

## The preemptive role of C and E vitamin against deleterious role of bisphenol A on reproductive hormones in rats

### الفعل المضاد لفيتامين E و C على تأثير البيسفينول A على الهرمونات التكاثرية للجرذان *rats rats*

مواهب بشير جاسم عبد الامير عودة اسماعيل<sup>1</sup> كريم حميد رشيد<sup>2</sup>  
1- كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة كربلاء /2- كلية العلوم – جامعة بابل

#### المخلص :

اجريت الدراسة الحالية في البيت الحيواني لكلية الطب البيطري- جامعة كربلاء لمعرفة مدى التأثير السمي نتيجة التعرض لمادة البيسفينول A اثناء مدة الحمل والرضاعة على مستويات الهرمونات التكاثرية الاستروجين (Estrogen) والشحمون الخصوي (testosterone) وهرمون الاكتيفين (Activin) والهرمون المحفز للجريبات Follicle stimulating hormone والهرمون اللوتيني (Luteinizing hormone) في الجيل الاول من الذكور المعاملة استخدمت في هذه الدراسة 30 انثى جرد حامل قسمت بالتساوي الى ستة مجاميع، المجموعة الاولى جرعت بزيت الذره النقي بتركيز 0.5 مللتر / كيلوغرام عن طريق الفم واعتبرت كمجموعة سيطرة سالبة ومجموعتين جرعت المجموعة الاولى فيتامين C فقط بتركيز 500 ملغرام وجرعت المجموعة الثانية فيتامين E فقط بتركيز 200 ملغرام واعتبرت مجموعة سيطرة موجبة وجرعت المجموعة الرابعة مادة البيسفينول و محلول زيت الذره وجرعة مقدارها 200 ملغرام / كيلوغرام من وزن الجسم والمجموعة الخامسة جرعت البيسفينول بنفس الطريقة السابقة بالاضافة الى فيتامين C بتركيز 500 ملغرام وجرعت المجموعة السادسة بالبيسفينول وفيتامين E بتركيز 200 ملغرام ابتداء من اليوم السادس من الحمل وصولا الى عمر الفطام ثم تم فصل الجيل الاول من صغار الجرذان الى ذكور واناث حيث تم قتل الذكور بعد وصولها الى سن البلوغ لغرض اجراء الاختبارات اللازمة لقياس تركيز الهرمونات المذكوره اعلاه . وقد اظهرت نتائج الدراسة حصول تغيرات في مستويات هذه الهرمونات في كل المجاميع المعاملة بالبيسفينول حتى بوجود مضادات الاكسدة فيتاميني E و C

#### Abstract

This study was carried out at the college of Veterinary Medicine, Kerbala University to determine the effect of pre- and postnatal exposure to Bisphenol A (BPA) on reproductive hormones levels (Luteinizing hormone LH , Follicle stimulating hormone FSH , Estrogen , activin, testosterone) Thirty pregnant female rats (F0) were divided to six groups The first group gived only corn oil as control group and 2 positive control groups the first group treated with vitamin C concentration 500 mg and another group treated with vitamin E concentration 200 mg . The fourth group treated one dose of BPA suspended in corn oil concentration 200 mg/kg/BW ,The fifth group treated with BPA and vit. E And the sixth group treated with BPA and vit. C from gestational day (GD) 6 through postnatal day (PND) 21. The weanlings (F1) from all treated groups(6 of each group) then were subjected to necropsy 3 months of age. The results of effects of Bisphenol A on hormones levels of male rats showed that the treatment with BPA or BPA with antioxidant (C+E) resulted in deleterious effects in hormones levels .From the present study it has been revealed that the antioxidant vitamins (C and E) don't have preemptive role against deleterious role of bisphenol A .

#### المقدمة

ازدادت في السنوات الأخيرة الاصابة بامراض كثيرة بفعل مواد لها القدرة على تغيير او احداث خلل في وظيفة جهاز الغدد الصم والجسم بصورة عامة ومن هذه المواد هو البيسفينول ، الذي انتشر في كل مكان من البيئة خلال الثمانين عام الماضية بسبب دخوله في صناعة العديد من المنتجات الاستهلاكية يومية الاستخدام مثل القناني البلاستيكية ، قناني رضاعات الاطفال ، المنظفات ، لعب الاطفال ، مستحضرات التجميل ، مبيدات الحشرات ، مواد البناء ، حافظات الأغذية ، المواد الالكترونية ، وغيرها [1] وقد ازدادت الحاجة إلى البيسفينول أ خلال السنوات الأخيرة حيث بلغ الانتاج العالمي منه في سنة 2003 (2.3) مليون طن متري في حين تزايد الانتاج في العام 2011 إلى أكثر من (5.5) مليون طن متري [2] . البيسفينول أ او ما يعرف 2,2-bis (hydroxyphenyl) وهو عبارة عن مركب احادي (monomere) يدخل في صناعة البلاستيك متعدد الكربونات وصمغ الايبوكسي اعتبر مؤخراً احد المواد التي تسبب خلل في عمل الغدد الصم (Endocrine disrupting) وذلك بسبب فعاليتها الاستروجينية [3] . وأشارت دراسة [4] ان مستويات البيسفينول الأقل والمساوية 50 ملغم/كغم من وزن الجسم تعتبر سامة

