

اثر Bisphenol A بر وزن و ساختار میکروسکوپی بافت بیضه و پروستات موش صحرایی

چکیده

زمینه و هدف: Bisphenol A (BPA)، یک زئواستروژن محیطی است که به عنوان مونومر برخی پلاستیک‌ها (پلی‌کربنات‌ها و اپوکسی‌رزین) به طور وسیعی در تولید انواع مواد وسایل از جمله مواد پرکننده دندان، ظروف یک‌بار مصرف و پوشش‌های داخلی قوطی‌های کنسرو استفاده می‌شود. این ماده به دلیل داشتن اثرات استروژنی روی سیستم تولید مثل، جزء مخرب‌های اندوکروینی طبقه‌بندی می‌گردد. تحقیق حاضر به منظور تعیین اثر Bisphenol A روی وزن و ساختار هیستولوژیک بیضه و پروستات انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۳ انجام گردید. به رت‌های نر بالغ (۵۰ سر) نژاد ویستار با سن بالای ۱۲ الی ۱۳ هفته روزانه یک دوز BPA با مقادیر $10 \mu\text{g/kgbw}$ ، $50 \mu\text{g/kgbw}$ و $100 \mu\text{g/kgbw}$ به مدت ۶ و ۱۲ روز از طریق داخل صفاقی تزریق شد و یک روز پس از آخرین تزریق موش‌ها کشته شد و وزن بیضه و پروستات آنها اندازه‌گیری گردید، سپس از آنها مقاطع ۵ میکرونی تهیه شد و با دو روش رنگ‌آمیزی H&E و هماتوکسیلین ویگرت رنگ‌آمیزی گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA دوطرفه و آزمون کای‌اسکوئر تجزیه تحلیل گردید.

یافته‌ها: در گروه‌های آزمایش در مقایسه با گروه کنترل وزن بیضه و پروستات کاهش یافته بود و اپی‌تلیوم سلول‌های لوله‌های اسپرم‌ساز تخریب شده بودند ($P < 0.05$). نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که دوزهای پایین Bisphenol A اثر مخرب بر روی ساختار میکروسکوپی بافت بیضه و پروستات رت‌های بالغ دارد.

کلیدواژه‌ها: بیضه - Bisphenol A

دکتر رستم قربانی

استادیار گروه علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

آنه محمد غراوی

کارشناس ارشد بافت شناسی دانشکده پزشکی گرگان

دکتر مظفر خزاعی

استادیار گروه علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

دکتر ال آقا محسن امامی

استادیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

دکتر علی پورمتجد

استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

دکتر جهانبخش قاسمی

دانشیار گروه شیمی دانشکده علوم، دانشگاه رازی

دکتر پرویز صادی

استادیار گروه فیزیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

نویسنده مسؤول: دکتر رستم قربانی

پست الکترونیکی: rostamgh@yahoo.com

نشانی: کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه،

دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

وصول مقاله: ۸۴/۱/۱۴

اصلاح نهایی: ۸۴/۴/۱۵

پذیرش مقاله: ۸۴/۴/۲۵

مقدمه

Bisphenol A یکی از مواد زئوژنی است که اثرات نامطلوبی در موجودات برجای می‌گذارد، از جمله تغییر در عملکرد غدد درون‌ریز یا تاثیر بر تولید مثل. زئوژن‌ها با تقلید و یا فعالیت آنتاگونیستی هورمون‌های جنسی و تیروکسین اثرات خود را نشان می‌دهند (۱). کاهش باروری مردان، سرطان پروستات و بیضه، ناهنجاری تکامل جنسی، تغییر در عملکرد غدد هیپوفیز و تیروئید، سرکوب ایمنی و اثرات عصبی رفتاری تا حدی به این مواد نسبت داده می‌شود. مداخله آنها با فعالیت اندروژن‌ها در طی تکامل منجر به ناهنجاری دستگاه تناسلی مردانه می‌شود که کاهش ظرفیت تولید اسپرم را به دنبال دارد (۲).

Bisphenol A یک مونومر پلی‌کربنات پلاستیکی و اپوکسی‌رزین است که در تولید انواع وسایل و مواد از جمله مواد پرکننده دندان، ظروف یک‌بار مصرف و پوشش‌های داخلی قوطی‌های کنسرو، رزین‌های پلاستیکی و پلی‌کربنات‌ها و همچنین به عنوان آنتی‌اکسیدانت در پلاستیک‌های PVC، پلی‌کربنات‌ها، بطری‌های نگهداری آب و آب معدنی، شیشه‌های تغذیه اطفال، استفاده می‌شود (۳). مطالعات اخیر نشان داده است که این ماده از مواد

مختلف آزاد می‌گردد. گزارش شده است که مقادیر کم (low level) این ماده می‌تواند باعث اثرات بیولوژیکی گردد و نحوه عمل آن به نظر می‌رسد تقلید و تداخل با هورمون زنانه استروژن باشد (۴).

