ارزیابی اثرات بیسفنول A (۲ و ۲ بیس (٤- هیدروکسی فنیل) پروپان) بر شاخص های دفاع آنتی اکسیدانی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

سلاطی،ا [۱]. ستاری،ا. [۲]*

دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۹ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۰

خلاصه

بیسفنول A (BPA) ماده ای شیمیایی است که در ساخت و سخت کردن فرآورده های پلاستیکی همچون درب بطری ها و قوطی های نوشیدنی به کار می رود. ایران یکی از ۱۰ کشور نخست جهان در زمینه مصرف محصولات پلاستیکی است و نتیجتا رهاسازی پسماندهای پلاستیکی منجر به انتشار آلودگی هایی از جمله با ماده بیسفنول در منابع آبی خواهد شد که بخشی از آن ها در آبزی پروری به کار رفته و از طریق گونه های پرورشی منجر به انتشار در غذای انسان خواهند شد. یکی از راه های ارزیابی حضور عوامل شیمیایی در محیط زیست ماهیان سنجش شاخص های دفاع آنتی اکسیدانی در بافت های ماهی است. این مطالعه پاسخ های دفاع آنتی اکسیدانی ماهی قزل آلای رنگین کمان را در مواجهه با BPA مورد بررسی قرار داده و بدین منظور از بافت کبد ۱۱۰ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزنی ۰/۴±۵۵ گرم پس از مواجهه ۱۴ روزه با صفر و ۱۰ و ۵۰ میکروگرم در لیتر ماده BPA نمونه برداری و برخی از شاخص های دفاع آنتی اکسیدانی همچون کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، مالون دی آلدهاید و گلوتاتیون پراکسیداز اندازه گیری شدند که منجر به افزایش معنی دار شاخص های مورد ارزیابی پس از رویارویی با غلظت های مورد بررسی از BPA در این مطالعه شدند که موید امکان بهره مندی از این شاخص ها در دنبال نمودن ردپای آلودگی با فرآورده های پلاستیکی در منابع آبی و غذایی انسان و محیط زیست آبی می باشد.

واژه‌های کلیدی: بیسفنول **A**، دفاع آنتی اکسیدانی، قزل آلای رنگین کمان.

---

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

۲. گروه بهداشت مواد غذایی و بهداشت عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

* نویسنده مسئول: amirsatari@uk.ac.ir

مقدمه

بیسفنول A (BPA, 2,2-bis (4-hydroxyphenyl) propane) یک ماده شیمیایی صنعتی است که برای سخت کردن پلاستیک در بطری ها، سی دی، قوطی های نوشیدنی و لوازم پزشکی مورد استفاده در زندگی روزمره و در بخش های مختلف استفاده می شود (Geens وهمکاران ۲۰۱۵، Michalowicz, ۲۰۱۴). BPA با تولید سالانه تقریبی ۵ میلیون تن یکی از مواد شیمیایی با بیشترین حجم تولید در جهان است و تقریباً نیم میلیون تن از آن خطر نشت به محیط زیست را دارد، بنابراین ارگانیسم های آبزی می توانند در معرض این مواد شیمیایی قرار گیرندVandengerg (و همکاران ۲۰۰۹، Zhang و همکاران ۲۰۲۰). گزارش شده است که BPA به عنوان یک تراتوژن و مختل کننده غدد درون ریز در حیوانات مهره دار عمل می کند اثرات تراتوژنیک BPA در 1-10 mg/L یافت شد، در حالی که اثرات بر روی غدد درون ریز در غلظت‌های پایین‌تری در محدوده میکرو گرم در لیتر نیز مشاهده شد (Flint و همکاران ۲۰۱۲) . ماهی ها و سخت پوستان به عنوان شاخص های زیستی آلودگی محیطی شناخته می شوند (Pavlovic و همکاران۲۰۱۳). آلودگی با BPA در بسیاری از کشورهای جهان یافت شده است. غلظت BPA از ۰/۲۸ تا ۲۵/۲ میلی گرم بر کیلوگرم در ماهی های نمونه برداری شده از تایوان (Lee و همکاران ۲۰۱۵) از سواحل ایتالیا ۰/۵۶ میلی گرم بر کیلوگرم در ماهیچه های ماهی (Mita و همکاران، ۲۰۱۱) و ۰/۸۳ تا۱۹/۲۵ میلی گرم در کیلوگرم در ماهیان دریایی از هنگ کنگ (Wong و همکاران ۲۰۱۷) گزارش گردیده است. مطالعات قبلی بر روی حیوانات آبزی نشان داده است که BPA می تواند بر سیستم عصبی، رفتار، مورفولوژی، رشد و تمایز جنسی و همچنین متغیرهای بیوشیمیایی تأثیر بگذارد (Crain و همکاران ۲۰۰۷، Lam و همکاران ۲۰۱۱).