ومؤثرة في تكاثر وتطور ذكور وأنثى الجرذان والفئران وتعمل المستويات الأعلى من 500 ملغم/كغم بالتأثير على خصوبة الفئران (ذكور، أنثى) وقد تؤثر على اختزال وزن الجسم والأعضاء الداخلية وزيادة سمية الكبد .  
يعمل فيتامين C (حامض الاسكوربيك) وهو مضاد اكسدة باطني المنشأ على حماية الخلايا من الفعل المعادي لجذور الاوكسجين الحرة باعطاء ذرة هيدروجين ، كما ثبت بأن فيتامين E وهو مانع اكسدة في الانسجة التكاثرية، كما يعمل هذان الفيتامينان كموانع تأكسد حيث يعملان على حماية خلايا الدماغ [5] . لذا فقد هدفت الدراسة الحالية الى دراسة تأثير مادة البيسفينول أ عند التعرض لها خلال فترتي الحمل والرضاعة على الهرمونات التكاثرية ودراسة الدور الوقائي لفيتاميني E و C في التقليل من هذه التأثيرات او الحد منها .

#### المواد وطرائق العمل :

المركب قيد التجربة البيسفينول A الاسم التجاري هو البيسفينول A (99% , CAS80-05-7, BPA) تم استيراده من شركة Sigma الأميركية وزيت ذرة الذي استخدم في إذابة مركب البيسفينول A وفي تجريع مجموعة السيطرة تم تحضير المحلول الذي جرعت به الجرذان بإذابة البيسفينول A في زيت الذرة اسبوعياً وحسب المجموعة المراد إعطاءها لكل مجموعة من الجرذان الاناث الحوامل التي جرعت البيسفينول A

تضمنت الدراسة الحالية 30 انثى جرذ بالغة و 10 جرذان ذكور بالغة من نوع *Albino rats* حصلنا عليها من وحدة المختبر ، في كلية الصيدلة ، جامعة كربلاء ، العراق . بعمر تراوح ما بين 14- 16 اسبوع وتراوحت اوزانها ما بين (200 – 250 غم) للأنثى و(250- 300غم) للذكور والحيوانات بصحة جيدة ووضعت في اقفاص معدنية لتجنب التعرض للبيسفينول A الذي قد تتعرض له الجرذان في حالة الاقفاص البلاستيكية وزودت الاقفاص بقناني زجاجية لتزويد الحيوانات بالماء ، وضعت الحيوانات في البيت الحيواني لمدة 30 يوم قبل بدأ التجربة وذلك لغرض التطبع والتكيف مع أجواء البيت الحيواني وخضعت لنظام الضوء 12/12 ساعة من الضوء والظلام طول مدة التجربة .

تزاوجت الاناث البالغة مع الذكور البالغة في اقفاص منعزلة ، بعد التزاوج أخذت منها مسحات مهبلية ، للتأكد من وجود الحيامن حيث أن وجودها دليل على اليوم الصفر من الحمل [6] .

تم عزل الاناث الحوامل من هذه الجرذان وتقسيمها إلى ستة مجاميع رئيسية .

1- مجموعة السيطرة (control group) :- 5 أنثى حوامل جرعت زيت ذرة فقط بتركيز (0.5 مل/كغم من وزن الجسم) كل يوم .

2- المجموعة الثانية : 5 أنثى حوامل جرعت البيسفينول A بتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم كل يوم بعد إذابته بزيت الذرة [7]

3- المجموعة الثالثة : 5 أنثى من الجرذان الحوامل جرعت فيتامين E بجرعة مقدارها 200 ملغم .

4- المجموعة الرابعة: 5 أنثى من الجرذان الحوامل جرعت فيتامين C بجرعة مقدارها 500 ملغم .

