مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره،دو اردیبهشت ۱۳۹۷
تاریخ دریافت:۱۳۹۶/۱/۲۰
تاریخ پذیرش:۱۳۹۶/۴/۱۸

نقش حفاظتی ویتامین E در جلوگیری از تغییرات نامطلوب بیسفنول A بر بافت بیضه موش صحرایی: یک ارزیابی استریولوژیک

ملک سلیمانی مهرنجانی*[۱]، منیره محمودی[۲]، مرضیه امجدی[۳]

مقاله پژوهشی

مقدمه: بیسفنول A به عنوان یک آلاینده زیست محیطی دارای اثرات استروژنی است و می‌تواند سبب القای استرس اکسیداتیو در بافت بیضه شود. هدف، بررسی نقش ویتامینE به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قوی بر اثرات نامطلوب بیسفنولA بر بافت بیضه موش‌های صحرایی بالغ بود.

روش بررسی: موش‌های صحرایی نر (۱۵±۲۲۰ گرم) به چهار گروه (n=۶): کنترل، بیسفنولA (۲۵۰mg/kg/day)، ویتامین E(۱۵۰mg/kg/day) و بیسفنولA + ویتامینE تقسیم شدند و به صورت دهانی به مدت ۵۶ روز (۳ بار در هفته) تحت تیمار قرار گرفتند. در پایان، بیضه راست خارج شد و بعد از فیکس، برش‌گیری، پاساژ بافتی و رنگ آمیزی به روش هایدن هاین آزان با استفاده از روش استریولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان هورمون تستوسترون و مالون‌دی‌آلدهید (MDA) سرم خون نیز اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (version 16) و روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی تجزیه و تحلیل و تفاوت میانگین‌ها در سطح ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج کاهش معنی‌داری در حجم کل بیضه، حجم و قطر لوله‌های منی‌ساز و ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی و ضخامت غشا پایه آن، تعداد اسپرماتیدها، اسپرماتوسیت‌ها، سلول‌های سرتولی، غلظت تستوسترون سرم و افزایش معنی‌داری در سطح مالون‌دی‌آلدهید سرم در گروه تیمار با بیسفنولA در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). پارامترهای فوق در گروه ویتامینE + بیسفنولA تا سطح گروه کنترل جبران شد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قوی، می‌تواند بسیاری از اثرات نامطلوب بیسفنولA را بر بافت بیضه جبران کند. بنابراین پیشنهاد می‌شود از آن به عنوان یک مکمل بالقوه در موارد مسمومیت با بیسفنولA استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: بیسفنول A، ویتامین E، استریولوژی، بیضه، موش صحرایی

ارجاع: سلیمانی مهرنجانی ملک ، محمودی منیره ، امجدی. **مرضیه نقش حفاظتی ویتامین E در جلوگیری از تغییرات نامطلوب بیسفنول A بر بافت بیضه موش صحرایی: یک ارزیابی استریولوژیک**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۲): ۱۱۰-۹۷.

۱- استاد بافت شناسی و جنین شناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۲- استادیار علوم جانوری (گرایش سلولی-تکوینی)، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
۳- کارشناسی ارشد زیست تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران
*(نویسنده مسئول)؛تلفن: ۰۹۱۸۱۶۱۷۰۹۸، پست الکترونیکی:m-soleimani@araku.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

مقدمه

بیسفنول A (2′-2, bis (4-hydroxyphenyl) propane, Bisphenol A (BPA)) یک ماده سمی زیست محیطی با فعالیت استروژنیک است (۱) که به طور گسترده در تولید پلاستیک‌های پلی‌کربنات (برای مثال بطری‌های آب) و رزین‌های اپوکسی (پوشش داخلی قوطی کنسروهای مواد غذایی) استفاده می‌شود (۲). مولکول‌های بیسفنولA با کمک پیوندهای استری به یکدیگر متصل و در ساختمان ظروف پلاستیکی به‌کار می‌روند. این پیوندهای استری تحت درجه حرارت بالا و تغییرات PH دچار هیدرولیز می‌شوند و سبب نفوذ بیسفنولA به داخل غذاها و نوشیدنی‌ها می‌گردند (۳).

منبع اصلی قرارگیری اکثر افراد در معرض بیسفنولA، رژیم غذایی است در حالی که هوا، گرد و غبار و آب دیگر منابع مواجه با بیسفنولA محسوب می‌شوند (۴).

تحقیقات نشان می‌دهد که بیسفنولA می‌تواند ناهنجاری‌هایی را در سیستم تولیدمثل نر به وجود آورد از جمله موجب ایجاد استرس اکسیداتیو به وسیله تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species (ROS)) (۳). کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی مثل گلوتاتیون ردوکتاز (Glutathione reductase, GR)، گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase, GSH-Px)، سوپراکسیددیسموتاز (Superoxide dismutase, SOD) و کاتالاز (Catalase, CAT) در بیضه رت‌های بالغ (۵)، کاهش وزن بیضه و اپیدیدیم، کاهش تعداد و تحرک اسپرم‌ها (۱)، تخریب اتصالات بین سلول‌های سرتولی و بی ثبات سازی سد خونی-بیضه‌ای (۶)، آتروفی و واکوئل‌زایی در اپی‌تلیوم لوله‌های منی‌ساز (۷)، تغییر غلظت هورمون‌هایی از جمله تستوسترون (۸)، هورمون لوتئینی (LH: Luteinizing Hormone) و محرک فولیکولی (FSH: Follicle Stimulating Hormone) می‌گردد (۹).

هورمون برای حفظ فرآیند اسپرماتوژنز در سطوح متعدد ضروری است (۱۰)، به طوری که در غیاب آن، تشکیل سد خونی-بیضه‌ای به خطر می‌افتد و سلول‌های جنسی نابالغ به صورت زود هنگام از سلول‌های سرتولی جدا می‌شوند. اختلال در هر یک از مراحل وابسته به هورمون تستوسترون می‌تواند منجر به اختلال در اسپرماتوژنز و ناباروری گردد (۱۱)، هم‌چنین بیسفنولA به دلیل شباهت ساختاری با ۱۷– بتا استرادیول می‌تواند با اتصال به هر دو نوع گیرنده استروژن (ER_α و ER_β)، گیرنده‌هایی را که قبلا در دسترس ۱۷- بتا استرادیول بوده‌اند را اشغال کند و از این رو هم به عنوان آگونیست اندوکرین و هم آنتاگونیست آندروژن‌ها عمل می‌کند (۳).

ویتامینE موثرترین آنتی‌اکسیدانت زنجیرشکن و محلول در چربی است (۱۲). آلفا- توکوفرول فعال‌ترین و رایج‌ترین شکل ویتامینE است که در روغن‌های گیاهی، جوانه گندم و سبزیجات برگ‌دار سبز یافت می‌شود (۱۳).

عملکرد اصلی ویتامینE، جلوگیری از گسترش واکنش‌های رادیکال‌های آزاد و محافظت از چربی‌های غیر اشباع غشا است (۱۴). این ویتامین با مهار پراکسیداسیون لیپیدی به بهبود روند اسپرماتوژنز کمک می‌کند (۱۰) و سبب کاهش بیان پروتئین BAX (Bcl-2-associated X protein) و در نهایت کاهش آپوپتوز در سلول‌های بیضه موش‌ها می‌شود (۱۵). کمبود این ویتامین می‌تواند سبب دژنراسیون سلول‌های اسپرماتوگونی، دژنراسیون لوله‌های منی‌ساز و آسیب به بافت بیضه شود (۱۶). نقش حفاظتی ویتامینE بر بافت بیضه در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از آلاینده‌های زیست محیطی از قبیل سرب و کروم گزارش شده است (۱۰،۱۷).

