[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و هفتم، شماره پنج، مرداد۱۳۹۸
تاریخ دریافت:۱۳۹۷/۸/۲۷
تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۱۰/۸

اثرات تیمار نوزادی متیل‌پارابن بر آغاز بلوغ، چرخه فحلی و تکامل فولیکول‌های تخمدان موش‌های سورینژاد Balb/c

لیلی محمدی[۱]، رحمت‌اله پرندین*[۱]، پویا پورنقی[۱]

مقاله پژوهشی

مقدمه: متیل‌پارابن (MP) ازجمله آلاینده‌های گزنواستروژن است که به‌دلیل خواص آنتی باکتریایی درگروه مواد نگه‌دارنده طبقه‌بندی می‌شود. هدف از مطالعه حاضر تیمار نوزادی موش‌های ماده با MPو بررسی اثرات آن بر بلوغ، چرخه فحلی و فولیکول‌های تخمدان می‌باشد.

روش بررسی:در این مطالعه تجربی، موش‌های یک‌روزه با نژاد Balb/cبه‌طور تصادفی به ۵ گروه (n=۸) شامل کنترل، و سه گروه MP با دوزهای ۰/۸، ۴ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. تزریق به‌روش زیرجلدی طی ۵ روز اول پس از تولد و هر روز یک‌نوبت انجام شد. روز بازشدن واژن به‌عنوان نشانه آغاز بلوغ و چرخه فحلی به مدت یک‌ماه بررسی شد. موش‌ها در ۷۰ روزگی کشته شده، سرم و تخمدان جهت مطالعات هورمونی و شمارش فولیکول‌ها گردآوری شدند. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS Inc., Chicago, IL; version 18انجام گرفت و جهت مقایسه گروه‌های مختلف از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد.

نتایج:روز آغاز بلوغ در گروه‌های ۴ (p<۰/۰۵)و ۲۰MP (p<۰/۰۰۱) سریع‌تر به‌وقوع پیوست. میانگین مدت زمان چرخه‌فحلی در گروه‌های ۴ (p<۰/۰۵) و ۲۰MP (p<۰/۰۰۱) افزایش و تعداد چرخه فحلی و شاخص دی‌استروس در گروه‌های ۴ (p<۰/۰۱)و ۲۰MP (p<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. کاهش تعداد فولیکول‌ها و جسم زرد در گروه‌های ۴ و ۲۰MP مشاهده شد. غلظت استرادیول در گروه‌های ۴ (p<۰/۰۵) و ۲۰MP (p<۰/۰۰۱)افزایش و غلظت LH(luteinizing hormone)در گروه‌های ۴ و ۲۰MP در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (p<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد مواجهه MPدر دوره نوزادی می‌تواند موجب بلوغ زودرس، اختلال در چرخه‌فحلی، کاهش فولیکول‌ها و جسم زرد و اختلال در تراوش هورمون‌های جنسی موش‌ها گردد.

واژه‌های کلیدی:بلوغ، تخمدان، چرخه فحلی، موش.

ارجاع: محمدی لیلی، پرندین رحمت اله، پورنقی پویا. **اثرات تیمار نوزادی متیل‌پارابن بر آغاز بلوغ، چرخه فحلی و تکامل فولیکول‌های تخمدان موش‌های سوری نژاد** Balb/c.مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۸؛ ۲۷ (۵): ۶۷-۱۵۵۶.

۱-گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

*(نویسنده مسئول)؛تلفن:۰۹۰۳۱۷۸۶۷۱۹، پست الکترونیکی: rahmatparandin@pnu.ac.ir، صندوق پستی:۴۶۹۷-۱۹۳۹۵

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

مقدمه

ترکیبات محیطی مداخله‌گر اندوکرینی Endocrine disrupting chemicals (EDCs)، دسته‌ای از محصولات طبیعی یا مصنوعی‌می‌باشند، که توانایی تقلید یا دخالت در فعالیت‌های زیستی هورمون‌های درون‌زاد (endogen) را دارند. در چند سال اخیرتمرکز زیادی بر اثرات زیان‌آور برخیEDCs برانسان‌ها و جوندگان شده است (۱،۲) .یک EDC، یک ماده برونزاد (exogen) یا خارجی می‌باشد که در تولید، ترشح، انتقال، متابولیسم، عملکرد یا حذف‌شدن هورمون‌های درون‌زاد دخالت کرده و می‌تواند اعمال فیزیولوژیکی بدن را تحت تاثیر قرار دهد(۳). EDCs شبه‌هورمونی، به مقدار قابل توجهی در تعدادی از محصولات صنعتی از جمله محصولات پلاستیکی، مواد آرایشی و بهداشتی، بطری‌های آب معدنی و سایر نوشیدنی‌ها، ظروف یکبار مصرف، تجهیزات دندان‌پزشکی و همین‌طور در ترکیبات گیاهی از جمله فیتواستروژن‌ها یافت می‌شوند.گزنواستروژن‌ها (Xenoestrogens) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین و فراوان‌ترین EDCs، ترکیباتی هستند که از نظر ساختاری و عملکرد، شبیه هورمون استرادیول عمل می‌کنند و به این دلیل با اتصال به گیرنده‌های استروژن موجب اختلال در طیف گسترده‌ای از فرآیندهای طبیعی سیگنالینگ مرتبط با استروژن‌های درون‌زاد می‌شوند (۳-۱).

درحال حاضر بیشترین نگرانی‌ها در مورد عوارض EDCs متوجه سلامتی تولیدمثلی شده‌است. ازجمله این عوارض می‌توان به کاهش اسپرم در نرها و اختلال یا کاهش فولیکول‌های تخمدان، تغییرات چرخه جنسی، تغییرات در سن شروع بلوغ، اختلالات هورمون‌های جنسی، افزایش شیوع سرطان اندام‌های دستگاه تولیدمثل، ناهنجاری‌های جنسیتی و در نهایت ناباروری و کم‌باروری اشاره داشت (۵-۱). دوره نوزادی به‌علت ادامه تکوین و رشد اندام‌ها و بافت‌های بدن به‌ویژه دستگاه تولیدمثل در مقایسه با مراحل بعدی زندگی بسیار بیشتر در معرض عوارض مواجهه با EDCs هستند. در واقع مواجهه با این ترکیبات، در ریخت‌زایی و تمایز بافتی اندام‌های حساس در حال رشد و مرتبط با عملکرد تولیدمثلی در هر دو مرحله پیش و پس از تولد حائز اهمیت هستند. بسیاری از این وقایع تمایزی، وابسته به‌وجود محیطی با حداقل استروژن‌ها هستند و به این دلیل حضور نابه‌جای EDCsاستروژنیک در این محیط‌ها می‌توانند اثرات سوئی را بر سلامتی تولیدمثلی برجای بگذارند (۱،۴،۵).

