تاثیر غلظت‌های تحت کشنده کادمیم بر هورمون‌های تیروئیدی ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*)

علی وابونیان[۱]، عبدالعلی موحدی نیا[۲*]

۱- کارشناسی ارشد آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: alivaboonian@yahoo.com

۲- استادیار گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: amovahedinia@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۰ ** نویسنده مسوول* *تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۱۵*

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۳، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

کادمیم فلز سنگینی است که از آن به‌عنوان آلوده کننده محیط‌های آبی نام برده می‌شود. این فلز می‌تواند با اثرگذاری بر فعالیت طبیعی غدد درون ریز و فعالیت‌های متابولیکی ماهی ها اثرات زیانبار خود را اعمال کند. با توجه به اهمیت هورمون‌های تیروئیدی در رشد، نمو و تولید مثل ماهی، اثر مقادیر مختلف کادمیم بر عملکرد غده تیروئید در ماهی شانک زرد باله بررسی شد. بدین منظور ماهی شانک زرد باله بر اساس تست کشنده با غلظت‌های ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ میلی گرم بر لیتر کادمیم در مدت زمان ۲ هفته در معرض کادمیم قرار داده شد. در ۷ و ۱۴ روز پس از شروع آزمایش از ماهیان نمونه‌برداری به‌عمل آمد. غلظت هورمون‌های تیروئیدی پلاسما به روش رادیوایمونواسی سنجش شد. کاهش معنی‌داری در مقادیر هورمون تری یدوتیرونین (T_3) پلاسما و شاخص T_3/T_4 و همچنین افزایش مقادیر تیروکسین (T_4) پلاسمای ماهیان تیمار شده در مقایسه با ماهیان کنترل و در یک رفتار وابسته به دوز مشاهده شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده‌ی اثرات منفی فلز سنگین کادمیم بر تعادل هورمون‌های تیروئیدی از طریق مهار آنزیم '۵- مونودیودیناز و کاهش تبدیل T_3 به T_4 است.

کلمات کلیدی: *فلز سنگین، سیستم درون ریز، تیروکسین، تری یدوتیرونین، نشانگر زیستی.*

۱. مقدمه

امروزه یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های زیست محیطی در زیست‌بوم‌های آبی، ورود، انتشار و تأثیر آلاینده‌های مختلف در این زیست‌بوم‌ها است. پیشرفت سریع صنایع و رشد روزافزون جمعیت موجب انتقال آلاینده‌های شیمیایی و ازدیاد آنها در محیط‌های آبی گردیده است (Sharma, 2003). از آنجایی که فلزات سنگین تجزیه پذیر نیستند ماندگاری بالایی در محیط داشته و با جذب توسط موجودات آبزی و انتقال آن‌ها به مصرف‌کنندگان بعدی از جمله انسان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Turkmen et al., 2009; Demiark et al., 2006).

کادمیم فلز سنگینی است که از طریق منابع مختلفی به‌خصوص فاضلاب‌های صنعتی وارد محیط‌های دریایی می‌شود (Kumar et al., 2007). این آلاینده هیچ گونه نقش زیست‌شناختی شناخته شده‌ای در بدن انسان و یا سایر موجودات زنده ندارد و غلظت‌های بسیار پایین آن نیز سمی است (Zadorozhnaja et al., 2000; Hatzer et al., 2006).

از سامانه‌های تیروئیدی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اهداف مواد شیمیایی مختلف همانند کادمیم به‌منظور اختلال در سامانه‌های اندوکرینی نام برده می‌شود (Howdeshell, 2000). با وجود این که مکانیسم اختلال در سامانه‌های اندوکرینی توسط آلاینده‌های گوناگون در مطالعات بسیاری مورد بررسی قرار گرفته است، اما تا به امروز مکانیسم این گونه از اختلالات به‌دلیل فعالیت‌های پیچیده آن‌ها به صورت کامل شناخته شده نیست (Ishihara et al., 2003). در تغییرات هورمون‌های تیروئیدی خون تحت تنش-ناشی از فلزات سنگین در کپور معمولی (Snyder et al., 2004) و سیم دریایی (Deane and Woo, 2001) در مطالعات مختلف نیز گزارش شده است.

مواد مختل کننده اندوکرینی با اختلال در مسیر تولید هورمون های تیروئیدی، اتصال به گیرنده‌های هورمون و تغییر در میزان متابولیسم این گونه از هورمون‌ها اثر خود را اعمال می‌کنند (Boas et al., 2006; Ishihara et al., 2003). سرکوب تبدیل دیودیناز یدوتیرونین (Iodothyronine deiodinases) به هورمون‌های تیروئیدی یکی از عمده‌ترین مسیرهای کاهش تولید هورمون T_3 است و این اختلالات در نهایت موجب کاهش رشد در ماهی‌ها می‌گردند (Boas et al., 2006; Zoeller et al., 2007). علاوه بر مسیرهای مستقیم ذکر شده در بالا، عوامل غیرمستقیم همانند اثر آلاینده بر هیپوتالاموس و غده هیپوفیز نیز می‌توانند در تولید این گونه از هورمون‌ها موثر باشند (Zoeller et al., 2007). بنابراین، اطلاع از اثرات مختلف سمیت آلاینده‌ها بر هورمون‌ها و مکانیسم این اثرات در نهایت می‌تواند به تعیین بیومارکرهای اختصاصی آلاینده‌های مختلف کمک کند. از این بیومارکرها می‌توان در برنامه‌های ارزیابی زیست محیطی و سلامت جمعیت ماهیان در محیط‌های آلوده استفاده کرد (Di Giulio and Hinton, 2008).