در مطالعات سم شناسی محیطی، از آنزیم های آنتی اکسیدانی و پارامترهای استرس اکسیداتیو برای تعیین اثرات سمی استفاده می شود. مطالعات زیادی وجود دارد که القای استرس اکسیداتیو توسط BPA را در ماهی نشان می دهد (Chitra و Sagitha ۲۰۱۴، Kaya و Kaptaner ، ۲۰۱۶). قزل آلای رنگین کمان یکی از گونه های اصلی پرورشی است که گسترشی جهانی آن در زیستگاه های سرد و معتدل قابل توجه است چنانکه تولید سالیانه آن در ایران به بیش از ۱۲۶ هزار تن در سال رسیده است (Fao, 2016). از سوی دیگر ایران یکی از ۱۰ کشور نخست دنیا در زمینه مصرف پلاستیک است. بر اساس آمار موجود، میزان پلاستیک تولیدی در ایران بیش از ۱۷ هزار تن در سال تخمین زده شده که این رقم معادل حدود ۵۰ تن در روز است (محقق، ۱۳۹۷). بیسفنول یکی از ترکیبات مورد استفاده در ساخت پلاستیک هاست و آلودگی منابع آبی به واسطه تجزیه کند پلاستیک ها در طبیعت، اجتناب ناپذیر است. آب های سطحی و زیرزمینی منابع اصلی تامین کننده آب سیستم های پرورشی قزل آلا هستند که در هر دو صورت آلودگی این منابع آبی با ترکیباتی همچون بیسفنول می تواند آثاری بر جمعیت های وحشی و پرورشی ماهیان بر جای گذارد. (Kaya و Kaptaner ، ۲۰۱۶) با توجه به میزان بالای تولید پسماندهای پلاستیکی در محیط و امکان آلوده سازی منابع آبی مزارع پرورش این مطالعه تلاش می کند پاسخ های دفاع آنتی اکسیدانی ماهی قزل آلای رنگین کمان در مواجهه با BPA را مورد سنجش قرار دهد.

مواد و روش کار

تعداد ۱۱۰ قطعه بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزنی ۰/۴±۵۵ گرم خریداری و در مخازن ویژه حمل بچه ماهی مجهز به کپسول اکسیژن در دمای ۱۷ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان منتقل و برای مدت 14 روز با شرایط نگهداری در دمای ۰/۳±۱۵ درجه سانتی گراد و اکسیژن محلول ۸-۷ میلی گرم در لیتر و سه نوبت غذادهی در شبانه روز در ساعات ۷، ۱۱ و ۱۵ به میزان ۳ درصد وزن زنده بدن سازگار شدند. در طول دوره آزمایش ماهیان با جیره پایه تجاری قزل آلا (فرادانه، ایران) تغذیه شدند.

تیماربندی

ماهیان در ۹ وان ۳۰۰ لیتری (یک شاهد و دو تیمار، هر یک با سه تکرار) به تعداد ۱۲ قطعه ماهی توزیع و به مدت ۲۱ روز در مواجهه با سطوح مختلف BPA (صفر، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم در لیتر) قرار گرفتند. غذادهی سه وعده در روز در حد سیری ماهی صورت پذیرفت و شرایط نوردهی طبیعی شبانه روز در محیط آزمایش برقرار بود. جهت افزودن BPA استوکی با افزودن این ماده به اتانول (مرک، آلمان) تهیه شد و مقادیر مناسب از این استوک جهت رسیدن به غلظت های تعیین شده به آب اضافه می گردید. به گروه کنترل حجم معادل از اتانول اضافه می شد.