5- المجموعة الخامسة : 5 أنثى جرذان حوامل جرعت البيسفينول A بتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم مع جرعة من فيتامين E بتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً .

6- المجموعة السادسة : 5 أنثى جرذان حوامل جرعت البيسفينول A بتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم مع جرعة من فيتامين C بتركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً

الاناث الحوامل (منفصلة) جرعت البيسفينول A يومياً تبعاً للمجموعة التابعة لها من اليوم السادس للحمل إلى إنتهاء فترة الرضاعة

كل الصغار من الذكور في المجاميع المعاملة والبالغ عددها 36 ذكر جمعت مع بعضها كل مجموعة لوحدها حيث وضعت كل 6 صغار في قفص منعزل إلى حين البلوغ (90 يوم من العمر) . تم التضحية بستة افراد من كل مجموعة من الذكور واخذت عينات الدم لغرض دراسة التغيرات في معدل مستوى الهرمونات التكاثرية في المصل 0 جمعت عينات الدم بطريقة طعنة القلب Heart punctur ثم وضعت عينة الدم بعد سحبها مباشرة في انابيب اختبار معقمة وجافة سعة 5 مللتر وتركت لمدة 15- 20 دقيقة بدرجة حرارة المختبر ثم نقلت الانابيب الى جهاز الطرد المركزي (3000 دورة/دقيقة) لمدة 15 دقيقة لغرض الحصول على مصل الدم لغرض اجراء الفحوصات الهرمونية، وتم خزنها بدرجة حرارة منخفضة -4 درجة مئوية، كل العينات جمعت في الصباح لتقليل التغيرات النهارية في مستوى الهرمونات قيد الدراسة

1- تقدير هرمون الاكتيفين في المصل (ng/ml)

تم استخدام عدة الاختبار الجاهزة من شركة CUSABIO BIOTECH CO ., LTD. وتم قياسها بجهاز الايلايزا

2- تقدير هرمون الاستروجين في المصل

تم استخدام عدة الاختبار الجاهزة من نوع Monobind Inc . lake forest CA92630

(USA) وتم قياسها بجهاز الايلايزا ايضا

3- الهرمونات التي تم قياس تركيزها بجهاز minividas

التيستوستيرون (ng/ml)

الهرمون اللوتيني (mIU/ml)

الهرمون المحفز للجريبات المبيضية (mIU/ml)

تم استخدام عدة الاختبار الجاهزة من شركة BIOMERIEUX

التحليل الاحصائي

تم اجراء جميع الاختبارات الاحصائية باستخدام نظام SPSS حيث تم التعبير عن النتائج بواسطة ( المعدل  $\pm$  الانحراف المعياري) (Mean  $\pm$  SD) [8]

النتائج ( Results )

تأثير البيسفينول على الهرمونات التكاثرية (الهرمون اللوتيني (LH)، الهرمون المحفز للحويصلات المبيضية (FSH)، الاستروجين، الشحمون الخصوي (Testosterone)، الاكتيفين)

يبين الجدول (1) وجود انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في مستوى الهرمون اللوتيني (LH) لدى الجرذان في المجاميع المعاملة بالبيسفينول بتركيز 200 ملغم/كغم/ من وزن الجسم والمجموعه المعامله بالبيسفينول 200 ملغم/ كغم / من وزن الجسم بالاضافه الى فيتامين C والمجموعه المعامله بالبيسفينول بالاضافه الى فيتامين E مقارنة بمجموعه السيطرة و مجموعتي السيطرة الموجبه (C,E).

كما يبين الجدول وجود انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع المعامله بالبيسفينول بتركيز 200 ملغم/كغم والمجموعتين المعامله بالبيسفينول مع فيتامين (E,C) وبنفس التركيز مقارنة بمجموعه السيطرة.

في حين لم تظهر فروق معنويه في مستوى الهرمون المحفز للجريبات (FSH) وهرمون الاستروجين بين المجاميع المعامله جميعها مقارنة بمجموعه السيطرة

كما يبين الجدول (1) وجود انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في مستوى هرمون التستوستيرون في المجموعه المعامله بتركيز 200 ملغ /كغم من البيسفينول بالاضافه الى فيتامين C مقارنة بمجموعه السيطرة ووجود انخفاض معنوي في المجموعه المعامله بتركيز 200 من البيسفينول بالاضافه الى فيتامين C مقارنة بالمجموعه المعامله بتركيز 200 من وزن الجسم من البيسفينول بالاضافه الى فيتامين E.

