

Original Article

Study of subacute renal toxicity of *Bisphenol A* in rats

Samira Nomiri^{1,3}, Zahra Kiani^{2*}, Reyhane Hoshyar^{3*}, Somayeh Hayati^{1,4}

ABSTRACT

Background and Aims: Bisphenol A (BPA) falls in the category of hormonal disruptors due to its widespread application, and several studies have revealed its toxicity in different doses. However, few studies have investigated the effect of BPA on the renal system. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of BPA on renal system function in rats.

Materials and Methods: Initially, the rats were divided into 6 groups (n=6). Group 1 received only the carrier substance. The rats in the second to sixth groups were gavaged with BPA in 0.1, 1, 10, 50, and, 100 mg/kg/BW/day doses for 29 days, respectively. On the 30th day, blood samples were taken from the heart and kidney tissues were separated after collecting 24 h urine. Biochemical parameters including urea, creatinine, total urine and serum protein, and serum albumin were measured subsequently. Eventually, kidney tissue was sent to a laboratory for histological examination.

Results: There was no significant difference in serum creatinine levels in rats treated with different doses of bisphenol A. However, its level in urine increased at 50 mg/kg dose, compared to 1 and 10 mg/kg doses (P<0.001). Serum and urine urea increased significantly only at of 10 mg/kg dose, compared to 1 and 0.1 mg/kg doses (P<0.001). Serum albumin was reduced at 100 mg/kg dose, compared to controls. Total serum protein decreased at doses of 50 and 100 mg/kg, compared to controls and increased in urine at 50mg/kg dose (P<0.001). The protein/creatinine ratio increased significantly at doses of 1 to 50 mg/kg (P<0.001). Histological examination also revealed that BPA caused degenerative, infiltration, and dilation changes in kidney tissue in a dose-dependent manner.

Conclusion: Based on the obtained data, BPA at 50 and 100 mg/kg concentrations could lead to kidney tissue damage in rats and subsequent renal failure.

Keywords: Acute renal toxicity, Biochemical markers, Bisphenol A, Histopathology



Citation: Nomiri S, Kiani Z, Hoshyar R, Hayati S. [Study of subacute renal toxicity of Bisphenol A in rats]. J Birjand Univ Med Sci. 2021; 28(4): 346-355. [Persian]

DOI <http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.4.103>

Received: June 5, 2021

Accepted: August 31, 2021

¹ Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

² Department of Pharmacology, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

³ Department of Clinical Biochemistry, Molecular Cell Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

⁴ Department of Nursing, School of Nursing and Midwifery, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnourd, Iran

***Corresponding authors:.**

1. Department of Pharmacology, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

Tel: +985632381920

E-mail: kiani.za@gmail.com

2. Department of Clinical Biochemistry, Molecular Cell Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

Tel: +985632381501

Fax: +985632433004

E-mail: reyhaneh.houshyar@gmail.com

بررسی سمیت تحت حاد کلیوی بیسفنول A در رت‌های نژاد ویستار

سمیرا نومیری^۱، زهرا کیانی^۲، ریحانه هوشیار^۳، سمیه حیاتی^۴

چکیده

زمینه و هدف: بیسفنول A (BPA) با توجه به کاربرد فراوان، در دسته مختل‌کننده‌های هورمونی قرار دارد و مطالعات متعددی، سمیت آن را در دوزهای مختلف نشان داده‌اند. با این وجود مطالعه آن روی سیستم کلیوی محدود بوده‌است. بر همین اساس تأثیر آن بر عملکرد سیستم کلیوی در رت‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق: ابتدا رت‌ها در ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه یک فقط ماده حامل را دریافت کردند؛ اما گروه دوم تا ششم به ترتیب با دوز ۱۰۰، ۵۰، ۱۰، ۱ و ۰/۱ mg/kg/BW/day BPA، به مدت ۲۹ روز و به روش گاواژ تیمار شدند. در روز ۳۰، بعد از جمع‌آوری ادرار ۲۴ ساعته، خون‌گیری از قلب و جداسازی بافت کلیه انجام شد. سپس، پارامترهای بیوشیمیایی شامل اوره، کراتینین و پروتئین تام سرم و ادرار و آلومین سرم اندازه‌گیری شدند. در نهایت بافت کلیه برای تست‌های بافت‌شناسی به آزمایشگاه فرستاده شد.

یافته‌ها: میزان کراتینین سرم در رت‌های تیمار شده با دوزهای مختلف بیسفنول A اختلاف معنی‌داری نداشت؛ اما در ادرار میزان آن در دوز ۵۰ میلی‌گرم نسبت به دوزهای ۱ و ۱۰ میلی‌گرم افزایش یافته‌بود ($P < 0/001$). اوره سرم و ادرار فقط در دوز ۱۰ میلی‌گرم نسبت به دوزهای ۱ و ۰/۱ افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/001$). آلومین سرم در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم نسبت به کنترل کاهش یافته‌بود. پروتئین تام در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم نسبت به کنترل در سرم کاهش و در ادرار در دوز ۵۰ افزایش داشت ($P < 0/001$). نسبت پروتئین/کراتینین در دوزهای ۱ تا ۵۰ به طور معنی‌داری افزایش یافته‌بود ($P < 0/001$). نتایج بافت‌شناسی نیز نشان داد که در روند وابسته به دوز BPA باعث تغییرات تحلیل برنده، ارتشاح و اتساع در بافت کلیه شده‌است.