تحقیقات نشان داد BPA از وسایل و مواد مختلف آزاد می‌شود. از جمله در بخش مایع چندین نوع سبزی کنسرو شده در قوطی‌های اپوکسی رزین جدا گردید که بالاترین میزان برابر با $80 \mu\text{g/kgbw/day}$ بود (۵).

BPA در آب معدنی و نوشابه‌های بسته‌بندی شده در بطری‌های پلاستیکی نیز پیدا شد (۶).

مقدار بلع شده BPA در طی اولین ساعت بعد از استفاده از مواد پرکننده دندان بالاتر از دوز $2 \mu\text{g/kgbw/day}$ می‌باشد که vom Saal عنوان کرد این دوز می‌تواند اثرات تخریبی در سیستم تولید مثل موش ایجاد کند (۷).

Nagel و همکاران افزایش ۳۰ درصد در وزن پروستات رت‌های نری که مادرشان در حاملگی یک دوز $2 \mu\text{g/kg}$ BPA گرفته بودند را مشاهده نمودند (۸).

vom Saal و همکاران گزارش دادند موش‌های نری که در رحم مادر در معرض $2 \mu\text{g/kg}$ دوز BPA بودند نسبت به دوز $20 \mu\text{g/kg}$ غدد preputial بزرگتری داشتند (۹). اما

BPA منجر به کاهش تولید اسپرم روزانه (DSP) می‌شود. اما Ashby که تحقیق Sakaue را تکرار کرد، به نتایج Sakaue دست پیدا نکرد (۱۸).

Ramos که اثر BPA را روی پروستات و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غده را بررسی کرده بود، عنوان کرد در معرض بودن به دوز محیطی BPA، قبل از تولد، تغییرات کوتاه مدت یا دایمی وابسته به سن را در سیستم تولید مثلی مردانه القا می‌کند (۱۹).

Aikawa اعلام کرد تجویز ۵۰ mg BPA در ۵ روز اول زندگی موش باعث کاهش motility اسپرم و افزایش اسپرم‌های غیرطبیعی می‌شود (۲۰).

Evans گزارش داد که تجویز ۳/۵ mg/kg BPA دوبار در هفته به مدت ۵ هفته به بره‌ها ترشح هورمون LH را سرکوب می‌کند (۲۱).

با توجه به ضد و نقیض بودن مطالعات، نامشخص بودن اثرات این ماده، استفاده بی‌رویه Bisphenol A در ایران وعدم نظارت بر تولید و مصرف آن مطالعه حاضر طراحی شده است.

روش بررسی

حیوانات: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۳ انجام شد. ۵۰ سر موش نر نژاد Wistar از موسسه رازی تهران، با سن ۱۲ هفتگی و محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم تهیه و به مدت یک هفته در لانه حیوانات دانشکده پزشکی کرمانشاه در شرایط آزمایشگاهی و در درجه حرارت محیط (۲۲±۲۰) با شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. حیوانات به دو گروه اصلی ۶ و ۱۲ روزه و ۳ زیر گروه تقسیم شدند.

ماده: Bisphenol A با خلوص ۹۹ درصد از شرکت مرک تهیه گردید.

گروه‌بندی و تعیین دوز و زمان: در این مطالعه ۸ گروه به ترتیب زیر انتخاب گردید:

گروه آزمایش (الف) به ۳ زیر گروه تقسیم شد. در هر زیر گروه ۵ سر موش قرار گرفتند.

زیر گروه اول دوز روزانه ۱۰ μg/kgbw/day به مدت ۶ روز دریافت کردند (۶/۱۰ μ).

زیر گروه دوم دوز روزانه ۵۰ μg/kgbw/day به مدت ۶ روز دریافت کردند (۶/۵۰ μ).

Cagen طی تلاشی که در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی MTI برای تکرار یافته‌های vom Saal انجام داد به نتیجه‌ای نرسید (۱۰).

Sharpe در سال ۱۹۹۶ کاهش اندازه بیضه و کاهش تولید اسپرم جنین‌های نر حاصل از رت‌های حامله‌ای که یک دوز BPA ۱ mg/l=1ppm در آب خوردن گرفته بودند را گزارش داد. این مقدار برابر با ۳۷۰-۱۲۳ μg/kgbw/day می‌باشد (۱۱). اما Cagen و همکارانش که مطالعه Sharpe را تکرار کردند این اثرات را پیدا نکردند (۱۲).

Fialkowski نشان داد که گاهی در دوزهای پایین‌تر BPA اثرات بیشتری از دوزهای بالاتر مشاهده می‌شود. برای مثال در روز ۷۰ بعد تولد، وزن بیضه‌ها در موش‌های نری که مادرانشان دوز ۱۰۰ μg/kgbw/day گرفته بودند، کاهش یافت. اما این اثر در دوزهای بالاتر از ۵۰۰۰ μg/kgbw/day دیده نشد (۱۳).

Ohsako و همکاران گزارش دادند که BPA یک اثر مستقیم روی تولید اسپرم دارد. آنها به موش‌های نر با سن ۱۳ هفتگی دوز روزانه دادند و کمترین دوزی که دارای اثر قابل مشاهده بود ۲۰ μg/kgbw/day ذکر شد (۱۴).