پارابن‌ها از جمله EDCs استروژنیک هستند که به‌دلیل خواص آنتی‌باکتریایی وجلوگیری از رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها در گروه مواد نگه‌دارنده طبقه‌بندی می‌شوند .مهم‌ترین و پرکاربردترین پارابن‌ها شامل متیل‌پارابن، اتیل‌پارابن، پروپیل‌پارابن، بنزیل‌پارابن و بوتیل‌پارابن می‌باشند. پارابن‌ها به‌طور عمده در دوام فروشگاهی محصولات غذایی، دارویی، لوازم آرایشی، ضدآفتاب‌ها و محصولات مراقبت از پوست، هم‌چنین در شامپوها، صابون‌ها و محصولات بوزدا (deodorants) استفاده می‌شوند، اما استفاده مرسوم از پارابن‌ها در لوازم آرایشی و بهداشتی است. به‌دلیل قیمت ارزان و عملکرد فوق‌العاده پارابن‌ها در جلوگیری از رشد باکتری‌ها، شرکت‌های بسیاری از این مواد در تولید محصولاتخود استفاده می‌کنند. طبق آمار، پارابن‌ها در بیش از ۹۰درصد محصولات آرایشی و بهداشتی وجود دارند (۶،۷). مطالعات حیوانات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که پارابن‌ها به‌سرعت از راه دستگاه گوارش و پوست جذب خون شده و مشابه ترکیبات چربی‌دوست قادر به تجمع در بافت‌های چربی هستند (۸). همین‌طور برخی مطالعات نشان داده‌اند که برخی پارابن‌ها به‌دلیل فعالیت شبه استروژنی‌شان در بروز سرطان پستان و اختلالات تولیدمثلی از جمله تغییرات هیستولوژیک در رحم، تخمدان و بیضه نقش دارند (۹).

متیل‌پارابن، پارابنی است که به‌عنوان نگه‌دارنده استفاده گسترده‌ای در محصولات مصرفی و آرایشی و بهداشتی دارد. مقایسه پارابن‌ها نشان می‌دهد که متیل‌پارابن در بالاترین سطوح در بافت‌ها وجوددارد و به میزان ۶۲ درصد از کل پارابن‌هایی که از بافت‌ها استخراج شده‌است را شامل می‌شود (۸،۱۰). هم‌چنین مطالعات نشان می‌دهد که متیل‌پارابنموجود در لوازم آرایشی به میزان زیادی در پوست نفوذ می‌کرده و

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

مقاومت بالایی در برابر هیدرولیز به‌وسیله پوست انسان و بافت چربی زیرپوستی نشان می‌دهد (۱۱،۱۰). مطالعات نشان داده که متیل‌پارابن‌به‌دلیل شباهت ساختاری با استروژن می‌تواند اثر استروژن‌های درون‌زاد را به وسیله اتصال با گیرنده های استروژن تقلیدکند (۱۲-۸).

این‌که دوره نوزادی، دوران بسیار حساسی است و هنوز محور هیپوتالاموس هیپوفیزتخمدان (HPG) به‌ویژه نواحی مغزی در حال رشد و تکوین است، لذا در این تحقیق، مواجهه متیل‌پارابن در طی دوره نوزادی و اثرات آن بر زمان آغاز بلوغ، چرخه فحلی، محتوی فولیکولی تخمدان و هورمون‌های جنسی ماده بررسی شد.

روش بررسی

حیوانات، گروه‌بندی و تیمار

در این مطالعه تجربی از تعداد ۲۵ سر موش سوری حامله با نژاد Balb/cخریداری شده از مرکز پرورش و نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه استفاده‌شد. موش‌ها در قفس‌های پلاستیکی استاندارد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت ۵±۵۰ درصد و دمای ۱±۲۱ درجه سانتی‌گراد با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. موش‌های حامله پس از طی دوران بارداری، نوزادان خود را به‌صورت طبیعی به‌دنیا آورند. سپس نوزادانبه همراه مادر به‌طور تصادفی مطابق گروه‌بندی زیر به ۵ گروه شامل کنترل (فاقد تیمار)، شاهد (روغن ذرت به‌عنوان حلال دارو) و سه گروه تجربی دریافت‌کننده متیل‌پارابن با دوزهای ۰/۸، ۴و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند. انتخاب دوزها بر اساس مطالعه قبلییعنی بررسی فعالیت استروژنی متیل‌پارابن در دوزهای نزدیک به مصارف روزانه بود، انجام شد (۱۲). تزریق‌ها به روش زیرجلدی با استفاده از سرنگ انسولین به ناحیه پشت گردن نوزادان طی ۵ روز اول پس از تولد و هر روز یک مرتبه بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح انجام گرفت (۱۳). همه موش‌ها جهت بررسی سلامتی و دقت دوز دارو،روزانه قبل از تزریق دارو وزن شدند. زاده‌ها در روز ۲۱ پس از تولد از مادر جداشده، سپس از هر مادر۱ تا ۲فرزند با جنس ماده به‌طور تصادفی انتخاب شده و در گروه‌های۸ تایی جهت بررسی‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی آغاز بلوغ و چرخه فحلی

