هیستوپاتولوژی آبشش و اختلالات آندوکرینی در ماهی مید (*Liza klunzingeri*) هنگام مواجهه با نفتالین

- **زهرا یاراحمدی:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علـوم دریـایی و اقیانوسـی ، دانشـگاه علـوم و فنـون دریـایی خرمشهر، صندوق پستی ٦٦٩
- **عبدالعلی موحدی‌نیا*:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علـوم دریـایی و اقیانوسـی ، دانشـگاه علـوم و فنـون دریایی خرمشهر، صندوق پستی ٦٦٩
- **سارا رستگار:** گروه زیست‌شناسـی دریـا، دانشـکده علـوم دریـایی و اقیانوسـی ، دانشـگاه علـوم و فنـون دریـایی خرمشهر، صندوق پستی ٦٦٩

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۱

کلمات کلیدی: هیدروکربن‌های حلقوی آروماتیک، کورتیزول، T3، عوارض بافتی

هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی(PAHs) آلاینده‌های آلی سمی هستند که امروزه در اکثر محیط‌های آبی یافت می‌شوند و بیش‌ترین نگرانی از تاثیرات زیست محیطی آلودگی‌های محیطی در آب‌های نزدیک به ساحل را ایجاد می‌کنند (۲۷).

نفتالین و مشتقات آن مثل آلکیل نفتالین از فراوان‌ترین ترکیبات PAH نفت خام می‌باشند (۱). این ترکیبات از بیش‌ترین فراوانی در بین آلاینده‌های محیطی برخوردارند (۱۹) و می‌توانند اثرات مخرب زیادی بر ماهیان استخوانی بگذارند (۲۳ و ۱۲). هیدروکربن‌های نفتی پس از ورود به بدن رادیکال‌های آزاد بسیاری را تولید کرده و از این طریق می‌توانند سبب ایجاد آسیب‌های بافتی شوند (۲). برخی مطالعات رابطه بین آسیب‌های بافتی نظیر خون‌ریزی و تیمار با هیدروکربن‌های نفتی را نشان می‌دهند (۱۸). آبشش‌ها به‌دلیل سطح تماس فراوان با محیط، نفوذپذیری و حفاظت کم فیزیکی و هم‌چنین پاسخ‌های سریع و مشخص بهترین اندام جهت مطالعه اثر آلودگی‌های شیمیایی بر ماهیان می‌باشند (۴). آبشش‌ها اندام‌های بسیار حساسی هستند که به‌سرعت به آلاینده‌ها و شرایط نامناسب محیطی پاسخ می‌دهند. این اندام حیاتی نقش‌های فیزیولوژیک مهمی مثل تنفس، تنظیم اسمزی و دفع مواد زائد را برعهده دارند (۲۱).

از دیگر آثار مخرب هیدروکربن‌های نفتی ایجاد آشفتگی در سیستم اندوکرین و به‌واسطه آن اختلال در وظایف مهم فیزیولوژیکی تحت کنترل هورمون‌ها از قبیل تنظیم اسمزی و انرژی متابولیسمی می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد آلاینده‌های آلی می‌توانند موجب تغییر در سطوح هورمون کورتیزول (۱۶) و هورمون‌های تیروئیدی به‌ویژه فرم فعال‌تر از نظر بیولوژیک آن‌ها یعنی تری‌یدوتیرونین (T_3) شوند (۵). از آن‌جایی که این دو هورمون در افزایش فعالیت سلول‌های کلراید و آنزیم Na^+/K^+ ATPase در آبشش‌ها نیز نقش دارند (۲۲)، تغییر در سطوح این هورمون‌ها می‌تواند سبب تاثیر بر عملکرد آبشش‌ها جهت تنظیم اسمزی شود.

ماهی مید از خانواده کفال ماهیـان و دارای ارزش شـیلاتی می‌باشد. زیستگاه طبیعی این ماهی نواحی سـاحلی از آب‌هـای لب شور تا لاگون‌هایی با شوری بالاست (۱۴) و به‌همین خـاطر بیش‌تر در معرض آلاینده‌ها و به‌ویژه PAHها می‌باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: amovahedinia@yahoo.com

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر نفتالین بر بافت آبشش و اختلالات آندوکرینی ناشی از نفتالین انجام شده است.