Takao اثرات BPA را روی موش‌های نر با سن ۵ هفته که یک دوز ۵/۵ μg/kgbw/day یا ۵۰ μg/kgbw/day به مدت ۴ یا ۸ هفته در آب خوردن گرفته بودند را گزارش نمود. این موش‌ها بلوغ زودرس در هفته ۶-۷ داشتند و در هر دو گروه ۸ و ۴ هفتگی تستوسترون آزاد پلاسما کاهش یافته بود. اما این اثر از نظر آماری در دوز ۵۰ μg/kgbw/day در ۸ هفته دیده نشد (۱۵).

Motohara نشان داد که BPA در دوزهای پایین بر اسپرماتوزن رت‌های بالغ تاثیر می‌گذارد. او به رت‌های نر ۱۳ با سن هفته یک دوز روزانه از ۲ μg/kgbw/day تا ۲۰۰ μg/kgbw/day به مدت ۶ روز داد و وزن بیضه، تولید اسپرم روزانه را در طی هفته‌های ۱۴ و ۱۸ بررسی کرد. BPA با دوز ۲۰ μg/kgbw/day منجر به کاهش وزن بیضه و کاهش تولید اسپرم روزانه شد (۱۶).

Atanassova عنوان کرد که تجویز BPA ۰/۵ میلی گرم روزانه از روز ۱۲-۲ نوزادی به مدت ۱۰ روز حجم هسته اسپرماتوسیت به واحد سلول سرتولی (spermatocyte nuclear volume per unit Sertoli cell) را افزایش می‌دهد (۱۷).

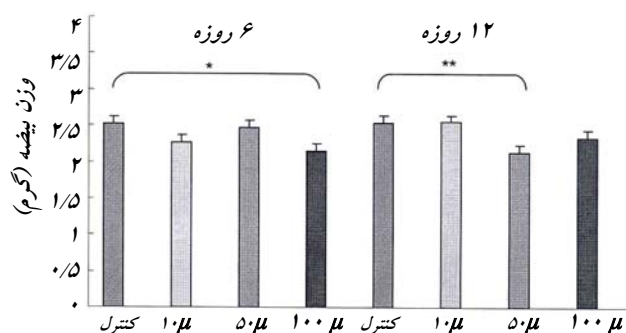
Sakaue ذکر کرده بود که دوز 20 mg/kg-200 mg/kg

ANOVA دو سویه انجام شد و آنالیز post-hoc از نوع Tukey برای بررسی سطح معنی دار بودن تفاوت ($P < 0/05$) بین گروه‌ها صورت گرفت.

در مورد اطلاعات کیفی (ساختار میکروسکوپی بیضه) از آزمون کای اسکوتر استفاده گردید. اطلاعات کیفی فقط آرایش سلول‌های اپیتلیوم لوله اسپرم‌ساز و آرایش سلول‌های لایدیگ می‌باشد و از نظر بهم‌ریختگی و تخریب آرایش سلول‌ها بررسی گردید.

یافته‌ها

وزن بیضه و پروستات: وزن بیضه در گروه‌های مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که به طور کلی تفاوت بین دو گروه ۶ و ۱۲ روزه وجود ندارد. اما این تفاوت بین دوزهای تجویزی BPA وجود دارد ($P < 0/05$)، $F(3/32) = 0/526$. میان‌کنش بین دوز و روز تجویز BPA نیز تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($F(3/32) = 6/626$ ، $P < 0/05$). آنالیز post hoc (آزمون tukey) نشان داد که در خصوص دوزهای تجویز BPA تفاوت مذکور در گروه ۶ روزه بین دوز $100 \mu\text{g/kg bw}$ و گروه کنترل معنی‌دار ($P < 0/05$) است. همچنین این تفاوت در گروه ۱۲ روزه بین دوز $50 \mu\text{g/kg bw}$ و گروه کنترل معنی‌دار ($P < 0/05$) است (نمودار ۱).



$P < 0/05$ **, $P < 0/05$ *

نمودار ۱: تاثیر تجویز دوزهای مختلف BPA

در دو گروه ۶ و ۱۲ روزه روی وزن بیضه

تجزیه تحلیل آماری نشان داد که تفاوت بین زمان $F(3/32) = 6/98$ ، $P < 0/05$ و دوز $F(1/32) = 10/58$ ، $P < 0/05$ وجود دارد. اما میان‌کنش بین زمان و دوز تفاوتی بین گروه‌های مورد مطالعه نشان نداد.

در خصوص خصیصه زمان تفاوت مذکور در گروه ۱۲ روزه بین دوز $50 \mu\text{g/kg bw}$ و گروه کنترل معنی‌دار ($P < 0/05$) و در خصوص خصیصه دوز تجویز BPA تفاوت

زیر گروه دوم دوز روزانه $100 \mu\text{g/kgbw/day}$ به مدت ۶ روز دریافت کردند ($100 \mu / 6$).

گروه آزمایش (ب) نیز در ۳ زیرگروه، دوزهای فوق را به مدت ۱۲ روز دریافت کردند.