با توجه به کاربرد گسترده بیسفنولA در ساختمان بسیاری از وسایل مورد استفاده در زندگی روزمره انسان و خصوصیات استروژنی و استرس اکسیداتیوی این ماده که اثرات مضری بر عملکرد هورمون‌های آندوژن و بافت‌های مختلف از جمله بیضه در پی دارد، این پژوهش با هدف بررسی اثر حفاظتی ویتامینE بر روی بافت بیضه موش‌های بالغ نژاد ویستار به دنبال تیمار با بیسفنولA صورت گرفت.

روش بررسی

انتخاب گروه‌ها، تیمار گروه‌ها و نمونه‌گیری: برای انجام این پژوهش، از ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۵±۲۲۰ گرم خریداری شده از انیستیتو پاستور ایران استفاده شد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

موش‌ها در خانه حیوانات دانشگاه اراک و در شرایط استاندارد شامل دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد، نور محیطی با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگه‌داری شدند، سپس به طور تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی شامل کنترل (تیمار با روغن ذرت)، بیسفنولA (۲۵۰mg/kg)، ویتامینE (۱۵۰ mg/kg) و بیسفنول A(۲۵۰mg/kg) + ویتامینE (۱۵۰ mg/kg) گروه‌بندی شدند.

دوزهای مورد استفاده برای تیمار با بیسفنولA (Sigma-Aldrich Chemie GmbH) و ویتامینE (Sigma-Aldrich, Steinheim, USA) بر اساس پژوهش‌های گذشته انتخاب شد (۱۸،۱۹).

تیمار به صورت گاواژ دهانی و به مدت ۵۶ روز (۳ بار در هفته) برای تمامی گروه‌ها انجام گرفت. تیمار۳ بار درهفته گروه‌ها بر اساس نتایج مطالعه Morgan و همکاران در سال ۲۰۱۴ انتخاب شده است. ایشان گزارش کردند که تیمار دهانی رت‌های نر بالغ نژاد آلبینو با دوزmg/kg/day ۲۵ از بیسفنولA به مدت ۵۰ روز (۳ بار در هفته) موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت بیضه از طریق افزایش در سطح MDA، کاهش غلظت GSH (Glutathione) و کاهش فعالیتCAT و SOD گردید (۲۰).

هم چنین انتخاب طول مدت تیمار در این پژوهش به دلیل طی شدن یک دوره کامل اسپرماتوژنز در موش صحرایی بود (۲۱). به علت روش تیمار دهانی و با توجه به جامد بودن بیسفنولA و سمیت آن، این ماده توسط روغن ذرت رقیق شد (۲۲). ویتامینE هم به دلیل غلیظ بودن، ابتدا توسط یک ماده حلال (روغن ذرت) رقیق گردید (۲۳). انتخاب روغن ذرت بر اساس مطالعات انجام شده صورت گرفت.

آماده‌سازی بافت و تهیه اسلایدها

۵۶ روز بعد از تیمار، موش‌ها وزن و سپس توسط دی‌اتیل‌اتر بیهوش شدند. پس از تشریح، بیضه راست جهت انجام بررسی‌های بافت‌شناسی خارج و وزن آن اندازه‌گیری شد. برای تخمین حجم بیضه نیز از روش غوطه‌ورسازی (Immersion) استفاده گردید (۲۴). سپس بیضه‌ها جهت ثبات بافتی به درون فیکساتیو MDF (Modified Davidson's fluid) (۲۵) به مدت یک هفته (با دو بار تعویض فیکساتیو) منتقل شدند.

برای تهیه برش‌های IUR (Isotropic uniform random sampling) از بافت بیضه، از روش Orientator استفاده شد. روش کار به این صورت بود که ابتدا بیضه با موقعیت تصادفی یکنواخت و با چرخش دلخواه روی ساعت فی (ϕ) (که به طور یکنواخت تقسیم شده) قرار داده شد. سپس یک عدد تصادفی بین ۰ و ۹ انتخاب و بیضه در راستای آن عدد برش زده شد. نتیجه این برش، ایجاد دو قطعه از بیضه بود. یکی از دو قطعه بیضه بر روی ساعت تتا (θ) طوری قرار داده شد که سطح برش خورده در طول محور ۰-۰ ساعت تتا قرار گیرد. آنگاه یک عدد تصادفی انتخاب و قطعه در امتداد آن عدد برش داده شد. ادامه برش‌ها به صورت موازی و مساوی با برش اول زده شد و قطعه دوم به اندازه ۹۰ درجه چرخانده شد تا سطح برش خورده، مماس بر محور ۰-۰ ساعت تتا (θ) قرار گیرد. سپس مجددا یک عدد تصادفی انتخاب و بیضه در امتداد آن برش زده شد (۲۶) اسلایدهای تهیه شده از هر بیضه با حفظ جهت در داخل بسکت‌های مخصوصی قرار داده شد و فرآیند پاساژ بافتی به‌وسیله دستگاه پاساژ بافتی مدل Leica انجام گرفت. بعد از قالب‌گیری بافت‌ها در درون بلوک‌های پارافینی و تهیه برش‌های ۵ و ۲۰ میکرونی از آن‌ها توسط دستگاه میکروتوم، رنگ‌آمیزی مقاطع با روش هایدن هاین آزان صورت گرفت (۲۷).

بررسی‌های تغییرات استریولوژیک

برای محاسبه میزان چروکیدگی بافتی، با ابزاری به نام تروکار، سه قطعه گرد از برش‌های IUR بیضه هر موش قبل از فرآیند پاساژ بافتی تهیه شد. دو قطر عمود بر هم هر کدام از قطعات گرد به‌وسیله کولیس ورنیه اندازه‌گیری و میانگین شعاع آن‌ها (شعاع قبل از چروکیدگی: r-befor) محاسبه گردید. بعد از مراحل پاساژ بافتی، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی، مجددا دو قطر عمود بر هم هر کدام از برش‌های رنگ‌آمیزی شده، اندازه‌گیری و میانگین شعاع آن‌ها (شعاع بعد از چروکیدگی: r-after) محاسبه شد سپس با استفاده از فرمول زیر میزان چروکیدگی مربوط به بیضه هر موش به دست آمد (۲۷).

$$\text{Shirinkage}=1-\left\{\frac{r_{after^2}}{r_{befor^2}}\right\}^{\frac{3}{2}}$$

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

برای به‌دست آوردن حجم واقعی بیضه، مقدار عدم چروکیدگی در حجم حاصل از روش غوطه ورسازی ضرب شد (۲۷).