و يبين الجدول (1) وجود انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى هرمون الاكتيفين في كل المجاميع المعامله بالمقارنة مع مجموعه السيطرة الموجبه المعامله بفيتامين E فقط في حين لم توجد فروق معنويه بين المجاميع المعامله.

جدول (1) تأثير البيسفينول على بعض الهرمونات التكاثرية في ذكور الجرذان المعاملة امهاتهم خلال فترة الحمل والرضاعة

Parameters		LH mlU/ml	FSH mlU/ml	Estrogen pg/ml	Testosterone ng/ml	Activin pg/ml
Control groups	Control	0.41 $\pm$ 0.062 A	0.3 $\pm$ 0.07 AF	52.1 $\pm$ 11.34 A	2.57 $\pm$ 0.81 A	1294.5 $\pm$ 582.7 AC
	Evit	0.38 $\pm$ 0.06 A	0.31 $\pm$ 0.07 AF	30.05 $\pm$ 5.80 AE	1.73 $\pm$ 1.08 AEFG	1869.8 $\pm$ 658.93 C
	Cvit	0.33 $\pm$ 0.06 ADC	0.33 $\pm$ 0.06 F	30.68 $\pm$ 11.77 AE	1.96 $\pm$ 0.94 AG	718.5 $\pm$ 147.96 AD
BPA 200 mg /kg b. w.	BPA	0.05 $\pm$ 0.01 E	0.1 $\pm$ 0 BC	36.96 $\pm$ 6.66 AC	0.92 $\pm$ 0.42 AC	644.5 $\pm$ 224.89 AD
	BPA + Evit	0.09 $\pm$ 0.04 BCE	0.13 $\pm$ 0.05 BC	50.51 $\pm$ 21.95 A	1.91 $\pm$ 0.52 AD	446.3 $\pm$ 228.31 AD
	BPA + Cvit	0.1 $\pm$ 0 BDE	0.11 $\pm$ 0.01 BC	45.33 $\pm$ 10.64 AD	0.1 $\pm$ 0 BCE	369.7 $\pm$ 187.83 AD

الحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي بمقدار ( $p \leq 0.05$ ) القيم تمثل (mean  $\pm$  SE)

اظهرت الدراسة الحالية وجود تغيرات في مستوى الهرمونات التكاثرية ، ويعتبر البيسفينول هو من اهم المواد المسببة لهذه التغيرات نتيجة لحدوث اضطرابات معينة في جهاز الغدد الصم .

فقد اظهرت نتائج الدراسة الحالية اختلافات معنوية في مستوى الهرمون اللوتيني (LH) بالنسبة لمجاميع الذكور المعاملة مع بعضها حيث انخفض مستواه في المجاميع المعاملة بالبيسفينول اكثر من المجاميع المعاملة بالبيسفينول ومضادات الاكسدة