نتیجه‌گیری: بررسی‌های ما نشان داد که BPA در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم می‌تواند منجر به آسیب بافت کلیوی رت شده و به دنبال آن نارسایی در کلیه را در پی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: سمیت حاد کلیوی، نشانگرهای بیوشیمیایی، بیسفنول A، آسیب‌شناسی بافتی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۰؛ ۲۸(۴): ۳۴۶-۳۵۵.

دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۵ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۹

^۱ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

^۲ گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

^۳ گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

^۴ گروه پرستاری، دانشکده پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

* **نویسندگان مسئول:** ۱. گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- دانشکده داروسازی

تلفن: ۰۵۶۳۳۳۸۱۹۲۰ پست الکترونیکی: kiani.za@gmail.com

۲. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- دانشکده پزشکی

تلفن: ۰۵۶۳۳۳۸۱۵۰۱ نمابر: ۰۵۶۳۳۴۳۳۰۰۴ پست الکترونیکی: reyhaneh.houshyar@gmail.com

مقدمه

بیسفنول A (Bisphenol A; BPA) با فرمول $(CH_3)_2C(C_6H_4OH)_2$ یک ترکیب شیمیایی آلی است که اولین بار توسط شیمیدانی روسی به نام الکساندر دیانین^۱ در سال ۱۸۹۱ کشف شد (۱). این ماده که از ترکیب دو مول فنول و یک مول استون در حضور هیدروکلریک اسید و یا سولفوریک اسید ساخته می‌شود، دارای ساختار شیمیایی ویژه، مقاومت گرمایی درونی و کشسانی مخصوص است و به همین دلیل کاربرد فراوانی در صنایع مختلف دارد (۲، ۳). از این ترکیب در تولید پلاستیک‌های پلی‌کربناتی، رزین‌های اپوکسی و فنولی، پلی‌اکریلات‌ها و پلی‌استرها استفاده می‌شود که این مواد نیز به طور گسترده در ساخت و تولید انواع مواد و وسایل پزشکی و دندانپزشکی، ظروف یک‌بار مصرف، پوشش داخلی قوطی‌های کنسرو، بطری‌های آب معدنی، ظروف شیر نوزادان، کفش‌ها و تجهیزات الکترونیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳-۵).

با وجود کاربرد فراوان، بیسفنول A، در دسته ترکیبات مختل‌کننده هورمونی^۲ قرار گرفته است. این ترکیبات مواد برون‌زادی هستند که اولاً باعث به خطر افتادن سلامت یک موجود زنده و سالم یا نسل‌های بعدی او می‌شوند؛ ثانیاً منجر به تغییر در عملکرد غدد درون‌ریز می‌گردند (۶).

با توجه به اینکه انسان روزانه با بسیاری از محصولات متنوع BPA در تماس است و میزان جذب آن توسط بدن حدود $1-5 \mu\text{g/kg/bw/day}$ می‌باشد، این ماده می‌تواند از طرق مختلفی مانند پوست، دهان و تنفس وارد بدن شود (۳، ۴). بیسفنول A که در ظروف نگه‌دارنده غذا و نوشیدنی وجود دارد، با افزایش دما یا تغییر pH به مونومرهای خود پلیمریزه شده و از این طریق می‌تواند وارد بدن شود (۷). مطالعات متعددی سمیت این ترکیب خطرناک را در دوزهای مختلف بر سیستم‌های بدن نشان داده‌اند (۸، ۳)؛ به‌طور مثال در دوزهای کمتر از 50 mg/kg/bw/day و در حیوانات آزمایشگاهی باعث اختلال در تکامل غدد پستانی، اختلالات رفتاری

(۹)، کاهش تولید اسپرم، افزایش حجم غده پروستات، تسریع در بلوغ، تغییر در ریخت‌شناسی واژن (۱۰) و کاهش وزن بدن می‌شود. بیسفنول A، در دوزهای 50 mg/kg/bw/day باعث آسیب به بافت کبد، کاهش بیان برخی ژن‌ها، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)^۳، افزایش آنزیم‌های کبدی مانند ALT^۴، ALP^۵ و تغییر در میزان بیلی‌روبین و کاهش آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۱۱). مطالعات دیگری تأثیرات مخرب این ترکیب شیمیایی را در سیستم‌های مختلف بدن از طریق مسیرهای سیگنالینگ متعددی بررسی نموده‌اند؛ به عنوان مثال در سیستم تولیدمثل اولاً باعث رشد غیر عادی غدد شیری در دوران جنینی می‌شود (۱۲). ثانیاً موجب کاهش سطح سرمی 17β -استرادیول و تستوسترون در سلول‌های گرانولوزا و افزایش هورمون LH^۶ در سلول‌های تکا^۷ می‌شود (۱۳). همچنین BPA می‌تواند باعث اختلال در تعادل هورمون‌های LH، FSH^۸ و تستوسترون شود (۴).