به‌منظور محاسبه حجم لوله‌های منی‌ساز و بافت بینابینی، با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی منظم، از هر برش ۵ میکرونی به طور میانگین ۵ میدان دید انتخاب شد. با قرار دادن تصادفی پروب نقطه بر روی هر میدان دید، نقاط برخورد کرده به کل بافت ($\sum P_{total}$) و نقاط برخورد کرده به لوله‌های منی‌ساز و بافت بینابینی ($\sum Pi$) به طور مجزا شمارش گردید و دانسیته حجمی هر یک از آن‌ها محاسبه شد. سپس با ضرب دانسیته حجمی در حجم کل بیضه، حجم مربوط به هر جز به دست آمد (۲۷).

$$V_{Density} = \frac{\sum_{i=1}^{n} p_i}{\sum_{i=1}^{n} p_t}$$

$$V_{interstitial} = V_{testis} \times V_{Density}$$

برای تخمین طول لوله‌های منی‌ساز ابتدا توسط میکروسکوپ و با عدسی ۱۰، از هر برش ۵ میکرونی به طور کاملا تصادفی ۵ میدان دید انتخاب و سپس فریم شمارش بر روی هر یک از میدان‌های دید انداخته شد. آن گاه تعداد مقطع‌های لوله‌های منی‌سازی که با فریم انتخاب شدند (به طور میانگین در هر بافت بیضه ۱۳۰-۱۵۰ لوله منی‌ساز)، شمارش گردیدند. دانسیته طولی لوله‌های منی‌ساز طبق فرمول زیر محاسبه شد و با ضرب آن در حجم نهایی بیضه، طول مطلق لوله‌های منی‌ساز به دست آمد (۲۸).

$$Lv = 2 \times \frac{\sum_{i=1}^{n} Q_i}{a/f \cdot \sum_{i=1}^{n} P_i}$$

$$L_{vt} = L_v \times V_{te}$$

به‌منظور تخمین میانگین قطر لوله‌های منی‌ساز، فریم مخصوص شمارش به طور تصادفی بر روی میدان‌های دید انتخابی (بزرگ‌نمایی ۱۰۰ برابر) انداخته شد و قطر کوچک حدود ۱۵۰-۱۳۰ لوله منی‌ساز انتخاب شده توسط پروب با کمک نرم‌افزار موتیک (Motic image 2000) اندازه‌گیری شد (۲۹).

ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی با تقسیم دانسیته حجمی(Vv) بر دانسیته سطحی (Sv) اپی‌تلیوم زایشی به دست آمد که برای این منظور، به طور میانگین ۵ میدان دید از هر برش ۵ میکرونی بافت بیضه با ob=۱۰ انتخاب شد و با قرار دادن پروب مخصوص سطح بر روی میدان‌های دید انتخابی، کل نقاط برخورد کرده از پروب با تصویر بیضه و کل نقاط برخورد کرده با اپی‌تلیوم زایشی شمارش شد و دانسیته حجمی اپی‌تلیوم زایشی محاسبه گردید. سپس برای محاسبه دانسیته سطحی اپی‌تلیوم زایشی، تعداد برخوردهای پروب مخصوص سطح با سطح لومنی اپی‌تلیوم زایشی و مجموع نقاط برخورد کرده با اپیتلیوم زایشی شمارش شد با گذاشتن این اعداد در فرمول مربوطه، دانسیته سطحی اپی‌تلیوم زایشی به دست آمد (۲۷).

$$Sv = 2 \times \frac{\sum_{l=1}^{n} Ii_i}{L/P \cdot \sum_{i=1}^{n} P_i}$$

به منظور تخمین میانگین ضخامت غشای پایه لوله‌های منی‌ساز، از تمام برش‌های ۵ میکرونی توسط عدسی ۱۰۰ میکروسکوپ به طور میانگین ۲۴-۲۶ میدان دید انتخاب و پروب دارای خطوط ایزوتروپیک بدون سوگیری بر روی میدان‌های دید انتخابی انداخته شد. از محل برخورد خطوط پروب با سطح داخلی غشای پایه، خطی عمود بر مماس سطح خارجی غشا کشیده و سپس طول این خط توسط نرم‌افزار موتیک اندازه‌گیری شد. سرانجام با روش اندازه‌گیری هارمونیک، میانگین ضخامت غشای پایه لوله‌های منی‌ساز محاسبه گردید (۳۰).

بررسی و شمارش سلولهای بافت بیضه (جنسی و سوماتیک)

برای محاسبه تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید (گرد و دراز) و سلول‌های سرتولی از روش Optical dissector، فریم مخصوص شمارش و دستگاه میکروکیتور مدل ND 221 B, Heidenhain, Germany استفاده شد. به این ترتیب که از همه برش‌های ۲۰ میکرونی مربوط به بیضه هر موش توسط میکروسکوپ (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر) به طور تصادفی تعدادی میدان دید انتخاب شد. در هر میدان دید ابتدا از دو ناحیه به نام ناحیه حفاظت شده به ضخامت ۵ میکرون از بالا و پایین (به دلیل آرتیفکت احتمالی در سطح بافت) صرف نظر شد. سپس به‌میزان ۱۰ میکرون در جهت محور Z در عمق بافت پایین آمده و در حین

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

حرکت تمام انواع سلول‌های ذکر شده که با فریم مورد نظر انتخاب شدند، شمارش گردید (میانگین ۱۳۰-۱۵۰ عدد از هر سلول). بعد از محاسبه دانسیته عددی سلول‌ها، عدد حاصل در حجم نهایی بیضه مربوطه ضرب شد تا تعداد کل انواع سلول‌های موردنظر به‌دست آید (۲۷).

بررسی و سنجش میزان مالون دی آلدهید سرم

بعد از عمل خون‌گیری از قلب موش‌ها و سانتریفوژ نمونه‌های خون به‌مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۱۶۰۰۰g، با استفاده از سمپلر، سرم هر نمونه جدا و مجددا به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰ g سانتریفوژ شد. در پایان، نمونه‌های سرم در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان مورد نیاز نگه‌داری شدند. برای اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی آلدهید سرم (MDA: Malondialdehyde) از محلول TCA-TBA-HCL شامل تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱۵٪ گرم بر میلی‌لیتر، ۳۷۵٪ گرم بر میلی‌لیتر تیوباربیوتیک اسید (TBA) ۳۷۵٪ گرم بر میلی‌لیتر و اسید کلریدریک (HCL) ۰/۲۵ نرمال استفاده شد. روش کار به این صورت بود که ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه با ۱ میلی‌لیتر از محلول TCA-TBA-HCL مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. مایع رویی به دقت جدا و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در برابر بلانک خوانده شد. در این روش MDA با TBA واکنش داده و ترکیبی با رنگ صورتی تولید می‌کند که پرتوهایی با طول موج ۵۳۲ نانومتر را جذب می‌کند. غلظت MDA با استفاده از ضریب خاموشی (Extinction coefficient) آن که عبارت است از $1/56\times10^{5}\ M^{-1}\ Cm^{-1}$ محاسبه گردید و بر حسب نانومول بر میلی‌لیتر (nmol/ml) بیان شد. غلظت MDA بر حسب نانومول بر میلی‌لیتر (nmol/ml) و بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد (۳۱).

$$\text{غلظت MDA} = \frac{\text{جذب نمونه}}{1/56\times10^{5}} = Y \rightarrow Y\times10^{6}\ (\text{nmol/ml})$$

بررسی و سنجش میزان تستوسترون سرم

برای اندازه‌گیری تستوسترون سرم از کیت DRG Testosterone ELISA (EIA-1559) استفاده شد که بر اساس سنجش ایمونولوژیکی آنزیمی رقابتی تهیه شده است (۳۲). روش اندازه‌گیری نیز مطابق دستورالعمل ارائه شده در کیت مذکور صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (version 16) و روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی تجزیه و تحلیل و تفاوت میانگین‌ها در سطح ($p<0/05$) معنی‌دار در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه اراک تایید شده است. لازم به ذکر است که در این تحقیق، کلیه ضوابط اخلاقی رعایت گردیده است

نتایج

حجم کل بیضه، لوله‌های منی‌ساز و بافت بینابینی

میانگین حجم کل بیضه ($P<0/03$) و لوله‌های منی‌ساز ($P<0/04$) در گروه بیسفنولA نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری را نشان داد، افزایش پارامترهای فوق در گروه تیمار همزمان ویتامینE با بیسفنولA نسبت به گروه بیسفنولA معنی‌دار بود ($P<0/04$). از مقایسه میانگین حجم بافت بینابینی در بین چهار گروه، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$) (جدول ۱)

جدول ۱: مقایسه میانگین حجم کل بیضه، حجم لوله‌های منی‌ساز و بافت بینابینی در گروه‌های مختلف موش صحرایی بعد از ۸ هفته (۳ بار در هفته) تیمار با بیسفنولA (۲۵۰mg/kg) و ویتامینE (۱۵۰mg/kg).