از روز ۲۴ پس از تولد، موش‌ها جهت بررسی بازشدن واژنVaginal opening(VO) از راه مشاهده چشمی ایجاد شکاف طولی در واژن به‌صورت روزانه مطالعه شدند. در جوندگان آغاز بلوغ جنسی با وقوع VO به‌عنوان یک نشانه بیرونی مناسب فعال شدن محور HPG (هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد) تعیین می‌گردد که درحدود ۴ هفته پس از تولد در موش‌های آزمایشگاهی مشاهده می‌شود (۱۳،۱۴) .جهت بررسی چرخه‌فحلی، اولین استروس در موش‌ها با مشاهده سلول‌های شاخی‌شده در حدود ۲ تا ۱۰ روز پس از مشاهده بازشدن واژن اتفاق می‌افتد (۱۳). چرخه فحلی به‌صورت روزانه بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح با مشاهده اسمیر واژن تا ۳۰ روز پس از اولین مشاهده سلول‌های شاخی‌شده بررسی شد. به‌طور خلاصه، اسمیرهای واژن از موش‌های ماده با استفاده از سواپ آغشته با محلول ۰/۹NaCl به دست آمد و بر روی لام شیشه‌ای تمیز گسترش تهیه شد و با رنگ متیلن‌بلو (سیگما) ۱٪ رنگ آمیزی شد و سپس تحت میکروسکوپ نوری (Olympus Bx51، ژاپن) مشاهده انجام شد. همین‌طور شاخص دی‌استروس (Diestrusindex) به‌صورت زیر محاسبه و ثبت شد (۱۳،۱۴):

$$\frac{\text{تعداد روزهای با اسمیر دی استروس}}{\text{تعداد کل روزهای بررسی اسمیر واژن}} \times ۱۰۰$$

جمع‌آوری خون، تخمدان و رحم

در حدود روز ۷۰ پس از تولد در مرحله دی‌استروس، ابتدا موش‌ها وزن شده، سپس با کتامین (آلفاسان، هلند) ۱۰ درصد(۱۰۰mg/kg) و زایلازین (آلفاسان، هلند) ۲ درصد (۱۰mg/kg) عمیقاً بی‌هوش شده،در ادامه شکم حیوانات را باز کرده و خون از بطن چپ قلب حیوان با استفاده از سرنگ ۲ cc جمع‌آوری گردید. سپس اندام‌های تولیدمثلی شامل تخمدان‌ها و رحم خارج شده و پس از وزن‌شدن با ترازوی دیجیتال (Sartorius،

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

آلمان) با دقت ۰/۰۰۱ گرم،جهت شمارش فولیکول‌ها،تخمدان‌ها برای مدت یک هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند (۱۳).

شمارش فولیکول‌های تخمدان

جهت تعیین تعداد انواع فولیکول‌ها در تخمدان، ابتدا تخمدان‌ها با کمک دستگاه پاساژ بافتی (Leica، آلمان) با استفاده از الکل با درجات صعودی آبگیری شده، سپس با استفاده از پارافین (مرک، آلمان) قالب‌گیری و در ادامه توسط میکروتوم (Leitz 1512، اتریش) برش‌هایی سریالی با ضخامت ۷ میکرون تهیه شد. برش‌ها سپس با استفاده از رنگ هماتوکسیلین و ائوزین (Merck، آلمان) رنگ‌آمیزی شدند و در پایان لام‌های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus Bx51، ژاپن) با بزرگ‌نمایی‌های مختلف و با کمک دوربین (OlympusDP71) مشاهده شدند.

دهمین و بیستمین برش‌های سریالی درکل تخمدان به‌ترتیب جهت شمارش فولیکول‌های کوچک‌تر (فولیکول‌های نخستین، اولیه و ثانویه) و بزرگ‌تر (فولیکول‌های آنترال، آترزی، فولیکول‌گراف و اجسام زرد) به‌کار رفتند. فولیکول‌های نخستین با داشتن یک اووسیت احاطه‌شده توسط یک لایه از سلول‌های گرانولوزای شاخی‌شده مشخص می‌شوند. فولیکول‌های اولیه دارای یک اووسیت می‌باشند که توسط لایه‌ای از سلول‌های گرانولوزای مکعبی‌شکل احاطهشده‌اند. فولیکول‌های ثانویه توسط بیش از یک لایه از سلول‌های گرانولوزای مکعبی احاطه‌شده‌اند که درلابلای این سلول‌ها فضای آنتروم مشاهده نمی‌شود. فولیکول‌های آنتروم دارای فضای آنتروم و لایه سلول‌های گرانولوزای متراکم هستند. اجسام زرد که فقط پس از تخمک‌گذاری تشکیل می‌شوند و حاوی سلول‌های لوتئینی می‌باشند. فولیکول‌های آترزی دارای ساختارهای غیرطبیعی مثل مایع فولیکولی متراکم، تخمک تحلیل‌رفته، لایه‌های سلولی گرانولوزای ضخیم یا پرشده با مواد فیبرینی در آنتروم هستند (۱۶-۱۳).در مطالعه هیستومتریک تخمدان‌ها، فولیکول‌ها به صورت مارپیچی از قشر تخمدان به مرکز و در جهت عقربه‌های ساعت شمارش شدند.

سنجش هورمون‌ها

پس از لخته‌شدن خون و سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور، سرم خون جدا شده و در دمای ۷۰- تا زمان سنجش هورمونی نگه‌داری شد. اندازه‌گیری غلظت هورمون‌های استرادیول و لوتئینی (LH) با روش سنجش ایمنی رادیواکتیو (R.I.A) مطابق با پروتکل کیت‌های (پیشتاز طب ایران) مربوطه انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

از نرم افزارSPSS Inc., Chicago, IL; version 18جهت تحلیل داده‌ها استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با کمک آزمون کولموگروف اسمیرنوف (Kolmogorov–Smirnov test) انجام شد. داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVAone-way) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey test) استنتاج شدند. تفاوت میانگین‌ها در سطح p<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد و نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان گردید.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاهپیام نورتایید شده است (کداخلاق: IR.PNU.REC.1397.081). کلیه مراحل انجامپروپوزال طرح مطابق با آیین‌نامه اخلاق زیستی دانشگاه پیام‌نورانجام گرفت.

نتایج

نتایج بررسی سن آغاز بلوغ جنسی

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد، میانگین روز VOبه‌طور معناداری در گروه‌های۴ (p<۰/۰۵) و ۲۰متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل زودتر مشاهده گردید. یعنی در این گروه‌ها، بلوغ زودرس در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. در گروه ۰/۸ متیل‌پارابن تغییر معناداری در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نگردید.