با استفاده از تورگوشگیر تعداد ۳۰ ماهی ماده مید با میانگین وزنی ۲,۷۷± ۹۶,۷۲ از منطقه خور موسی طول جغرافیایی '۵۵ و°۴۹ عرض جغرافیایی '۱۰ و°۳۰ واقع در خلیج‌فارس صید گردید. سپس ماهیان را به مرکز تحقیقات ماهیان دریایی جنوب (بندر امام خمینی) منتقل کرده، به‌مدت ۱ هفته در مخازن ۳۰۰ لیتری در شرایط نوری و دمای طبیعی آداپته و تا ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌گیری، به مقدار ۱٪ وزن بدن غذادهی شدند.

ماهیان به دو گروه شاهد و تیمار، تقسیم و با محلول ۲- فنوکسی اتانول ۰/۲ درصد بی‌هوش کرده، وزن شدند. در گروه تیمار مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نفتالین به‌ازای وزن بدن محلول در ۱۰میکرولیتر بر گرم روغن نارگیل به‌ازای وزن بدن به‌صورت درون صفاقی به‌منظور رهایش، آرام ایمپلنت کرده و در گروه شاهد از ایمپلنت ۱۰میکرولیتر بر گرم روغن نارگیل به‌ازای وزن بدن به تنهایی استفاده شد. ۳ روز از پس کاشت ایمپلنت از هر گروه نمونه‌گیری صورت گرفت (۳۵).

پس از بی‌هوش کردن ماهیان با استفاده از محلول ۲- فنوکسی اتانول ۰/۲ درصد به‌وسیله سرنگ هپارینه از سیاهرگ ساقه دمی خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های خون با دور ۶۰۰۰ در دقیقه به مدت ۷ دقیقه سانتریفوژ و پلاسما در نیتروژن مایع سریعا منجمد و تا انجام مطالعات بعدی به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برای بررسی عوارض و تغییرات بافتی کمان دوم آبشش هر ماهی برداشته و در محلول بوئن به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت تثبیت شد، سپس نمونه‌ها تا انجام سایر مراحل بافت‌شناسی در الکل ۷۰٪ نگه‌داری شد.

مقادیر هورمون‌های کورتیزول و تری یدوتیرونین با روش الایزا (ELISA) و به‌ترتیب با به‌کارگیری کیت‌های تجاری DIMETRA (ساخت ایتالیا) و Monobind (ساخت فرانسه) اندازه‌گیری شد (۳۲ و ۳۱).

عملیات بافت‌شناسی آبشش با تهیه مقاطع پارافینه صورت گرفت. رنگ‌آمیزی برش‌های به‌دست آمده با روش هماتوکسیلین- ائوزین انجام گرفت. برای مطالعات هیستوپاتولوژی آبشش از میکروسکوپ نوری مجهز به لنز تبدیل دیجیتال Dino capture استفاده گردید (۲۶). درصد تغییرات هیستوپاتولوژیک آبشش براساس ارزش‌گذاری تغییر بافت (DTC) (Degree of Tissue Change) طبق روش اصلاح شده Cerqueira و Fernandes (۲۰۰۲) و Negreiros, و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد. براساس این روش تغییرات آبشش براساس مراحل تدریجی (۷۲ ساعت پس از تزریق) آسیب بافتی در سه مرحله طبقه‌بندی (جدول ۱) و مقدار DTC از فرمول زیر محاسبه شد:

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

جدول۱: طبقه‌بندی آسیب بافتی بر اساس مقادیر به‌دست آمده از فرمول DTC اصلاح شده روش Cerqueira و Fernandes (۸) و Negreiros و همکاران (۲۴)

بافت نرمال	DTC =۱۱-۰
بافت با آسیب اندک	DTC =۱۱-۲۰
بافت با آسیب متوسط	DTC =۲۱ -۵۰
بافت با چندین آسیب شدید	DTC =۵۰-۱۰۰
بافت با آسیب‌های شدید متعدد و غیر قابل جبران	بالاتر از DTC =۱۰۰

تغییرات مرحله I عبارتند از: هایپرتروفی اپی‌تلیوم، برآمدگی اپی‌تلیوم تیغه‌های ثانویه، نفوذ لوکوسیت‌ها به فضای ادمی، نازک شدن اپی‌تلیوم، هایپرپلازی سلول‌های اپی‌تلیوم، هایپرپلازی نامنظم در اپی‌تلیوم، به‌هم چسبیدن دم لاملاهای ثانویه، به‌هم چسبیدن دم لاملاها، هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های موکوزی، خالی شدن یا ناپدید شدن سلول‌های موکوزی، هایپرتروفی یا هایپرپلازی سلول‌های کلراید، ظاهر شدن سلول‌های کلراید در لاملاهای ثانویه، اتساع مویرگ‌های لاملایی، بزرگ شدن رگ‌های خونی فیلامتی، تنگی سینوسی، اتساع مویرگ‌های لاملا، از هم پاشیدگی لاملا (disorganization).