گروه‌ها	حجم کل بیضه (mm3)	حجم لوله‌های منی‌ساز (mm3)	حجم بافت بینابینی (mm3)
کنترل	۱۰۷۰/۲±۶۸/۲۱[a]	۷۹۸/۶۵±۶۸/۲۱[a]	۲۶۶/۲۲±۲۹/۹۱[a]
بیسفنولA	۹۱۴/۳۷±۵۴/۱۸b	۶۵۸/۵۷±۴۴/۶b	۲۵۵/۵±۱۶/۹۶a
بیسفنولA+ویتامینE	۱۰۲۷/۷±۶۱/۴۴[a]	۷۴۶/۰۷±۳۶/۹۴[a]	۲۸۱/۶۱±۳۸/۲۱[a]
ویتامینE	۱۰۴۶/۱±۵۸/۵۹[a]	۷۹۸/۹۱±۶۰/۴۹[a]	۲۴۶/۸۴±۲۳/۰۹a

مقادیر به‌صورت Means±SD می‌باشد. میانگین‌ها با کد حرف‌های مختلف، دارای تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر می‌باشند.
(One way ANOVA, Tukey's test, P< 0.05)

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

طول لوله‌های منی‌ساز، قطر، ضخامت غشا پایه و ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی لوله‌های منی‌ساز

میانگین طول لوله‌های منی‌ساز در بین چهار گروه تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، در صورتی که میانگین قطر لوله‌های منی‌ساز (P<۰/۰۰۱)، ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی (P<۰/۰۰۲) و ضخامت غشای پایه لوله‌های منی‌ساز (P<۰/۰۰۱) در گروه بیسفنولA نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. در گروه بیسفنولA + ویتامینE، ویتامینE توانست پارامترهای ذکر شده را نسبت به گروه بیسفنولA به طور معنی‌داری افزایش داده و به حد گروه کنترل نزدیک کند. در گروه ویتامینE، افزایش معنی‌داری در میانگین ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی لوله‌های منی‌ساز در مقایسه با گروه بیسفنولA و گروه بیسفنولA + ویتامینE مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه میانگین طول، قطر، ضخامت غشا پایه و ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی لوله‌های منی‌ساز در گروه‌های مختلف موش صحرایی بعد از ۸ هفته (۳ بار در هفته) تیمار با بیسفنولA (۲۵۰mg/kg) و ویتامینE (۱۵۰mg/kg).

گروه‌ها	طول لوله‌های منی‌ساز (m)	قطرلوله‌های منی‌ساز (µm)	ضخامت غشا پایه لوله‌های منی‌ساز (µm)	میانگین ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی لوله‌های منی‌ساز (µm)
کنترل	۱۶/۹۴±۳/۲۷^{a}	۲۵۰/۴۴±۲/۵۰^{a}	۸/۴۰±۰/۲^{a}	۷۷/۰۳±۶/۹۹^{ab}
بیسفنولA	۱۵/۶۹±۳/۲۵^{a}	۲۳۶/۶۳±۶/۲۱^{b}	۷/۸۷±۰/۱۶^{b}	۶۲/۴۲±۷/۳۳^{c}
بیسفنولA+ویتامینE	۱۵/۳۰±۰/۵۶^{a}	۲۴۵/۹±۳/۹۷^{a}	۸/۲۱±۰/۲۶^{a}	۷۲/۰۵±۲/۶^{a}
ویتامینE	۱۶/۳۵±۱/۹۱^{a}	۲۵۱/۵۵±۶/۱۹^{a}	۸/۳۶±۰/۱۴^{a}	۸۲/۹۱±۴/۹۲^{b}

مقادیر به صورت Means±SD می‌باشد. میانگین‌ها با کد حرف‌های مختلف، دارای تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر می‌باشند.
(One way ANOVA, Tukey's test, P< 0.05)

تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید (گرد و دراز) و سرتولی

میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه بیسفنولA، فقط نسبت به گروه ویتامینE کاهش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۰۷) ولی نسبت به گروه کنترل این کاهش معنی‌دار نبود. هم‌چنین کاهش معنی‌داری در میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت (P<۰/۰۰۲)، اسپرماتید گرد (P<۰/۰۰۱)، اسپرماتید دراز (P<۰/۰۰۱) و سلول‌های سرتولی (P<۰/۰۱) در گروه بیسفنولA نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در گروهی که هم زمان با بیسفنولA، ویتامین E هم دریافت می‌کرد، کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت، اسپرماتید گرد، اسپرماتید دراز و سرتولی به طور معنی‌دار (P<۰/۰۰۹) و در حد گروه کنترل جبران شد (جدول ۳).

جدول۳: مقایسه میانگین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید گرد و دراز و سرتولی در گروه‌های مختلف موش صحرایی بعد از ۸ هفته (۳ بار در هفته) تیمار با بیسفنولA (۲۵۰mg/kg) و ویتامینE (۱۵۰mg/kg).

گروه‌ها	تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی ×۱۰^{۶}	تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت ×۱۰^{۶}	تعداد سلول‌های اسپرماتید گرد ×۱۰^{۶}	تعداد سلول‌های اسپرماتید دراز ×۱۰^{۶}	تعداد سلول‌های سرتولی ×۱۰^{۶}
کنترل	۹/۶۸±۱/۰۷^{ab}	۱۴۵±۱۰/۹۹^{a}	۲۲۲/۹۶±۱۸/۲^{ab}	۲۱۱/۸۲±۲۱/۹۰^{a}	۳۲/۹۳±۳/۶^{ab}
بیسفنولA	۷/۷۶±۱/۰۵^{a}	۱۲۱/۴۸±۸/۰۲^{b}	۱۶۷/۶۵±۱۱/۳۳^{c}	۱۵۸/۳۱±۱۱/۵۲^{b}	۲۵/۸۶±۳/۲۸^{c}
بیسفنولA+ویتامین E	۸/۵۳±۰/۷۷^{ab}	۱۴۱/۹۳±۸/۷۳^{a}	۲۰۳/۶۶±۱۱/۶۲^{a}	۱۹۷/۰۸±۱۶/۱۳^{a}	۳۱/۸۶±۳/۲۵^{a}
ویتامینE	۱۰/۶±۱/۹۳^{b}	۱۵۵/۹۱±۱۰/۰۲^{a}	۲۳۲/۳۱±۱۸/۲۷^{b}	۲۲۲/۴۹±۲۲/۹۷^{a}	۳۷/۴۱±۵/۰۷^{b}

مقادیر به صورت Means±SD می‌باشد. میانگین‌ها با کد حرف‌های مختلف، دارای تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر می‌باشند
(One way ANOVA, Tukey's test, P < 0.05).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

وزن رت و وزن بیضه

میانگین وزن موش‌ها بعد از اتمام دوره تیمار در بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵)، اما میانگین وزن بیضه موش‌های تحت تیمار با بیسفنولA نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۱) در حالی که وزن بیضه در گروه تیمار همزمان بیسفنولA + ویتامینE نسبت به گروه بیسفنولA افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۴) (جدول۴).

جدول۴: مقایسه میانگین وزن بدن و وزن بیضه در گروه‌های مختلف موش صحرایی بعد از ۸ هفته (۳ بار در هفته) تیمار با بیسفنولA (۲۵۰mg/kg) و ویتامینE (۱۵۰mg/kg). مقادیر به صورت means±sd می‌باشد.