ان لانخفاض LH عند المعاملة بالبيسفينول له عدة اسباب حسب تفاسير الدراسات السابقة التي توصلت الى نفس النتيجة حيث اكدت دراسة (9) . ان انخفاض LH يعود لتاثير البيسفينول الذي يحث على تقليل بناء هذا الهرمون في الغدة النخامية . حيث يعمل البيسفينول على تغيير تكرارات تدفق الهرمون الموجه للغدد التناسلية (GnRH) وزيادة تكرار وصوله الى القمة في الساعة الواحدة مما يؤدي الى فقدان تحسس الغدة النخامية لهذا الارتفاع المتكرر وبالتالي قلة الاستجابة لافراز الهرمون اللوتيني تدريجيا حيث اظهرت الدراسات ان خلايا الغدة النخامية تظهر اختزال في انتاج LH عند معاملة البيسفينول في فترة الحمل والرضاعة وهي فترة مهمة في تطور الفرد ، مما يؤثر على الصفات الجنسية الفلسجية الخاصة بالفرد (10) كما اكدت الدراسات ان المعاملة بالبيسفينول تؤدي الى تبدل التمايز الجنسي للدماغ وتغير في انتاج هرمون GnRH ومستلمات الاستروجيني وLH في تحت المهاد (hypothalamic) يعمل البيسفينول على تبدل في تركيب منطقتين (sexually dimorphisim) موجودتان في تحت المهاد وهما Anteroventarl Periventricular و (SDN) Sexually Dimorphisim Nucleus و (AVPV) Nucleus (12,11) حيث يعمل GnRH على خلايا (Gonadotrope) في الجزء الامامي من الغدة النخامية لتحفيز وبناء LH و FSH ان تكرار نبضات GnRH تحدد سيادة انتاج الهرمون حيث ان تكرار النبضات السريع لـ GnRH ينتج LH بينما البطيء ينتج FSH (13) وقد يعود سبب اختزال LH الى تدهور بناء هرمون الشحمون الخصوي بسبب المعاملة بالبيسفينول (14) حيث يعمل البيسفينول كمضاد للاندروجينات و هي هرمونات ذكورية مسؤولة عن نمو الاعضاء التناسلية في الذكور وبناء العضلات وتخزين الكالسيوم في الجسم ومن اهمها هرمون الشحمون الخصوي . حيث يعلق البيسفينول فعل Di HydroTestosterone (DHT) (16) (15) ان نقصان LH في هذه الدراسة في امصال الذكور يتفق مع دراسة (17) . حيث يعود السبب في اختزال مستوى LH الى قابلية البيسفينول للتداخل مع مستلمات LH مما يؤدي الى منعه من الازدواج معها وعدم قدرته على تحفيز عملية صنع السيترويدات (18) او بسبب زيادة البرولاكتين مما يؤدي الى حالة Hyperprolactinemia التي تحصل بعد المعاملة بالبيسفينول (19) مما يؤدي الى اضطراب الوظائف التكاثرية وهذا الاضطراب يؤثر مباشرة على (HTP) مما يثبط انتاج هرمون LH وافرازه (20,21,22) . كما ان البيسفينول يعمل على تغيير مستويات الهرمونات في المصل حيث يؤدي الى زيادة الهرمون اللوتيني ونقصان الشحمون الخصوي كما يدل على ان البيسفينول يمر خلال الحاجز الجنيني الدموي (Blood Ebryo - Barrier) مما يؤدي الى اضطراب في تحت المهاد ان ارتفاع LH دلالة على عدم الخصوبة وذلك لان افرازه يرتبط بسيطرة Hypothalamic- pituitary gonadal axis لذا فان ارتفاع مستوياته في مجرى الدم يعتبر مؤشر لانخفاض انتاج السيترويدات الجنسية من الخصية او المبيض مثال في حالة فشل المبيض الذي يسبق البلوغ premature ovarian failure ويرتبط ارتفاعه بحالة متلازمة المبيض متعدد الاكياس Poly Cystic- Ovarian Symptom وبالتالي يؤدي الى اختزال الخصوبة اما بالنسبة للهرمون المحفز للجريبات فقد اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم تغير تركيزه في كل المجاميع المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة وهذه النتيجة تتفق مع عدة دراسات (23,24) يلعب FSH والشحمون الخصوي دور اساسي في عملية تكون النطف Spermatogenesis وان نقصانه يؤدي الى اضطرابات ولكن ليس دائما ، تؤدي الجرعة المنخفضة من البيسفينول الى زيادة افراز LH وليس FSH وان عدم التاثير هذا ليست مفهومة لحد الان ولكن يختلف افراز FSH عن LH في المجاميع الطبيعية (25) . ان العوامل التي تسيطر على افراز FSH هي اقل وضوحا من تلك التي تسيطر على افراز الهرمون اللوتيني كمثال ان اعتماد افراز FSH على GnRH يقل خلال البلوغ ان التغير في مستوى FSH من منتصف البلوغ الى نهايته يكون غير معنوي اشارة الى تثبيط ميكانيكية التغذية الراجعة من المناسل كما ان FSH لا يتاثر فقط بالشحمون الخصوي / الاستروجين لكن ايضا بهرمون الانهيبيين inhibin من الخصيتين وهو يمتلك عمر نصف يبلغ (180-200) دقيقة مقارنة بـ LH الذي يكون عمر النصف له اقل (90-60) دقيقة (26)

اما هرمون الاستروجين فقد توصلت نتائج الدراسة الحالية الى انخفاض تركيزه في المجموعة المعاملة بالبيسفينول وفيتامين E فقط في الذكور وهذا يتفق مع دراسة (19) اذ توصلت الى انخفاض معنوي لـ  $17\beta$ - (oestradiol) بعد 42 يوم من المعاملة بالبيسفينول مقارنة بمجموعة السيطرة و اكدت ان انخفاض الاسترجين ربما يكون المسؤول عن الموت والتكسبات التي تحصل في الخلايا الجنسية في الذكور وان سبب انخفاض الاسترايول قد يعود الى تاثير البيسفينول المسؤول عن عملية Aromatization حيث يتحول فيها الشحمون الخصوي الى

استراديول ، و يؤدي الى انخفاض البناء الحيوي لهذا الانزيم حيث لوحظ ان الكروسوم الخاص لهذا الانزيم (p450arom) اظهر انه مستهدف من قبل البيسفينول .