گروه کنترل: به ۲ زیرگروه تقسیم شد. در هر گروه ۵ سر موش قرار گرفتند.

در زیر گروه (الف) به مدت ۶ روز و در زیر گروه (ب) به مدت ۱۲ روز حیوانات به جای BPA تحت تجویز حلال آن (آب مقطر) با حجم ۱ ml قرار گرفتند. حلال این ماده آب مقطر، اسید استیک، اتانول، انواع روغن شامل روغن کنجد، روغن زیتون، sesame و... می‌باشد که در این مطالعه از آب مقطر استفاده گردید.

تعیین وزن بیضه: بعد از اتمام تزریقات و یک روز بعد، موش‌ها تحت یک بیهوشی عمیق توسط کلروفرم قرار گرفتند. پس از کشتن موش‌ها، بیضه و پروستات از بافت چربی اطراف آزاد شد. بیضه از اپیدیدیم نیز جدا گردید و ۱ تا ۲ دقیقه گذاشته شد تا کمی خشک شود. سپس پروستات و هر دو بیضه هر موش، با هم وزن گردید. پروستات و بیضه با ترازوی دیجیتالی A&D GF600 ساخت آلمان وزن گردید که دقت آن $0/001$ گرم می‌باشد و نتایج تا ۳ رقم اعشار ثبت گردید. از پروستات‌ها پس از جدا کردن از چربی و بافت‌های همبند در زیر میکروسکوپ استروئو مقاطع بافتی تهیه گردیده و برای تایید رنگ‌آمیزی گردید.

تهیه مقاطع بافتی طبق روش‌های مندرج صورت گرفت (۲۲). روش‌های تهیه مقاطع بافتی روش‌های مندرج و روتین اشاره شده در کتب تهیه مقاطع مانند Kiernan J A, Histological & Histochemical method می‌باشد.

از هر موش تعداد ۲۰ تا ۳۰ لام برای بررسی ساختار میکروسکوپی بیضه در نظر گرفته شد.

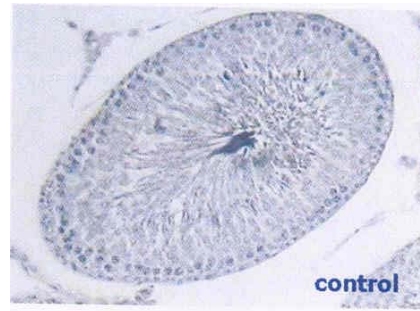
لام‌های تهیه شده با استفاده از دو روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین (مایر) - ائوزین (الکلی) و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و یگرت رنگ‌آمیزی گردید و ساختار بیضه و سلول‌های اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز مطالعه گردید.

روش‌های آماری: از نرم‌افزار SPSS-11.5 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید. پس از جمع‌آوری اطلاعات، توزیع نرمال داده‌ها توسط آزمون آماری اسمیرنوف کولموگروف بررسی گردید.

در مورد اطلاعات کمی (وزن بیضه) روش آماری



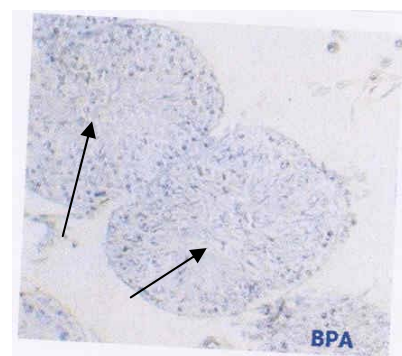
تصویر ۲: گروه کنترل
رنگ آمیزی H&E (درشت نمایی ۴۰۰)



تصویر ۱: گروه کنترل
رنگ آمیزی ویگرت (درشت نمایی ۴۰۰)



تصویر ۴: گروه BPA
رنگ آمیزی H&E (درشت نمایی ۴۰۰)



تصویر ۳: گروه BPA
رنگ آمیزی ویگرت (درشت نمایی ۴۰۰)

تاثیر تجویز دوزهای مختلف BPA در دو گروه ۶ و ۱۲ روزه بر ساختار میکروسکوپی بیضه
تخریب اپی تلیوم منی ساز در گروه BPA دیده می شود. ←