گروه‌ها	وزن بدن قبل از تیمار (gr)	وزن بدن در پایان دوره تیمار (gr)	وزن بیضه (gr)	وزن بیضه نسبت به وزن بدن (gr)
کنترل	۲۳۱/۱۶±۱۰/۵۷[a]	۲۹۲/۹۳±۲۷/۱۱[a]	۱/۵۲±۰/۰۷[a]	۰/۰۰۵۱
بیسفنولA	۲۳۲±۱۱/۳۱[a]	۲۸۰±۱۴/۲۸[a]	۱/۳۶±۰/۰۹[b]	۰/۰۰۴۸
بیسفنولA+ویتامینE	۲۲۹/۶۶±۱۳/۶۹[a]	۲۸۳/۳۸±۱۳/۴۲[a]	۱/۴۹±۰/۰۷[a]	۰/۰۰۵۲
ویتامینE	۲۳۱/۳۳±۸/۹۱[a]	۳۰۱/۶۳±۱۵/۳۵[a]	۱/۵۱±۰/۰۶[a]	۰/۰۰۵۰

میانگین‌ها با کد حرف‌های مختلف، دارای تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر می‌باشند (One way ANOVA, Tukey's test, P < 0.05).

غلظت هورمون تستوسترون و مالون‌دی‌آلدهید سرم

در گروه تیمار شده با بیسفنولA، میانگین غلظت تستوسترون سرم کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۲). میانگین غلظت تستوسترون سرم در گروه بیسفنولA + ویتامینE نسبت به هر دو گروه کنترل و بیسفنولA تغییر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). هم‌چنین افزایش معنی‌داری در سطح MDA سرم رت‌های تحت تیمار با بیسفنولA در مقایسه با گروه کنترل دیده شد (P<۰/۰۳) در حالی‌که ویتامینE منجر به کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۴) سطح MDA سرم در گروه بیسفنولA + ویتامینE نسبت به گروه بیسفنولA گردید (جدول۵).

جدول۵: مقایسه میانگین غلظت هورمون تستوسترون و مالون‌دی‌آلدهید سرم خون در گروه‌های مختلف موش صحرایی بعد از ۸ هفته (۳ بار در هفته) تیمار با بیسفنولA (۲۵۰mg/kg) و ویتامینE (۱۵۰mg/kg). مقادیر به صورت Means ±SD می‌باشد.

گروه‌ها	غلظت تستوسترون سرم (ng/ml)	غلظت مالون‌دی‌آلدهید سرم (nmol/ml)
کنترل	۱/۷۲±۰/۲۵[a]	۲/۸۴±۰/۶۲[a]
بیسفنولA	۱/۱۸±۰/۳۹[b]	۳/۶۷±۰/۳۳[b]
بیسفنولA+ویتامینE	۱/۶۲±۰/۳۲[ab]	۲/۸۷±۰/۴۹[a]
ویتامینE	۱/۷۳±۰/۲۰[a]	۲/۵۱±۰/۴۲[a]

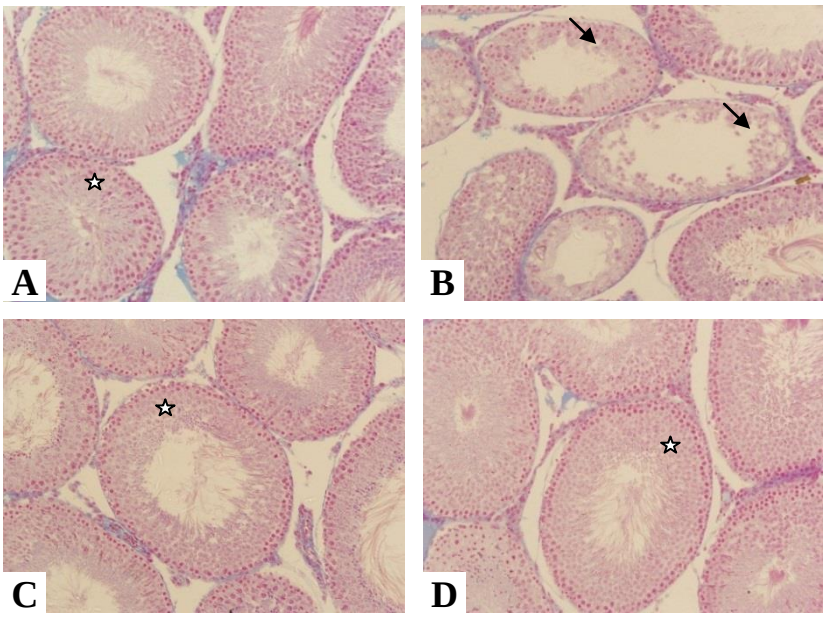
میانگین‌ها با کد حرف‌های مختلف، دارای تفاوت معنی‌داری نسبت به یکدیگر می‌باشند (One way ANOVA, Tukey's test, P < 0.05) .

تغییرات هیستوپاتولوژی بیضه

در بیضه موش‌های گروه کنترل، لوله‌های منی‌ساز و اپی‌تلیوم زایشی حالت طبیعی خود را حفظ کرده و سلول‌ها دارای نظم و به‌هم پیوستگی طبیعی بودند (شکل ۱-A). در بیضه موش‌های گروه بیسفنولA، آتروفی لوله‌های منی‌ساز مشاهده شد. در این گروه ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی نسبت به دیگر گروه‌ها کاهش یافت و در برخی از لوله‌های منی‌ساز، واکوئل‌زایی در اپی‌تلیوم زایشی مشاهده گردید (شکل ۱-B). بررسی بافت‌شناسی بیضه موش‌های گروه بیسفنولA + ویتامینE نشان داد که تجویز ویتامینE توانسته اکثر تخریب‌ها و بی‌نظمی‌های ایجاد شده توسط بیسفنول*A* را جبران کند به‌طوری که لوله‌های منی‌ساز دارای ساختار و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

اسپرماتوژنز طبیعی بودند (شکل ۱-C). در گروه ویتامینE، لوله‌های منی‌ساز ساختار طبیعی همانند گروه کنترل داشته و ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی آن‌ها تاحدودی نسبت به گروه‌های دیگر افزایش نشان داد (شکل ۱-D).



شکل ۱: تصاویر میکروسکوپی از بافت بیضه موش‌های صحرایی بالغ در گروه‌های مختلف (برش‌های ۵ میکرونی، رنگ‌آمیزی هایدن هاین آزان، بزرگنمایی ۲۰۰x): A) آرایش طبیعی اپی‌تلیوم زایشی (ستاره) در گروه کنترل. B) کاهش ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی(پیکان)، بی‌نظمی و واکوئله شدن اپی‌تلیوم زایشی (نوک پیکان) و تخریب اسپرماتوژنز در گروه تیمار شده با بیسفنولA. C) آرایش تقریبا طبیعی اپی‌تلیوم زایشی و اسپرماتوژنز نرمال (ستاره) در گروه تیمار شده با بیسفنولA + ویتامینE. D) آرایش طبیعی اپی‌تلیوم زایشی (ستاره) در گروه تیمار شده با ویتامینE.

بحث

در این مطالعه بیسفنولA موجب کاهش معنی‌دار میانگین حجم کل بیضه و حجم لوله‌های منی‌ساز در مقایسه با گروه کنترل گردید. با توجه به این‌که بیش‌تر حجم بیضه از لوله‌های منی‌ساز تشکیل شده است (۳۳)، بنابراین، کاهش حجم بیضه ممکن است ناشی از کاهش حجم لوله‌های منی‌ساز باشد.