تجمع بیسفنول A در جفت، ارتباط مستقیمی با پره‌اکلامپسی دارد (۱۴) و با عبور از جفت تهدید کننده سلامت جنین است (۱۵). همچنین موجب تأثیرات منفی بر اسپرماتوژنز و کیفیت اسپرم در مردان می‌شود (۴). همچنین در سیستم ایمنی بدن باعث افزایش سطح سایتوکاین‌های التهابی مانند $\text{TNF-}\alpha$ ^۹ و IL-6^{۱۰} در HMC-1^{۱۱} ماست سل‌های انسانی می‌شود (۱۶). در مورد لنفوسیت‌های T در موش، BPA باعث القای پاسخ‌های ایمنی که به واسطه TH1 و TH2 شده، می‌شود (۱۷). در مورد لنفوسیت‌های B، BPA قادر به افزایش سطح ایمونوگلوبولین‌های خون است (۱۸). در مورد سیستم تنفس نیز تماس طولانی مدت با آن باعث ایجاد التهابات ریه مانند افزایش حساسیت برونش‌ها و آسم می‌شود (۱۹). در مورد سیستم گوارش و متابولیسم بدن، BPA ارتباط مستقیمی با چاقی، مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیسمی از

³ Reactive Oxygen Species⁴ Alanine Aminotransferase⁵ Alkaline Phosphatase⁶ Luteinizing Hormone⁷ Theca cells⁸ Follicle-Stimulating Hormone⁹ Tumor Necrosis Factor Alpha¹⁰ Interleukin 6¹¹ Human Mast Cell¹ Aleksandr Dianin² Endocrine-disrupting chemicals

جمع‌آوری نمونه و آنالیز بیوشیمیایی

در روز ۳۰ و ۲۴ ساعت بعد از دریافت آخرین دوز، ادرار ۲۴ ساعته جمع‌آوری و سپس با استفاده از اتر رت‌ها بیهوش و خونگیری از قلب تا حداکثر میزان ممکن (۴-۵ ml) انجام شد. برای تهیه سرم پس از عمل خونگیری، خون داخل لوله آزمایش ریخته شد و پس از چند دقیقه قرارگیری در محیط آزمایشگاه و پس از سانتریفیوژ با دور ۳۲۰۰g، مایع شفاف سطحی به دست‌آمده که همان سرم است برداشته شد و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سنجش میزان کراتینین، اوره، آلومین، CRP^۱ و پروتئین تام سرم و دفع پروتئین ادرار با استفاده از کیت‌های سنجش بیوشیمی پارس آزمون و دستگاه اتوانالیزر Prestige صورت گرفت.

آنالیز بافت‌شناسی

برای مشاهده میزان تغییرات بافتی، قسمت‌هایی از بافت کلیه جدا شدند و برای تهیه مقاطع میکروسکوپی در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند. سپس با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی انجام گرفت و در زیر میکروسکوپ نوری در آزمایشگاه بافت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفتند.

ملاحظات اخلاقی

تمامی آزمایش‌های این مطالعه با رعایت موازین اخلاقی و طبق تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با شناسه مصوبه IR.BUMS.REC.1397.290 انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به دست آمده در این مطالعه به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شد. همچنین بر اساس نرمال بودن یا نبودن توزیع داده‌ها، آزمون‌های نان‌پارامتریک Kruskal-Wallis و Mann Whitney برای بررسی تفاوت بین گروه‌های با توزیع غیر نرمال و آزمون‌های پارامتریک one way ANOVA و تست تعقیبی Tukey برای بررسی تفاوت بین گروه‌های با توزیع نرمال

جمله دیابت دارد؛ به‌طوری که موجب افزایش پیشرفت دیابت نوع دو می‌شود (۲۰). مطالعاتی که تأثیر BPA را بر سیستم عصبی بررسی نموده‌اند، نشان دادند که این ماده قادر است باعث ایجاد اختلالات تکاملی در مغز و سیستم عصبی به عنوان مثال کاهش حافظه بصری و فضایی شود (۲۱).

با این وجود تعداد محدودی مطالعه وجود دارد که تأثیر BPA را بر سیستم کلیوی مطالعه و تأثیر آن بر نشانگرهای بیوشیمیایی و آسیب‌شناسی بافتی کلیه بررسی کرده باشد و اینکه هیچ کدام به‌طور کامل همه این شاخص‌ها را مورد بررسی قرار نداده‌اند. بر همین اساس تأثیر بیسفنول A که ماده‌ای پرکاربرد اما خطرناک است، بر عملکرد نشانگرهای بیوشیمیایی و بافت کلیه رت‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق

حیوانات

در این مطالعه ۳۶ رت ماده و آلبینو نژاد ویستار از مرکز طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند خریداری و تحت شرایط کنترل شده (دمایی 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد و نوری ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی: روشنایی) نگهداری شدند. این حیوانات دسترسی آزاد به رژیم غذایی استاندارد و آب آشامیدنی سالم داشتند.

طراحی آزمایش

بیسفنول A (شرکت سیگما، آمریکا) در دوزهای مشخص 100 mg/kg/bw/day و 50 ، 10 ، 1 ، 0.1 در حامل اتانول ۹۶ درجه و روغن زیتون حل شد. در مرحله بعد رت‌ها در ۶ گروه ۶ تایی (گروه کنترل، گروه 0.1 mg/kg/bw/day ، گروه 1 mg/kg/bw/day ، گروه 10 mg/kg/bw/day ، گروه 50 mg/kg/bw/day و گروه 100 mg/kg/bw/day) قرار گرفتند و با استفاده از بیسفنول A به مدت چهار هفته به صورت خوراکی و به طور روزانه با روش گاواژ به وسیله سرنگ انسولین (به منظور دقیق‌تر بودن مقادیر مورد استفاده) و با سری مخصوص گاواژ و بر اساس وزن رت‌ها (بین ۷۵ تا ۱۰۵ واحد انسولین) تیمار شدند.