اما فيما يتعلق بمستوى هرمون الشحمون الخصوي فقد توصلت نتائج الدراسة الحالية الى انخفاض مستواه في المجموعة المعاملة بالبيسفينول وفيتامين C مقارنة بمجموعة السيطرة من الذكور

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسات عديدة اكدت انخفاض مستوى هرمون الشحمون الخصوي في الجرذان حيث اكدت الدراسات ان المعاملة بالبيسفينول في فترة prenatal تؤدي الى نقصان في اوزان الاعضاء التكاثرية وارتبطت باختزال مستويات الشحمون الخصوي او (DHT) DiHydroTestosteron او كلاهما يأتي نتيجة لاختزال انزيم 5 $\alpha$ -reductase وهو الانزيم المسؤول عن تحويل الشحمون الخصوي الى DHT (27) . كما توصل (17) ان نقصان الشحمون الخصوي ناتج من نقصان انتاجه بسبب تأثير البيسفينول على خلايا لايدج حيث يعمل البيسفينول على اختزال عددها بعد 6 اسابيع من المعاملة بالبيسفينول مما يؤدي الى انخفاض مستوى الشحمون الخصوي (16) كما اكدت الدراسات (28) (29) ان الجرعة المنخفضة من البيسفينول تؤدي الى اختزال الشحمون الخصوي عند المعاملة خلال فترة Postnatal في الفئران ولكن ليس المعاملة في الرحم . او يعود سبب انخفاض الشحمون الخصوي الى ان البيسفينول يعمل على تقليل التعبير الجيني للانزيمات الخاصة ب Steroidogenic ويؤثر على حاملات الكوليسترول (stAR) التي تشترك في بناء تركيز هذا الهرمون في خلية اجنة الفئران والانسان والجرذان في دراسات اجريت خارج الجسم كما يعمل البيسفينول على اختزال مستويات هرمون الشحمون الخصوي في ذكور الجرذان خلال فترات التطور الحرجة بسبب فعالية الاستروجينية ويعمل كمضاد للاندروجينات وفي كلا الحالتين يعمل على تقليل انتاج الشحمون الخصوي (30) حيث يعمل البيسفينول على غلق فعل DHT ويعمل على تقليل الاستجابة الجنسية للـ HCG لاننتاج الشحمون الخصوي (31) وهذا لا يتفق مع دراسة (32) التي توصلت الى عدم وجود تأثير للبيسفينول على الشحمون الخصوي في حين توصلت دراسة (33) الى زيادته .

ان الدراسات التي تناولت علاقة تركيز الاكتيفين بالمعاملة بالبيسفينول هي نادرة جدا او معدومة وتعتبر الدراسة الحالية هي من اولى الدراسات لمعرفة علاقة الاكتيفين بالبيسفينول ان انخفاض تركيز هرمون الاكتيفين يحدث في عدة حالات منها دور الانهيين في اختزال افراز الاكتيفين وزيادة انتاج الاندروجينات بواسطة اغلاق التأثير القمعي للاكتيفين A,B حيث يعمل الاكتيفين على تثبيط بناء الاندروجينات (34) كما ينخفض الاكتيفين خلال تمايز الخلايا الدهنية adipocyte حيث تثبط اشارات الاكتيفين خلال عملية adipogenesis في الانسان (35) كما اكدت دراسة (36) ان مستويات الاكتيفين انخفضت معنويا في المجموعة التي عانت من Azoospermia وهذا يتفق مع دراستنا الحالية حيث اظهرت نتائج الدراسة انخفاض معنوي لعدد النطف في الذكور المعاملة بالبيسفينول . واكدت الدراسة (37) اختفاء الاكتيفين في البلازما بعد العمليات الجراحية التي تمنع انتاج الحيوانات المنوية (Vasectomy) .