کاهش حجم لوله‌های منی‌ساز نیز می‌تواند به دلیل آتروفی و کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز در اثر تیمار با بیسفنولA باشد که در پژوهش دیگران نیز گزارش شده است (۷،۳۴). از طرفی آتروفی لوله‌های منی‌ساز در گروه بیسفنول A احتمالا از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های استروئیدوژنیک بیضه (۳۴)، آپوپتوز در سلول‌های جنسی و کاهش تعداد آن‌ها (۱۸،۳۵) ایجاد شده است. از طرفی، هم‌سو با نتایج مطالعات قبلی در این پژوهش تیمار موش‌های بالغ با بیسفنولA باعث کاهش معنی‌دار قطر، ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی و ضخامت غشا پایه لوله‌های منی‌ساز، کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت، اسپرماتید (گرد و دراز) و سرتولی گردید (۷،۸). در این راستا در مطالعه‌ای که بر روی موش‌های صحرایی نژاد SD در طی ۶ هفته تیمار دهانی با دوز ۱۰۰mg/kg/day از بیسفنولA انجام گرفت، قطر لوله‌های منی‌ساز کاهش معنی‌داری را نشان داد و علت آن، نازک شدن اپی‌تلیوم زایشی گزارش شد (۸). هم‌چنین کاهش قطر و ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی لوله‌های منی‌ساز در بیضه موش‌های صحرایی تحت تیمار با دوز ۵۰mg/kg/day از بیسفنولA به مدت ۸ هفته (۶ روز در هفته) گزارش شده است (۷). دلیل این کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز، کاهش تعداد سلول‌های سرتولی و جنسی در اثر آپوپتوز و یا اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز بیان شده است (۳۵). آزادسازی نابهنگام سلول های جنسی نابالغ و کاهش ضخامت اپی تلیوم زایشی می تواند به دلیل کاهش بیان برخی از پروتئین های موجود در اتصالات بین سلولی در اپی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

تلیوم زایشی بر اثر بیسفنول A باشد که منجر به تخریب این اتصالات و نیز سد خونی-بیضه ای می گردد (۶،۳۶). علاوه بر این کاهش سطح تستوسترون و نیز اختلال در سد خونی-بیضه ای باعث جلوگیری از پیشروی تقسیمات سلولی در سلول های جنسی شده و در نتیجه موجب جدا شدن این سلول ها به صورت نابالغ و زود هنگام از سلول های سرتولی می گردد (۱۱).کاهش غلظت هورمون تستوسترون ممکن است دلیل دیگری برای اختلال در روند اسپرماتوژنز ، آتروفی لوله های منی ساز و دژنره شدن سلول های جنسی در اثر بیسفنول A باشد (۷،۳۷). چنان که مشاهده شد، در این مطالعه غلظت تستوسترون در رت های تیمار شده با بیسفنول A نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد. در این زمینه بایدگفت که بیسفنول A می‌تواند از طریق کاهش بیان پروتئین حامل کلسترول که StAR نام دارد (تستوسترون در سلول‌های لیدیگ از کلسترول ساخته می‌شود) و کاهش بیان برخی از آنزیم‌های استروئیدوژنیک موثر در فرآیند تولید تستوسترون از قبیل P450scc، $P450_{17\alpha}$ و 17β-HSD- mRNAو کاهش تعداد سلول‌های لیدیگ، سبب کاهش غلظت تستوسترون سرم گردد (۳۸). کاهش ترشح LH هیپوفیزی (هورمون محرک ترشح تستوسترون از سلول‌های لیدیگ)، اختلال در اتصال هورمون LH به گیرنده‌های خود (۹) نیز می‌تواند یک دلیل دیگر برای کاهش غلظت تستوسترون در اثر تیمار با بیسفنولA باشد.

این آلاینده زیست محیطی می تواند از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو، افزایش آسیب به DNA سلول‌های اسپرماتوسیت و تغییر نسبت بین سلول‌های جنسی در مراحل مختلف رشد و نمو (۲۲) و القای آپوپتوز از طریق فعال سازی مسیر سیگنالدهی Fas/Fasl در سلول‌های جنسی (۳۹) ، اختلال در اتصال بین سلول‌های سرتولی از طریق کاهش بیان پروتئین‌های N-کادهرین، اوکلودین، زونولا اوکلودنس-۱ و کانکسین-۴۳ و یا تغییر جایگاه آن‌ها بر روی غشا (۴۰) ، تغییر غلظت هورمون‌های FSH و LH و تستوسترون (۹) ، کاهش بیان برخی ژن‌های موثر در فرآیند اسپرماتوژنز از قبیل (Outer dense fiber protein 1 *ODF1*) و (Transition protein-1 *TNP1*) (۴۱)، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در بیضه از جمله گلوتاتیون‌ردوکتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز (۵) سلول های جنسی را در برابر اسپرماتوژنز تحت تاثیر اثر نامطلوب خود قرار دهد.

هم چنین با در نظر گرفتن ارتباطات گسترده‌ای که در سطح بیوشیمیایی و مولکولی بین سلول‌های جنسی و سرتولی در سراسر روند اسپرماتوژنز وجود دارد بنابراین هر عاملی که باعث اختلال در عملکرد و زنده ماندن سلول‌های سرتولی شود نیز اثرات عمیقی بر اسپرماتوژنز دارد (۴۲). از اینرو می توان گفت که در مطالعه حاضر کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت و اسپرماتید می‌تواند به علت اختلال در عملکرد و کاهش تعداد سلول‌های سرتولی در اثر بیسفنولA می باشد.

چنان که می دانیم، رادیکال‌های آزاد باعث راه‌اندازی فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی در موجودات زنده می‌شوند و مالون دی آلدهید یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در سلول‌ها می‌باشد. سنجش میزان مالون دی آلدهید معمولا به عنوان شاخصی برای اثبات دخالت رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو شناخته می‌شود (۴۳).

به همین جهت در راستای نتایج تحقیقات صورت گرفته در پژوهش حاضر نیز افزایش غلظت مالون دی آلدهید می‌تواند ناشی از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در اثر تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی (۵) در اثر تیمار با بیسفنولA درنظر گرفته شود.

چنان که نتایج این مطالعه نشان داد، میانگین وزن بدن در پایان دوره تیمار در بین گروه‌های مختلف، تغییر معنی‌داری را نشان نداد. این یافته با نتایج برخی از مطالعات صورت گرفته در این زمینه مطابقت دارد (۸،۲۲). علت کاهش وزن بدن در اثر برخی آلاینده های زیست محیطی و سموم، کم شدن مصرف غذا در نتیجه بی اشتهایی می باشد (۴۴). بنابراین این احتمال وجود دارد که این مقدار دوز بیسفنولA در این دوره زمانی در حدی نبوده است که اثری بر وزن رت‌ها داشته باشد. همان طور

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

که نتایج این مطالعه نشان داد ویتامینE توانست اثرات مخرب بیسفنولA را در خصوص کاهش وزن و حجم بیضه و حجم لوله‌های منی‌ساز را در حد گروه کنترل جبران نماید. هم‌چنین افزایش معنی‌داری در میانگین قطر، ارتفاع اپی‌تلیوم زایشی و ضخامت غشا پایه لوله‌های منی‌ساز، تعداد سلول‌های اسپرماتید، اسپرماتوسیت و سرتولی در گروه تیمار هم زمان بیسفنولA + ویتامینE نسبت به گروه بیسفنولA مشاهده شد. سطح مالون دی آلدئید در رت هایی که به طور هم زمان بیسفنول A ویتامینE را دریافت کرده بودند نیز کاهش نشان داد. ویتامینE احتمالا با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانتی و مهار رادیکال‌های آزاد (۱۷)، اثرات اکسیداتیو بیسفنولA بر بافت بیضه را خنثی و از این طریق سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و MDA سرم در گروه تیمار هم زمان بیسفنولA + ویتامینE شده است.