نتایج بررسی چرخه فحلی

بررسی ۳۰ روزه چرخه‌فحلی در موش‌ها نشان داد که میانگین طول مدت چرخه‌فحلیدر گروه‌های ۴ (p<۰/۰۵) و۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری را داشته‌اند. نتایج این بررسی‌ها نشان داد که تعداد

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

چرخه‌های‌فحلی در این مدت در گروه‌های۴ (p<۰/۰۱) و ۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری را داشته‌اند. نتایج همین‌بخش نشان داد درحالی که شاخص دی‌استروس در موش‌های گروه کنترل ۳۷/۹۲٪بود، این مقدار در گروه ۰/۸ متیل‌پارابن ۳۹/۱۷٪ بود که اختلاف معنادار با گروه کنترل نداشت، ولی این مقدار در گروه‌های۴ و ۲۰ متیل‌پارابن به‌ترتیب ۴۷/۰۸٪ (p<۰/۰۱) و ۵۶/۲۵٪ (p<۰/۰۰۱) بود که در مقایسه با کنترل افزایش معنادار را نشان دادند(جدول ۱).

جدول۱: تاثیر تجویز متیل‌پارابن در دوره نوزادی بر سن آغاز بلوغ و چرخه فحلی.

گروه‌ها	VO (روز پس از تولد)	میانگین مدت زمان چرخه فحلی (روز)	تعداد چرخه فحلی	شاخص دی‌استروس٪
کنترل	۳۴/۷۵±۱/۶۷	۴/۸۷±۰/۶۴	۶/۱۲±۰/۶۴	۳۷/۹۲±۳/۰۵
شاهد	۳۵/۲۵±۰/۸۷	۴/۵۰±۰/۵۳	۶/۳۷±۰/۷۴	۳۷/۵۰±۲/۳۶
۰/۸ متیل‌پارابن	۳۴/۸۷±۱/۴۶	۴/۷۵±۰/۸۹	۶/۲۵±۰/۸۹	۳۹/۱۷±۳/۴۵
۴ متیل‌پارابن	۳۲/۱۲±۱/۶۴*	۶/۶۲±۱/۰۶*	۴/۵۰±۰/۹۲**	۴۷/۰۵±۴/۵۲**
۲۰ متیل‌پارابن	۳۰/۳۷±۱/۶۸***	۹/۱۲±۱/۶۴***	۲/۸۷±۰/۶۴***	۵۶/۲۵±۸/۰۵***

* و ** و *** به‌ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار (p<۰/۰۵)، (p<۰/۰۱) و (p<۰/۰۱) با گروه کنترل. داده‌ها با کمک آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استنتاج شده و به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

نتایج بررسی وزن بدنو اندام‌های جنسی

نتایج این بخش در جدول ۲ نشان داده شده‌است. میانگین وزن بدن نوزادان در ۷۰ روزگی پس از تولد بین گروه‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. در گروه ۰/۸ متیل‌پارابن نسبت به گروه کنترل، میانگین وزن بدن تغییر معناداری را نشان نداد. در مقایسه میانگین وزن بدن بین گروه‌های۴ و ۲۰ متیل‌پارابنبا گروه کنترل کاهش معنادار (p<۰/۰۰۱) مشاهده شد.میانگین وزن تخمدان نوزادان مورد مطالعه در ۷۰ روزگی پس از تولد مورد بررسی قرار گرفت. در مقایسه میانگین وزن تخمدان بین گروه۰/۸متیل‌پارابن با گروه کنترل اختلاف معناداری مشاهده نشد. در مقایسه میانگین وزن تخمدان بین گروه‌های۴ و ۲۰ متیل‌پارابن با گروه کنترل کاهش معنادار (p<۰/۰۰۱)مشاهده شد. میانگین وزن رحم در ۷۰ روزگی پس از تولد مورد مطالعه قرار گرفت. از مقایسه‌میانگین وزن رحم بین گروه ۰/۸ متیل‌پارابن با گروه کنترل تغییر معناداری مشاهده نشد. اما از مقایسه گروه‌های۴ و۲۰ متیل‌پارابن با گروه کنترل افزایش معنادار مشاهده شد (p<۰/۰۰۱).

جدول۲: تاثیر تجویز متیل‌پارابن در دوره نوزادی بر وزن بدن و اندام‌های جنسی در موش‌های ۷۰ روزه.

گروه‌ها	وزن بدن (گرم)	وزن تخمدان (میلی‌گرم)	وزن رحم (میلی‌گرم)
کنترل	۳۰/۳۷±۱/۱۷	۱۲/۷۶±۰/۴۷	۵۹/۵۵±۴/۴۴
شاهد	۲۹/۹۲±۰/۹۹	۱۱/۹۷±۰/۹۰	۵۹/۳۳±۳/۴۹
۰/۸ متیل‌پارابن	۲۹/۱۱±۱/۳۷	۱۲/۵۵±۰/۴۹	۶۲/۱۶±۲/۹۷
۴ متیل‌پارابن	۲۷/۳۱±۱/۴۰***	۱۰/۴۵±۱/۲۸***	۷۰/۲۵±۵/۱۵** *
۲۰ متیل‌پارابن	۲۵/۶۲±۱/۱۸***	۸/۶۵±۰/۹۶***	۷۹/۹۵±۴/۲۵***

***نشان‌دهندهوجوداختلافمعنادار(p<۰/۰۱) باگروهکنترل. داده‌ها با کمک آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استنتاج شده و به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند..

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

نتایج بررسی شمارش فولیکول‌های تخمدان

نتایج حاصل از شمارش فولیکول‌های مختلف تخمدان در ۷۰ روزگی پس از تولد در جدول ۳ نشان داده شده‌اند. در مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های نخستین بین گروه‌های۴ (p<۰/۰۱) و ۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) با گروه کنترل کاهش معنادار مشاهده شد.در مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های اولیه بین گروه۲۰ متیل‌پارابن با گروه کنترل کاهش معنادار (p<۰/۰۰۱) مشاهده شد. در مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های ثانویه بین گروه‌های ۰/۸ (p<۰/۰۵)، ۴ (p<۰/۰۵) و ۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) با گروه کنترل کاهش معنادار مشاهده شد. در مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های آنترال بین گروه‌های۴ (p<۰/۰۵) و ۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۵) با گروه کنترل کاهش معنادار مشاهده شد. در مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های آترتیک بین گروه‌های۴ (p<۰/۰۰۱) و ۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) با گروه کنترل افزایش معنادار مشاهده شد (شکل ۱). افزایش شمارش فولیکول‌های آترتیک در گروه ۰/۸ متیل‌پارابن در مقایسه با گروه کنترل معنادار نبود. در مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌های گراف بین گروه‌های۴ (p<۰/۰۱) و ۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) با گروه کنترل کاهش معنادار مشاهده شد. کاهش شمارش فولیکول‌های گراف در گروه ۰/۸ متیل‌پارابن در مقایسه با گروه کنترل معنادار نبود. در مقایسه میانگین تعداد جسم زرد بین گروه‌های۴ (p<۰/۰۰۱) و ۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) با گروه کنترل کاهش معنادار مشاهده شد (شکل ۱). کاهش شمارش جسم زرد در گروه ۰/۸ متیل‌پارابن در مقایسه با گروه کنترل معنادار نبود.