می کند. به همین دلیل در این تحقیق ۳ دوز خیلی پایین از این ماده که انسان به طور متوسط روزانه در معرض یکی از این دوز قرار دارد و آن را جذب می کند، انتخاب شد. وزن بیضه در گروه هایی که به مدت ۶ روز ۳ دوز مختلف $\mu\text{g/kgbw/day}$ ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ تجویز شدند، اختلاف معنی دار آماری بین گروه کنترل با گروه آزمایش $100 \mu\text{g}$ ($P < 0.05$) مشاهده گردید. اما در گروه هایی که به مدت ۱۲ روز دوزهای فوق را دریافت کرده بودند، این اختلاف معنی دار آماری بین گروه کنترل و گروه آزمایش $50 \mu\text{g}$ ($P < 0.05$) دیده شد. با ادامه تزریق دوز $100 \mu\text{g/kgbw/day}$ به مدت ۱۲ روز اثر کاهش وزن بیضه برگشت پذیر است. اما با ادامه تزریق دوز $50 \mu\text{g/kgbw/day}$ به مدت ۱۲ روز اثر کاهش وزن بیضه پدیدار گردید. به نظر می رسد، دوز $10 \mu\text{g/kgbw/day}$ حتی با ادامه تزریق تاثیری بر وزن بیضه ندارد. Motohara (۲۰۰۰) نشان داد که BPA در دوزهای پایین بر اسپرماتوژن رت های بالغ تاثیر می گذارد. او به رت های نر با سن ۱۳ هفته یک دوز روزانه از $2 \mu\text{g/kgbw/day}$ تا $200 \mu\text{g/kgbw/day}$ به مدت ۶ روز داد و

بین دوز $100 \mu\text{g/kgbw}$ در دو گروه ۶ و ۱۲ روزه معنی دار ($P < 0.05$) است.

با تزریق ۳ دوز فوق به مدت ۶ روز نشانی از تاثیر این ماده روی وزن پروستات مشاهده نگردید. اما با ادامه تزریق این دوزها تا ۱۲ روز اختلاف معنی دار آماری بین گروه کنترل ۱۲ روز و گروه آزمایش $50 \mu\text{g}$ ($P < 0.05$) دیده شد.

ساختار بیضه: بررسی مقاطع بافتی بیضه نشان می دهد که آرایش سلول های اپیتلیوم لوله اسپرم ساز در گروه های آزمایش در مقایسه با گروه کنترل تخریب یافته بود. این اثر تخریبی در مورد آرایش سلول های لایدیگ نیز مشاهده گردید (تصاویر ۱ الی ۴).

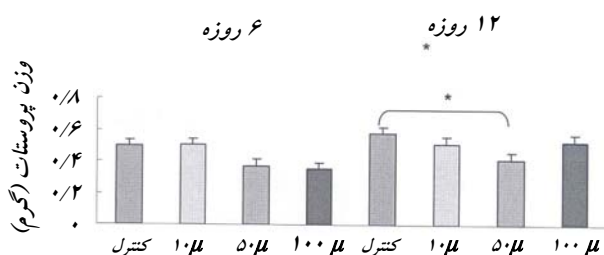
بحث

بررسی اثرات دوزهای پایین از مخرب های اندوکرینی یک موضوع کلیدی نه تنها برای بررسی خطرات بلکه برای روشن شدن مکانیسم این ترکیبات می باشد. ارزیابی اثرات تولید مثلی و رابطه پاسخ به دوز آن در دوزهای پایین اهمیت بیشتری پیدا

است. سلول‌های سرتولی بعد از بلوغ هرگز تکثیر نمی‌شوند. پس سلول‌های سرتولی مسؤول کاهش وزن و تعداد اسپرم نیست. از سوی دیگر، تعداد سلول‌های بنیادی که به وسیله سلول سرتولی تغذیه می‌شوند، بعد از بلوغ نیز افزایش می‌یابند که این ماده باعث کاهش آنها شده است. در بررسی‌های میکروسکوپی بافت بیضه، تخریب لایه‌های سلولی در لوله اسپرم‌ساز دیده شد. از آنجا که نسبت تعداد سلول‌های بنیادی به حجم دیگر ترکیبات بیضه در گروه کنترل ثابت است، کاهش این میزان در گروه‌های BPA، پیشنهاد می‌کند BPA افزایش سلول‌های بنیادی را سرکوب می‌کند.

مطالعه ما نشان می‌دهد که BPA باعث کاهش وزن بیضه می‌گردد که این کاهش در گروه‌های آزمایش $50 \mu\text{g/kg bw/day}$ به مدت ۶ روز و $10 \mu\text{g/kg bw/day}$ بارزتر از دوزهای دیگر می‌باشد.

با تزریق ۳ دوز فوق به مدت ۶ روز نشانی از تاثیر این ماده روی وزن پروستات مشاهده نگردید. اما با ادامه تزریق این دوزها تا ۱۲ روز اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه کنترل ۱۲ روز و گروه آزمایش $50 \mu\text{g/kg bw/day}$ (P<0/05) دیده شد (نمودار ۲).



$P<0/05$ **, $P<0/05$ *

نمودار ۲: تاثیر تجویز دوزهای مختلف BPA در دو گروه ۶ و ۱۲ روزه بر وزن پروستات

نکته قابل توجه اختلاف معنی‌دار بین $100 \mu\text{g/kg bw/day}$ و $10 \mu\text{g/kg bw/day}$ (P<0/05) به طرف افزایش وزن پروستات است که حکایت از برگشت‌پذیر بودن اثر این ماده با ادامه تزریق می‌باشد. این برگشت‌پذیر بودن در دوزهای دیگر نیز مشاهده می‌گردد. اگر چه به صورت معنی‌دار نمی‌باشد.