مرحله II: آنوریسم (aneurysm) لاملایی، خون‌ریزی همراه با از بین رفتن اپی‌تلیوم، خون‌مردگی، افزایش بیش از حد ضخامت بافت، به‌هم چسبیدن کامل لاملاهای ثانویه.

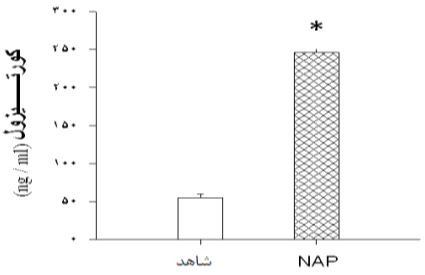
مرحله III: تصلب بافت‌ها، نکروز.

تحلیل داده‌ها و رسم نمودار با استفاده از نرم‌افزار

Sigma stat v3.5 صورت گرفت. هورمون‌های کورتیزول و T_3 در دو گروه شاهد و تیمار با استفاده از آزمون t-Test مورد مقایسه قرار گرفتند، ضریب اطمینان در این آزمون ۹۵٪ تعیین شد. برای بررسی عوارض هیستوپاتولوژی مقدار میانگین عددی DTC محاسبه شد.

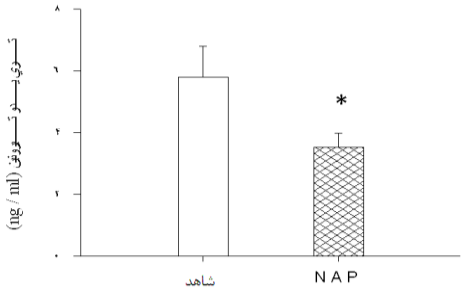
هیچ‌گونه مرگ و میر و رفتار غیرعادی درحرکات و شنای ماهیان مورد مطالعه طی آزمایش مشاهده نشد و در کل دوره ماهیان سالم به‌نظر می‌رسیدند.

سطوح کورتیزول پلاسما در گروه تیمار شده با نفتالین نسبت به گروه شاهد، افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P<0.05$) (نمودار۱).



نمودار ۱: سطح کورتیزول پلاسما ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین *: اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد وتیمار ($P < 0.05$)

نمودار بر اساس سطوح T_3پلاسما کاهش معنی‌داری را در گروه تیمار شده با نفتالین در مقایسه با گروه شاهد پس از سه روز نشان داد ($P <0.05$) (نمودار۲).