ماهی شانک زرد باله یکی از ماهیان ارزشمند شیلاتی در خلیج فارس است. به‌دلیل ورود حجم وسیعی از فاضلاب‌های حاصل از صنایع که به‌طور مداوم به خلیج فارس و انشعابات آن تخلیه می‌گردند کاهش ذخایر وحشی این گونه در سال‌های اخیر به طور چشمگیری افزایش یافته است.

با توجه به اهمیت هورمون‌های تیروئیدی در رشد، نمو و تولید مثل ماهی (Evans, 2009) مطالعه حاضر که هدف از آن بررسی اثرات کادمیم بر تعادل هورمون‌های تیروئیدی بود، انجام شد. زیرا هر گونه تغییر در این هورمون‌ها می‌تواند وضعیت کلی متابولیکی و فیزیولوژیکی ماهی شانک زرد باله را طی استرس آلودگی کادمیم تغییر داده و اثرات جبران ناپذیری را بر این ماهی ایجاد کند.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. *تأمین ماهی و دوره سازگاری*

تمامی مراحل این تحقیق در آذر ماه سال ۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی(ره) انجام شد. به‌منظور انجام آزمایش تعداد ۷۲ قطعه ماهی شانک زرد باله در محدوده وزنی ۱۲۰-۱۰۰ گرم (همگی نر) از خور زنگی، توسط قلاب دستی و طعمه و به روش صید انتظاری صید گردیدند. پس از انتقال ماهی‌ها به مرکز تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) و سپری شدن ۱ هفته‌ای دوره سازگاری، به‌صورت تصادفی در ۶ تانک (۱۲ عدد در هر تانک) پر شده از ۲۰۰ لیتر آب فیلتر شده دریا و تیمار شده با اشعه ماورای بنفش (شوری ۴۷-۴۵ ppt، pH ۸/۴-۸/۶، دمای ۲۵-۲۴°C، اکسیژن محلول (۶/۹ mg/l-۶/۸) و تحت سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی قرار داده شدند. آب محیط تانک‌ها در طول دوره آزمایش به صورت روزانه ۲۰ درصد تجدید می شد و در طول دوره آزمایش ماهیان در هر روز دو بار غذا دهی با میگوی تازه به نسبت ۲ درصد وزن بدن انجام شد (Evans, 2009; Chapman, 1998). غذای مصرف نشده طی ۳۰ دقیقه پس از زمان غذادهی، با تخلیه نمودن از کف تانک‌ها خارج می‌شد تا مانع از آلودگی آب تانک گردد. به‌منظور قرار دادن ماهی شانک زرد باله در معرض فلز کادمیم در تحقیق حاضر، از روش محلول کادمیم در آب استفاده شد. ماهیان در ۵ تیمار بر اساس آزمایش سمیت حاد (LC50=۳۴/۹۷۰mg/l)، با دوزهای ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ میلی گرم بر لیتر در طول ۲ هفته در معرض کادمیم قرار گرفتند. همچنین یک گروه به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد.

۲-۲. نمونه‌برداری و سنجش هورمون‌ها

در روزهای ۷ و پایانی آزمایش (روز ۱۴)، ماهیان به آرامی به‌وسیله یک تور دستی از مخازن آزمایش صید شدند. سپس در تشت‌های پلاستیکی ۱۰ لیتری حاوی محلول دو فنوکسی اتانول ۰/۲ درصد (Merck, Germany)، بیهوش شدند. پس از بیهوشی، ماهیان از آب خارج و آب اضافی از سطح بدن آن‌ها به‌وسیله حوله نرم گرفته می‌شد. وزن هر ماهی به‌وسیله ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۱ گرم) اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس، بلافاصله پس از بیهوشی، خون گیری از ماهی‌ها صورت گرفت. خون‌گیری از ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های آغشته به هپارین انجام شد. ماهی‌ها پس از انجام نمونه‌گیری، و در همان بیهوشی، به واسطه قطع سر جانور با قیچی، کشته می‌شدند.

پس از انجام خون‌گیری، خون به سرعت سانتریفوژ شده (۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه)، گلبول‌های قرمز خون ترسیب و از پلاسما تفکیک گردند. پلاسما به آرامی توسط نمونه‌گیر کشیده و به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتر جدید منتقل شد و در دمای ۸۰°C- تا زمان انجام آنالیز به‌منظور آزمایش‌های هورمونی نگهداری شدند (Waring et al., 1996). سنجش میزان هورمون‌های تیروئیدی پلاسما به روش رادیوایمونواسی و با استفاده از کیت T_3, T_4 RIA (Radioimmunoassay Kit) شرکت Immunotech کشور فرانسه انجام شد.