نتایج تحقیق ما با مطالعات Elswick و Takahashi در مورد وزن پروستات انطباق دارد. اما vom Saal و Khurana و Liaw و Fialkowski در بررسی‌های خود افزایش وزن پروستات به دنبال تجویز BPA را گزارش کردند. علاوه بر آن Fritz و Waechter اثر کاهش یا افزایش وزن را در مطالعات خود ندیدند. نتایج مطالعات محققان فوق با یافته‌های ما تفاوت

وزن بیضه، تولید اسپرم روزانه را در طی هفته‌های ۱۴ و ۱۸ بررسی کرد. BPA با دوز $20 \mu\text{g/kgbw/day}$ منجر به کاهش وزن بیضه و کاهش تولید اسپرم روزانه شد (۱۷).

نتایج مطالعه ما با تحقیقات Tohei و Saunders و Takahashi منطبق است. ولی با تحقیقات Waechter متفاوت است. علت تفاوت ممکن است این باشد که Waechter BPA را در زمان جنینی داد. به نظر می‌رسد در این زمان به دلیل عدم بلوغ بیضه و سلول‌های رده اسپرماتوسیت حساسیت آنها به این ماده شدید نیست.

Tohei که اثر BPA را روی بیضه بررسی کرد، عنوان نمود که بیضه نسبت به محور هیپوفیز-هیپوتالاموس محل‌های حساس بیشتری از جمله سلول‌های لایدیگ، سرتولی و رده اسپرماتوگونی‌ها برای فعالیت BPA دارد و این سلول‌ها به BPA پاسخ شدیدتری نشان می‌دهند (۲۳).

Takahashi به رت‌های بالغ دوز بالای BPA (mg/kg bw) ۹۵۰-۲۳۵ به مدت ۴۴ روز داد و در بررسی خود کاهش وزن بیضه‌ها را گزارش داد (۲۴).

Saunders تاثیرات جنینی و قبل از تولد زنوستروژن را روی عرضه ژن در بیضه بررسی کرد. یافته او این بود که تجویز دوزهای بالایی از ترکیبات استروژنیک می‌تواند روی عرضه ژن در بیضه در اوایل زندگی تاثیر بگذارد (۲۵).

Waechter سال ۱۹۹۹ به رت‌های حامله دوز BPA به میزان $0/2$ تا 200 ng/kg/day به مدت ۷ روز از روز ۱۱ تا روز ۱۷ حاملگی داد و تا روز ۹۰ آنها را در کنترل نگه داشت. اما در نتایج خود اثر معنی‌داری روی بیضه و هیستوپاتولوژی آنها پیدا نکرد (۱۳). Sharpe (۱۹۹۶) کاهش اندازه بیضه و کاهش تولید اسپرم جنین‌های نر حاصل از رت‌های حامله‌ای که یک دوز $1 \text{ mg/l} = 1 \text{ ppm}$ از BPA در آب خوردن گرفته بودند را گزارش داد. این مقدار برابر با $\mu\text{g/kgbw/day}$ می‌باشد (۱۱). اما Cagen و همکارانش که مطالعه Sharpe را تکرار کردند این اثرات را پیدا نکردند (۱۲).

Ohsako و همکاران گزارش دادند که BPA یک اثر مستقیم روی تولید اسپرم دارد. آنها به موش‌های نر با سن ۱۳ هفتگی دوز روزانه دادند و کمترین دوزی که دارای اثر قابل مشاهده بود $20 \mu\text{g/kgbw/day}$ ذکر شد (۱۴).

بیضه شامل سلول‌های بنیادی سرتولی سلول‌های بینابینی مانند لاییدیگ و ماکروفاژ همراه با یک ماتریکس خارج سلولی است. در این مطالعه ما کاهش تعداد اسپرم و کاهش وزن بیضه داشتیم که نشان می‌دهد. نسبت تعداد اسپرماتیدها و اسپرماتوزوا به حجم دیگر سلول‌ها و ترکیبات بیضه مانند سلول سرتولی و لاییدیگ و ماتریکس خارج سلولی کم شده

Fritz در سال ۱۹۹۹ به رت‌ها از زمان لقاح تا روز ۷۰ بعد از تولد BPA با دوز پایین دادند، اما تاثیر ماده روی پروستات پیدا نکردند (۳۰).