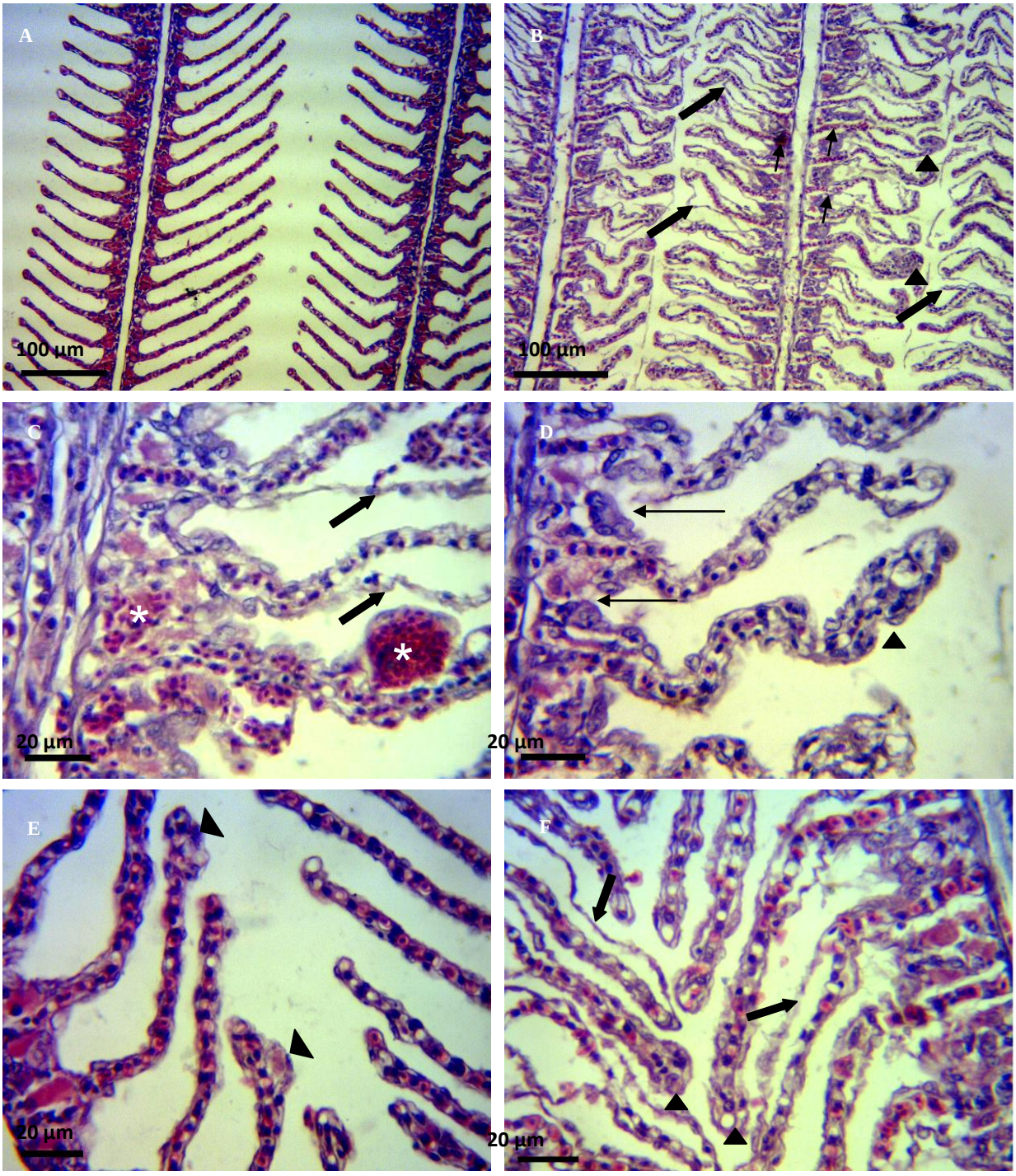


نمودار۲: تغییرات T_3، ۷۲ ساعت پس از ایمپلنت نفتالین*: اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد و تیمار ($P <0.05$)

پس از تیمار با نفتالین در آبشش ماهی مید، عوارض بافتی نظیر هایپرپلازی و لیفتینگ، افزایش موکوز و هایپرتروفی، بزرگ شدن رگ‌های خونی و خون‌ریزی، افزایش ضخامت لاملا و به‌هم چسبیدن لاملاها مشاهده شد (شکل ۱). مقدار عدد به‌دست آمده از DTC، بافت با چندین آسیب شدید را نشان داد (جدول ۲).

جدول ۲: محاسبه میانگین مقدار عددی TDC برای بافت آبشش

مرحلهI	کنترل	۱۴±۱/۲
	تیمارNAP	۳۷/۶ ± ۲/۲
مرحله II	کنترل	۰
	تیمارNAP	۳/۱ ±۴
مرحله III	کنترل	۰
	تیمارNAP	۰