نمونه‌برداری از ماهیان

در پایان دوره آزمایش و ۲۴ ساعت پیش از زمان نمونه‌برداری، غذادهی ماهیان قطع شد. سپس ماهیان به وسیله پودر گل میخک به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر

بیهوش شدند. برای سنجش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی کبد، از هر تکرار ۳ قطعه ماهی نمونه‌برداری شد. به این منظور، پس از آسان کشی ماهی با غلظت های بالای گل میخک محوطه شکمی باز و کبد ماهی پس از برداشت به کرایوتیوب منتقل شدند. سپس نمونه‌های جمع آوری شده به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

برای سنجش شاخص‌های مربوط به دفاع آنتی‌اکسیدانی، نمونه‌ها پس از توزین، با محلول نرمال سالین شستشو داده شدند و سپس با استفاده از دستگاه هموژنایزر الکتریکی (Basic, IKEA, Germany)، به نسبت ۱ به ۵ با بافر PBS (Phosphate-buffered saline) هموژن شدند. محلول هموژن شده به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. در پایان، محلول رویی برای سنجش شاخص‌های مورد نظر جدا شد (Han و همکاران ۲۰۱۱).

اندازه‌گیری شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش Goth (۱۹۹۱) صورت گرفت. در این روش بافر فسفات با نمونه مخلوط و به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. سپس جذب نوری محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر (Genway, England) در طول موج ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. ۰/۰۵ کاهش در جذب نوری محلول به عنوان یک واحد فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری در نظر گرفته شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بر اساس درگیری رادیکال سوپراکسید در اکسیداسیون خودبخودی پیروگالول و مطابق باروش Marklund و Marklund (۱۹۷۴) و بر حسب واحد در هر میلی‌گرم بافت، انجام گرفت.

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) بر اساس روش ارائه شده توسط Paglia و Valentine (1967) و با استفاده از کیت تشخیص Randox (ایرلند) اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که ابتدا درون یک لوله آزمایش مقدار ۲۰ میکرولیتر نمونه و ۱ میلی‌لیتر معرف R_1 (محلول آنزیمی که تمام اجزای واکنش را دارد) و ۴۰ میکرولیتر معرف R_2 (محلول آنزیمی که تمام اجزای واکنش را دارد) قرار داده شد و به مدت ۱ دقیقه در بن ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر برای ۵ دقیقه خوانده شد. کاهش جذب نوری در محلول بین دومین و چهارمین دقیقه به عنوان فعالیت آنزیم بر حسب واحد در هر میلی‌گرم بافت، بیان شد. به منظور سنجش مالون دی‌آلدئید (Malondialdehyde: MDA) از روش رنگ سنجی استفاده شد. اساس این روش واکنش MDA با تیوباربیوتیک اسید (TBA) است که در نتیجه آن کمپلکس رنگی MDA-TBA2 ایجاد می‌شود که بیشترین جذب آن در طول موج ۵۳۵ نانومتر اتفاق می‌افتد (Buege و Aust، ۱۹۷۸).

میزان ۲۰۰ میلی لیتر از محلول کلرید پتاسیم ۰/۱۶ مولار با همین میزان محلول تریس ۰/۲مولار مخلوط شد و PH آن روی ۷/۴ تنظیم گشت. سپس حجم این محلول به۵۰۰ میلی لیتر رسانده شد. ۱/۳ میلی لیتر از این محلول داخل ۶۰ لوله ی آزمایشگاهی ریخته شد و۰/۲ میلی لیتر هموژنیزه بافتی هم به تمام لوله ها اضافه گشت.. تمامی این لوله ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. بعد از تهیه ی ۱۰۰ میلی لیتر محلول باربیتوریک اسید (۰/۸درصد)، میزان ۱/۵ میلی لیتراز این محلول به تمام لوله ها اضافه شد و تمامی لوله ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند. بعد از خنک شدن لوله ها میزان ۳ میلی لیتر از محلول پریدین- بوتانول (به نسبت مخلوط شده ی ۳ حجم پریدین و ۱ حجم بوتانول) به هر لوله اضافه شد.

