DOI: 10.48305/jims.v40.i679.0524

مجله دانشکده پزشکی اصفهان | سال چهلم/شماره‌ی ۶۷۹/هفته‌ی سوم شهریور ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۳ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۱۵ | تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۶/۲۱

اثر حفاظتی بروملین در برابر سمیت ناشی از بیس‌فنول‌آ بر هیستومورفومتری جفت موش صحرایی

کاوه خزائیل[۱]، عباس صادقی[۲]، جواد جمشیدیان[۳]، رضا جهانگیری[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سلول‌های تروفوبلاست جفت، به طور بالقوه در معرض خطر مواد شیمیایی تخریب‌کننده‌ی اندوکرین همچون بیس‌فنول‌آ هستند. بروملین یک ترکیبی طبیعی حاصل از آناناس است که اثرات آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی شاخصی دارد. مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر حفاظتی بروملین بر تغییرات هیستومورفومتریک جفت در موش‌های تحت تیمار با بیس‌فنول‌آ انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی آبستن به ۴ گروه شش سری شامل کنترل، بروملین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، بیس‌فنول‌آ (۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و بیس‌فنول‌آ + بروملین تقسیم شدند. بروملین، به صورت تزریق داخل صفاقی و بیس‌فنول‌آ به صورت خوراکی (گاواژ) در بین روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری تجویز شدند. جهت نمونه‌گیری، در روز ۲۰ آبستنی، موش‌ها آسان‌کشی شده، سپس رحم خارج شد و جفت‌ها از رحم جدا شدند. بلافاصله بررسی‌های مورفومتری جفت شامل وزن، قطر و ضخامت جفت انجام گردید. بررسی‌های بافتی نیز پس از رنگ‌آمیزی عمومی و اختصاصی با استفاده از میکروسکوپ نوری انجام شد.

یافته‌ها: بیس‌فنول‌آ، باعث کاهش معنی‌دار وزن، قطر و ضخامت، تعداد سلول‌های غول‌پیکر و ضخامت لایه‌های لابیرنت و اسپانژیوم جفت نسبت به گروه شاهد شد. همچنین، در اثر تجویز بیس‌فنول‌آ، افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های گلیکوژن و ضخامت لایه‌ی دسیدوآ جفت مشاهده شد. با این حال، تجویز بروملین به همراه بیس‌فنول‌آ باعث بهبود پارامترهای ذکر شده گردید.

نتیجه‌گیری: تجویز بیس‌فنول‌آ طی دوران بارداری در موش‌های صحرایی، باعث اثرات توکسیک در بافت جفت می‌گردد و تجویز بروملین به همراه آن می‌تواند باعث کاهش اثرات مضر بیس‌فنول‌آ در بافت جفت گردد.

واژگان کلیدی: بروملین؛ بیس‌فنول‌آ؛ جفت؛ موش صحرایی؛ سمیت

ارجاع: خزائیل کاوه، صادقی عباس، جمشیدیان جواد، جهانگیری رضا. **اثر حفاظتی بروملین در برابر سمیت ناشی از بیس‌فنول‌آ بر هیستومورفومتری جفت موش صحرایی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۷۹): ۵۳۱-۵۲۴

مقدمه

در سال‌های اخیر نگرانی‌هایی در مورد اثرات مضر مواد پلاستیکی در زندگی روزمره که عملکرد سیستم اندوکرین را تحت تأثیر قرار می‌دهند، به وجود آمده است. بیس‌فنول‌آ، یکی از ترکیباتی است که در حجم زیاد برای تولید ظروف یک‌بار مصرف، پوشش داخلی قوطی‌های کنسرو، بطری‌های نگهداری مایعات، بطری‌های تغذیه‌کننده‌ی اطفال و همچنین تجهیزات الکترونیکی، پزشکی و دندان‌پزشکی استفاده می‌شود (۱). طبق مطالعات قبلی، مولکول‌های بیس‌فنول‌آ در پلاستیک‌های پلی‌کربنات می‌توانند در صورت گرم شدن یا قرار گرفتن در معرض اسیدها و قلیایی‌ها وارد رژیم غذایی و بدن انسان شوند (۲). اخیراً، بیس‌فنول‌آ، در چهار نمونه‌ی سرم مادر و هفت نمونه‌ی سرم بند ناف از جمعیت ۶۱ جفت مادر- نوزاد در چین یافت شد، که نشان می‌دهد بیس‌فنول‌آ می‌تواند از سد خونی جفت عبور کند (۳). این ترکیب، فعالیت استروژنی ضعیف داشته و موجب

۱- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی و مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و فن‌آوری ترانسژنیک، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: کاوه خزائیل: استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی و مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و فن‌آوری ترانسژنیک، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

Email: k.khazaeil@scu.ac.ir

افزایش سرطان بیضه و سینه، کاهش باروری، ناهنجاری‌های تکاملی، تغییر در عملکرد غدد درون‌ریز، کاهش کارآیی دستگاه ایمنی و تأثیر منفی بر جنین می‌شود (۱، ٤). همچنین، قرار گرفتن در معرض بیس‌فنول‌آ در زمان تکامل گزارش شده است که باعث اختلالات تولید مثلی و تغییر در تکامل از طریق مسیرهای غدد درون‌ریز در جوندگان و گوسفند می‌شود (۵).