دلایل برای اثرات BPA روی وزن پروستات برخلاف سمینال و زیکول کمتر شناخته شده است. اما تفاوت گونه‌ها و نژاد در پاسخ اختصاصی بافتی به آگونیست‌های ER (استروژن رسپتور) در پروستات در مطالعات انجام گرفته، عنوان شده است. دو مکانیسم پیشنهاد شده برای تاثیر BPA روی بافت پروستات مربوط به Khurana و vom Saal است. عنوان کرد این ماده بیان ژن رسپتورهای استروژنیک را در بافت پروستات افزایش می‌دهد و اثرات استروژنیک خود را به این طریق نشان می‌دهد. از سویی دیگر vom Saal اثرات شبه‌استروژنیک BPA را مانند اثرات استرادیول (استروژن) در نظر گرفت که هیپرتروفی بافت پروستات را به دنبال دارد. هر دو مکانیسم تاثیر این ماده را به پتانسیل استروژنیک BPA نسبت می‌دهند. همچنین کاهش بیان ژن رسپتور اندروژن در سلول‌های استرومال پروستات و اسید فسفاتاز سلول‌های اپی‌تلیال در موش‌های در معرض قرار گرفته به BPA مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که در دوزهای پایین Bisphenol A اثر مخرب بر روی ساختار میکروسکوپی بافت بیضه و پروستات رت‌های بالغ دارد. برای تعیین مکانیسم دقیق عملکرد این ماده نیاز به مطالعات تکمیلی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت کمیته تحصیلات تکمیلی و معاونت آموزشی و پژوهشی اجرا گردید. بدین وسیله از معاونین محترم آموزشی و پژوهشی، کارشناسان آزمایشگاه بافت‌شناسی و آسیب‌شناسی و دانشجویان کارشناسی ارشد بافت‌شناسی سپاسگزاری می‌گردد.

References

- 1) Sullivan JB, Krieger GR. Clinical Environmental Health and Toxic Exposures. 2nd Ed. Philadelphia. Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins. 2001; pp: 362-372.
- 2) Sikka SC, Naz RK. Endocrine Disruptors and Sexual Dysfunction. In: Naz RK, ed. Endocrine Disruptors: Effects on Male and Female Reproductive Systems. First Ed. Florida. CRC press. Boca Raton. 1999; PP: 279-305.
- 3) Lyons G. Bisphenol A A Known Endocrine Disruptor. A WWF European Toxics Programme Report. April 2000
- 4) Bolton NJ, Tapanainen J, Koivisto M, Vihko R. Circulating sex hormone-binding globulin and testosterone in newborns and infants. Clin Endocrinol. 1989; 31(2): 201-7.
- 5) Brotons JA, Olea-Serrano MF, Villalobos M, Pedraza V,

دارد. علت عمده تفاوت در نحوه تجویز BPA می‌باشد. همچنین این محققان BPA را در زمان جنینی و داخل رحمی تجویز کردند. که به نظر می‌رسد به علت عدم تکامل پروستات، تاثیر BPA در داخل رحم کمتر از زمان بلوغ باشد.

Takahashi که به رت‌ها BPA داده بودند کاهش وزن پروستات را مشاهده کردند (۲۴).

Elswick در سال ۲۰۰۰ اثرات مرتبط با آزمایش BPA را روی وزن پروستات در رت‌های ۶ ماهه پیدا کردند (۲۶).

Khurana که اثرات در معرض بودن قبل از تولد به BPA و DES و اکتی فنل (OP) در هیپوفیز و هیپوتالاموس رت‌های ماده و پروستات رت‌های نر را بررسی کرده بودند در نتایج خود اعلام کردند که BPA, OP و به مقدار کم DES عرضه رسپتور ERalpha و ERbeta را در هیپوفیز رت‌های نر و نه رت‌های ماده را افزایش می‌دهد. در حالی که ERهای هیپوتالاموسی نسبت به این مواد حساسیت کمتری نشان داد. DES باعث ERalpha - down regulation در رحم و up-regulation-ERbeta در پروستات میگردد (۲۷).

Fialkowski گزارش کرد که وقتی به نوزادان رت‌ها از طریق گاواژ BPA تجویز گردید، در گروهی که دوز بالا از این ماده گرفته بودند، باعث افزایش وزن پروستات گردید. در حالی که در گروهی که دوز پایین BPA را گرفته بودند تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نکردند (۱۳).

Waechter به موش‌های سوری دوزهای پایین BPA را داد و هیچ اثری روی وزن پروستات مشاهده نکرد (۲۸).

Nagel و همکاران افزایش ۳۰ درصد در وزن پروستات رت‌های نری که مادرشان در حاملگی یک دوز ۲ μg/kg BPA گرفته بودند را مشاهده نمودند (۸).

Liaw وقتی mice را در رحم مادر در معرض BPA قرار دادند، مشاهده کردند که این ماده باعث افزایش و بزرگی پروستات می‌گردد (۲۹).

Olea N. Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. Environ Health Perspect. 1995; 103(6): 608-12.

6) Lambert C, Larroque M. Chromatographic analysis of water and wine samples for phenolic compounds released from food-contact epoxy resins. J Chromatogr Sci. 1997; 35(2):57-62.

7) Olea N, Pulgar R, Perez P, Olea-Serrano F, Rivas A, Novillo-Fertrell A, et al. Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. Environ Health Perspect. 1996; 104(3):298-305.

8) Nagel SC, vom Saal FS, Thayer KA, Dhar MG, Boechler M, Welshons WV. Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. Environ Health Perspect. 1997;

105(1):70-6.

9) vom Saal FS, Cooke PS, Buchanan DL, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, et al. A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. *Toxicol Ind Health*. 1998; 14(1-2): 239-60.

10) Cagen SZ, Waechter JM Jr, Dimond SS, Breslin WJ, Butala JH, Jekat FW, et al. Normal reproductive organ development in CF-1 mice following prenatal exposure to bisphenol A. *Toxicol Sci*. 1999; 50(1):36-44.