متعاقبا ۱ میلی لیتر از محلول هیدروکسید سدیم (۱مولار) هم داخل هر لوله ریخته شد. بعد از هم زدن لوله ها جذب نوری هر یک در مقابل طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد. سپس میزان مالون دی آلدهید با استفاده ازضریب ثابت10^5×۱/۵۶ محاسبه گشت و بصورت نانومول به ازای میلی گرم پروتئین بافت بیان گردید.

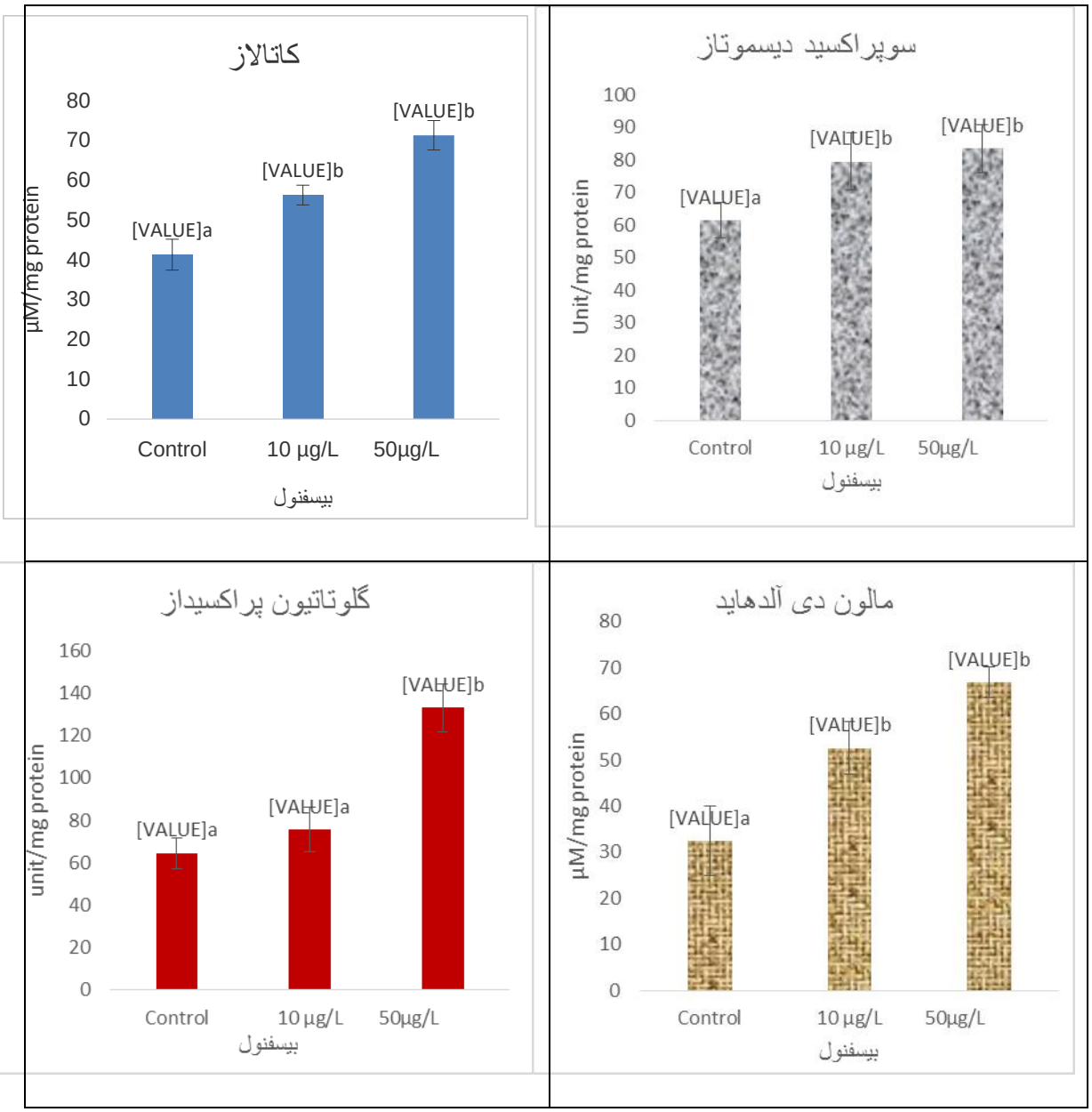
آنالیز آماری

این مطالعه به صورت طرح کاملا تصادفی اجرا شد. کلیه داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (Mean ± SE) ارائه شده است.شاخص‌های دفاع آنتی اکسیدانی در این پژوهش بر اساس آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0/05$) ارزیابی شده و در صورت معنی‌دار بودن، پس‌آزمون Duncan برای مقایسه میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و رسم نمودارها در Microsoft Excel 2013 انجام شد.