در انسان، غلظت‌های بسیار متغیری از بیس‌فنول‌آ در خون بند ناف، در بافت جفت و در مایع آمنیوتیک گزارش شده است (٦) که نشان‌دهنده‌ی انتقال بیس‌فنول‌آ از مادر به جنین است. با این حال، این داده‌ها باید با احتیاط در نظر گرفته شوند. در واقع سطوح بالای بیس‌فنول‌آ در زمان‌های مختلف می‌تواند به دلیل آلودگی دستگاه‌های نمونه‌گیری یا مواجهه‌ی اخیر مادر با بیس‌فنول‌آ در هنگام زایمان، به ویژه در اثر وسایل پزشکی مورد استفاده در سزارین باشد (۷). برخی مطالعات نشان می‌دهد که بیس‌فنول‌آ، سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species; ROS) از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود که سبب افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش محتوای آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (۸). در برخی مطالعات نیز به آثار مضر بیس فنول آ بر رویان موش صحرایی در شرایط محیط کشت از طریق القای مرگ سلولی و مهار تکثیر سلولی اشاره شده است (۹). در سال‌های اخیر نیز پتانسیل تراتوژنیک و امبریوتوکسیک بیس‌فنول‌آ بسیار مورد بحث قرار گرفته است (۱۰).

بروملین به گروهی از آنزیم‌های حذف کننده پروتئین که به صورت تجاری از میوه یا هسته آناناس به دست می‌آیند تعلق دارد و یک ترکیب طبیعی حاصل از آناناس است که این ماده اثرات آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی شاخصی داشته و سبب مهار استرس اکسیداتیو می‌شود. در برخی مدل‌های تجربی نشان داده شده است که بروملین می‌تواند موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گردد و استرس اکسیداتیو را مهار کند (۱۱). مکانیسم اثرات فیزیولوژیکی بروملین شامل تقابل با التهاب و همچنین تأثیر بر ایمنی، سیگنال‌های سلولی، مولکول‌های انعقادی و آنتی‌ژن‌های سطح سلول است (۱۲). مزیت بروملین بر داروهای ضد التهابی این است که داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز، باعث کاهش سطوح پروستاگلاندین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی می‌شوند و به طور انتخابی تولید ترومبوکسان التهابی را مهار می‌کنند (۱۳). بنابراین بروملین، یک مکمل غذایی است که می‌تواند به عنوان جایگزین داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی استفاده شود که به عنوان کمک‌کننده در درمان بیماری‌های التهابی مزمن، بدخیم و خودایمنی به کار برده شود (١٤).

با توجه به اثرات سوء بیس‌فنول‌آ بر جفت و جنین و همچنین نقش آنتی‌اکسیدانی بروملین، این مطالعه با هدف بررسی اثر بروملین بر تغییرات ساختار هیستومورفومتری جفت ناشی از تجویز بیس‌فنول‌آ در دوران بارداری موش صحرایی انجام شد.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی، ۳٦ سر موش صحرایی ماده‌ی بالغ و ۱۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی (۲۰۰–۲۵۰) گرم برای جفت‌گیری، تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری و در دمای ۲ ± ۲۳ سانتی‌گراد استفاده شد. در ضمن همه‌ی حیوانات به صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. تمام مراحل آزمایش بر اساس دستورالعمل کمیته‌ی اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز طراحی و با کد EE/1400.3.02.20549/scu.ac.ir اجرا شد. برای انجام عمل جفت‌گیری، هر سه موش صحرایی ماده با یک موش صحرایی نر، یک شب هم قفس شدند و صبح روز بعد از موش‌های ماده، اسمیر واژنی گرفته شد و با مشاهده‌ی اولین اسپرماتوزوئید در اسمیر واژنی، آن روز به عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد. ٢٤ سر از موش صحرایی جفت‌گیری شده، درون قفس‌های جداگانه نگه‌داری و به طور تصادفی به ٤ گروه آزمایشی (تعداد ٦ سر موش باردار در هر گروه) شامل گروه شاهد، بروملین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، بیس‌فنول‌آ (۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و بیس‌فنول‌آ + بروملین تقسیم شدند. تجویز بروملین به صورت تزریق داخل صفاقی و حل شده داخل نرمال‌سالین (۱۵)، و تجویز بیس‌فنول‌آ به صورت خوراکی (گاواژ) و حل شده در روغن زیتون (۱۰) در بین روزهای ٦ تا ۱۵ بارداری بود. به گروه شاهد نیز در مدت زمان مشابه روغن زیتون گاواژ شد. کلیه‌ی آزمایش‌ها در زمان روشنایی، بین ساعت ۸ صبح الی ٤ بعدازظهر به منظور جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه‌روزی حیوان بر آزمایش‌ها انجام گرفت.

نمونه‌گیری و بررسی‌های مورفومتری ظاهری: جهت نمونه‌گیری از گروه‌های مختلف، در روز بیستم آبستنی، موش‌ها توسط مخلوط کتامین (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)- زایلازین (٤ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش و سپس آسان‌کشی شدند (١٦). پس از باز کردن محوطه‌ی شکمی و برش شاخ رحم، جفت‌ها به همراه جنین‌ها خارج و علاوه بر بررسی‌های دقیق ظاهری، از نظر پارامترهای ماکروسکوپی شامل تغییرات وزن، قطر و ضخامت جفت‌ها مورد اندازه‌گیری و مقایسه قرار گرفتند. جهت توزین جفت از ترازوی دیجیتال (CAS CA, South Korea) و برای اندازه‌گیری قطر و ضخامت جفت از کولیس دیجیتال (CA2, China) استفاده شد.