شکل ۱: عوارض هیستوپاتولوژیک آبشش پس از تیمار با نفتالین

A: آبشش‌های سالم از نمونه‌های گروه شاهد، B: هایپرپلازی در تیغه‌های ثانویه (سرپیکان)، برآمدگی اپی‌تلیوم (پیکان‌های ضخیم)، خون‌ریزی و اتساع مویرگی (پیکان‌های نازک)، C: برآمدگی اپی‌تلیوم (پیکان)، آنوریسم(ستاره)، D: هایپرتروفی سلول‌های اپی‌تلیومی تیغه‌های ثانویه (سر پیکان)، افزایش موکوس وسلول‌های موکوسی (پیکان)، E: هایپرتروفی در سلول‌های اپی‌تلیومی در سر لاملا (سر پیکان)، F: برآمدگی اپی‌تلیوم (پیکان)، هایپرتروفی تیغه‌های ثانویه (سر پیکان). رنگ آمیزی H&E.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد ایمپلنت نفتالین در بدن ماهی مید سبب افزایش معنی‌داری در سطوح کورتیزول پلاسما و کاهش معنی‌دار سطوح پلاسمایی هورمون تری یدوتیرونین (T_3) می‌شود. تغییر در غلظت این هورمون‌ها نشان‌دهنده تغییرات آندوکرینی بوده و می‌تواند کاهش توان فیزیولوژیک و نیز کاهش بقای ماهی را به‌دنبال داشته باشد. پاسخ‌های فیزیولوژیک ناشی از تغییر در ترشح کورتیزول، نقش مهمی را در مقاومت در برابر شرایط استرس بازی می‌کنند (۳۴). آزاد شدن ACTH تحت کنترل CRF هیپوتالاموس سبب تحریک بافت اینترنال به ترشح کورتیزول می‌شود (۹). مطالعاتی که بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۳) و هرینگ اقیانوس آرام (۱۲) انجام شد، افزایش سطوح کورتیزول پلاسما را پس از تیمار با هیدروکربن‌های نفتی نشان می‌دهد. با این وجود کاهش سطوح کورتیزول پس از تیمار با نفتالین نیز گزارش شده است (۳۵). به‌نظر می‌رسد مکانیسم پاسخ به استرس ناشی از سمیت PAHها نتیجه فعال شدن رسپتورهای آریل هیدروکربن (AhR) باشد (۱۵). اگر چه مکانیسم چگونگی عمل این رسپتورها و مکان اثر آن‌ها به‌خوبی مشخص نیست اما پیشنهاد شده فعالیت این رسپتورها سبب اختلال درمحور HPI و به دنبال آن اختلال در سنتز و تنظیمات فیدبکی مربوط به کورتیزول می‌شود (۱۵).

هورمون‌های تیروئیدی تحت فرمان محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- تیروئید (HPT) کنترل می‌شوند (۱۰). فعال شدن رسپتورهای Ah در ماهیان سبب کاهش و یا تغییر در الگوی بیان ژن هورمون‌های تیروئیدی و در نتیجه کاهش سنتز و ترشح آن‌ها می‌شود (۲۸). کاهش هورمون‌های تیروئیدی در ماهیان هنگام مواجهه با آلاینده‌های آلی در مطالعات مختلفی تایید شده است (۷ و ۶) هورمون‌های تیروئیدی به‌ویژه T_3 سبب افزایش فعالیت سلول‌های کلراید و فعالیت آنزیم N^+/K^+ ATPase در آبشش ماهیان می‌شوند (۲۲). ضمن این‌که هورمون کورتیزول نیز بر فعالیت و سنتز این آنزیم موثر است (۲۹)، به‌علاوه T_3 می‌تواند در تنظیم رسپتورهای کورتیزول در سلول‌های مختلف آبشش دخالت کند (۲۹). بنابراین اختلال در ترشح این هورمون‌ها در اثر آلاینده‌های هیدروکربنی نظیر نفتالین، می‌تواند سبب تغییر تنظیم اسمزی در آبشش‌ها و به خطر افتادن تعادل اسمزی بدن ماهی شود.

بسیاری از عوارض بافتی مشاهده شده در آبشش نوعی مکانیسم دفاعی در برابر ورود آلاینده‌ها به بدن ایجاد می‌کنند. برآمدگی اپی‌تلیوم تیغه‌های آبششی و ترشح بیش از اندازه موکوس به ایجاد فاصله برای ممانعت از ورود هر چه بیش‌تر آلاینده به درون جریان خون کمک می‌کنند (۲۵). محتویات سلول‌های موکوسی که یک ترکیب گلیکوپروتئینی پلی آنیونی است در به‌دام انداختن مواد سمی و پیشگیری از ورود این مواد به درون اپی‌تلیوم آبشش کمک می‌کند. اگرچه افزایش سلول‌های موکوسی از ورود آلاینده‌ها به درون اپی‌تلیوم آبشش جلوگیری می‌کند اما باعث پرشدن فضای بین لاملاهای ثانویه شده که نتیجه آن اثر منفی بر ظرفیت تبادل گازها توسط آبشش‌ها[1] (PAGE) می‌باشد (۳۳).