¹ C-Reactive Protein

استفاده شد. فاصله سطح معنی‌داری در همه آزمون‌ها با احتمال کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج آنالیز بیوشیمیایی

در نگاه کلی BPA نتوانست میزان کراتینین سرم را به طور معنی‌داری تغییر دهد (جدول ۱) ($P=0/53$)؛ اما این نسبت را در نمونه‌های ادرار به طور چشمگیری دچار تغییر کرد (جدول ۲) ($P<0/001$). در مقایسه بین گروهی در هیچ کدام از دوزها میزان کراتینین ادرار نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشت ($P=0/9$)؛ اما در دوز ۵۰ میلی‌گرم نسبت به دوزهای ۱۰ ($P=0/03$) و ۱ میلی‌گرم ($P<0/001$) میزان آن به طور چشمگیری افزایش یافته بود.

به طور کلی میزان اوره در نمونه‌های سرم و ادرار به طور معنی‌داری تغییر پیدا کرده بود (جدول ۱ و ۲) ($P<0/001$). در مقایسه بین گروهی، میزان اوره سرم در همه دوزها به جز ۱۰ میلی‌گرم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافته بود.

($P<0/001$)؛ اما در دوز ۱۰ میلی‌گرم نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌دار دیده نشد ($P=0/72$) و فقط نسبت به دوزهای ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم به طور معنی‌داری میزان اوره سرم افزایش یافته بود ($P<0/001$). در نمونه‌های ادرار نیز میزان اوره در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم نسبت به کنترل دچار کاهش شده بود ($P<0/001$). در دوز ۱۰ میلی‌گرم نسبت به دوزهای پایین‌تر، یعنی ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم افزایش معنی‌داری پیدا کرده بود ($P<0/001$). ولی نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نداشت ($P=0/43$).

به طور کلی BPA با افزایش دوز موجب تغییرات معنی‌داری در میزان پروتئین تام سرم شد (جدول ۱) ($P<0/001$). در مقایسه بین گروهی در دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم میزان پروتئین تام نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($P=0/002$)، ($P<0/001$). در نمونه‌های ادراری نیز BPA باعث تغییر معنی‌دار میزان پروتئین تام شد (جدول ۲) ($P<0/001$). در مقایسه بین گروهی، میزان پروتئین تام به طور معنی‌داری در دوز ۵۰ میلی‌گرم نسبت به کنترل افزایش داشت ($P<0/001$)؛ اما در بقیه دوزها این میزان کاهش یافته بود ($P<0/001$).

جدول ۱- تأثیر تیمار رت‌های نژاد ویستار با استفاده از شش دوز BPA بر پارامترهای سرم

گروه‌ها	کراتینین (mg/dl)	اوره (mg/dl)	پروتئین تام (mg/dl)	آلبومین (mg/dl)
کنترل (n=6)	$0/73 \pm 0/05$	$59/1 \pm 65/54$	$7/76 \pm 0/08$	$3/89 \pm 0/07$
۰/۱ میلی‌گرم (n=6)	$0/58 \pm 0/29$	$46/67 \pm 1/99^a$	$7/66 \pm 0/10$	$3/92 \pm 0/15$
۱ میلی‌گرم (n=6)	$0/72 \pm 0/04$	$45/28 \pm 0/65^a$	$7/75 \pm 0/89$	$3/94 \pm 0/13$
۱۰ میلی‌گرم (n=6)	$0/63 \pm 0/31$	$60/85 \pm 1/7^b$	$7/90 \pm 0/11$	$3/96 \pm 0/12$
۵۰ میلی‌گرم (n=6)	$0/68 \pm 0/04$	$41/93 \pm 1/39^a$	$7/43 \pm 0/04^a$	$3/85 \pm 0/16$
۱۰۰ میلی‌گرم (n=6)	$0/67 \pm 0/05$	$49/42 \pm 1/1^a$	$6/90 \pm 0/25^b$	$3/67 \pm 0/02^a$
معنی‌داری	$P=0/53$	$P<0/001$	$P<0/001$	$P=0/003$

a: نشان دهنده معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، b: نشان دهنده معنی‌داری نسبت به دوزهای پایین‌تر

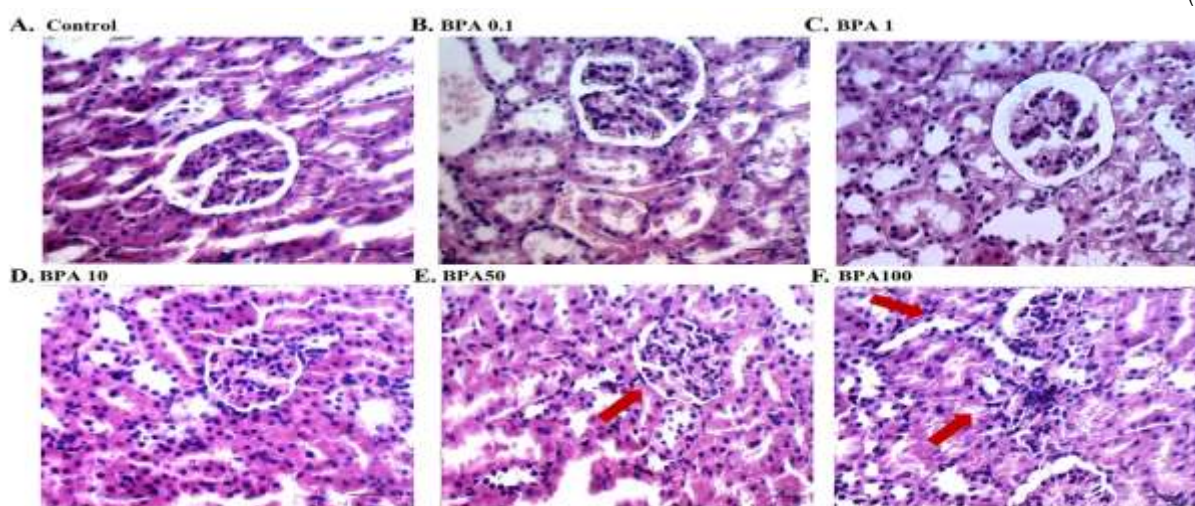
جدول ۲- تأثیر تیمار رت‌های نژاد ویستار با استفاده از شش دوز BPA بر پارامترهای ادرار