بررسی‌های هیستومورفومتری: جهت مطالعات هیستومورفومتری، پس از تثبیت نمونه‌های جفت در فرمالین، از هر گروه ۵ بلوک تهیه و با استفاده از روش‌های متداول تهیه‌ی مقاطع بافتی، از هر بلوک ۳ برش به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) و پریودیک اسید شیف PAS (Periodic Acid-Schiff;) قرار گرفتند. مقاطع تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) بررسی شده و پارامترهای مختلف از جمله تعداد سلول‌های غول پیکر (giant cells) و گلیکوژن، ضخامت ناحیه‌ی لابیرنت، اتصالی و همچنین ناحیه‌ی دسیدوآ جفت در همه‌ی گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار DinoCapture 2.0 نسخه‌ی ۱/۵/۴۲ بررسی شدند.

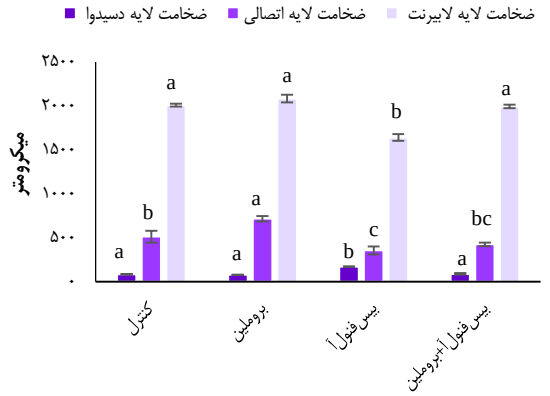
داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۴ (version 24, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام شد و برای مقایسه‌ی میانگین بین گروه‌ها، از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی Tukey استفاده گردید. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها $P < ۰/۰۵$ منظور شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند.

یافته‌ها

نتایج مربوط به بررسی‌های مورفومتری: با توجه به نتایج به دست آمده، میانگین وزن جفت در گروه دریافت‌کننده‌ی بیس‌فنول‌آ، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد (P = ۰/۰۲۵). در گروه دریافت‌کننده‌ی بروملین همراه با بیس‌فنول‌آ نیز میانگین وزن جفت نسبت به گروه شاهد کاهش داشت ولی این کاهش وزن جفت از نظر آماری معنی‌دار نبود (P = ۰/۲۷۲). لازم به ذکر است که اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده‌ی بروملین نیز مشاهده نشد (P = ۰/۹٦٤) (جدول ۱).

نتایج حاصل از بررسی‌های قطر و ضخامت جفت، نشان‌دهنده‌ی کاهش معنی‌دار میانگین ضخامت و قطر جفت در گروه دریافت‌کننده‌ی بیس‌فنول‌آ نسبت به گروه شاهد بود (به ترتیب P = ۰/۰۵۱، P = ۰/۰۱٤). با این حال، در گروه دریافت‌کننده‌ی بیس‌فنول‌آ به همراه بروملین اختلاف معنی‌داری در میانگین قطر و ضخامت جفت نسبت به گروه شاهد وجود نداشت (به ترتیب P = ۰/۹۹۸، P = ۰/۹۱۵) (جدول ۱).

نتایج مربوط به بررسی‌های هیستولوژی و هیستومتری: مطالعه‌ی بافت‌شناسی مقاطع جفت در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که میانگین طول ناحیه‌های دسیدوآ در گروه دریافت‌کننده‌ی بیس‌فنول‌آ نسبت به گروه‌های دیگر به طور معنی‌داری افزایش یافته است (P < ۰/۰۰۱). در حالی که میانگین طول نواحی اتصالی و لابیرنت در گروه بیس‌فنول‌آ به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (به ترتیب P = ۰/۰۱۲، P < ۰/۰۰۱) (شکل ۱ و ۲). میانگین تعداد سلول‌های غول‌پیکر در گروه دریافت‌کننده‌ی بیس‌فنول‌آ به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود (P = ۰/۰۰٤). با این حال، میانگین تعداد سلول‌های گلیکوژن در گروه دریافت‌کننده‌ی بیس‌فنول‌آ، افزایش معنی‌داری را نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد (P < ۰/۰۰۱) (شکل ۳ و ٤).