فلاندرهای جمع‌آوری شده از مکان‌های آلوده به PAH (18) و ماهیان قزل‌آلای تیمار شده با نفت خام (۱۱)، عوارض بافتی نظیر هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های اپی‌تلیومی، برآمدگی و غیرعادی شدن اپی‌تلیوم لاملاها و هم‌چنین خون‌ریزی، خون‌مردگی و افزایش تولید موکوس در آبشش را نشان داده‌اند. هایپرتروفی، هایپرپلازی و لیفتینگ اپی‌تلیوم سبب افزایش فاصله آب و خون می‌شوند. به‌علاوه تداوم بالا ماندن سطوح پلاسمایی کورتیزول موجب کاهش مقاومت و آسیب‌پذیری بیش‌تر ماهی می‌گردد (۳۳). در این مطالعه افزایش تعداد سلول‌های کلراید نیز در اپی‌تلیوم آبششی ماهی مید مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد نفتالین سبب اختلال در تنظیم یونی آبشش شده است و افزایش سلول‌های کلراید پاسخ بافتی بوده که به‌منظور سازگاری و حفظ تعادل یونی ایجاد شده باشد (۲۰). نفتالین می‌تواند باعث از بین رفتن سلول‌های پیلار و تغییر ساختار طبیعی لاملاها و در نتیجه خون‌ریزی و آنوریسم شود (۳۰). آسیب‌های بافتی ایجاد شده می‌توانند تنفس طبیعی ماهی را دچار اختلال کرده و ماهی جهت جبران کمبود اکسیژن باید نرخ تنفس خود را بالا ببرد (۳۳).

بر اساس نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر، انتشار نفتالین در بدن ماهی مید سبب ایجاد عوارض بافتی آبشش شده است. این عوارض بافتی با افزایش فاصله انتشار بین خون و محیط، علی‌رغم کاهش کارایی آبشش، نفوذ آلاینده از طریق سطوح اپی‌تلیومی را نیز کاهش داده است. ضمن این‌که رهایش نفتالین بروز پاسخ‌های استرس از جمله اختلالات اندوکرین شامل افزایش کورتیزول و کاهش تری یدوتیرونین را به‌دنبال داشته است.که این آشفتگی اندوکرینی به‌همراه آسیب‌های بافتی ایجاد شده در اثر تیمار با نفتالین می‌تواند سبب اختلال در عملکرد طبیعی آبشش‌ها از جمله تنظیم اسمزی و تنفس

[1] proportion of the secondary lamellae available for gas exchange

شود.

از آن‌جایی که آبشش از نظر تنفس و تنظیم اسمزی برای بقای ماهیان اندامی بسیار حیاتی می‌باشد، توجه به اثر آلاینده‌ها بر این اندام و سیستم هورمونی تنظیم کننده عملکرد آن بسیار حایز اهمیت می‌باشد. با توجه به پیشرفت صنعت و آلودگی فزاینده اکوسیستم‌های آبی، اثر آلاینده‌های خطرناکی مثل هیدروکربن‌های نفتی بر آبزیان باید بیش‌تر مورد توجه قرار گیرد.

منابع

1-**Baussant, A.E.; Balk, T.; Liewenborg, L.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. Vol. 51, No. 2, pp.: 241-258.

2-**Achuba, F. and Osakwe, S., 2003.** Petroleum–induced free radical toxicity in African catfish (*Clarias gariepinus*). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 29, No. 2, pp.: 97-103.

3-A**luru, N. and Vijayan, M.M., 2004.** [beta]-Naphthoflavone disrupts cortisol production and liver glucocorticoid responsiveness in rainbow trout. Aquatic Toxicology. Vol. 67, No. 3, pp.: 273-285.

4-**Bernet. D.; Schmidt, H.W.; Burrkhardt-Holm, P. and Wahli, T., 1999.** Histopathology in fish. proposal for a protocol to assess aquatic pollution. Journal of fish diseases. 22 :134-25.

5-**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 Toxicology. Vol. 96, No. 3, pp.: 203-215.

6-**Buckman, A.H.; Fisk, A.T.; Parrott, J.L.; Solomon, K.R. and Brown, S.B. 2007.** PCBs can diminish the influence of temperature on thyroid indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology 84(3):366-378.

7-**Burgin, D.E.; Diliberto, J.J.; Derr-Yellin, E.C.; Kannan, N.; Kodavanti, P. and Birnbaum, L.S., 2001.** Differential effects of two lots of aroclor 1254 on enzyme induction, thyroid hormones, and oxidative stress. Environmental health perspectives. Vol. 109, No. 11, pp.: 1163.