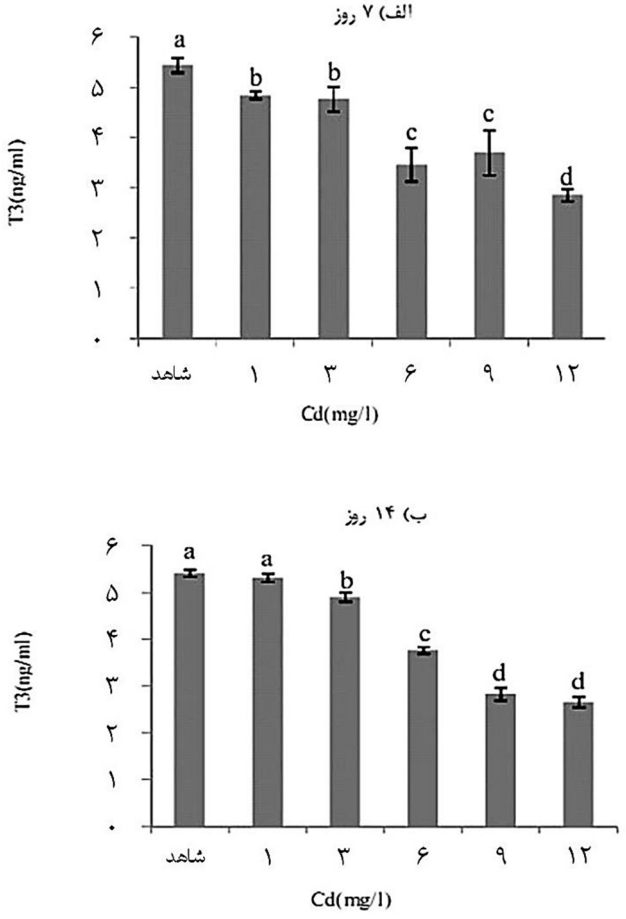
۲-۳. آنالیز آماری

داده‌های مربوط به سنجش هورمون‌های تیروئیدی به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است. آنالیز هورمون‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 و آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها، پس آزمون Duncan برای گروه بندی میانگین‌های دارای اختلاف معنی‌دار استفاده شد ($P<0/05$).

برای تعیین وجود ارتباط خطی و میزان آن بین مقادیرکادمیم و میزان هورمون تیروئید از آزمون رگرسیون خطی و همبستگی پیرسون استفاده شد و معادله رگرسیونی آن به صورت $Y=ax+b$ بیان شد.

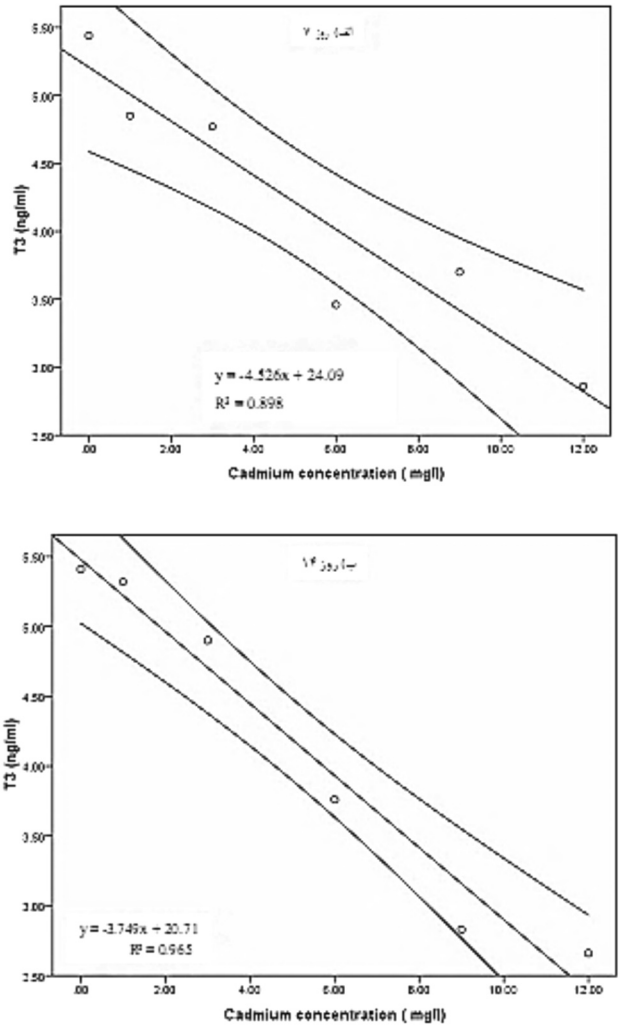
۳. نتایج

مطالعات آماری و مقایسه بین میانگین غلظت‌های هورمون‌های تیروئیدی (T_3، T_4، T_3/T_4) پس از قرار گرفتن ماهی شانک زرد باله در مواجهه با تنش مقادیر مختلف از فلز کادمیم (۷ و ۱۴ روز پس از شروع آزمایش) و همچنین گروه شاهد در شرایط آزمایشگاهی به ترتیب در نمودارهای شماره ۱، ۲ و ۳ آورده شده است. پس از آنالیز آماری و مقایسه میانگین میزان T_3 (نمودار ۱) نشان داده شد که در زمان‌های ۷ و ۱۴ روز از در معرض قرار گیری ماهی شانک زرد باله با کادمیم، کاهش معنی‌داری در میزان T_3 خون در تمامی تیمارها در مقایسه با گروه شاهد (به استثنای تیمار ۱ میلی گرم بر لیتر در روز ۱۴) مشاهده شد ($P<0/05$).