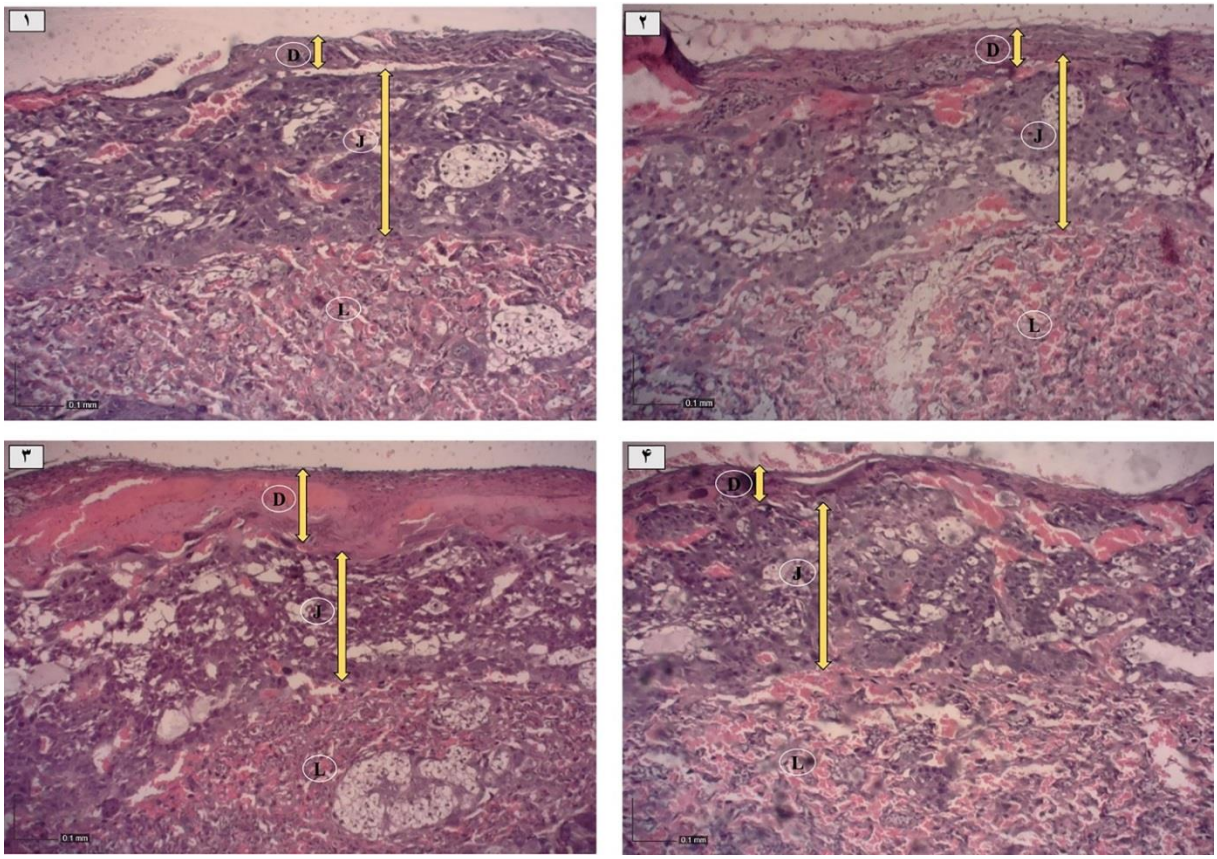
شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین ± انحراف ضخامت لایه‌های دسیدوا، اتصالی و لابیرنت در بافت جفت گروه‌های مختلف آزمایشی.

abc حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح P < ۰/۰۵ است.

تجویز همزمان بروملین با بیس‌فنول‌آ، موجب پیش‌گیری از تغییرات ناشی از اثر بیس‌فنول‌آ شامل میانگین طول ناحیه‌های دسیدوآ، اتصالی و لابیرنت و همچنین تعداد سلول‌های غول پیکر نسبت به گروه بیس‌فنول‌آ شد (به ترتیب P < ۰/۰۰۱، P = ۰/۳۰۸، P < ۰/۰۰۱) (شکل ۱ و ۲).

جدول ۱. مقایسه‌ی میانگین ± انحراف معیار وزن، قطر و ضخامت جفت در گروه‌های مختلف آزمایشی

گروه ها	پارامترها		
	وزن جفت (گرم)	قطر جفت (میلی‌متر)	ضخامت جفت (میلی‌متر)
کنترل	۰/۵۹۹ ± ۰/۰۱۸ ^{a}	۱۲/۸۰ ± ۰/۷۲ ^{a}	۳/۴۳ ± ۰/۳۱ ^{a}
بروملین	۰/۵۷۳ ± ۰/۱۳۱ ^{a}	۱۳/۵۰ ± ۱/۳۲ ^{a}	۳/۷۶ ± ۰/۳۰ ^{a}
بیس‌فنول‌آ	۰/۳۹۵ ± ۰/۰۱۴ ^{b}	۱۰/۵۰ ± ۰/۵۱ ^{b}	۲/۵۳ ± ۰/۱۹ ^{b}
بیس‌فنول‌آ + بروملین	۰/۴۹۰ ± ۰/۰۱۴ ^{ab}	۱۲/۶۶ ± ۰/۷۶ ^{a}	۳/۲۹ ± ۰/۲۳ ^{a}



شکل ۲. ساختار میکروسکوپی جفت در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E)، بزرگ‌نمایی X٤٠). در این تصویر افزایش مشخص دسیدوآ (D)، کاهش لایه‌ی اتصالی (J) در گروه بیس‌فنول‌آ (۳) نسبت به گروه‌های شاهد (۱)، بروملین (۲) و بیس‌فنول‌آ + بروملین (٤) دیده می‌شود.