نتایج

همان گونه که در نمودار ۱ دیده می شود مواجهه با BPA باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD در کبد ماهیان قزل آلای رنگین کمان گردید ($P<0.05$). این افزایش فعالیت آنزیم به صورت وابسته به دوز اتفاق افتاد به صورتی که بیشترین فعالیت SOD در ماهیان در معرض غلظت ۵۰ میکرو گرم در لیتر و کمترین مقدار در گروه کنترل مشاهده

گردید. برای آنزیم CAT هم روند مشابهی ثبت گردید. پایین ترین فعالیت آنزیم در گروه کنترل و بالاترین فعالیت آن در غلظت بالاتر BPA ثبت گردید. فعالیت آنزیم GPX در سلول های کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان تحت تاثیر مواجهه با BPA یک روند افزایشی نشان داد، این افزایش تنها در مواجهه با ۵۰ میکروگرم در لیتر BPA به شکل معنادار بروز پیدا کرد ($P<0.05$). غلظت MDA در سلول های کبدی پس از مواجهه با BPA یک روند افزایش نشان داد. میزان MDA در سلول های کبدی به دنبال مواجهه با BPA در هر دو تیمار به صورت معنی داری از گروه کنترل بیشتر بود ($P<0.05$).



نمودار ۱- تغییرات آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و مالون دی آلدهاید در ماهیان قزل آلا در گروه های کنترل (صفر) و در مواجهه با ۱۰ و ۵۰ میکروگرم در لیتر بیسفنول (BPA). (a و b: اختلاف معنی دار آماری،$P<0.05$)

بحث

کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) خط اول مقابله با رادیکال های آزاد هستند که به عنوان جذب کننده پراکسید هیدروژن و آنیون سوپراکسید عمل می کنند. SOD موجب دیسموتاسیون آنیون سوپراکسید شده که منجر به تولید هیدروژن پراکسید می شود که توسط کاتالاز به آب و اکسیژن

تبدیل می شود (abd-Elkareem و همکاران ۲۰۱۸). بنابراین، مهار SOD وCAT منجر به تجمع آنیون سوپراکسید (O_2^-) و H_2O_2 در داخل سلول می شود (Wu و همکاران ۲۰۱۱، Aly و همکاران ۲۰۱۲).

در این مطالعه فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی به دنبال مواجهه با BPA افزایش یافت. مشابه مطالعه حاضر در مداکای ژاپن و در گونه Oryzias latipes فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز پس از مواجهه با BPA افزایش یافت (Minghong و همکاران ۲۰۱۰). نکته جالب در مطالعه فوق الذکر این بود که فعالیت این آنزیم ها پس از مواجهه با غلظت ۱۰۰۰ µg/L هیچ تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشت. در ماهی گورخری (Danio rerio) افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی پس از مواجهه با غلظت ۲۰۰۰ µg/L رخ داد و در غلظت ۱۰۰ فعالیت آنزیم ها در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی داری نداشت (Sun و همکاران ۲۰۱۹). نتایج مشابهی در مداکای ژاپنی گزارش شده است که عدم تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی پس از مواجهه با BPA در آن دیده شده است. Peng و همکاران (۲۰۱۸) در خرچنگ Charybdis japonica مشاهده کردند که فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در مواجهه با BPA وابسته به زمان بود به صورتی که با افزایش زمان، کاهش در فعالیت آنزیم ها گزارش شد که به دلیل افزایش زمان مواجهه با BPA منجر به تخلیه ذخایر آنزیمی و کاهش فعالیت آنها شده بود. به نظر می رسد شرایط مطالعه حاضر باعث شده که میزان تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) افزایش یابد و در نتیجه آنزیم های آنتی اکسیدانی بیشتری را برای مقابله با گونه های اکسیژن فعال اضافی تولید و فعال کرده است. گلوتاتیون پراکسیداز در سیتوپلاسم سلول ها یافت می شود و سلول را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از H_2O_2 با احیا آن به OH و تولید H_2O محافظت می کند (Apel و Hirt ۲۰۰۴). در این مطالعه فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در پاسخ به مواجهه با BPA یک روند افزایشی نشان داد. نتایج به دست آمده در مطالعات مختلف در این باره متناقض بوده است. در مواردی، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز ماهیان مختلف در معرض ۱۰۰۰ µg/L BPA به طور قابل توجهی پایین تر از گروه کنترل گزارش شده است (Wu و همکاران ۲۰۱۱، Faheem و همکاران ۲۰۱۶).