گروه‌ها	کراتینین (mg/24h)	اوره (mg/24h)	پروتئین تام (mg/24h)	نسبت پروتئین / کراتینین
کنترل (n=6)	۱۳۳ ± ۵/۲۱	۶۹۶۵ ± ۲۰/۰۵	۵۹۹/۸۰ ± ۱/۲	۴/۵۲ ± ۰/۱۰
۰/۱ میلی گرم (n=6)	۹۹/۴۶ ± ۵/۳۶	۶۲۶۲ ± ۲۲/۲۵	۳۶۹/۰۰ ± ۲/۷۶ ^a	۳/۶۸ ± ۰/۱۸ ^a
۱ میلی گرم (n=6)	۴۱/۱۷ ± ۱/۱۹ ^a	۳۱۵۱ ± ۳۲/۲۲	۳۸۸/۰۰ ± ۱/۶۰ ^a	۸/۷۴ ± ۰/۴۹ ^a
۱۰ میلی گرم (n=6)	۵۴/۱۳ ± ۶/۹۱	۷۷۹۶ ± ۷۶/۷۹ ^b	۴۵۱/۷۰ ± ۹/۳۵ ^a	۸/۸۱ ± ۰/۸۰ ^a
۵۰ میلی گرم (n=6)	۱۳۵/۴۰ ± ۲/۲۲ ^b	۶۶۱۷ ± ۱۰۳/۹	۶۵۴/۵۰ ± ۴/۷۶ ^a	۶/۹۳ ± ۰/۲۵ ^a
۱۰۰ میلی گرم (n=6)	۵۱/۸۲ ± ۴/۷۹	۳۳۱۸ ± ۱۰۰/۹ ^a	۱۶۷/۵۰ ± ۵/۶۸ ^a	۳/۴۱ ± ۰/۳۷ ^a
معنی‌داری	P<۰/۰۰۱	P<۰/۰۰۱	P<۰/۰۰۱	P<۰/۰۰۱

a: نشان دهنده معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، b: نشان دهنده معنی‌داری نسبت به دوزهای پایین‌تر

به طور کلی BPA نتوانست میزان CRP سرم را به طور معنی‌داری تغییر دهد (جدول ۱) ($P=۰/۵۳$)؛ میزان آلبومین در نمونه‌های سرمی به طور کلی تغییر معنی‌داری پیدا کرده بود (جدول ۱) ($P=۰/۰۰۳$). درمقایسه بین گروهی تنها در دوز ۱۰۰ میلی گرم نسبت به گروه کنترل میزان آلبومین دچار کاهش شده بود ($P=۰/۰۳$).

بررسی نسبت پروتئین به کراتینین نیز تغییر معنی‌داری را در نمونه‌های ادرار به طور کلی نشان داد (جدول ۲) ($P<۰/۰۰۱$). در مقایسه بین گروه‌ها، در دوز ۱۰۰ میلی گرم این نسبت کاهش پیدا کرده بود ($P=۰/۰۰۱$)؛ اما در دوزهای ۵۰، ۱۰ و ۱ میلی گرم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۰۱$).



تصویر ۱- فوتومیکروگراف‌های بافت کلیه به دنبال تیمار با BPA. (بزرگنمایی ۱۰۰x) A. تصویر مقطعی بافت کلیه نمونه کنترل؛ B. تصویر مقطعی بافت کلیه در دوز ۰/۱ میلی گرم؛ C. تصویر مقطعی بافت کلیه در دوز ۱ میلی گرم؛ D. تصویر مقطعی بافت کلیه در دوز ۱۰ میلی گرم؛ E. تصویر مقطعی بافت کلیه در دوز ۵۰ میلی گرم؛ F. تصویر مقطعی بافت کلیه در دوز ۱۰۰ میلی گرم؛ در قسمت‌های E و F افزایش غلظت BPA در دوزهای ۱۰ و ۵۰ میلی گرم باعث تخریب کپسول بومن و ساختار گلومرولی و همچنین سلول‌های اپیتلیالی در بافت کلیه شده است.

نتایج آنالیز بافت‌شناسی

بررسی نمونه‌های بافتی رت‌های تیمار شده در غلظت‌های مختلف تغییرات ریخت‌شناسی را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. BPA در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم باعث اتساع و ارتشاح فضای بومن شد. BPA همچنین باعث تخریب سلول‌های اپیتلیال بافت کلیه گردید (تصویر ۱).