نمودار ۱: (الف) غلظت T_3 در پلاسمای جنس نر ماهیان شانک زرد باله در ارتباط با غلظت‌های مختلف کادمیوم بعد از ۷ روز از در معرض‌گذاری. (ب) غلظت T_3 در پلاسمای جنس نر ماهیان شانک زرد باله در ارتباط با غلظت‌های مختلف بعد از ۱۴ روز از در معرض قرارگیری به کادمیوم. حروف غیرهمسان، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P<0/05$).

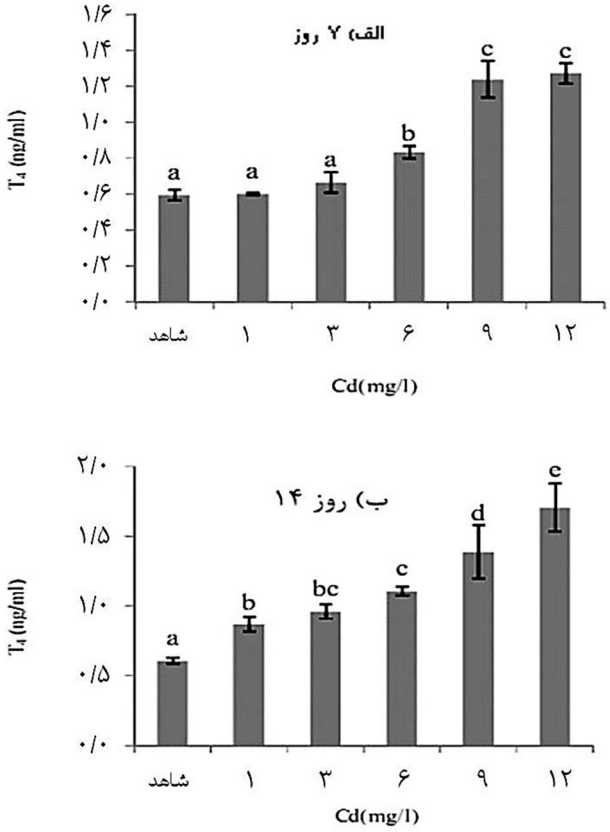
همبستگی بین میزان T_3 در خون و غلظت‌های مختلف کادمیم در روزهای هفتم و چهاردهم در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به نمودار رگرسیون و ضریب همبستگی بالا می‌توان بیان کرد که کاهش آشکاری بین میزان T_3 در خون با افزایش غلظت کادمیم در تیمارهای مختلف دیده می‌شود و این امر نشان دهنده رابطه‌ای معکوس بین میزان T_3 پلاسما و دوزهای متعدد کادمیم است.



شکل ۱: همبستگی بین غلظت کادمیم و میانگین غلظت T_3 خون. الف) پس از ۷ روز ب) پس از ۱۴ روز

همان‌طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود کادمیم باعث افزایش میزان T_4 در خون ماهی شانک زرد باله هم‌زمان با افزایش غلظت گردیده است. در پایان هفته اول به استثنای تیمار ۱و ۳ میلی گرم بر لیتر بقیه غلظت‌ها باعث افزایش معنی‌داری در فراوانی میزان T_4 در مقایسه با گروه کنترل شده است ($P<۰/۰۵$).

این افزایش در پایان هفته دوم نیز به‌صورت مشخص‌تری ادامه پیدا کرد و در کلیه تیمارها با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.