11) Sharpe R M, Majdic G, Fisher J, Parte P, Millar MR, Saunders PTK. Effects on testicular development and function. Abstracts 23- 4, 10th International Congress of Endocrinology, San Francisco, the Endocrine Society. Washington DC. June 1996.

12) Cagen SZ, Waechter JM Jr, Dimond SS, Breslin WJ, Butala JH, Jekat FW, et al. Normal reproductive organ development in Wistar rats exposed to bisphenol A in the drinking water. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1999; 30(2 Pt 1): 130-9.

13) Fialkowski O, Chahoud I. The effects of low and high dose in utero exposure to bisphenol A on rat male offspring. *Teratology*. 2000; 61(6):484.

14) Ohsako S, Sakaue M, Ishimura R, Kurosawa S, Yonemoto J, Tohyama CE. Effect of low dose bisphenol A on rat spermatogenesis. Abstract from International symposium on environmental endocrine disrupters, Kobe, Japan, December 1999.

15) Takao T, Nanamiya W, Nagano I, Asaba K, Kawabata K, Hashimoto K. Exposure with the environmental estrogen bisphenol A disrupts the male reproductive tract in young mice. *Life Sci*. 1999; 65(22):2351-7.

16) Motohara S, Seiichiro O, Ryuta I, Shuichi K, Masamichi K, Yoshihiro H, et al. Bisphenol A affects spermatogenesis in the adult rat even at a low dose. *J Occup Health*. 2001; 43(4): 185-190.

17) Atanassova N, McKinnell C, Turner KJ, Walker M, Fisher JS, Morley M, et al. Comparative effects of neonatal exposure of male rats to potent and weak (environmental) estrogens on spermatogenesis at puberty and the relationship to adult testis size and fertility: evidence for stimulatory effects of low estrogen levels. *Endocrinology*. 2000; 141(10):3898-907.

18) Ashby J, Tinwell H, Lefevre PA, Joiner R, Haseman J. The effect on sperm production in adult Sprague-Dawley rats exposed by gavage to bisphenol A between postnatal days 91-97. *Toxicol Sci*. 2003; 74(1):129-38.

19) Ramos JG, Varayoud J, Kass L, Rodriguez H, Costabel L, Munoz-De-Toro M, Luque EH. Bisphenol a induces both transient and permanent histofunctional alterations of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in prenatally exposed male rats. *Endocrinology*. 2003; 144(7):3206-15.

20) Aikawa H, Koyama S, Matsuda M, Nakahashi K, Akazome Y, Mori T. Relief effect of vitamin A on the decreased motility of sperm and the increased incidence of malformed sperm in mice exposed neonatally to bisphenol A. *Cell Tissue Res*. 2004; 315(1):119-24.

21) Evans NP, North T, Dye S, Sweeney T. Differential effects of the endocrine-disrupting compounds bisphenol-A and octylphenol on gonadotropin secretion, in prepubertal ewe lambs. *Domest Anim Endocrinol*. 2004; 26(1):61-73.

22) Kiernan JA. *Histological & Histochemical method*. 3rd Ed. Pergamon Press. 1999; pp: 31-114.

23) Tohei A, Suda S, Taya K, Hashimoto T, Kogo H. Bisphenol A inhibits testicular functions and increases luteinizing hormone secretion in adult male rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2001; 226(3):216-21.

24) Takahashi O, Oishi S. Testicular toxicity of dietary 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (bisphenol A) in F344 rats. *Arch Toxicol*. 2001; 75(1):42-51.

25) Saunders PT, Majdic G, Parte P, Millar MR, Fisher JS, Turner KJ, Sharpe RM. Fetal and perinatal influence of xenoestrogens on testis gene expression. *Adv Exp Med Biol*. 1997; 424:99-110.

26) Elswick BA, Janszen DB, Gould JC, Stedman DB, Welsch F. Effects of perinatal exposure to low doses of bisphenol A in male offspring of Sprague-Dawley rats. *Toxicologist*. 2000; 54(supplement):256A.

27) Khurana S, Ranmal S, Ben-Jonathan N. Exposure of newborn male and female rats to environmental estrogens: delayed and sustained hyperprolactinemia and alterations in estrogen receptor expression. *Endocrinology*. 2000; 141(12):4512-7.

28) Waechter JM Jr, Dimond SS, Breslin WJ, Butala JH, Cagen SZ, Jekat FW, et al. Evaluation of reproductive organ development in CE-1 mice after prenatal exposure to bisphenol A. *Toxicologist*. 1999; 48(1-S):45-50.

29) Liaw JJ, Stedman D, Gould JC, Elswick B, Welsch F. Reproductive development in female rats prenatally and lactationally exposed to bisphenol A. *Toxicologist*. 1998; 42(1-S):176-180.

30) Fritz WA, Lamartiniere CA. The influence of lifetime exposure to dietary bisphenol A on the male rat reproductive tract. *Toxicologist*. 1999; 48(1-S):46.