نتایج هورمونی

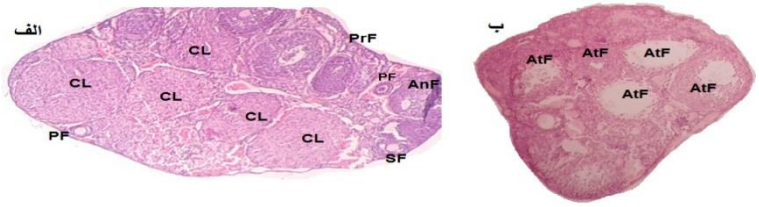
همان‌طور در نمودار ۱مشاهده می‌شود، غلظت استرادیول در گروه‌های۴(p<۰/۰۵) و ۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) به‌طور معناداری در مقایسه با گروه‌های کنترل افزایش یافت و غلظت هورمون LH به‌طور معناداری در گروه‌های۴(p<۰/۰۰۱) و ۲۰ متیل‌پارابن (p<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت.

جدول۳: تاثیر تجویز متیل‌پارابن در دوره نوزادی بر تعداد فولیکول‌ها و جسم زرد تخمدان در موش‌های ۷۰ روزه.

گروه ها	فولیکول نخستین	فولیکول اولیه	فولیکول ثانویه	فولیکول آنترال	فولیکول آترتیک	فولیکول گراف	جسم زرد
کنترل	/۸۷±۱۱/۱۰ ۲۰۲	/۱۲±۴/۶۷ ۷۳	/۸۷±۴/۲۲ ۶۵	/۲۵±۳/۲۴ ۴۱	۱/۶۲±۱/۱۹	۸/۵۰±۱/۶۰	۳۸/۲۵±۴/۱۰
شاهد	۲۰۴/۲۵±۹/۶۲	/۶۲±۳/۸۱ ۷۴	/۲۵±۴/۰۶ ۶۵	/۸۷±۳/۴۰ ۳۸	۱/۲۵±۱/۰۳	۸/۸۷±۱/۲۵	۳۸/۷۵±۴/۱۳
۰/۸ متیل‌پارابن	۱۹۵/۷۵±۹/۵۰	/۸۷±۶/۵۸ ۷۰	/۳۷±۵/۱۰ ۵۷ *	/۱۲±۴/۰۵ ۴۰	۳/۸۷±۲/۲۳	۶/۸۷±۱/۶۴	۳۵/۶۲±۳/۷۰
۴ متیل‌پارابن	/۷۵±۱۰/۰۴ ۱۷۶**	/۵۰±۷/۵۸ ۶۴*	/۷۵±۵/۹۵ ۵۷ *	/۱۲±۳/۴۰ ۳۵*	/۲۵±۲/۱۹ ۱۰***	۵/۵۰±۱/۵۱ **	۲۶/۱۲±۴/۵۲ ***
۲۰ متیل‌پارابن	/۶۲±۱۸/۶۳ ۱۵۸***	/۲۵±۸/۱۹ ۵۲***	/۱۲±۴/۶۱ ۴۳***	/۶۲±۴/۰۳ ۳۵*	/۱۲±۴/۸۸ ۱۴***	۴/۱۲±۰/۹۹ ***	۱۸/۸۷±۳/۶۸* **

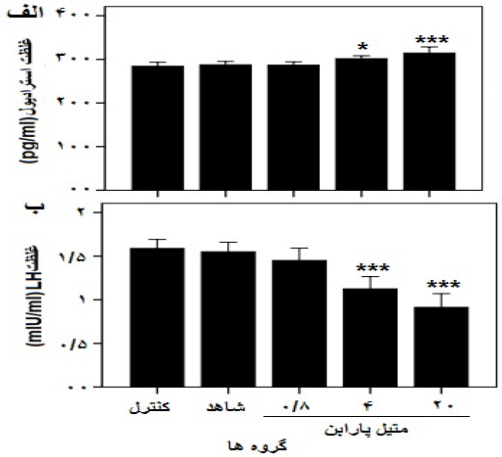
* و ** و *** به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵)، (p<۰/۰۱) و (p<۰/۰۱) با گروه کنترل.
داده‌ها با کمک آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استنتاج شده و به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021



شکل۱: تاثیر تجویز متیل‌پارابن در دوره نوزادی بر فولیکول‌ها و جسم زرد تخمدان در موش‌های ۷۰ روزه.

الف) کنترل ب) ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متیل‌پارابن، CL (جسم زرد)، PrF (فولیکول نخستین)، PF (فولیکول اولیه)، SF (فولیکول ثانویه)، AnF (فولیکول آنترال) و AtF (آترتیک یا تحلیل‌رفته). در نمونه کنترل تعداد زیادی جسم زرد و فولیکول‌های مختلف به‌چشم می‌خورد، در حالی که در نمونه با تزریق نوزادی متیل‌پارابن، تعداد زیادی فولیکول آترتیک و کاهش سایر فولیکول‌ها مشاهده می‌گردد.