بحث

مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهند که ترکیبات استروژنیک مانند BPA زمانی که در دوره‌های حساس تکامل مصرف می‌شوند، می‌توانند تأثیرات غیر منتظره‌ای بر تمایز آدیپوسیت‌ها و همچنین رشد پس از تولد بگذارند. BPA ممکن است بعد از مصرف محصولات بسته‌بندی شده در ظروف پلاستیکی در دستگاه گوارش جذب و توسط اسید گلوکوکورونیک در روده و کبد کونژوگه شده و به عنوان BPA گلوکوکورونید در ادرار دفع گردد (۲۲). از این رو سمیت کلیوی ناشی از BPA، نشان دهنده فیلتراسیون گلوبولی و کلیرانس کراتینین ضعیف و کاهش ظرفیت کلیه است (۲۳). تجمع متابولیت‌های سمی BPA و عدم توانایی کلیه برای از بین بردن آن‌ها منجر به سمیت کلیوی می‌شود (۲۴). به این صورت که موجب کاهش ناگهانی و مداوم عملکرد کلیه شده و به نوبه خود منجر به احتباس متابولیت‌های نیتروژن‌دار (اوره و کراتینین) و مواد زاید غیرنیتروژنی در خون می‌گردد. به این حالت در اصطلاح آسیب حاد کلیوی می‌گویند؛ بنابراین افزایش کراتینین و اوره سرم و ادرار به علت کاهش پرفیوژن کلیوی می‌تواند یکی از نشانه‌های آسیب حاد کلیوی باشد (۲۵).

در مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر BPA بر عملکرد سیستم کلیوی، ۳۶ سر رت ماده نژاد ویستار با استفاده از این ماده شیمیایی در دوزهای ۱۰۰ و ۵۰، ۱۰، ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم بر وزن بدن به صورت خوراکی مورد تیمار قرار گرفتند. در نتایج این پژوهش ما مشاهده کردیم که تیمار رت‌ها در دوزهای مختلف BPA تأثیر معنی‌داری در میزان کراتینین سرم و ادرار نداشته است؛ اما در مقایسه بین گروهی میزان آن را در ادرار و در دوز ۵۰ میلی‌گرم فقط نسبت به دوزهای

۱۰ و ۱ میلی‌گرم افزایش داده است و نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری ایجاد نکرده است. همچنین فقط در دوز ۱۰ میلی‌گرم نسبت به دوزهای ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم، میزان اوره سرم و ادرار را به طور معنی‌داری افزایش داده است. مشابه مطالعه ما در مطالعه Peerapanyasut هم که با استفاده از دوزهای ۵ و ۵۰ میلی‌گرم BPA صورت گرفته بود، مشخص شد که تیمار با BPA تأثیر معنی‌داری در میزان اوره و کراتینین سرم نداشت (۲۶). اما در مطالعه Jiang و همکارانش که با دوز ۵۰ میلی‌گرم BPA انجام شد، مشاهده شد که میزان اوره و کراتینین سرم به طور معنی‌داری افزایش یافت (۲۶). که در تضاد با مطالعه ما بوده و ممکن است به دلیل طولانی‌تر بودن مدت زمان تیمار رت‌ها در این مطالعه (۵ هفته) یا تداخل ماده حامل (اتانول) با اجزای سازنده BPA در مطالعه ما باشد.

مطالعات نشان داده‌اند که BPA با کاهش سنتز نفرین و پودوسین، پروتئین‌های اتصالات شکافدار که در مکانیسم‌های پروتئینوریا و بقای پودوسیت‌ها دخیل است، باعث التهاب پادوسیتوپاتی همراه با پروتئینوریا می‌شود. از آنجا که پروتئینوریا نتیجه دو مکانیسم است، یعنی عبور غیرگلوبولی و غیرطبیعی پروتئین‌ها به دلیل افزایش نفوذپذیری دیواره مویرگی گلوبولی و اختلال در جذب مجدد توسط سلول‌های اپیتلیال توبول‌های پروگزیمال، ممکن است آسیب توبولی کلیوی ناشی از BPA نیز وجود داشته باشد که در ایجاد پروتئینوریا نقش دارد (۲۷). با توجه به این موضوع ما میزان پروتئین تام، آلبومین و CRP سرم، دفع پروتئین تام از ادرار و همچنین نسبت میزان پروتئین به کراتینین را در نمونه‌های سرمی و ادراری رت‌های تیمار شده در دوزهای ۰/۱ تا ۱۰۰ BPA را مورد بررسی قرار دادیم. شواهد مطالعه ما نشان داد که BPA تغییر معنی‌داری بر میزان CRP سرم ایجاد نکرده؛ اما میزان پروتئین تام را دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در سرم کاهش و در دوز ۵۰ میلی‌گرم در ادرار افزایش داده است. همچنین میزان آلبومین سرم در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم نیز افزایش یافته بود. محاسبه نسبت پروتئین به کراتینین ادرار نیز در دوزهای ۱، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد. نتایج آنالیز

نتیجه گیری

براساس نتایج به دست آمده و بررسی مطالعات مرتبط به این نتیجه می‌رسیم که BPA احتمالاً می‌تواند در غلظت‌های بیشتر از ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم و در مدت زمان طولانی با تخریب گلوامرول‌ها موجب دفع ادراری پروتئین و کاهش سطح آلبومین و پروتئین سرم می‌شود. همچنین نسبت پروتئین به کراتینین را نیز در ادرار افزایش می‌دهد و در این حالت منجر به التهاب گلوامرولی شده که اصطلاحاً به آن گلوامرونفریت گفته می‌شود که این هم یکی از نشانه‌های آسیب حاد کلیوی می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی مصوب با کد ۴۸۵۱ می‌باشد که هزینه آن توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند تأمین شده است.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