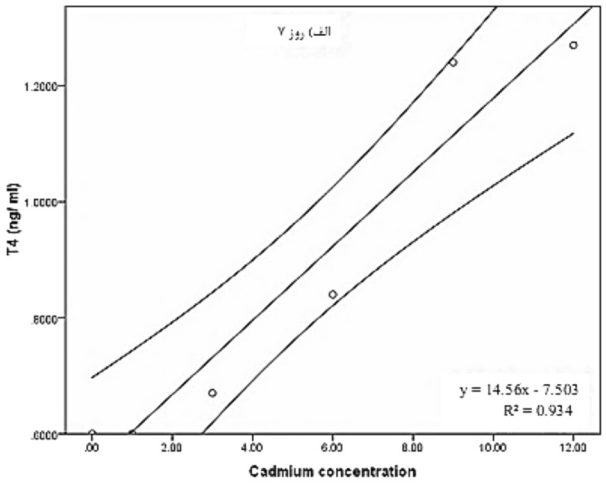


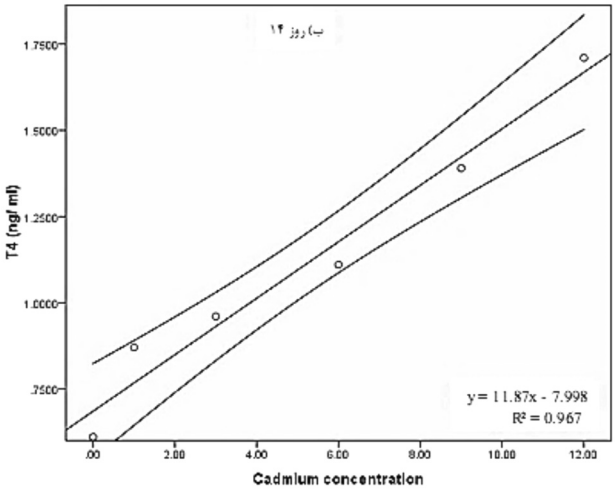
نمودار ۲: (الف) غلظت T_4 در پلاسمای جنس نر ماهیان شانک زرد باله در ارتباط با غلظت‌های مختلف Cd بعد از ۷ روز از در معرض‌گذاری. (ب) غلظت T_4 در پلاسمای جنس نر ماهیان شانک زرد باله در ارتباط با غلظت‌های مختلف بعد از ۱۴ روز از در معرض گذاری به Cd. حروف غیرهمسان، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P<۰/۰۵$).

در شکل ۲ بین میزان T_4 خون و غلظت‌های مختلف کادمیم در روزهای هفتم و چهاردهم پس از شروع آزمایش همبستگی ایجاد شده است. با توجه به نمودار رگرسیون و ضریب همبستگی بالا می‌توان این گونه بیان نمود که با افزایش غلظت فلز در تیمارهای مختلف افزایش در میزان T_4 خون دیده می‌شود و این امر نشان دهنده یک رابطه مستقیم بین میزان T_4 خون به همراه افزایش غلظت کادمیم است.

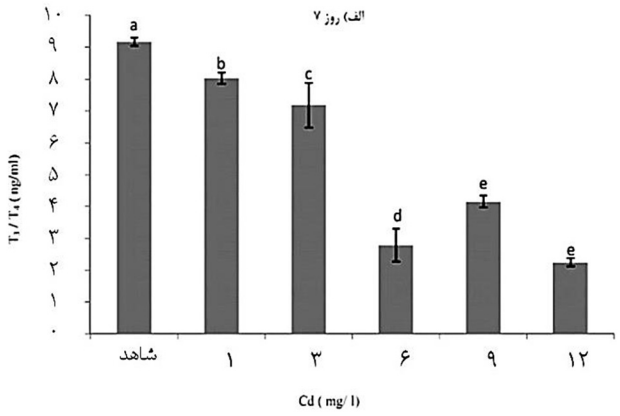
در نمودار ۳ مشاهده می‌شود که کادمیم موجب کاهش میزان T_3/T_4 در خون ماهی شانک زرد باله هم‌زمان با افزایش غلظت این فلز گردیده است، به‌طوری که پس از گذشت ۷ و ۱۴ روز از شروع آزمایش این کاهش همچنان ادامه داشته و در تمامی

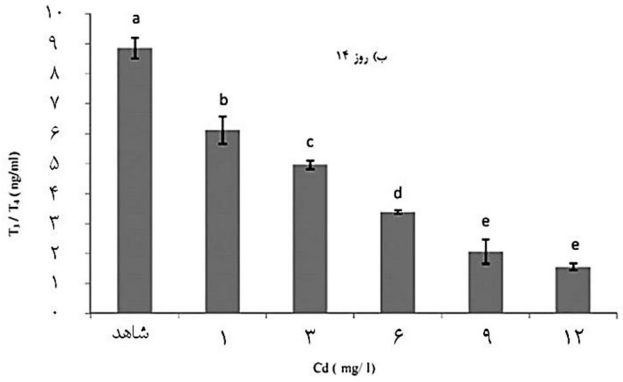
تیمارها در هر دو دوره نمونه‌برداری در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود (P<۰/۰۵).





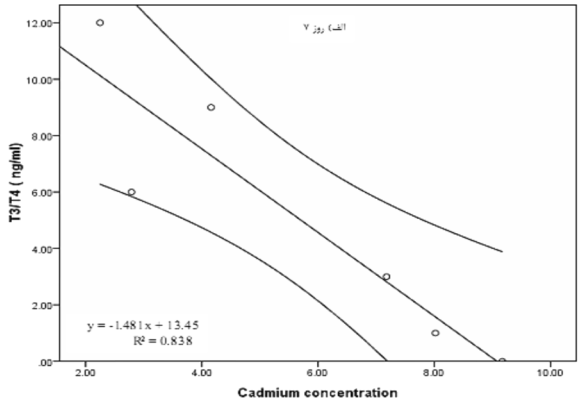
شکل ۲: همبستگی بین غلظت کادمیم و میانگین غلظت T_4 خون الف) پس از ۷ روز ب) پس از ۱۴ روز