8-**Cerqueira, C.C.C. and Fernandes, M.N., 2002.** Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish Prochilodus scrofa. Ecotoxicology and environmental safety. Vol. 52, No. 2, pp.: 83-91.

9-**Donaldson, E.M., 1981.** The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. Stress and fish Academic Press, London. 77: 102.

10-**Eales, J., 2006.** Modes of action and physiological effects of thyroid hormones in fish. Fish endocrinology. 2: 767-808.

11-**Engelhardt, F.; Wong, M.P. and Duey, M., 1981.** Hydromineral balance and gill morphology in rainbow trout Salmo gairdneri, acclimated to fresh and sea water. As affected by petroleum exposure. Aquatic Toxicology. Vol. 1, No. 3-4, pp.: 175-186.

12-**Evanson, M. and Van Der Kraak, G.J., 2001.** Stimulatory effects of selected PAHs on testosterone production in goldfish and rainbow trout and possible mechanisms of action . Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. Vol. 130, No. 2, pp.: 249-258.

13-**Fernandes, M.N. and Mazon, A.F., 2003.** Environmental pollution and fish gill morphology. Fish adaptations Enfield, Science Publishers:203-231.

14-**Gesto, M.; Soengas, J.L. and Míguez, J.M., 2008.** Acute and prolonged stress responses of brain monoaminergic activity and plasma cortisol levels in rainbow trout are modified by PAHs (naphthalene, β-naphthoflavone and benzo (< i> a</i>) pyrene) treatment. Aquatic Toxicology. Vol. 86, No. 3, pp.: 341-351.

15-**Golani, D., 2002.** Mugilidae, grey mullet, Liza carinata. Department of Evolution, Systematics and Ecology, the Hebrew University.

16-**Hontela, A., 2005.** Adrenal toxicology: environmental pollutants and the HPI axis. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. 6: 363.331.

17-**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. Archives of Environmental Contamination and toxicology. Vol. 22, No. 3, pp.: 278-283.

18-**Hutz, R.J.; Wimpee, B.A.; Dasmahapatra, A.; Weber, D.N.; Heimler, I. and Chaffin, C.L., 1999**. Differential modulation by aromatic hydrocarbon receptor agonist of circulating estradiol-17β and estrogen-receptor DNA-binding capability in female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Zoological science. Vol. 16, No. 1, pp.:

to Water-Soluble Fraction of Crude Oil. Bulletin of environmental contamination and toxicology:1-5.

30-**Pocar, P.; Klonisch, T.; Brandsch, C.; Eder, K.; Fröhlich, C.; Hoang-Vu, C. and Hombach-Klonisch, S., 2006.** AhR-Agonist-induced transcriptional changes of genes involved in thyroid function in primary porcine thyrocytes. Toxicological sciences. Vol. 89, No. 2, pp.: 408.

31-**Shrimpton, J.M.; Devlin, R.H.; McLean, E.; Byatt, J.C.; Donaldson, E.M. and Randall, D.J., 1995.** Increases in gill cytosolic corticosteroid receptor abundance and saltwater tolerance in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) treated with growth hormone and placental lactogen. General and comparative endocrinology. Vol. 98, No. 1, pp.: 1-15.

32-**Spies, R.B.; Stegeman, J.J.; Hinton, D.E.; Woodin, B.; Smolowitz, R.; Okihiro, M. and Shea, D., 1996.** Biomarkers of hydrocarbon exposure and sublethal effects in embiotocid fishes from a natural petroleum seep in the Santa Barbara Channel. Aquatic toxicology. Vol. 34, No. 3, pp.: 195-219.

33-**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*). Ecotoxicology and environmental safety. Vol. 66, No. 2, pp.: 139-147.

34-**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 sea bream. Journal of fish biology. Vol. 68, No. 1, pp.: 251-263.

35-**Van den Heuvel, M.; Power, M.; Richards, J.; MacKinnon, M. and Dixon, D., 2000.** Disease and gill lesions in yellow perch (*Perca flavescens*) exposed to oil sands mining-associated waters. Ecotoxicology and environmental safety. Vol. 46, No. 3, pp.: 334-341.

36-**Vijayan, M.M.; Pereira, C.; Grau, E.G. and Iwama, G.K., 1997.** Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology. Vol. 116, No. 1, pp.: 89-95.

37-**Wilson, J.; Vijayan, M.; Kennedy, C.; Iwama, G. and Moon, T., 1998.** Beta-naphthoflavone abolishes interrenal sensitivity to ACTH stimulation in rainbow trout. Journal of endocrinology. Vol. 157, No. 1, pp.: 63-70.