#### المصادر

- 1- Chapin, R. E; Adams, J;Boekelheide, K; Gray, L. E; Jr; Hayward, S. W; Lees, P. S; McIntyre, B. S; Portier, K. M; Schnorr, T. M; Selevan, S. G; Vandenbergh, J. G. and Woskie, S. R. (2008). NTP-CERHR expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of bisphenol A. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.*, (83) 157-395.
- 2- Greiner, E; Kaelin, T; Nakamura, K;( 2007). Bisphenol A. CEH Report by *SRI Consulting*.
- 3- Tsai, W.T., (2006). Human health risk on environmental exposure to bisphenol-A: a review. *J. Environ. Sci. Health* ( 24), 225-255.
- 4- Richter, C.; Birnbaum, L.S.; Farabollini, F.; Newbold, R.R.; Rubin B.S.; Talsness CE, Vandenbergh, J. G.; Walser-Kuntz, D. R. and vom Saal, F. S.( 2007). In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reprod Toxicol.*, 24(2): 199-224.
- 5- Chattopadhyay, D; Arunchalam, G; Mandal, A.B.; Sur, T.K; Mandal, S.C; Bhattacharya, S.K; (2002). Antimicrobial and anti-inflammatory activity of folklore: *Mallotus peltatus* leaf extract. *J Ethnopharm.*, (82), 229-237.
- 6- Barcelona, R. S.; Fanelli, O. and Campana, A. (1977). Teratological study in rat and rabbit. *Toxicol.*, (2): 87-94.
- 7- vom Saal, F.S. and Hughes, C. (2005). An extensive new literature concerning low – dose effects of bisphenol-A shows the need for anew risk assessment. *Environ Health Perspect.*, (113): 926-933.

- 8- SPSS Statistical Packages for the Social Sciences. 2001: Statistical software for windows version 13.0 Micrisoft. SPSS, Chicago, IL, USA
- 9- Matagne, V.; Rasier, G.; Lebrethon, M.C.; Gérard, A. and Bourguignon, J.P.(2004). Estradiol stimulation of pulsatile gonadotropin releasing hormone secretion in vitro: correlation with perinatal exposure to sex steroids and induction of sexual precocity in vivo. *Endocrinol.*, (145):2775-2783.
- 10- Rasier, G.; Parent, A.S.; Gerard, A.; Lebrethon, M,C.; and Bourguignon JP. (2007). Early maturation of gonadotropin-releasing hormone secretion and sexual precocity after exposure of infant female rats to estradiol or dichlorodiphenyltrichloro ethane. *Biol Reprod.*, (77):734-742.
- 11- Benson, G.V.; Lim, H.; Paria, B.C.; Satokata, I.; Dey, S.K. and Maas, R.L. (1996). Mechanisms of reduced fertility in Hoxa-10 mutant mice: uterine homeosis and loss of maternal Hoxa-10 expression. *Develop.*, (122):2687–2696.
- 12- Monje, L.; Varayoud, J.; Muñoz-de-Toro, M.; Luque, E.H. and Ramos, J.G. (2010). Exposure of neonatal female rats to bisphenol A disrupts hypothalamic LHRH pre-mRNA processing and estrogen receptor alpha expression in nuclei controlling estrous cyclicity. *ReprodToxicol.*, (30): 625–634.
- 13- Rubin, B.S. (2011). Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *J Steroid Biochem Mole Biol.*, (127):27–34.
- 14- Fernandez, M.; Bianchi, M.; Lux-Lantos, V. and Libertun, C. (2009). Neonatal exposure to bisphenol a alters reproductive parameters and gonadotropin releasing hormone signaling in female rats. *Environ Health Perspect.*, (117): 757-762
- 15- Nakamura, D.; Xanagika Y.; Duan, Z.; Ito Y.; Okamura, A.; Asaeda, N.; Jagawa, Y.; Naito, H. and Nakajima; T. (2010). Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol. *Toxicol Lett.*, (194): 16-25.
- 16- Sohoni, P. and Sumpter, J. P. (1998). Several environmental estrogens are also anti- androgens. *J Endocrinol.*, 158(3): 327-339.
- 17- Sun, H.; Shen, O.X.; Wang, X.R.; Zhou, L; Zhen, S.Q.; Chen, X.D.(2009). Anti-thyroid hormone activity of bisphenol A, tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A in an improved reporter gene assay. *Toxicol. In Vitro*, 23(5): 950–954.
- 18- Akingbemi, B.T.; Sottas, C.M.; Koulova, A.I.; Klinefelter, G.R.,and Hardy, M.P. (2004). Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. *Endocrinol.*, (145): 592–603.
- 19- Nikula, H.; Talonpoika, T.; Kaleva, M. and Toppari, J. (1999). Inhibition of hCG – stimulated steroidogenesis in cultured mouse leydig tumor cells by bisphenol A and octylphenols. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, (157): 166-173.
- 20- Takao, T.; Nanamiya, W.; Nogano, I.; Asaba, K.; Kawabata, K. and Hashimoto, K. (1999). Exposure with the environmental estrogen bisphenol A disrupts the male reproductive tract in young mice. *Life Sci.* (65): 2351-2357.
- 21- Koike, K.; Aono, T.; Miyake, A.; Tasaka, K.; Chatani, F.and Kurachi, K. (1984). Effect of pituitary transplants on the LH–RH concentrations in the medial basal hypothalamus and hypophysial portal blood. *Brain Res.*, (301):253–258.
- 22- Park, K.; Keenan, M.W. and Selmanoff, M. (1993). hyperprolactinemia first suppresses LH pulse frequency and then pulse amplitude in castrated male rats. *Neuroendocrinol.*, (58):448–453.
- 23- Hamada, T.; Watanabe, G.; Kokuho, T.; Taya, K.; Sasamoto, S.; Hasegawa, Y.; Miyamoto, K. and Igarashi, M. (1989). Radioimmunoassay of inhibin in various mammals. *J Endocrinol.*, (122):697–704.