علاوه بر این، در این مطالعه ویتامین E اثر حفاظتی بر سطح هورمون تستوسترون در رت های تیمار شده با بیسفنول A و ویتامین E داشت و میزان آن را در حد گروه کنترل حفظ کرد. مکانیسم ویتامینE در حفظ سطح هورمون تستوسترون ممکن است ناشی از تاثیر آن بر فعالیت آنزیم‌های ۱۷و۳-ß- هیدروکسی استروئید دهیدروژناز (آنزیم‌های موثر در سنتز تستوسترون) باشد (۱۰). نقش ویتامینE در جلوگیری از کاهش تعداد سلول‌های اپی‌تلیوم زایشی و بهبود روند اسپرماتوژنز در برابر آلاینده‌های زیست محیطی در نتایج محققان دیگر نیز مشاهده شده است (۴۴،۱۰).

این ویتامین نقش مهمی در حفظ و بقای اسپرماتیدها داشته (۱۰) و باعث کاهش بیان پروتئین Bax و کاهش آپوپتوز در سلول‌های جنسی شده (۱۵) و از این طریق می‌تواند از کاهش سلول‌های اپی‌تلیوم زایشی نیز جلوگیری کند. ویتامینE هم‌چنین با افزایش سطح هورمون تستوسترون (۱۶، ۱۰)، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در بیضه (۱۰)، مهار آسیب اکسیداتیو به اسیدهای چرب غیر اشباع در غشاهای سلولی و اندامک‌ها (۲۳) و حفظ اتصال بین سلول‌های سرتولی و جنسی در اپی‌تلیوم زایشی (۴۵) می‌تواند در پایدارسازی غشاهای سلولی و حفظ روند اسپرماتوژنز نقش داشته باشد. بنابراین اثر ویتامینE در پیشگیری موثر از آسیب به اپی‌تلیوم زایشی لوله‌های منی‌ساز در گروه تیمار هم زمان بیسفنولA + ویتامینE ممکن است به نقش این ویتامین بر پایدارسازی غشاهای سلولی و حفظ اتصال بین سلول‌های سرتولی و جنسی مرتبط باشد.

نتیجه گیری

نتایج ما نشان داد که بیسفنولA به عنوان یک مخرب اندوکرینی موجب آسیب‌های بافتی و سلولی در بافت بیضه موش صحرایی بالغ شد و ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت توانست اثرات نامطلوب بیسفنولA بر تغییرات بافت شناسی ذکر شده و تعداد سلول های جنسی و سرتولی در گروه تیمار هم زمان بیسفنول A + ویتامین E ، تعدیل و جبران کند. بنابراین می توان گفت که ویتامین E از طریق مهار رادیکال های آزاد و حفظ فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی و تنظیم سطح تستوسترون موجب بهبود روند اسپرماتوژنز و جبران تغییرات نامطلوب بافتی ناشی از سمیت بیسفنول A شده است و پیشنهاد می‌شود از آن به عنوان یک مکمل بالقوه در موارد مسمومیت با بیسفنولA استفاده شود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم مرضیه امجدی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی سلولی تکوینی از دانشکده علوم پایه دانشگاه اراک بود و با حمایت مالی حوزه معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه اراک به انجام رسیده است. در ضمن از کمک‌های ارزشمند مسئولین آزمایشگاه سلولی-تکوینی دانشگاه اراک به خصوص خانم نادری در این مطالعه صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

تعارض در منافع: وجود ندارد

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

References:

1- Tamilselvan P, Bharathiraja K, Vijayaprakash S, Balasubramanian MP. ***Protective role of lycopene on bisphenol A induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats***. Int J Pharm Bio Sci 2013; 4(4): 131-43.

2- Mourad IM, Khadrawy YA. ***The sensitivity of liver, kidney and testis of rats to oxidative stress induced by different doses of bisphenol A***. Int J life sci pharma res 2012; 2 (2): 19-28.

3- Chouhan S, Yadav SK, Prakash J, Singh SP. ***Effect of Bisphenol A on human health and its degradation by microorganisms: a review***. Ann Microbiol 2014; 64(1): 13-21.

4- Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV**.** ***Human exposure to bisphenol A (Bisphenol A)***. Reprod Toxicol 2007; 24(2): 139-77.

5- El-Beshbishy HA, Aly H, El-Shafey M. ***Lipoic acid mitigates bisphenol A-induced testicular mitochondrial toxicity in rats***. Toxicol Ind Health 2012; 29(10): 875-87.

6- Toyama Y ,Yuassa S. ***Effects of neonatal administration of 17 beta estradiol, beta estradiol 3 benzoate or BPA on mouse and rat spermatogenesis***. Reprod Toxicol 2004; 19(2): 181-88.

7- Mohamed DA, Arafa MH. ***Testicular toxic changes induced by bisphenol A in adult albino rats: a histological, biochemical, and immunohistochemical study***. Egypt J Histol 2013; 36(1): 233-45.

8- Gurmeet KSS, Rosnah I, Normadiah MK, Das S, Mustafa AM. ***Detrimental effects of bisphenpl a on development and functions of the male reproductive system in experimental***. EXCLI Journal 2014; 13: 151-60.

9- Helal E, Badawi M, Soliman M, Abdel-Kawi N, Fadel H, Abozaid N. ***Physiological and histopathological studies on bisphenol-A compound as xenoestrogen in male albino rats***. EJHM 2013; 50: 127-36.

10- Chandra AK, Chatterjee A, Ghosh R, Sarkar M. ***Vitamin E-supplementation protect chromium (VI)-induced spermatogenic and steroidogenic disorders in testicular tissues of rats***. Food Chem Toxicol 2010; 48(3): 972-79.

11- El-Shenawy NS, AL-Harbi MS, Hamza RZ. ***Effect of vitamin E and selenium separately and in combination on biochemical, immunological and histological changes induced by sodium azide in male mice***. Exp Toxicol Pathol 2014; 67(1): 65-76.

12- Walker WH. ***Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis***. J Spermatogenesis 2011; 1(2): 116-20.

13- Birangane RS, Chole DG, Prakash Reddy K. ***A review of antioxidants***. *JIAOMR* 2011; 23(5): 351-53.

14- Wang X, Quinn PJ. ***The location and function of vitamin E in membranes (Review)***. Mol Membr Biol 2000; 17(3): 143-56.

15- Kukner A, Oner J, Oner H, Ozan E. ***Effect of the Vitamin E on Expression of Apoptosis-Related Proteins in Immobilized Rat Testes***. J Anim Vet Adv 2010; 9(1): 180-85.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

16- Hamadouche NA, Sadi N, Kharoubi O, Slimani M, Aoues A. ***The protective effect of vitamin E aginst genotoxicity of lead acetate intraperitoneal administration in male rat***. Arch Biol Sci 2013; 65(4): 1435-45.

17- Ayinde OC, Ogunnowo S, Ogedegbe RA. ***Influence of Vitamin C and Vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats***. BMC Pharmacol Toxicol 2012; 13(1): 1-8.

18- Deng MX, Wu DS, Chen XG, Zhang LS, Xu PY. ***[Experimental studies on male reproductive toxicity of bisphenol A in vitro and vivo.]***. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi 2004; 38(6): 383-87.

19- Adaikpoh MA, Obi FO. ***Prevention of cadmium-induced alteration in rat testes and prostate lipid patterns by α-tocopherol***. Afr J Biochem Res 2009; 3(10): 321-25.