161-166.

19-**Kennedy, C.J. and Farrell, A.P., 2005.** Ion homeostasis and interrenal stress responses in juvenile Pacific herring, *Clupea pallasi*, exposed to the water-soluble fraction of crude oil. Journal of experimental marine biology and ecology. Vol. 32-43, No. 1, pp.: 3.

20-**Khan, R., 2003.** Health of flatfish from localities in Placentia Bay, Newfoundland, contaminated with petroleum and PCBs. Archives of environmental contamination and toxicology. Vol. 44, No. 4, pp.: 485-492.

21-**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. Marine pollution bulletin. Vol. 50, No. 7, pp.: 705-723.

22-**Mazon, A.; Cerqueira, C. and Fernandes, M., 2002a.** Gill cellular changes induced by copper exposure in the South American tropical freshwater fish Prochilodus scrofa. Environmental research. Vol. 88, No. 1, pp.: 52-63.

23-**Mazon, A.; Monteiro, E.; Pinheiro, G. and Fernadez, M., 2002b.** Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, Prochilodus scrofa. Brazilian Journal of Biology. Vol. 62, No. 4A, pp.: 621-631.

24-**McCormick, S.D., 2001.** Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. American Zoologist. Vol. 41, No. 4, pp.: 781-794.

25-**Navas, J.M. and Segner, H., 2000.** Antiestrogenicity of [beta]-naphthoflavone and pahs in cultured rainbow trout hepatocytes: Evidence for a role of the arylhydrocarbon receptor. Aquatic Toxicology. Vol. 51, No.1, pp.: 79-92.

26-**Negreiros, L.A.; Silva, B.F.; Paulino, M.G.; Fernandes, M.N. and Chippari-Gomes, A.R., 2011.** Effects of hypoxia and petroleum on the genotoxic and morphological parameters of Hippocampus reidi. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology.

27-**Ortiz, J.B.; González de Canales, M.L. and Sarasquete, C., 2003.** Histopathological changes induced by lindane (?-HCH) in various organs of fishes. Scientia Marina. Vol. 67, No. 1, pp.: 53-61.

28-**Patiño, R. and Takashima, F., 1995.** Gonads. An Atlas of fish histology: normal and pathological features (eds Takashima F, Hibiya T):129-150.

29-**Pauka, L.M.; Maceno, M.; Rossi, S.C. and Silva de Assis, H.C., 2011.** Embryotoxicity and Biotransformation Responses in Zebrafish Exposed

Gill histology and endocrine disruption in *Liza klunzingeri* exposed of Naphthalene stress

- **Zahra Yar Ahmadi:** Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, 669 Khorramshahr, Iran
- **Abdul Ali Movahedi Nia*:** Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, 669 Khorramshahr, Iran
- **Sara Rastegar:** Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, 669 Khorramshahr, Iran

Received: September 2012 Accepted: December 2012

Key word: Naphthalene, Cortizol, T_3, Gill

Abstract

PAHs are important environmental pollutants because of their ubiquitous presence and carcinogenicity. The present study investigated effects of naphthalene (NAP) as one of the most important hydrocarbons on gill structure and plasma cortisol and T3 levels in klunzingeri mullet (*Liza klunzingeri*). Fish were divided to control and treatment groups. Treatment fishes received 50mg Bap dissolved in10µl coconut oil per (body weight) that were implanted peritoneal. Control group were implanted with coconut oil (10µl/g body weight) without BaP. Sampling was carried out 72 hours after implanting. During sampling time (While Sampling) fish were anesthetized then blood and gill arch were sampled. According to the results plasma levels of cortisol and T3 significantly increased and decreased respect. Respectively in both control and treatment groups NaP exposure stress caused increasing gill histopathological lesions such as epithelial hyperplasia, epithelial lifting, vascular congestion and mucus hyper secretion was evident. NAP exposure stress caused some alteration in plasma cortisol and T3 levels and increasing gill histopathological lesions. So according to disorders in hydromineral balance and survival are expected. According to the results plasma levels of cortisol and T3 significantly increased and decreased respectively in both control and treatment groups NaP exposure stress caused increasing gill histopathological lesions such as epithelial hyperplasia, epithelial lifting, vascular congestion and mucus hyper secretion was evident.

* Corresponding Author's email: amovahedinia@yahoo.com