آنها گزارش کردند که BPA اثر مهاری مستقیمی بر روی فعالیت آنزیم دارد و از این طریق باعث کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز می شود (Kaya و Kaptaner ۲۰۱۶).

در مطالعه انجام شده در Channa punctatus پس از تیمار با BPA شاخص های دفاع انتی اکسیدانی را در خون اندازه گیری کردند. بالاترین محتوای MDA در این گونه پس از ۹۶ ساعت مشاهده شد به صورتی که مقدار آن در خون ۴/۶۳ برابر افزایش یافته بود که بسیار بیشتر از میزان ثبت شده در این مطالعه بود. آنها حمله پراکسیدهای لیپیدی به اسیدهای چرب غیر اشباع سلولی غشاها را عامل افزایش MDA گزارش کردند. مواجهه ماهی تیلاپیای نیل نیز با غلظت های تحت کشنده BPA افزایش میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و مالون دی آلدهاید را در پی داشت (Abdel- Tawwab و Hamed ،۲۰۱۸ Sharma و Chandha ۲۰۲۰). مشخص شده که تیمار جنین ماهی گورخری با نونیل فنل فعالیت آنزیم های SOD و CAT را کاهش می دهد و تولید هیدروکسیل را افزایش می دهد که منجر به افزایش محتوای MDA می شود (Wu et al., 2011).

مشابه نتایج گزارش شده در ماهیان، Aboul Ezz و همکاران (۲۰۱۵) افزایش محتوای MDA در هپاتوسیت موش های در معرض BPA را گزارش کردند. با توجه به

نتایج بدست آمده می توان چنین بیان کرد که آنزیم های آنتی اکسیدانی بررسی شده در این مطالعه و در گونه قزل آلای رنگین کمان حساسیت بالایی در مقابل BPA دارند و تغییرات معنی داری را پس از مواجهه با این ماده نشان می دهند. همچنین MDA به عنوان شاخص ارزیابی پراکسیداسیون چربی پس از مواجهه با BPA افزایش یافت که نشانگر وقوع استرس اکسیداتیو در قزل آلای رنگین کمان پس از مواجهه با BPA می باشد.

Journal of Veterinary Laboratory Research 14 (2021) 33-42

Evaluation of the effects of bisphenol A (2 and 2 bis(4-hydroxyphenylpropane)) on antioxidant defense indices of rainbow trout (Onchorhynchus mykiss)

Salati, A[1]. Satari,A[2*].

Received: 08.04.2022 Accepted: 01.09.2023

Abstract

Bisphenol A (BPA) is a chemical used in the manufacture and hardening of plastic products. Iran is one of the top 10 countries in the world in terms of consumption of plastic products, and as a result, the release of plastic waste turns into the release of substances such as BPA in water resources and in aquaculture systems. One of the ways to evaluate the presence of chemical factors in the environment of fish is to measure antioxidant defense indicators in fish tissues. This study investigated the antioxidant defense responses of rainbow trout exposed to BPA. The liver tissue of 110 pieces of rainbow trout (55 ± 0.4 grams) were sampled after 14 days of experimental fish exposure to zero, 10 and 50 micrograms per liter of BPA for antioxidant defense indicators assay such as catalase, superoxide dismutase, malon di-aldehyde and glutathione peroxidas. All indicators were significantly increased after exposure period of 14 days to 10 and 50µg/L of BPA ($P<0.05$) which confirms the possibility of benefiting from these indicators in following the trace pollution with plastic products in the water and food sources of humans and the aquatic environment.