نمودار۱: تاثیر تجویز متیل‌پارابن در دوره نوزادی بر سطوح الف) استرادیول و ب) LH در موش‌های ۷۰ روزه.
* و *** به‌ترتیب نشان دهنده وجود اختلاف معنادار (p<۰/۰۵) و (p<۰/۰۰۱) با گروه کنترل. داده‌ها با کمک آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استنتاج شده و به‌صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر حکایت از آن دارد که مواجهه نوزادان موش‌های سوری ماده با متیل‌پارابن در دوزهای ۴ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن منجر به تغییرات در شاخص‌های مختلف تولید مثلی از جمله بلوغ زودرس، اختلال در چرخه‌فحلی، افزایش وزن رحم، کاهش وزن تخمدان و کاهش سطح هورمون LH و افزایش استرادیول خون می‌شود. در مطالعه حاضر، روز VO در موش‌های تیمارشده با متیل‌پارابن با دوزهای ۴ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سریع‌تر به‌وقوع پیوست، که نشانه بلوغ زودرس در این موش‌ها می‌باشد. این یافته‌ها، با یافته‌های قبلی حاصل از مواجهه نوزادی ترکیبات محیطی شبه‌استروژنیک ازجمله تاموکسیفن (۱۳)، استرادیول‌بنزوات (۱۷) و فیتواستروژن جنیستین (۱۷) که همگی موجب تسریع در روز VO و بلوغ زودرس در جوندگان آزمایشگاهی شده‌اند، مطابقت دارد.در یافته‌های مختلف حاصل از مطالعات متعدد در جوندگان آزمایشگاهی نشان داده‌شده که مواجهه نوزادان با استروژن‌ها و ترکیبات محیطی شبه‌استروژنیک می‌توانند با تاثیر بر تکوین و تمایز برخی شبکه‌های عصبی و مغزی حساس به تغییرات استروژن‌ها در زمان‌بندی سن آغاز بلوغ اثر گذاشته و منجر به تسریع در بازشدن واژن و درنتیجه بلوغ زودرس گردد، (۱،۴،۵،۱۳،۱۷). دوره نوزادی یک دوره حساس و بحرانی برای هورمون استروژن در جوندگان می‌باشد. غلظت استروژن در این دوره در کمترین مقدار خود در طول زندگی جوندگان می‌باشد که برای تکوین و

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

رشد صحیح مدارهای عصبی کنترل‌کننده سن آغاز بلوغ حیاتی می‌باشد. نورون‌های این نواحی گیرنده استروژن را بیان می‌کنند (۱۸). در مطالعه قبلی (۱۹) گاواژ متیل‌پاراین با دوز بالا (۱۰۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در مرحله قبل از بلوغ به رت‌ها منجر به تاخیر در سن باز شدن واژن و آغاز بلوغ شد که با مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد. دلیل این تناقض می‌تواند مربوط به اختلاف زیاد دوز مورد استفاده، زمان و روش تزریق دارو و حتی گونه موش مورد استفاده باشد که در دو مطالعه با یکدیگر اختلاف دارند و روشن شدن آن نیاز به مطالعات بعدی دارد. در برخی مطالعات پشنهاد شده که بلوغ زودرس می‌تواند ناشی از افزایش وزن بدن باشد که با توجه به نتایج در موش‌های این تحقیق که با کاهش وزن بدن همراه بود هم‌خوانی نداشت. برخی مطالعات بر اثرات آنورکتیک (بی‌اشتهاکننده) و کاهش وزن توسط استروژن و ترکیبات شبه‌استروژنی تاکید دارند (۲۱،۲۰)، که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد.

تزریق نوزادی متیل‌پاراین با افزایش مدت زمان چرخه،کاهش تعداد چرخه‌ها و افزایش شاخص دی‌استروس موجب ایجاد اختلال در چرخه فحلی موش‌ها گردید. در تحقیقات قبلی به‌دنبال مواجهه نوزادی با ترکیبات شبه‌استروژنی زیرالنون (۲۲) یا تاموکسیفن (۱۳) نتایج مشابهی گزارش شده‌است. در آن تحقیقات نشان داده شده‌است مواجهه این ترکیبات استروژنیک منجر به کاهش بیان نوروپپتید کیس‌پپتین (kisspeptin) در هسته‌های کنترل‌کننده چرخه تولیدمثلی (anteroventral periventricular nucleus (AVPV) و (arcuate nucleus(ARC) و در نتیجه اختلال در چرخه فحلی می‌شود. نتایج مطالعات تیمار نوزادی جوندگان با استرادیول و 4,4′,4″-(4-propyl-[1H]-pyrazole-1,3,5-triyl)trisphenol (PPT)(آگونیست رسپتور آلفای استروژن) و همین‌طور مواجهه با EDCهای شبه‌استروژنی مثل جنیستین و بیس‌فنول‌آ نشان داده‌اند که منجر به کاهش تعداد نورون‌های حساس به استروژن مثل کیس‌پپتین در هیپوتالاموس شده و منجر به اختلال در چرخه فحلی در این حیوانات شده است (۲۴،۲۳). در نتیجه احتمال دارد که مواجهه متیل‌پاراین در چند روز اول پس از تولد با تاثیر بر نورون‌های حساس به استروژن در هسته‌های مغزی بالادست موجب اختلال در چرخه‌فحلی گردد. تنظیم سن بلوغ و چرخه‌فحلی توسط آبشاری از وقایع نورواندوکرینی کنترل می‌شود که به‌ویژه در تنظیم تراوش GnRH(gonadotropin-releasing hormone) از هیپوتالاموس به‌عنوان خروجی نهایی مغز در فعال‌سازی محور HPG نقش اساسی دارند. تنظیم دقیق تراوش GnRH و به‌دنبال آن تنظیم تراوش گنادوتروپین‌ها به‌ویژه هورمون LH موجب تنظیم وقایع اصلی محور تولیدمثلی از جمله تنظیم سن آغاز بلوغ، چرخه فحلی، فولیکول‌زایی، تخمک‌گذاری و تولید جسم زرد در تخمدان می‌باشد. اغلب مطالعات بر ترشح LH از هیپوفیز به‌عنوان نشانگر اصلی تراوش GnRH اشاره دارند چراکه تراوش LH بخوبی با تراوش GnRH هماهنگ می‌باشد و این برخلاف FSH (follicle-stimulating hormone)می‌باشد که تراوش آن بیشتر تحت اثر برخی فاکتورهای گنادی ازجمله اینهیبین در سطح هیپوفیز می‌باشد (۲۵). کاهش سطح LH در مطالعه حاضر مشاهده شد که می‌تواند موید ایجاد اختلال نورواندوکرینی در مطالعه حاضر باشد. مواجهه نوزادی با متیل‌پاراین در مطالعه حاضر با دوزهای بالاتر موجب کاهش وزن تخمدان و افزایش وزن رحم موش‌ها شد. احتمالاًکاهش وزن تخمدان به‌دلیل کاهش هورمون LH، کاهش خزانه فولیکولی و جسم زرد باشد که در این مطالعه مشاهده شده‌است. افزایش وزن و متابولیسم رحم به‌وسیله هورمون‌های مترشحه از تخمدان به‌ویژه استرادیول تنظیم می‌شود (۲۷،۲۶). برخی تحقیقات اظهار داشته‌اند که مواجهه نوزادان یا جنین‌ها با EDCs استروژنیک موجب تغییر میزان گنادوتروپ‌ها و استرادیول می‌گردند (۲۲،۱۴،۱۳). مطالعات دیگر نشان داده‌اند که گیرنده‌های استروژنی نوع آلفا و بتا هر دو در تخمدان و رحم بیان می‌شوند، امادر رحم سطوح گیرنده‌های آلفا به میزان بیشتری و در تخمدان سطوح گیرنده‌های نوع بتا به میزان بیشتری مشاهده شده‌است (۳۰-۲۸). تفاوت در وزن مشاهده شده رحم و تخمدان می‌تواند ناشی از تفاوت در بیان گیرنده‌های استروژنی در این اندام‌ها باشد.در مطالعه حاضر، تفاوت در نتایج حاصل از