بافت‌شناسی هم تغییرات چشمگیری را در ساختار گلوامرولی بافت کلیه نشان داد. به طوری که در دوزهای ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم ساختار کپسول بومن و سلول‌های اپیتلیال بافت کلیه در رت‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای تخریب شده بود. مشابه با نتایج مطالعه ما در مطالعات Jiang و Peerapanyasut نیز در دوز ۵۰ میلی‌گرم میزان دفع ادراری پروتئین و نسبت پروتئین به کراتینین ادرار افزایش معنی‌داری داشت (۲۸، ۲۶). همچنین، در مطالعه Wahby ماده BPA توانسته بود با افزایش غلظت موجب ایجاد تغییرات تحلیل برنده بافتی در کلیه‌ها شود (۲۴)؛ همچنین در مطالعه رحیمی نیز تغییرات تحلیل برنده و ارتشاح در غلظت‌های بالاتر BPA قابل مشاهده بود (۲۹)؛ در مطالعه Tan و همکاران نیز صورت مشاهده شد که BPA همچنین باعث بزرگ شدن کلیه و هیدرونفروز می‌شود (۳۰).

اما در مطالعات Jiang و Peerapanyasut هیستومورفومتری گلوامرولی تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و تیمار از نظر پارامترهای گلوامرولی نشان نداد (۲۸، ۲۶). این مشاهدات نشان می‌دهند که موش‌های تحت درمان با BPA دچار تغییرات مورفولوژیک در بافت کلیه شده، به طوری که اتساع کپسول بومن و هایپرسلولی شدن گلوامرول و همچنین تخریب سلول‌های اپیتلیال لوله‌های پروگزیمال در بافت کلیوی دیده می‌شود (۲۴).

منابع:

- 1- McKetta JJ. Ethanol as Fuel: Options, Advantages, and Disadvantages to Exhaust Stacks, Cost. In: Encyclopedia of Chemical Processing and Design. New York: 1984. p. 237-243.
- 2- Shafei A, Ramzy MM, Hegazy AI, Husseny AK, EL-hadary UG, Taha MM, et al. The molecular mechanisms of action of the endocrine disrupting chemical bisphenol A in the development of cancer. Gene. 2018; 647: 235-43. DOI: [10.1016/j.gene.2018.01.016](https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.01.016)
- 3- Ferreira LL, Couto R, Oliveira PJ. Bisphenol A as epigenetic modulator: setting the stage for carcinogenesis? Eur J Clin Invest. 2015; 45: 32-6. DOI: [10.1111/eci.12362](https://doi.org/10.1111/eci.12362)
- 4- Murata M, Kang J-H. Bisphenol A (BPA) and cell signaling pathways. Biotechnol Adv. 2018; 36(1): 311-27. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2017.12.002](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.002)
- 5- Bouatay F, Mhenni F. Use of the cactus cladodes mucilage (Opuntia Ficus Indica) as an eco-friendly flocculants: process development and optimization using statistical analysis. Int J Environ Res. 2014; 8(4): 1295-308. [Link](#)
- 6- Health MifEa. European workshop on the impact of endocrine disruptors on human health and wildlife. Rep Proc 1996; 17549: 1-127. [Link](#)