- 24- Yamasaki, K. and Okudab, H. (2012). Comparison of endocrine-mediated effects of two bisphenol A related compounds, 2,2-bis(4-cyanatophenyl)propane and 4,4'-cyclohexylidenebisphenol, based on subacute oral toxicity studies using rats. *Toxicol. Lett.*, (208): 162– 167.
- 25- Watanabe, S.; Wang, R.; Miyagowa, M.; Kobayashi, K.; Suda, M.; Sekiguchi, S. and Homma, T. (2003). Imbalance of testosterone levels in male offspring of rats perinatally exposed to bisphenol A. *Indust. Health.*, (41) : 338-341.
- 26- Ruwanpura, S.M.; McLachlan, R.I. and Meachem, S.J. (2010). Hormonal regulation of male germ cell development. *J Endocrinol.*, (205): 117–131.
- 27- Vale ,W, River J, Vaughan J, McClintock R, Corrigan A, WooW. (1986). Purification and characterization of an FSH releasing protein from porcine ovarian follicular fluid. *Nature* (321) 776–779.
- 28- Kuiper, R.V.; Canton, R.F.; Leonards, P.E.; Jenssen, B.M.; Dubbeldam, M.; Wester, P.W.; van den Berg, M.; Vos, J.G. and Vethaak, A.D. 49(2007). Long-term exposure of European flounder (*Platichthys flesus*) to the flame-retardants tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecane (HBCD). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 67 (3): 349–360.
- 29- Chitra, K.C.; Latchoumycandane, C. and Mathur, P. P. (2003). Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicol.*, 185, (1-2): 119-127.
- 30- Xi, W.; Lee, C.K.F.; Yeung, W.S.B.; Giesy, J. P.; Wong, M. A.; Zhang, X. and Hecker, M. (2011). Effect of perinatal and postnatal bisphenol A exposure to the regulatory circuits at the hypothalamus- pituitary–gonadal axis of CD-1 mice. *Reprod Toxicol.*, (31): 409-417.
- 31- LaRocca, J.; Boyajian, A.; Brown, C.; Smith, S.D. and Hixon, M. (2011). Effects of in utero exposure to Bisphenol A or diethylstilbestrol on the adult male reproductive system. *Birth Defects Res B Dev. Reprod Toxicol.* (92): 526-533.
- 32- Muroño, E.P.; Derk, R.C. and de Leon, J.H. (2001). Differential effects of octylphenol, 17beta-estradiol, endosulfan, or bisphenol A on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells. *Reprod. Toxicol.*, (15): 551-560.
- 33- Tohei, A.; Suda, S.; Taya, K.; Hashimoto, T. and Kogo, H. (2001). Bisphenol-A inhibits testicular functions and increased luteinizing hormone secretion in adult male rats. *Exp. Biol. Med.*, (226): 216-221.
- 34- Kato, Y.; Furuhashi, T.; Tanaka, M.; Katsu, Y.; Watanabe, H.; Ohta, Y. and Iguchi, T. (2006). Effects of bisphenol A given neonatally on reproductive function of male rats. *Reprod Toxicol.*, (22): 20-29.
- 35- Ramos, J. G.; Varayoud, J.; Kass, L. ; Rodriguez, H.; Costabel, L.; Munoz-De-Toro M., and Luque, E. H (2003): Bisphenol A induces both transient and permanent histofunctional alterations of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in prenatally exposed male rats. *Endocrinol.* 144(7): 3206-3215.
- 36- Young, D.C. (1990). Effects of drugs on clinical laboratory tests. 3<sup>rd</sup> Ed.: 6-12.
- 37- Akingbemi, B. T., C. M. Sottas, A. I. Koulova, G. R. Klinefelter and M. P. Hardy (2004): "Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells." *Endocrinology* 145(2): 592-603.