized in the productuion of surfactants and pesticides, could interfere with the endocrine system of organisms. Large amount of this compound is released into the aquatic environments through industrial, agricultural and municipal effluents. The objective of the present study was to investigate the potential effects of a single-dose of nonylphenol at environmental level on the balance of thyroid and pituitary hormones of juvenile Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). For this, fish with average weight of 40±10g was exposed for 21 days to a single concentration of 30µg/L nonylphenol and then, the plasma levels of thyroid (T_3 and T_4) and pituitary (TSH, FSH and GH) hormones, as well as GSI and HSI were studied in both male and female fish. The results showed that nonylphenol at environmentally relevant concentration had significant effects on the levels of GH, T_3 and T_4 hormones compared with control group. In addition, male and female fish showed different sensitivity in response to nonylphenol exposure. Regarding to the disruptive effects of environmental level of nonylphenol on juvenile Caspian trout, authorities must take necessary measures to prevent the entry of such chemicals into the Caspian Sea, as well as to protect the endangered fishes from mentioned chemicals, and to choose appropriate contaminant-free areas for releasing the fish.

Key words: *Nonylphenol, T_3, Thyroxine,* Salmo trutta caspius.

*Corresponding Author: mkalbassi@gmail.com