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

بررسی‌های مختلف بین دوز کمتر یعنی ۰/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم با دوزهای بالاتر یعنی ۴ و بویژه دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده گردید، طوری‌که دوز پایین‌تر، اثر قابل‌توجهی بر این ویژگی‌ها نداشت، که می تواند مربوط به اختلاف زیاد بین دوزها باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد تجویز نوزادی دوزهای بالای متیل‌پارابن در موش‌ها می‌تواند منجر به بلوغ زودرس، اختلال در چرخه‌فحلی، کاهش محتوی فولیکول‌های تخمدانی و جسم زرد و اختلال در تراوش هورمون‌های جنسی گردد. این مشاهدات می‌تواند ناشی از اثرات استروژنیک متیل‌پارابن در دوره نوزادی بر هر جایی از محور HPG از جمله مغز و تخمدان باشد. لذا مواجهه کم‌تر با متیل‌پارابن از طریق استفاده از محصولات عاری از ترکیبات پارابن به‌ویژه در دوره‌های حساس زندگی از جمله نوزادی و کودکی در پیشگیری از وقوع چنین عوارضی توصیه می‌گردد.

سپاس‌گزاری

این تحقیق حاصل از پایان‌نامه خانم لیلی محمدی دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی علوم جانوری گرایش سلولی تکوینی می‌باشد و با حمایت مالی دانشگاه پیام‌نور کرمانشاه انجام شده است.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

1- Tena-Sempere M.***The Kisspeptin System as Putative Target for Endocrine Disruption of Puberty and Reproductive Health***. In: Bourguignon JP, Jegou B.; Kerdelhue B, Toppari J, Christen Y. editors. Multi-System Endocrine Disruption. Springer; Berlin Heidelberg: 2011. p. 23-41.

2- Martin OV, Voulvoulis N. ***Sustainable Risk Management of Emerging Contaminants in Municipal Wastewaters***. Philos Trans AMath Phys Eng Sci 2009; 367(1904): 3895-922.

3- Knez J. ***Endocrine-Disrupting Chemicals and Male Reproductive Health***. Reprod BioMed Online 2013; 26(5): 440–8.

4- Roy JR, Chakraborty S, Chakraborty TR.***Estrogen-Like Endocrine Disrupting Chemicals Affecting Puberty in Humans – A Review***. Med Sci Monit 2009; 15(6): RA137-45.

5- Jefferson WN, Patisaul HB, Williams CJ. ***Reproductive Consequences of Developmental Phytoestrogen Exposure***. Reproduction 2012; 143(3): 247–60.

6- Gonzalez-doncel M, Garcia-maurino JE, San Segundo L, Beltrán EM, Sastre S, Fernández Torija C. ***Embryonic Exposure of Medaka (Oryzias Latipes) to Propylparaben: Effects on Early Developmentand Post-Hatching Growth***. Environ Pollut 2014; 184: 360-9.

7- Soni MG, Taylor SL, Greenberg NA, Burdock GA. ***Evaluation ofthe Health Aspects of Methyl Paraben: A Review ofthe Published Literature***. Food Chem Toxicol 2002; 40(10): 1335-73.

8- Darbre PD, Aljarrah A, Miller WR, Coldham NG, Sauer MJ, Pope GS. ***Concentrations of Parabens in Human Breast Tumours***. J Appl Toxicol 2004; 24(1): 5-13.

9- Scialli AR. ***Reproductive Effects ofthe Parabens***. Reprod Toxicol 2011; 32(1): 138-40.

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

10- Lobemeier C, Tschoetschel C, Westie S, Heymann E. ***Hydrolysis of Parabenes by Extracts from Differing Layers of Human Skin***. Biol Chem 1996; 377(10): 647–51.

11- El Hussein S, Muret P, Berard M, Makki S, Humbert P. ***Assessment of Principal Parabens Used in Cosmetics after Their Passage Through Human Epidermis–Dermis Layers (Ex-Vivo Study)***. Exp Dermatol 2007; 16(10): 830-6.

12- Sun L, Yu T, Guo J, Zhang Z, Hu Y, Xiao X, et al. ***The Estrogenicity of Methylparaben and Ethylparaben at Doses Close to the Acceptable Daily Intake in Immature Sprague-Dawley Rats***. Sci Rep 2016; 28(6): 25173.

13- Parandin R, Behnam-Rassouli M, Mahdavi Shahri N.***Oestrogenic Action of Neonatal Tamoxifen on the Hypothalamus and Reproductive System in Female Mice***. Reprod Fertil Dev 2016; 29(5): 1012-20.

14- Parandin R, Yousofvand N. ***In Utero and Lactational Effects of Aqueous Foeniculum Vulgare (Fennel) Seed Extract on Puberty Timing, Estrus Cycle And Sexual Behavior in Mice***. J Arak Uni Med Sci 2018; 20(11): 1-12. [Persian]

15- Zhuang XL, Fu YC, Xu JJ, Kong XX, Chen ZG, Luo LL. ***Effects of Genistein on Ovarian Follicular Development and Ovarian Life Span in Rats***. Fitoterapia 2010; 81(8): 998-1002.