شکل ۳. مقایسه‌ی میانگین ± انحراف تعداد سلول‌های غول‌پیکر و گلیکوژن در بافت جفت گروه‌های مختلف آزمایشی

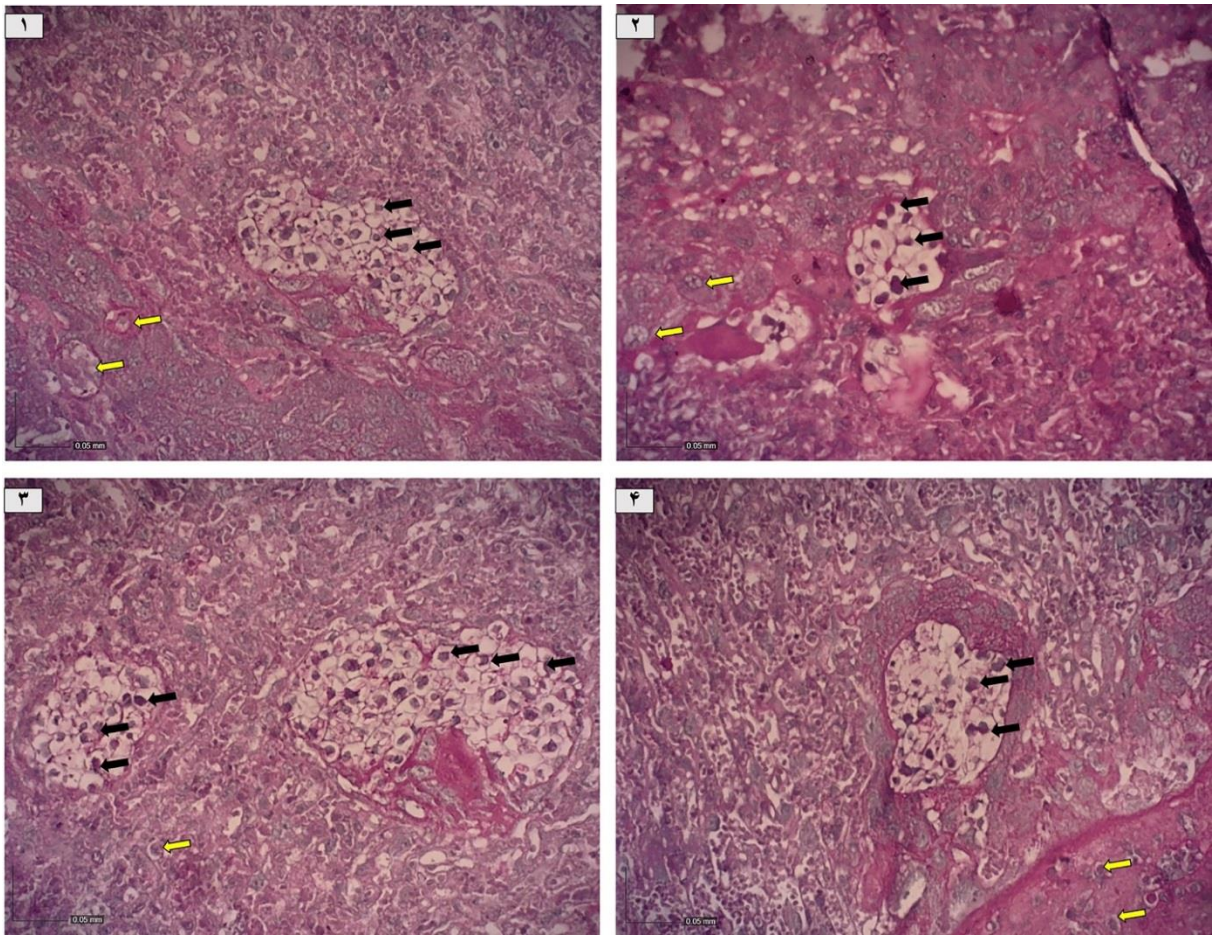
abc: حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

به طوری که اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشتند (به ترتیب $P = ۰/٦۲۸$، $P = ۰/۹۱۵$، $P = ۰/۹۳۸$). با این حال تعداد سلول‌های گلیکوژن در گروه دریافت‌کننده‌ی بیس‌فنول‌آ همراه با بروملین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P = ۰/۹۸۲$) (شکل ۳ و ٤).

بحث

طبق بررسی‌های انجام شده، در مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار، تأثیر محافظتی بروملین در برابر سمیت ناشی از بیس‌فنول‌آ بر روی مورفومتری و هیستومتری بافت جفت بررسی گردید. یافته‌های مورفومتری و هیستومتری مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تجویز بیس‌فنول‌آ در موش صحرایی می‌تواند باعث آسیب و تغییرات قابل توجهی در ساختار جفت شود.

در این مطالعه، بیس‌فنول‌آ، باعث کاهش معنی‌دار وزن، قطر و ضخامت جفت شد که این نتیجه با گزارش‌های قبلی مطابقت داشت (۱۷). همسو با مطالعه‌ی حاضر، Mao و همکاران نیز در سال ۲۰۲۰ گزارش کردند که تجویز بیس‌فنول‌آ به صورت خوراکی در موش آزمایشگاهی موجب کاهش وزن جنین و جفت، افزایش جذب جنین‌ها و ناهنجاری‌های جنینی می‌شود (۱۸).



شکل ٤. ساختار میکروسکوپی جفت در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف (PAS)، بزرگ‌نمایی X۱۰۰). در این تصویر افزایش تعداد سلول‌های کلیگوژن (پیکان سیاه رنگ) و کاهش تعداد سلول‌های غول‌پیکر (پیکان زرد رنگ) در گروه بیس‌فنول‌آ (۳) نسبت به گروه‌های شاهد (۱)، بروملین (۲) و بیس‌فنول‌آ + بروملین (٤) دیده می‌شود.