- 7- Giulivo M, de Alda ML, Capri E, Barceló D. Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. *Environ Res.* 2016; 151: 251-64 DOI: [10.1016/j.envres.2016.07.011](https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.07.011).
- 8- Pivnenko K, Pedersen GA, Eriksson E, Astrup TF. Bisphenol A and its structural analogues in household waste paper. *Waste Manag.* 2015; 44: 39-47. DOI: [10.1016/j.wasman.2015.07.017](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.07.017)
- 9- Christiansen S, Axelstad M, Boberg J, Vinggaard AM, Pedersen GA, Hass U. Low-dose effects of bisphenol A on early sexual development in male and female rats. *Reproduction.* 2014; 147(4): 477-87.
- 10- Durando M, Kass L, Piva J, Sonnenschein C, Soto AM, Luque EH, et al. Prenatal bisphenol A exposure induces preneoplastic lesions in the mammary gland in Wistar rats. *Environ Health Perspect.* 2006; 115(1): 80-6. DOI: [10.1289/ehp.9282](https://doi.org/10.1289/ehp.9282)
- 11- Hassan ZK, Elobeid MA, Virk P, Omer SA, ElAmin M, Daghestani MH, et al. Bisphenol A induces hepatotoxicity through oxidative stress in rat model. *Oxid Med Cell Longev.* 2012; 2012: 194829. DOI: [10.1155/2012/194829](https://doi.org/10.1155/2012/194829)
- 12- Wadia PR, Cabaton NJ, Borrero MD, Rubin BS, Sonnenschein C, Shioda T, et al. Low-dose BPA exposure alters the mesenchymal and epithelial transcriptomes of the mouse fetal mammary gland. *PLoS One.* 2013; 8(5): e63902. DOI: [10.1371/journal.pone.0063902](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063902)
- 13- Lee SG, Kim JY, Chung J-Y, Kim Y-J, Park J-E, Oh S, et al. Bisphenol A exposure during adulthood causes augmentation of follicular atresia and luteal regression by decreasing 17 β -estradiol synthesis via downregulation of aromatase in rat ovary. *Environ Health Perspect.* 2013; 121(6): 663. DOI: [10.1289/ehp.1205823](https://doi.org/10.1289/ehp.1205823)
- 14- Leclerc F, Dubois M-F, Aris A. Maternal, placental and fetal exposure to bisphenol A in women with and without preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2014; 33(3): 341-8. DOI: [10.3109/10641955.2014.892607](https://doi.org/10.3109/10641955.2014.892607)
- 15- Troisi J, Mikelson C, Richards S, Symes S, Adair D, Zullo F, et al. Placental concentrations of bisphenol A and birth weight from births in the Southeastern US. *Placenta.* 2014; 35(11): 947-52. DOI: [10.1016/j.placenta.2014.08.091](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2014.08.091)
- 16- Lee J, Lim K-TJN-SsAoP. Expression of TNF- α and IL-6 in HMC-1 cells treated with bisphenol A is attenuated by plant-originating glycoprotein (75 kDa) by blocking p38 MAPK. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2010; 382(1): 51-61. DOI: [10.1007/s00210-010-0527-4](https://doi.org/10.1007/s00210-010-0527-4)
- 17- Terasaka H, Kadoma Y, Sakagami H, Fujisawa S. Cytotoxicity and apoptosis-inducing activity of bisphenol A and hydroquinone in HL-60 cells. *Anticancer Res.* 2005; 25(3b): 2241-7. <https://ar.iijournals.org/content/25/3B/2241.long>.
- 18- He M, Ichinose T, Yoshida S, Takano H, Nishikawa M, Shibamoto T, et al. Exposure to bisphenol A enhanced lung eosinophilia in adult male mice. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2016; 12(1): 16. DOI: [10.1186/s13223-016-0122-4](https://doi.org/10.1186/s13223-016-0122-4)
- 19- Xie M-Y, Ni H, Zhao D-S, Wen L-Y, Li K-S, Yang H-H, et al. Exposure to bisphenol A and the development of asthma: A systematic review of cohort studies. *Reprod Toxicol.* 2016; 65: 224-9. DOI: [10.1016/j.reprotox.2016.08.007](https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.08.007)
- 20- Braun JM. Early-life exposure to EDCs: role in childhood obesity and neurodevelopment. *Nat Rev Endocrinol.* 2017; 13(3): 161-73. DOI: [10.1038/nrendo.2016.186](https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.186)
- 21- Wang C, Li Z, Han H, Luo G, Zhou B, Wang S, et al. Impairment of object recognition memory by maternal bisphenol A exposure is associated with inhibition of Akt and ERK/CREB/BDNF pathway in the male offspring hippocampus. *Toxicology.* 2016; 341: 56-64. DOI: [10.1016/j.tox.2016.01.010](https://doi.org/10.1016/j.tox.2016.01.010)
- 22- González-Parra E, Herrero JA, Elewa U, Bosch RJ, Arduán AO, Egido J. Bisphenol a in chronic kidney disease. *Int J Nephrol.* 2013; 2013: 437857. DOI: [10.1155/2013/437857](https://doi.org/10.1155/2013/437857)

- 23- Alekhya Sita GJ, Gowthami M, Srikanth G, Krishna MM, Rama Sireesha K, Sajjarao M, et al. Protective role of luteolin against bisphenol A-induced renal toxicity through suppressing oxidative stress, inflammation, and upregulating Nrf2/ARE/HO-1 pathway. *J IUBMB life*. 2019; 71(7): 1041-7. DOI: [10.1002/iub.2066](https://doi.org/10.1002/iub.2066)
- 24- Wahby MM, Abdallah ZM, Abdou HM, Yousef MI, Newairy A-SA. Mitigating potential of Ginkgo biloba extract and melatonin against hepatic and nephrotoxicity induced by Bisphenol A in male rats. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2017; 4(4): 350-7. DOI: [10.1016/j.ejbas.2017.04.004](https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2017.04.004)
- 25- Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet (London, England)*. 2005; 365(9457): 417-30. DOI: [10.1016/S0140-6736\(05\)17831-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17831-3).
- 26- Peerapanyasut W, Kobroob A, Palee S, Chattipakorn N, Wongmekiat O. Activation of Sirtuin 3 and Maintenance of Mitochondrial Integrity by N-Acetylcysteine Protects Against Bisphenol A-Induced Kidney and Liver Toxicity in Rats. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(2): 267. DOI: [10.3390/ijms20020267](https://doi.org/10.3390/ijms20020267)
- 27- Olea-Herrero N, Arenas MI, Muñoz-Moreno C, Moreno-Gómez-Toledano R, González-Santander M, Arribas I, et al. Bisphenol-A induces podocytopathy with proteinuria in mice. *J Cell Physiol*. 2014; 229(12): 2057-66. DOI: [10.1002/jcp.24665](https://doi.org/10.1002/jcp.24665)
- 28- Jiang W, Zhao H, Zhang L, Wu B, Zha Z. Maintenance of mitochondrial function by astaxanthin protects against bisphenol A-induced kidney toxicity in rats. *Biomed Pharmacother*. 2020; 121: 109629. DOI: [10.1016/j.biopha.2019.109629](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109629)
- 29- Rahimi O, Farokhi F, Khojasteh SM, Ozi SA. The effect of Bisphenol A on serum parameters and morphology of kidney's tissue. *Biological Forum*. 2015; 7: 86. [Link](#)
- 30- Tan BL, Kassim NM, Mohd MA. Assessment of pubertal development in juvenile male rats after sub-acute exposure to bisphenol A and nonylphenol. *Toxicol Lett*. 2003;143(3): 261-70. DOI: [10.1016/S0378-4274\(03\)00172-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(03)00172-3)