16- Parandin R, Behnam Rassouli M, Mahdavi Shahri N. ***Evaluation of Neonatal Exposure to Mycoestrogens Zearalenone and Alpha-Zearalenol on Puberty and Reproductive Function in Female Mice***. Sjimu 2017; 24(6): 11-22. [Persian]

17- Bateman HL, Patisaul HB. ***Disrupted Female Reproductive Physiology Following Neonatal Exposure to Phytoestrogens or Estrogen Specific Ligands Is Associated with Decreased Gnrh Activation and Kisspeptin Fiber Density in the Hypothalamus***. Neurotoxicology 2008; 29(6): 988-97.

18- Gillies GE, McArthur S. ***Estrogen Actions inthe Brain andthe Basis for Differential Action in Men and Women: A Case for Sex-Specific Medicines***. Pharmacol Rev 2010; 62(2): 155-98.

19- VO TT, Yoo YM, Choi KC, Jeung EB. ***Potential Estrogenic Effect(S) of Parabens atthe Prepubertal Stage ofa Postnatal Female Rat Model***. Reprod Toxicol 2010; 29(3): 306-16.

20- Foster PM, McIntyre BS. ***Endocrine Active Agents: Implications of Adverse and Non-Adverse Changes***. Toxicol Pathol 2002; 30(1): 59-65.

21- Lampert c, Arcego DM, Laureano DP , Diehl LA, De costalima IF, krolow R, et al. ***Effect of Chronic Administration of Tam Oxifen and/or Estradiol on Feeding Behavior, Palatable Food and Metabolic Parameters in Ovariectomized Rats***. Physiol Behav 2013; 119: 17-24.

22- Parandin R, Behnam-Rassouli M, Mahdavi-Shahri N. ***Effects of Neonatal Exposure to Zearalenone on Puberty Timing, Hypothalamic Nuclei of AVPV and ARC, and Reproductive Functions in Female Mice***. Reprod Sci 2017; 24(9): 1293-1303.

23- Beale KE, Kinsey-Jones JS, Gardiner JV, Harrison EK, Thompson EL, Hu MH, et al. ***The Physiological Role of Arcuate Kisspeptin Neurons in the Control of***

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

Reproductive Function in Female Rats. Endocrinology 2014; 155(3): 1091-98.

24- Hu MH, Li XF, McCausland B, Li SY, Gresham R, Kinsey-Jones JS, et al. ***Relative Importance of the Arcuate and Anteroventral Periventricular Kisspeptin Neurons in Control of Puberty and Reproductive Function in Female Rats***. Endocrinology 2015; 156(7): 2619-31.

25- Maeda K, Adachi S, Inoue K, Ohkura S, Tsukamura H. ***Metastin/Kisspeptin and Control of Estrous Cycle in Rats***. Rev Endocr Metab Disord 2007; 8(1): 21-9.

26- Ksheerasagar RL, Kaliwal BB. ***Effects of Carbosulfan Administration Schedules on Estrous Cycle and Follicular Dynamics in Albino Mice***. Ind Health 2008; 46(3): 210-6.

27- Lindberg MK, Weihua Z, Andersson N, Movérare S, Gao H, Vidal O, et al. ***Estrogen Receptor Specificity for the Effects of Estrogen in Ovariectomized Mice***. J Endocrinol 2002; 174(2): 167–78.

28- Sar M, Welsch F. ***Differential Expression of Estrogen Receptor-Beta and Estrogen Receptor-Alpha in the Rat Ovary***. Endocrinology 1999; 140(2):963-71.

29- Tan J, Paria BC, Dey SK, Das SK. ***Differential Uterine Expression of Estrogen and Progesterone Receptors Correlates with Uterine Preparation for Implantation and Decidualization inthe Mouse***. Endocrinology 1999; 140(11): 5310-21.

30- Byers M, Kuiper GG, Gustafsson JA, Park-Sarge OK. ***Estrogen Receptor-Beta Mrna Expression in Rat Ovary: Down-Regulation by Gonadotropins***. Mol Endocrinol 1997; 11(2): 172-82.

[DOI: 10.18502/ssu.v27i5.1523]

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 17:42 IRST on Monday January 18th 2021

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences **Received: 18Nov2018**
Vol 27| NO 5 | Aug2019 **Accepted:29Dec2018**

Effects of Methyl paraben neonatal treatment on puberty onset, estrus cycle, and development of ovarian follicles in female mice (Balb/c)

Leili Mohammadi[1], Rahmatollah Parandin[*1], Pouya Pournaghi[1]

Original Article

Introdution: Methyl paraben (MP) is an xsenoestrogen pollutant that is classified into preservatives due to its antibacterial properties. The aim of the present study was to investigate the effects of MP in female neonatal mice on puberty timing, estrus cycle, and ovarian follicle profile.

Methods: In this experimental study, one-day-old Balb/c mice were randomly divided into 5 groups (n = 8), including the control, vehicle, and three groups with doses of 0.8, 4 and 20 mg/kg of methyl paraben, respectively. Subcutaneous injection was performed in the first 5 days after birth and once a day. The day of vaginal opening was considered as a sign of puberty and estrus cycle for one month. Then, the mice were sacrificed in 70 days; their serumand ovary were collected for studies of hormonal measurement and counting of follicles.Statistical analysis was performed using SPSS Inc., Chicago, IL; Version 18 and one-way analysis of variance was used for comparingthe groups.

Results: The day of puberty onset advanced by 4 ($p<0.05$) and 20MP ($p<0.001$). Duration mean of estrus cycle in 4 ($p<0.05$) and 20MP ($p<0.001$) and diestrus index in 4 ($p<0.01$) and 20MP ($p<0.001$) increased compared to the control group. Reduction in the number of ovarian follicles and corpus luteum was observed in 4 and MP20 groups. The concentration of estradiol increased in 4 ($p <0.05$) and MP20 ($p <0.001$) groups and the concentration of LH in 4 and MP20 groups was decreased compared to the control group ($p <0.001$).

Conclusion: The study showed that exposure to the MP the during neonatal period could lead to Precocious puberty, estrus dysfunction, decreased ovarian follicle content and corpus luteum and impaired secretion of sex hormones.

Keywords: Puberty, Ovary, Estrus cycle, Mice.

Citation: MohammadiL,Parandin R, PournaghiP.**Effects of Methyl paraben neonatal treatment on puberty onset, estrus cycle, and development of ovarian follicles in female mice (Balb/c).** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2019; 27(5): 1556-67.

[1]Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

***Corresponding author: Tel:** 09031786719, **email:**rahmatparandin@pnu.ac.ir