مکانیسم تأثیرگذاری قرار گرفتن در معرض بیس‌فنول‌آ بدین صورت است که از طریق اختلال در محور جفت- مغز جنین موش در حال رشد بر جفت تأثیر می‌گذارد. علاوه بر این، در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است که بیس‌فنول‌آ به طور قابل توجهی تولید بیومارکرهای استرس اکسیداتیو توسط جفت را افزایش می‌دهد (۸). کاهش وزن جفت و جنین هنگام تولد نتیجه‌ی کاهش کارآیی جفت و تابعی از تغییرات التهابی، اکسیداتیو، استروئیدی و فیبروتیک ناشی از بیس‌فنول‌آ است.

در مطالعه‌ی Song و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داده شد که بیس‌فنول‌آ از طریق افزایش اینترلوکین ۸، نشانگر پراکسیداسیون لیپیدی، استرس اکسیداتیو، آنزیم آروماتاز، گیرنده‌های استروژن و همچنین کاهش فاکتور نکروز تومور آلفا باعث کاهش وزن و کارآیی جفت در جنین‌های گوسفند می‌شود (۱۹).

بیس‌فنول‌آ، باعث افزایش نرخ تکثیر سلولی در ناحیه‌ی دسیدوآ و سپس تعداد گلیکوژن در اواخر بارداری می‌شود که ممکن است نشان‌دهنده‌ی وجود بزرگ شدگی جفتی در برخی از حیوانات در معرض بیس‌فنول‌آ در پایان بارداری باشد (۲۰).

بررسی‌های هیستولوژیکی مطالعه‌ی حاضر نشان‌دهنده‌ی تأثیر بیس‌فنول‌آ در تغییر لایه‌های اتصالی، لابیرنت و دسیدوآ بود. این نتیجه با گزارش‌های قبلی مطابقت داشت که نشان داده‌اند قرار گرفتن در معرض بیس‌فنول‌آ با افزایش لایه‌ی دسیدوآ و کاهش اسپانژیوم در جفت موش‌های آزمایشگاهی همراه است (۱۸). هدف اصلی بیس‌فنول‌آ در بافت جفت، سلول‌های غول پیکر (اسپانژیوتروفوبلاست) در ناحیه‌ی اتصالی است که باعث دژنراسیون و نکروز قابل توجه سلول‌های غول‌پیکر و افزایش واکوئل‌دار شدن در ناحیه‌ی اتصالی می‌شود. رشد لابیرنت، که محل تبادل مواد مغذی مادر و جنین است و ناحیه‌ی اتصالی به بیس‌فنول‌آ حساس بوده و اندازه‌ی آن‌ها نسبت به کل جفت تغییر می‌کند (۱۷، ۱۸).

علاوه بر این، نتایج مطالعه‌ی Tachibana و همکاران نشان داد

که بیس‌فنول‌آ از طریق تحریک مزمن بیان ژن با اتصال به DNA نه تنها عملکرد جفت را مختل می‌کند بلکه منجر به سقط جنین و بر مرگ و میر نوزادان از طریق قرار گرفتن در معرض غیرمستقیم جنین‌ها نیز تأثیر می‌گذارد (۲۱).

Susiarjo و همکاران افزایش تجمع گلبول‌های قرمز خون در لابیرنت جفت‌های در معرض بیس‌فنول‌آ را مشاهده کردند که نشان‌دهنده‌ی اکسیژن‌رسانی نامناسب می‌باشد (۲۲).

Tait و همکاران، عروق تغییر یافته را به شکل فضاهای خونی در لابیرنت جفت در مادران در معرض بیس‌فنول‌آ مشاهده کردند (۱۷). با این حال، این‌که آیا این تغییرات مورفولوژیکی واقعاً بر عملکرد جفت تأثیر می‌گذارد یا خیر، هنوز باید آزمایش شود. نتایج مطالعات دیگر بر روی جوندگان، به طور عمده در موش، نشان داد که بیس‌فنول‌آ می‌تواند بر بیان چندین ژن در جفت تأثیر بگذارد (۲۳).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که بیس‌فنول‌آ با گیرنده‌ی استروژن آلفا (ER-α) در غلظت‌های نسبتاً کم اما با گیرنده‌ی پرگنان ایکس (PXRx) در غلظت‌های بالا تعامل دارد (۱۸). در حمایت از نقش استروژنی بیس‌فنول‌آ، تجویز اگزوژن استرادیول بنزوات منجر به کاهش رشد لابیرنت و عروق جنینی مرتبط با آن در جفت شد (۲۴). بر همین اساس، قرار گرفتن در معرض بیس‌فنول‌آ تولید رادیکال‌های آزاد را افزایش داده و سهم عمده‌ی تراتوژن بودن بیس‌فنول‌آ به مکانیسم ایجاد استرس اکسیداتیو برمی‌گردد (۸).

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، اثرات حمایتی بروملین را در برابر سمیت ناشی از بیس‌فنول‌آ در طول بارداری بر برخی از ساختارهای جفت نشان داد. گزارش‌های زیادی در مورد اهمیت و ارزش استفاده از بروملین وجود دارد. فناوری استفاده از این آنزیم به راحتی و ارزان در دسترس است و می‌توان از آن در سطح خانگی یا صنعتی استفاده کرد (۱۱). فعالیت عملکردی بروملین نشان می‌دهد که بروملین می‌تواند موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردد و استرس اکسیداتیو را مهار کند (۲۵). بنابراین استفاده از بروملین می‌تواند با کاهش استرس اکسیداتیو، مورفولوژی جفت را محافظت کند. این عامل رادیکال‌های اکسیژن را حذف می‌کند و از آسیب اکسیدان و مرگ سلولی جلوگیری می‌نماید (۲۶).