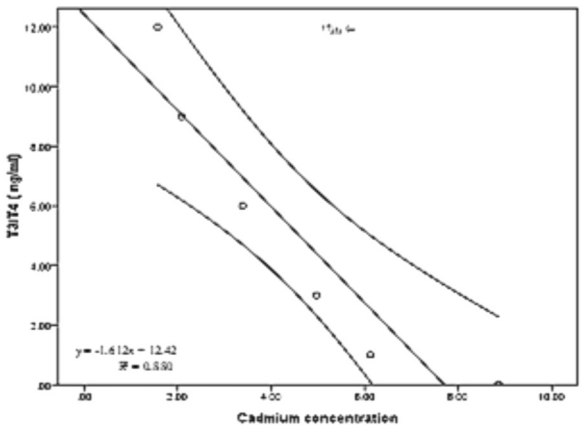




نمودار ۳: (الف) غلظت T_3/T_4 در پلاسمای جنس نر ماهیان شانک زرد باله در ارتباط با غلظت‌های مختلف کادمیوم بعد از ۷ روز از در معرض‌گذاری. (ب) غلظت T_3/T_4 در پلاسمای جنس نر ماهیان شانک زرد باله در ارتباط با غلظت‌های مختلف بعد از ۱۴ روز از در معرض قرارگیری به کادمیوم . حروف غیرهمسان، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است (P<۰/۰۵).

نمودار رگرسیون و ضریب همبستگی در شکل ۳ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت فلز در تیمارهای مختلف روندی کاهشی با میزان همبستگی بالایی در میزان T_3/T_4 مشاهده می‌شود.





شکل ۳: همبستگی بین غلظت کادمیم و میانگین غلظت T_3/T_4 خون الف) پس از ۷ روز ب) پس از ۱۴ روز

۴. بحث و نتیجه‌گیری

هورمون‌های تیروئیدی در مقایسه با سایر هورمون‌ها در فعالیت‌های زیست‌شناختی بیشتری دخیل هستند (Janz, 2000). این هورمون‌ها در متابولیسم چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها دخیل هستند (Plisetskaya, 1983; Shameena et al., 2000). مواد شیمیایی مختلف موجب تغییراتی در خصوصیات و سطوح هورمون‌های تیروئیدی بسیاری از گونه‌های ماهی می‌شوند (Brown et al., 2004; Scott and Sloman, 2004). اما از اثر کادمیم بر این هورمون‌ها در ماهی اطلاعات زیادی در دسترس نیست. در مطالعه حاضر میزان هورمون‌های تیروئیدی در پلاسما به‌عنوان شاخصی از فعالیت غده تیروئید مطالعه شد. Hontella و همکاران (۱۹۹۶) با قرار دادن ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در معرض کادمیم به روش تزریق درون صفاقی در مدت زمان ۳۰ روز، اثر این فلز را بر تعادل هورمون‌های تیروئیدی مورد بررسی قرار دادند. اگرچه نتایج حاصل نشان دهنده‌ی کاهش معنی‌داری در سطوح T_4 پلاسمای ماهیان تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل بود، ولی اثر معنی‌داری بر غلظت T_3 مشاهده نشد. در تحقیق حاضر کاهش آشکاری در یک رفتار وابسته به دوز در سطوح T_3 پلاسمای ماهیان در معرض کادمیم نشان داده شد (نمودار ۱). البته سطوح T_4 با افزایش غلظت فلز سنگین کادمیم به‌طور مثبت و معنی‌داری افزایش پیدا کرد (نمودار ۲). هورمون T_3 کاملاً فعال بوده و با حداکثر کارایی به گیرنده‌های هسته‌ای متصل می‌شود در حالی‌که T_4 فعالیت و کارایی کمتری نسبت به T_3 دارد، از این رو در بدن فرم غیر فعال T_4 به‌طور دایمی در حال تبدیل به فرم فعال T_3 از طریق عملکرد آنزیم مونودیودیناز است (Eales and Brown, 2005). بنابراین در مطالعه حاضر تغییرات در تعادل هورمون‌های تیروئیدی احتمالاً به‌دلیل اثرات بازدارنده فلز کادمیم بر فعالیت آنزیم مونودیودیناز باشد و همچنین اثر این آلاینده ممکن است به‌صورت جلوگیری از رونویسی ژن‌هایی که فرم فعال هورمون‌های تیروئیدی (T_3) را القا می‌کنند و در مقابل القا رونویسی ژن‌هایی که هورمون T_3 را سرکوب می‌کنند ایجاد شود (Zhang et al., 2006; Veldhoen et al., 2006).