20- Morgan AM, El-Ballal SS, El-Bialy BE, EL-Borai NB. ***Studies on the potential protective effect of cinnamon againstbisphenol A- and octylphenol-induced oxidative stress inmale albino rats***. Toxicology Reports 2014; 1(2014): 92-101.

21- Creasy DM. ***Evaluation of Testicular Toxicity in Safety Evaluation Studies: The Appropriate Use of Spermatogenic Staging***. Toxicol Pathol 1997; 25(2): 119-31.

22- Wu HJ, Liu C, Duan WX, et al. ***Melatonin ameliorates bisphenol A-induced DNA damage in the germ cells of adult male rats***. Mutat Res 2013; 752(1-2): 57-67.

23- Hamza RZ, AL-Harbi MS. ***Monosodium glutamate induced testicular toxicity and the possible ameliorative role of vitamin E or selenium in male rats***. Toxicol Rep 2014; 1: 1037-45.

24- Mandarim-de-Lacerda CA. ***Stereological tools in biomedical research***. An Acad Bras Cienc 2003; 75(4): 469-86.

25- Latendresse JR, Warbrittion AR, Jonassen H, Creasy DM. ***Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid***. Toxicol Pathol 2002; 30(4): 524–33.

26- Howard C, Reed M. ***Unbiased Stereology: Three Dimentional Measurment in Microscopy***. J Anat 1999; 194(1): 153-57.

27- Soleimani Mehranjani M, Noorafshan A, Momeni HR, Abnosi MH, Mahmoodi M. ***Stereological study of the effects of vitamin E on testis structure in rats treated with paranonylphenol***. Asian J Androl 2009; 11(4): 508-16.

28- Hoseini L, Roozbeh J, Sagheb M, Doust SK, Noorafshan A. ***Nandrolonedecanoate increases the volume but not the length of the proximal and distal convoluted tubules of the mouse kidney***. Micron 2009; 40(2): 226-30.

29- Dalgaard M, Pilegaard K, Ladefoged O. ***In utero exposure to diethylstilboestrol or 4- n-nonylphenol in rats: number of sertoli cells, diameter and length of seminiferous tubules estimated by stereological methods***. Pharmacol Toxicol 2002; 90(2): 59–65.

30- Nyengaard JR, Ferrando RE, Hays SR, Fahy JV, Woodruff PG. ***Applying stereology to measure thickness of the basement membrane zone in bronchial biopsy specimens***. Allergy clin Immunol 2003; 112(6): 1243–45.

31- Esterbauer H, Cheeseman KH. ***Determination of aldehydic lipid peroxidation products:***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. Methods Enzymol 1990; 186: 407-21.

32- Afify M, Abd Elmaksoud M, Mosa T, Elshaer M, Kotb N. ***Differential effects of amitriptyline treatment on testicular and liver functions in adult male rats***. New York Sci 2010; 3(3): 10-18.

33- Sharma Rk. Physiollogy of male gametogenesis. In: Falcone T**,** Hurd W (editors). ***Clinical Reproductive Medicine and Surgery***. 3nd ed. New York: Springer; 2013: 73-83.

34- 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.

35- Kovačevič K, Budefeld T, Majdič G. ***Reduced seminiferous tubule diameter in Mice neonatally exposed to perfume***. Slov Vet Res 2006; 43: 177-183.

36- Anahara R, Yoshida M, Toyama Y, et al. ***Estrogen agonists, 17 beta-estradiol, Bisphenol A, and diethylstilbestrol decrease cortactin expression in the mouse testis***. Arch Histol Cytol 2006; 69(2): 101–7.

37- Singh J, Handelsman DJ. ***The Effects of Recombinant FSH on Testosterone-Induced Spermatogenesis in Gonadotrophin-Deficient (hpg) Mice***. J Androl 1996; 17(4): 382-93.

38- Nakamura D, Yanagiba Y, Duan Z, et al. ***Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol***. Toxicol Lett 2010; 194(1-2): 16-25.

39- Li YJ, Song TB, Cai YY, et al. ***Bisphenol A Exposure Induces Apoptosis and Upregulation of Fas/FasL and Caspase-3 Expression in the Testes of Mice***. Toxicol Sci 2009; 108(2): 427-36.

40- Wetherill YB, Akingbemi BT, Kanno J, et al. ***In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action***. Reprod Toxicol 2007; 24(2): 178-98.

41- Qiu LL, Wang X, Zhang XH, et al. ***Decreased androgen receptor expression may contribute to spermatogenesis failure in rats exposed to low concentration of bisphenol A***. Toxicol Lett 2013; 219(2): 116-24.

42- Cheng CY, Mruk DD. ***Cell Junction Dynamics in the Testis: Sertoli-Germ Cell Interactions and Male Contraceptive Development***. Physiol Rev 2002; 82(4): 825–74.

43- Gaweł S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. ***Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker***. Wiad Lek 2004; 57(9-10): 453-55.

44- Hanadi BA, Kelany AHM, Elqudsi FM, Ameen HA, El Karium SA. ***The possible protective role of antioxidant (Selenium, Vitamin E) in reducing smoking effects on testes of Albino Rats***. Mol Cell Biochem 2009; 321: 37-43.

45- Kontush A, Finckh B, Karten B, Kohlschütter A, Beisiegel U. ***Antioxidant and prooxidant activity of alpha-tocopherol in human plasma and low density lipoprotein***. J Lipid Res 1996; 37(7): 1436-48.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences **Received: 9 Apr 2017**
Vol 26 | NO 2 | May 2018 **Accepted: 9 Jul 2017**

Protective role of vitamin E in preventing the adverse effects of bisphenol A on rat testis tissue: A stereological evaluation

Malek Soleimani Mehranjani[1†], Monireh Mahmoodi[2], Marziye Amjadi[3]

Original Article

Introdution: Bisphenol A (BPA) as an environmental pollutant has estrogenic effects and can induce oxidative stress in the testis tissue. The aim of the present study was to investigate the role of vitamin E (Vit E), as a strong antioxidant, on the adverse effect of BPA on adult rat testis tissue.

Methods: Male rats (220±15g) were divided into 4 groups (n=6/each): control, Bisphenol A (250 mg/kg/day), Bisphenol A+ Vit E (150 mg/kg/day) and Vit E and orally treated for 56 days. At the end of the treatment, the right testis was removed and after fixation, sectioning, tissue processing and staining with Heidenhain's Azan method was evaluated stereologically. The serum testosterone and malondialdehyde (MDA) levels were also measured. Data were analyzed using one way ANOVA and Tukey's test and the means were considered significantly different ($P<0.05$).

Results: A significant decrease in the total volume of testis, volume and diameter of seminiferous tubule and its height of the germinal epithelium and thickness of the basement membrane, number of spermatids, spermatocyte and sertoli cells, Serum testosterone levels and a significant increase in the serum MDA level were found in the Bisphenol A group compared to the control group. The above parameters were compensated to the control level in the Bisphenol A + Vit E group.

Conclusion: Vitamin E, as a strange antioxidant, could compensate many adverse the effects of Bisphenol A on the testis tissue, so it is suggested that it can be used as a potential supplement in case of BPA intoxication.

Keywords: Bisphenol A, Vitamin E, Stereology, Testis, Rat.

Citation: Soleimani Mehranjani M, Mahmoodi M, Amjadi M. ***Protective role of vitamin E in preventing the adverse effects of bisphenol A on rat testis tissue: A stereological evaluation*.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 26(2): 97-110.

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran
[2]Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran
[3]Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran
***Corresponding author: Tel:** 09181617098, **email:** m-soleimani@araku.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-20]