به طور معمول، افزایش تولید (Reactive oxygen species) ROS در سلول‌ها منجر به یک پاسخ هماهنگ توسط عناصر پاسخ آنتی‌اکسیدانی (Antioxidant response elements) ARE می‌شود. عناصر پاسخ آنتی‌اکسیدانی تعدادی از فاکتورهای رونویسی از جمله فاکتور هسته‌ای اعضای خانواده‌ی فاکتور اریتروئیدی (Nrfs) از جمله Nrf3 را که عمدتاً در جفت بیان می‌شود، فعال کرده و اتصال این عوامل بیان ژن آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد، بنابراین سلول‌ها را در برابر استرس اکسیداتیو با واسطه‌ی پاتولوژیک و سموم محافظت می‌کند (۲۷). بنابراین، استفاده از بروملین در بارداری ممکن است با تنظیم مثبت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جفت و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین خاصیت ضدالتهابی خود، به صورت سودمندی جفت را بازیابی کند (۱۵).

نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ی حاضر برای نخستین بار به بررسی اثر بروملین بر بافت جفت و نقش آن در مهار سمیت ناشی از بیس‌فنول‌آ روی این ارگان پرداخته شد و مشاهده گردید که بروملین به طور معنی‌داری می‌تواند از کاهش ضخامت لایه‌ی لابیرنت و لایه‌ی اتصالی، تعداد و اندازه‌ی سلول‌های غول‌پیکر و افزایش ضخامت لایه‌ی دسیدوآ ایجاد شده توسط بیس‌فنول‌آ در جفت پیشگیری کند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب پژوهانه در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. den Braver-Sewradj SP, van Spronsen R, Hessel EVS. Substitution of bisphenol A: a review of the carcinogenicity, reproductive toxicity, and endocrine disruption potential of alternative substances. Crit Rev Toxicol 2020; 50(2): 128-47.
2. Almeida S, Raposo A, Almeida-González M, Carrascosa C. Bisphenol A: Food exposure and impact on human health. Compr Rev Food Sci 2018; 17(6): 1503-17.
3. Reece SM, Sinha A, Grieshop AP. Primary and photochemically aged aerosol emissions from biomass cookstoves: chemical and physical characterization. Environ Sci Technol 2017; 51(16): 9379-90.
4. Khazaeel K, Jamshidian J, Khaksary-Mahabady M, Zolfaghari N. Effect of bromelain on apparent abnormalities induced by bisphenol A in rat fetus [in Persian]. J Isfahan Med Sch 2017; 35(452): 1496-503.
5. Pu Y, Gingrich JD, Steibel JP, Veiga-Lopez A. Sex-specific modulation of fetal adipogenesis by gestational bisphenol A and bisphenol S exposure. Endocrinology 2017; 158(11): 3844-58.
6. Corbel T, Gayrard V, Puel S, Lacroix MZ, Berrebi A, Gil S, et al. Bidirectional placental transfer of Bisphenol A and its main metabolite, Bisphenol A-Glucuronide, in the isolated perfused human placenta. Reprod Toxicol 2014; 47: 51-8.
7. Lee J, Choi K, Park J, Moon HB, Choi G, Lee JJ,