در مطالعه Pratima و همکاران (۱۹۹۷) کاهش در میزان هورمون T_3 و افزایش در هورمون T_4 پس از قرار دادن ماهی آب شیرین (*Clarias batrachus*) در معرض کادمیم در شرایط آزمایشگاهی و در مطالعه Teles و همکاران (۲۰۰۷) در محیط‌های آلوده به مواد شیمیایی مختلف بر مارماهی *Anguilla anguilla* گزارش شده است. همین‌طور در مطالعه دیگری پس از در معرض قراردادن ماهی شانک زردباله با ماده بیس فنل آ، افزایش معنی‌داری در میزان T_4 و کاهش معنی‌داری در میزان T_3 پلاسمای خون ماهیان در معرض در مقایسه با ماهیان کنترل گزارش شده است (نگین تاجی و همکاران، ۱۳۹۲). این نتایج با مطالعات Carletta و همکاران (۲۰۰۲) و Thangavel (2005) که بر روی فلزات سنگین و آفت کش‌ها صورت گرفته است مطابقت دارد که در تمامی این مطالعات از آلاینده‌ها به‌عنوان عوامل مختل کننده تبدیل T_4 به T_3 به‌وسیله $5'$ – مونودیودیناز ذکر است و سرانجام کاهش در میزان هورمون T_3 را شاخصی در اختلال تبدیل هورمون T_4 به T_3 بیان کرده‌اند. از سوی دیگر Thangavel و همکاران (۲۰۰۵) کاهش در میزان T_3 در پلاسما را به اثر مستقیم آلاینده‌ها بر کاهش میزان سوخت و ساز در ماهی و اثر غیر مستقیم آلاینده‌ها از طریق تأثیر در میزان هورمون کورتیزول دانسته‌اند.

علاوه بر تمامی مطالب ذکر شده، کاهش چشمگیر در سطوح T_3 پلاسما در اثر در معرض قرارگیری ماهی شانک باله زرد با کادمیم، می‌توان به‌عنوان شاخص در جهت تعیین تمایز فرایند تأمین انرژی متابولیک از آنابولیک در نظر گرفته شود. با توجه به این که هورمون‌های تیروئیدی در فرایندهای آنابولیک حضور دارند، ایجاد تغییرات در این هورمون‌ها ممکن است وضعیت فیزیولوژیکی و متابولیکی ماهی شانک زرد باله را در طول مدت تنش، تحت تأثیر قرار دهد. سرانجام تغییرات معنی دار هورمون‌های تیروئیدی در زمان‌های کوتاه در مواجهه با فلز سنگین کادمیم نشان داد که این شاخص‌ها می‌توانند نشانگرهای مناسبی برای بررسی وضعیت آلودگی محیط و سلامت آبزیان، خصوصاً ماهی شانک زردباله باشند.

۵. سپاسگزاری

این مطالعه در قالب فعالیت پژوهشی مصوب دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و با مساعدت و همکاری پرسنل محترم مرکز تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی(ره) به خصوص آقای مهندس محمدرضا صحرائیان و مسئول محترم این مرکز آقای مهندس نجف آبادی به انجام رسیده است که بدینوسیله از آنها تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

نگین تاجی، ا.؛ ارچنگی، ب.؛ موحدی نیا، ع.؛ صفاهیه، ع.؛ اسکندری، غ.، ۱۳۹۲. استفاده از هورمون های تیروئیدی و میکرونوکلئوس به عنوان بیومارکرهای اولیه در مواجهه با ماده آلاینده بیس فنل آ در ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*)، نشریه اقیانوس شناسی، سال چهارم، شماره ۱۶، صفحات ۲۳-۳۲.

Boas, M.; Feldt-Rasmussen, U.; Skakkebaek, N.E.; Main, K.M., 2006. Environmental Chemicals and thyroid function. European Journal of Endocrinology, 154: 599-611.

Brown, S.B.; Adams, B.A.; Cyr, D.G. and Eales, J.G., 2004. Contaminant effects on the teleost fish thyroid. Environmental Toxicology and Chemistry, 23: 1680-1701.

Carletta, M.A.; Weis, P.; Weis, J.S., 2002. Development of thyroid abnormalities in mummichogs, Fundulus heteroclitus, from a polluted site. Marine Environmental Research, 54: 601-4.

Chapman, P.M.; Dexter, R.N.; Long, E.R., 1998. Synoptic measures of sediments contamination, toxicity and infaunal community composition (the Sediment Quality Triad) in San Francisco Bay. Marine Ecology Progress Series, 37: 75-93.

Deane, E.E.; Li, J.; Woo, N.Y.S., 2001. Hormonal status and phagocytic activity in sea bream infected with vibriosis. Comparative Biochemistry and Physiology. B, 129: 687–693.

Demirak, A.; Yilmaz, F.; Levent Tuna, A.; Ozdemi, N., 2006. Heavy metals in water, sediment and tissues of (*Leuciscus cephalus*) from a stream in southwestern Turkey. Chemosphere, 63(9): 1451-1458.

Di Giulio, R.T.; Hinton, D.E., 2008. the toxicology of fishes. Taylor and Francis Group. 1101P.

Eales, J.G.; Brown, S.B., 2005. Thyroid hormones. In Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. Vol. 6. Environmental Toxicology, Mommsen, T.P. and Moon, T.W., Eds., Elsevier, Amsterdam, 397-412 pp.

Evans, G.O., 2009. Animal Hematotoxicology. CRC Press. 204 P.