Keywords: Bisphenol A, antioxidant defense, rainbow trout.

1- Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Sciences and Technologies, Khorramshahr, Iran.
2. Department of Food Hygiene and Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
*Corresponding author: amirsatari@uk.ac.ir

منابع

Abd-Elkareem, M., Abou Khalil, N.S. and Sayed, A.H., 2018. Hepatotoxic responses of 4-nonylphenol on African catfish (Clarias gariepinus): antixoidant and histochemical biomarkers. Fish physiology and biochemistry, **44**, pp.969-981.

Abdel-Tawwab, M. and Hamed, H.S., 2018. Effect of bisphenol A toxicity on growth performance, biochemical variables, and oxidative stress biomarkers of Nile tilapia, Oreochromis niloticus (L.). Journal of Applied Ichthyology, **34(5)**, pp.1117-1125.

Aboul Ezz, H.S., Khadrawy, Y.A., Mourad, I.M., 2015. The effect of bisphenol A on some oxidative stress parameters and acetylcholinesterase activity in the heart of male albino rats. Cytotechnology 67, 145–155. https://doi.org/10.1007/ s10616-013-9672-1.

Aly, H.A., Domènech, Ò. and Banjar, Z.M., 2012. Effect of nonylphenol on male reproduction: analysis of rat epididymal biochemical markers and antioxidant defense enzymes. Toxicology and Applied Pharmacology**, 261(2)**, pp.134-141.

Apel, K., Hirt, H., 2004. Eactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55, 373–399. https://doi.org/10.1146/ ANNUREV.ARPLANT.55.031903.141701.

Buege, J.A. and Aust, S.D., 1978. [30] Microsomal lipid peroxidation. In Methods in enzymology (Vol. 52, pp. 302-310). Academic press.

Chitra, K.C. and Sajitha, R., 2014. Effect of bisphenol-A on the antioxidant defense system and its impact on the activity of succinate dehydrogenase in the gill of freshwater fish, Oreochromis mossambicus. Journal of Cell and Tissue Research, **14(2)**, p.4219.

Crain, D.A., Eriksen, M., Iguchi, T., Jobling, S., Laufer, H., LeBlanc, G.A. and Guillette Jr, L.J., 2007. An ecological assessment of bisphenol-A: evidence from comparative biology. Reproductive toxicology, **24(2)**, pp.225-239.

Faheem, M., Jahan, N., Lone, K., 2016. Histopathological effects of bisphenol-A on liver, kidneys and gills of Indian major carp, Catla catla (Hamilton, 1822). J. Anim. Plant Sci. 26, 514–522.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2016. The state of world fisheries and aquaculture. Italy: FAO Rome.

Flint, S., Markle, T., Thompson, S. and Wallace, E., 2012. Bisphenol A exposure, effects, and policy: a wildlife perspective. Journal of environmental management, **104**, pp.19-34.

Geens, T., Dirtu, A.C., Dirinck, E., Malarvannan, G., Van Gaal, L., Jorens, P.G. and Covaci, A., 2015. Daily intake of bisphenol A and triclosan and their association with anthropometric data, thyroid hormones and weight loss in overweight and obese individuals. Environment international, **76**, pp.98-105.

Goth, L., 1991. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clinica chimica acta, **196(2-3)**, pp.143-151.

Han, H.M. and Koh, B.K., 2011. Antioxidant activity of hard wheat flour, dough and bread prepared using various processes with the addition of different phenolic acids. Journal of the Science of Food and Agriculture, **91(4)**, pp.604-608.

Kaya, O., Kaptaner, B., 2016. Antioxidant defense system parameters in isolated fish hepatocytes exposed to bisphenol A — effect of vitamin C. Acta Biol. Hung. 67, 225–235. https://doi.org/10.1556/018.67.2016.3.1.

Lam, S.H., Hlaing, M.M., Zhang, X., Yan, C., Duan, Z., Zhu, L., Ung, C.Y., Mathavan, S., Ong, C.N. and Gong, Z., 2011. Toxicogenomic and phenotypic analyses of bisphenol-A early-life exposure toxicity in zebrafish. PloS one, **6(12)**, p.e28273.

