اثرات تکاملی دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات بر فولیکول‌های تخمدانی موش‌های صحرایی نژاد ویستار

مهران درست‌قول*
احمدعلی معاضدی
الهام قلمباز

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۳/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۶/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر نگرانی‌های در حال افزایشی در خصوص بروز ناهنجاری‌های تولیدمثلی در جمعیت‌های انسانی وجود دارد. این تحقیق با هدف مطالعه اثرات در معرض قرار گرفتن مادر به دی اتیل‌هگزیل-فتالات بر روند تکامل پس از تولد تخمدان نوزادان موش‌های صحرایی انجام گرفت. ***روش بررسی:*** ۴۰ موش صحرایی ماده به‌طور تصادفی به گروه شاهد و سه گروه آزمون، که به‌ترتیب طی دوره شیردهی مقادیر ۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات را با روش گاواژ دریافت نمودند، تقسیم شدند. تخمدان نوزادان در سن ۶۰ روزگی پس از تولد از محوطه شکمی خارج و بعد از توزین، تثبیت و آماده‌سازی مقاطع بافتی سریال شش میکرونی، تغییرات ساختاری فولیکول‌های تخمدانی و اجسام زرد مطالعه گردید. ***یافته‌ها:*** میانگین وزن بدن نوزادان در گروه‌های مورد مطالعه تغییر معنی‌داری نشان نداد. وزن تخمدان نوزادان در گروه دوز بالا به‌طور معنی‌داری (p=۰/۰۳۷) کاهش یافت. کاهش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های اولیه (p=۰/۰۱۲) و تعداد و قطر فولیکول‌های ثانویه (به‌ترتیب p=۰/۰۲۳ و p=۰/۰۱۲) و آنترال (به‌ترتیب p=۰/۰۲۵ و p=۰/۰۱۸) نیز در گروه دوز بالا در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید. همچنین، تعداد اجسام زرد در گروه دوز بالا در ۶۰ روزگی پس از تولد به‌طور معنی‌داری (p=۰/۰۲۳) کاهش یافت. علاوه‌براین، افزایش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های آترتیک در گروه‌های دوز متوسط (p=۰/۰۱۲) و دوز بالا (p=۰/۰۳۶) مشاهده شد. ***نتیجه‌گیری:*** مطالعه حاضر نشان می‌دهد در معرض قرارگیری مادر در برابر دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات طی دوره شیردهی تکامل پس از تولد ساختار بافتی تخمدان نوزادان را تحت تأثیر قرار داده و موجب کاهش باروری و کارایی تولیدمثلی آن‌ها در هنگام بلوغ می‌شود.

کلمات کلیدی: دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات، باروری، فولیکول‌های تخمدانی، تکامل پس از تولد.

* نویسنده مسئول: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی
تلفن: ۳۳۳۱۰۴۵-۰۶۱۱
email: mdorostghoal@yahoo.com

مقدمه

در سال‌های اخیر نگرانی‌های در حال افزایشی در خصوص بروز ناهنجاری‌های تولیدمثلی (Reproductive anomalies) در جمعیت‌های انسانی وجود دارد. بر پایه مطالعات صورت گرفته محققان علت بروز این ناهنجاری‌های تولیدمثلی را به یک‌سری آلوده‌کننده‌های زیست‌محیطی که بر روی سیستم آندوکرین مهره‌داران تاثیرگذار می‌باشند، مرتبط دانسته و از آن‌ها تحت عنوان برهم‌زننده‌های سیستم آندوکرین یاد می‌کنند.[۱] این ترکیبات شیمیایی مشابه استروژن‌ها عمل نموده و یا فعالیت آنتی‌آندروژنی از خود نشان داده و از این طریق فعالیت‌های تولیدمثلی وابسته به هورمون‌ها را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. آخرین یافته‌های علمی نشان می‌دهد که برهم‌زننده‌های سیستم آندوکرین در محیط باقی مانده و اثرات عمیقی بر حیات وحش و انسان‌ها می‌گذارند.[۲] فتالات‌ها تنها یکی از چندین رده مواد شیمیایی هستند که دارای خواص استروژنی بوده و رفتار استروژنی آن‌ها قبلاً به‌صورت in vitro گزارش شده است.[۳] این ترکیبات در بسیاری از محصولاتی که به‌طور مرتب توسط انسان‌ها مصرف می‌گردد همچون رنگ‌ها، چسب‌ها، محصولات بهداشتی و آرایشی همانند شامپو و صابون و پلاستیک‌های قابل انعطافی مثل اسباب بازی کودکان و ظروف نگهداری موادغذایی یافت می‌شود.[۴] دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات Di 2 ethylhexylphthalate (DEHP)، فراوان‌ترین فتالات موجود، که عمدتاً جهت ساخت انواع وسیعی از محصولات پلاستیکی اعم از مواد ساختمانی، پوشاک، مواد بسته‌بندی و وسایل پزشکی مورد

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-05]