et al. Bisphenol A distribution in serum, urine, placenta, breast milk, and umbilical cord serum in a birth panel of mother-neonate pairs. Sci Total Environ 2018; 626: 1494-501.
8. Arita Y, Park HJ, Cantillon A, Getahun D, Menon R, Peltier MR. Effect of bisphenol-A (BPA) on placental biomarkers for inflammation, neurodevelopment and oxidative stress. J Perinat Med 2019; 47(7): 741-9.
9. Gill S, Kumara VM. Comparative neurodevelopment effects of bisphenol A and bisphenol F on rat fetal neural stem cell models. Cells 2021; 10(4): 793.
10. Sharf-El Deen O, Bakry S, Shaeir WA, Mohammed FE, Adel M. Teratogenicity of bisphenol-A (BPA) in pregnant rat. Am-Eurasian J Toxicol Sci 2015; 7(4): 229-38.
11. Agarwal S, Chaudhary B, Bist R. Bacoside A and bromelain relieve dichlorvos induced changes in oxidative responses in mice serum. Chem Biol Interact 2016; 254: 173-8.
12. Lee JH, Lee JB, Lee JT, Park HR, Kim JB. Medicinal effects of bromelain (Ananas comosus) targeting oral environment as an anti-oxidant and anti-inflammatory agent. J Food Nutr Res 2018; 6(12): 773-84.
13. Chakraborty AJ, Mitra S, Tallei TE, Tareq AM, Nainu F, Cicia D, et al. Bromelain a potential bioactive compound: a comprehensive overview from a pharmacological perspective. Life (Basel) 2021; 11(4): 317.
14. Kwatra B. A review on potential properties and therapeutic applications of bromelain. World J Pharm Pharm Sci2019; 8(11): 488-500.
15. Khazaeel K, Khaksary-Mahabady M, Jamshidian J, Zolfaghari N. Comparative effect of bromelain and vitamin E on bisphenol A-induced skeletal anomalies in the rat fetus. JABS 2021; 11(2): 3877-85.
16. Khazaeel K, Sadeghi A, Ghotbeddin Z, Basir Z, Aliheidari M, Nooraee A. The effect of fish oil on histomorphometric changes of cerebrum and cerebellum caused by hypoxia during pregnancy in female rats' offsprings: A Descriptive Study [in Persian]. J Rafsanjan Univ Med Sci 2022; 20(10): 1083-93.
17. Tait S, Tassinari R, Maranghi F, Mantovani A. Bisphenol A affects placental layers morphology and angiogenesis during early pregnancy phase in mice. J Appl Toxicol 2015; 35(11): 1278-91.
18. Mao J, Jain A, Denslow ND, Nouri MZ, Chen S, Wang T, et al. Bisphenol A and bisphenol S disruptions of the mouse placenta and potential effects on the placenta-brain axis. Proc Natl Acad Sci 2020; 117(9): 4642-52.
19. Song W, Puttabyatappa M, Zeng L, Vazquez D, Pennathur S, Padmanabhan V. Developmental programming: Prenatal bisphenol A treatment disrupts mediators of placental function in sheep. Chemosphere 2020; 243: 125301.
20. Lan X, Fu LJ, Zhang J, Liu XQ, Zhang HJ, Zhang X, et al. Bisphenol A exposure promotes HTR-8/SVneo cell migration and impairs mouse placentation involving upregulation of integrin-β1 and MMP-9 and stimulation of MAPK and PI3K signaling pathways. Oncotarget 2017; 8(31): 51507-21.
21. Tachibana T, Wakimoto Y, Nakamuta N, Phichitraslip T, Wakitani S, Kusakabe K, et al. Effects of bisphenol A (BPA) on placentation and survival of the neonates in mice. J Reprod Dev 2007; 53(3): 509-14.
22. Susiarjo M, Sasson I, Mesaros C, Bartolomei MS. Bisphenol a exposure disrupts genomic imprinting in the mouse. PLoS Genet 2013; 9(4): e1003401.
23. Xu X, Chiung YM, Lu F, Qiu S, Ji M, Huo X. Associations of cadmium, bisphenol A and polychlorinated biphenyl co-exposure in utero with placental gene expression and neonatal outcomes. Reprod Toxicol 2015; 52: 62-70.
24. Matsuura S, Itakura A, Ohno Y, Nakashima Y, Murata Y, Takeuchi M, et al. Effects of estradiol administration on feto-placental growth in rat. Early Hum Dev 2004; 77(1-2): 47-56.
25. Li T, Shen P, Liu W, Liu C, Liang R, Yan N, et al. Major polyphenolics in pineapple peels and their antioxidant interactions. Int. J Food Prop 2014; 17(8): 1805-17.
26. Zhao R, Hou Y, Zhang Q, Woods CG, Xue P, Fu J, et al. Cross-regulations among NRFs and KEAP1 and effects of their silencing on arsenic-induced antioxidant response and cytotoxicity in human keratinocytes. Environ Health Perspect 2012; 120(4): 583-9.

DOI: *10.48305/jims.v40.i679.0524*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 40, No. 679, 3rd Week, September 2022**

Received: 02.02.2022 Accepted: 06.07.2022 Published: 12.09.2022

Protective Effect of Bromelain Against Bisphenol-A Induced Toxicity on the Rat Placental Histomorphometry

Kaveh Khazaeel[1], Abbas Sadeghi[2], Javad Jamshidian[3], Reza Jahangiri[4]

Original Article

Abstract

Background: Placental trophoblast cells are potentially at risk of exposure to the circulating endocrine-disrupting chemicals, such as bisphenol-A. Bromelain as a natural compound of pineapple has considerable antioxidant and anti-inflammatory effects. The present study aimed to evaluate the protective effect of bromelain on histomorphometric changes of the placenta in bisphenol A treated rats.

Methods: In this experimental study, 24 pregnant rats were divided into four groups (n = 6) including control, Bromelain (10 mg/kg), Bisphenol A (300 mg/kg), and Bisphenol A + Bromelain. Bromelain was injected intraperitoneally and bisphenol A was administered orally (gavage) between 6th-15th days of gestation. For sampling, at the 20th day of gestation, the rats were euthanized, then the uterus was removed, and the placentas were separated from the uterus. Immediately placental morphometric examinations including placental weight, diameter, and thickness were performed. General and specific staining was used for histological examinations and then the samples were evaluated by light microscopy.

Findings: Bisphenols significantly reduced placental weight, diameter, and thickness, the number of giant cells, and the thickness of labyrinth and spongiosum layers compared to the control group. Also, due to the administration of bisphenols, a significant increase in the number of glycogen cells and the thickness of the decidua in the placenta was observed. However, the administration of bromelain with bisphenols improved the above mentioned parameters.

Conclusion: Administration of bisphenol A during pregnancy in rats causes toxic effects on placental tissue, and co-administration of bromelain with bisphenol A can reduce the adverse effects of bisphenol A on placental tissue.

Keywords: Bromelin; Bisphenol A; Placenta; Rat; Toxicity

Citation: Khazaeel K, Sadeghi A, Jamshidian J, Jahangiri R. **Protective Effect of Bromelain Against Bisphenol-A Induced Toxicity on the Rat Placental Histomorphometry.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(679): 524-31.

1- Assistant Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine AND Stem Cells and Transgenic Technology Research Center (STTRC), Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2- PhD Candidate, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3- Assistant Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
4- DVM student, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Kaveh Khazaeel, Assistant Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine AND Stem Cells and Transgenic Technology Research Center (STTRC), Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Email: k.khazaeil@scu.ac.ir