Hontela, A.; Daniel, C.; Ricard, A.C., 1996. Effects of acute and subacute exposurs to cadmium on the interrenal and thyroid function in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquatic Toxicology, 35: 171-182.

Howdeshell, K. L., 2002. A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system. Environmental Health Perspectives, 110: 337–348.

Ishihara, A.; Sawatsubashi, S.; Yamauchi, K., 2003. Endocrine disrupting chemicals: interference of thyroid hormone binding to transthyretins and to thyroid hormone receptors. Molecular and Cellular Endocrinology, 199: 105–117.

Ishitobi, H.; Mori, K.; Yoshida, K.; Watanabe, C., 2007. Effects of perinatal exposure to low dose cadmium on thyroid hormone related and sex hormone receptor gene expressions in brain of offspring. Neuro Toxicology, 28: 790-797.

Janz, D.M., 2000. Endocrine system. In: Ostrander, G.K. (Ed.), The Laboratory Fish. Academic Press, SanDiego.

Kumar, P.; Prasad, Y.; Patra, A.K.; Swarup, D., 2007. Levels of Cadmium and Lead in Tissues of Freshwater Fish (*Clarias batrachus* L.) and Chicken in Western UP (India). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 79: 396-400.

Plisetskaya, E.; Woo, N.Y.S.; Murat, J.C., 1983.Thyroid hormones in cyclostomes and fish and their role in regulation of intermediary metabolism. Comparative Biochemistry and Physiology . Part A: Physiol, 74: 179–187.

Pratima, G.; Chaurasia, S.S.; Anand, K.; Maiti, P.K.; Gupta, P.; Kar, A., 1997. Influence of cadmium on thyroid hormone concentrations and lipid peroxidation in a fresh water fish, Clarias batrachus. Fresenius

Thangavel, P.; Sumathiral, K.; Karthikeyan, S.; Ramaswamy, M., 2005. Endocrine response of the freshwater teleost, *Sarotherodon mossambicus* (Peters) to dimecron exposure. Chemosphere, Vol. 61, 1083-92 pp.

Turkmen, M.; Turkmen, A.; Tepe, Y.; Ates, A., 2009. Determination of metalsin fish species from Aegean and Mediterranean Seas. Food Chemistry, Vol. 113, No. 2, pp. 233–237.

Veldhoen, N.; Boggs, A.; Walzak, K.; Helbing, C.C., 2006. Exposure to Tetrabromo bisphenol-A alters TH-associated gene expression and tadpole metamorphosis in the Pacific tree frog *Pseudacris regilla*. Aquatic Toxicology, Vol. 78, 292-302 pp.

Waring, C.P.; Stagg, R.M.; Fretwell, K.; Mc Lay, H.A.; Costello, M.J., 1996. The impact of sewage sludge exposure on the reproduction of the sand goby, *Pomatoschistus minutus*. Environmental Pollution, Vol. 93, 17-25 pp.

Zadorozhnaja, T.D.; Little, R.E.; Miller, R.K.; Mendel, N.A.; Taylor, R.J.; Presley, B.J., 2000. Concentrations of arsenic, cadmium, copper, lead, mercury, andzincin human placentas from two cities in Ukraine. Journal of Toxicology and Environmental Health, Vol. 61, 255-63 pp.

Zhang, F.; Degitz, S.J.; Holcombe, G.W.; Kosian, P.A.; Tietge, J.; Veldhoen, N.; Helbing, C.C., 2006. Evaluation of gene expression endpoints in the context a *Xenopus laevis* metamorphosis based bioassay to detect thyroid hormone disruptors. Aquatic Toxicology, 76: 24-36.

Environmental Bulletin, 6: 355–358.

Sa, R.; Pousao-Ferreira, P.; Oliva-Teles, A., 2006. Effect of dietary protein and lipid levels on growth nickel on glycogen reserves and protein levels in and feed utilization of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. Aquaculture Nutrition, 12: 310-321.

Scott, G.R.; Sloman, K.A., 2004. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. Aquatic Toxicology, 68: 369–392.

Shameena, B.; Varghese, S.; Leena, S.; Oommen, O.V., 2000. 3, 5, 30-triiodothyronine (T-3) and 30, 50-diiodothyrone (T-2) have short-term effects on lipid metabolism in a teleost *Anabas testudineus* (BLOCH): evidence from enzyme activities. Endocrine Research, 26: 431–444.

Sharma, P.D., 2003. Environmental Pollution. In: Ecology and Environment (7th Edition) Rastogi. Publication. Meerut, India, 415-489.

Snyder, E.M.; Snyder, S.A.; Kelly, K.L.; Gross, T.S.; Villeneuve, D.L.; Fitzgerald, S.D.; Villalobos, S.A.; Giesy, J.P., 2004. Reproductive responses of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed in cages to influent of the Las Vegas Wash in Lake Mead, Nevada, from late winter to early spring. Environmental Science & Technology, 38: 6385-6395.

Teles, M.; Pacheco, M.; Santos, M.A., 2007. Endocrine and metabolic responses of *Anguilla anguilla* L. caged in a freshwater-wetland (Pateira de Fermentelos-Portugal). Science of the Total Environment, 372: 562-570.