Lee, C.C., Jiang, L.Y., Kuo, Y.L., Chen, C.Y., Hsieh, C.Y., Hung, C.F. and Tien, C.J., 2015. Characteristics of nonylphenol and bisphenol A accumulation by fish and implications for ecological and human health. Science of the Total Environment, **502**, pp.417-425.

Marklund, S. and Marklund, G., 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. European journal of biochemistry, 47(3), pp.469-474.

Michałowicz, J., 2014. Bisphenol A–sources, toxicity and biotransformation. Environmental toxicology and pharmacology, 37(2), pp.738-758.

Minghong, W., Hai, X., Ming, Y., Gang, X., 2010. Effects of chronic bisphenol A exposure on hepatic antioxidant parameters in medaka (Oryzias latipes). Toxicol. Environ. Chem. 93, 270–278. https://doi.org/10.1080/02772248.2010.530136.

Mita, L., Bianco, M., Viggiano, E., Zollo, F., Bencivenga, U., Sica, V., Monaco, G., Portaccio, M., Diano, N., Colonna, A. and Lepore, M., 2011. Bisphenol A content in fish caught in two different sites of the Tyrrhenian Sea (Italy). Chemosphere, **82(3)**, pp.405-410.

Pavlović, S.Z., Borković-Mitić, S.S., Radovanović, T.B., Perendija, B.R., Despotović, S.G., Gavrić, J.P. and Saičić, Z.S., 2013. Antioxidant enzymes in the liver of Chelidonichthys obscurus from the Montenegrin coastline. Central European Journal of Biology, **8**, pp.747-755.

Paglia, D.E. and Valentine, W.N., 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. The Journal of laboratory and clinical medicine, **70(1)**, pp.158-169.

Peng, Y. Q., Wang, M. J., Chen, H. G., Chen, J. H., Gao, H., & Huang, H. H. (2018). Immunological responses in haemolymph and histologic changes in the hepatopancreas of Charybdis japonica (A. Milne- Edwards, 1861) (Decapoda: Brachyura: Portunidae) exposed to bisphenol A. Journal of Crustacean Biology, **38(4)**, 489-496.

Sharma, P., Chadha, P., 2020. Bisphenol A induced toxicity in blood cells of freshwater fish Channa punctatus after acute exposure. Saudi Journal of Biological Sciences 28, 4738-4750.

Sun, S.X., Zhang, Y.N., Lu, D.L., Wang, W.L., Limbu, S.M., Chen, L.Q., Zhang, M.L., Du, Z. Y., 2019. Concentration-dependent effects of 17β-estradiol and bisphenol A on lipid deposition, inflammation and antioxidant response in male zebrafish (Danio rerio). Chemosphere 237, 124422. https://doi.org/10.1016/J. CHEMOSPHERE.2019.124422.

Vandenberg, L.N., Maffini, M.V., Sonnenschein, C., Rubin, B.S. and Soto, A.M., 2009. Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. Endocrine reviews, **30(1)**, pp.75-95.

Wong, Y.M., Li, R., Lee, C.K.F., Wan, H.T. and Wong, C.K., 2017. The measurement of bisphenol A and its analogues, perfluorinated compounds in twenty species of freshwater and marine fishes, a time-trend comparison and human health based assessment. Marine pollution bulletin, **124(2)**, pp.743-752.

Wu, M., Xu, H., Shen, Y., Qiu, W., Yang, M., 2011. Oxidative stress in zebrafish embryos induced by short-term exposure to bisphenol A, nonylphenol, and their mixture. Environ. Toxicol. Chem. 30, 2335–2341. https://doi.org/10.1002/ETC.634.

Zhang, R.R., Zhan, J., Xu, J.J., Chai, J.Y., Zhang, Z.M., Sun, A.L., Chen, J. and Shi, X.Z., 2020. Application of a novel electrochemiluminescence sensor based on magnetic glassy carbon electrode modified with molecularly imprinted polymers for sensitive monitoring of bisphenol A in seawater and fish samples. Sensors and Actuators B: Chemical, 317, p.128237.