استفاده قرار می‌گیرد به‌راحتی به‌طور کامل از ماتریکس جدا شده و وارد محیط می‌شود.[۵] Doull گزارش داد که انسان معمولاً روزانه در معرض ۳۰µg/kg-۳ دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات قرار می‌گیرد،[۶] اگرچه در شرایط‌خاصی همچون همودیالیز روزانه تا ۱/۵mg/kg و طی انفوزیون نوزادان روزانه تا ۲۰mg/kg-۱۰ افزایش پیدا می‌کند.[۷] از آنجا که دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات قادر به عبور از جفت و همچنین وارد شدن به شیر می‌باشد خطر مهمی برای تکامل جنین و نوزاد تلقی می‌شود.[۸] از سوی دیگر افراد نابالغ به تخریب غدد درون ریز حساس می‌باشند چرا که در این مرحله سیستم تولیدمثلی در حال تکامل بوده و تغییرات کوچک در سطح هورمون‌های درون‌ریز می‌تواند منجر به تغییرات ساختاری و عملکردی دایمی شود.[۸] در سال‌های اخیر، دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات نگرانی عمومی را در خصوص توانایی به خطر انداختن سلامتی، به‌دلیل اثرات تولیدمثلی آن در مدل‌های حیوانی افزایش داده است.[۹و۱۰] مشخص گردیده که DEHP دارای قوی‌ترین سمیت تولیدمثلی در بین فتالات‌ها می‌باشد.[۱۰] این ماده باروری موش‌های صحرایی ماده را کاهش داده و عملکرد تخمدان را تغییر می‌دهد.[۱۱] دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات در بدن سطح استرادیول سرم را کاهش می‌دهد و دوره استروس را در موش‌های صحرایی ماده بالغ طولانی می‌کند.[۱۲] همچنین، افزایش قابل توجه تعداد فولیکول‌های آترتیک ثالثیه در تخمدان نوزادان به‌دنبال تجویز دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات در موش‌های صحرایی مادر گزارش شده است.[۱۳] علاوه براین، مطالعات مختلف صورت گرفته در انسان ارتباط بین فتالات و روند تکامل غیرطبیعی اندام‌های تولیدمثلی در افراد ماده را پیشنهاد می‌کند.[۱۴] مشخص گردیده که سطوح پلاسمایی DEHP در افراد بالغ مبتلا به ژنیکوماستی به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر افراد می‌باشد.[۱۵] قرارگیری کارگران زن در معرض سطح بالایی از فتالات‌ها، با کاهش میزان حاملگی و افزایش نسبت سقط جنین ارتباط دارد.[۱۴] با توجه به گسترش روزافزون استفاده از فتالات‌ها این تحقیق انجام شد. هدف ما مطالعه اثرات در معرض قرارگیری مادر در برابر DEHP در دوره شیردهی بر روند تکامل پس از تولد فولیکول‌های تخمدانی نوزادان موش‌های صحرایی نژاد ویستار می‌باشد.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و طی بهار ۱۳۸۹ در محل آزمایشگاه بافت‌شناسی و جنین‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گردید. ۴۰ موش صحرایی ماده نژاد ویستار ۱۲ هفته با میانگین وزنی ۲۲۰±۸gr به‌همراه ۱۰ موش صحرایی نر ۱۴ هفته با میانگین وزنی ۲۴۰±۱۰gr از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در شرایط استاندارد نگهداری شدند. موش‌های صحرایی مطابق اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شده و تحت درمان قرار گرفتند. پس از یک هفته سازگاری با شرایط محیط به‌منظور جفت‌گیری موش‌های نر و ماده در یک قفس نگهداری شدند. پس از پایان دوره بارداری، موش‌های صحرایی مادر به‌طور تصادفی در گروه‌های شاهد و آزمون تقسیم گردیدند. گروه شاهد، از روز دو تا ۲۱ دوره شیردهی، تنها روغن ذرت خالص را به‌صورت گاواژ دریافت نمودند. برای این منظور روغن ذرت خالص با مقدار ۵ml/kg وزن بدن مورد استفاده قرار گرفت. موش‌های صحرایی مادر گروه‌های آزمون با روش گاویج در تمام طول مدت تیمار در معرض دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات (۱،۲- بنزن دی کربوکسیلیک اسید) (مرک آلمان) با دوزهای ۵۰۰mg/kg، ۱۰،۱۰۰ قرار داده شدند. دوزهای مورد استفاده در این مطالعه با توجه به مطالعات انجام شده در خصوص سمیت تولیدمثلی دی‌اتیل‌هگزیل-فتالات انتخاب شدند. پس از آن در ۶۰ روزگی پس از تولد در هر گروه از میان نوزادان آن‌ها ۱۰ موش صحرایی به‌طور تصادفی انتخاب و پس از توزین به‌وسیله کلروفرم با دوز بالا کشته شدند. سپس، بلافاصله ناحیه شکمی آن‌ها باز شده و تخمدان‌های آن‌ها از بدن خارج و پس از توزین با استفاده از ترازوی دیجیتال برای مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن تثبیت شدند. پس از انجام مراحل آماده‌سازی بافتی مقاطع میکروسکوپی شش میکرومتری به‌صورت سریال از هر یک از تخمدان‌های راست و چپ هر موش صحرایی تهیه و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین قرار گرفتند. سپس، جهت انجام مطالعه هیستولوژیک و هیستومتریک هر دهمین مقطع بافتی در هر تخمدان به‌صورت مارپیچی از کورتکس به‌طرف مدولای تخمدان در جهت عقربه‌های ساعت مورد بررسی قرار گرفت.[۱۶] در هر مقطع بافتی تعداد فولیکول‌های آغازی، اولیه، ثانویه، آنترال و آترتیک و نیز اجسام زرد مورد شمارش قرار گرفت. همچنین، قطر بزرگ و کوچک فولیکول‌ها در مراحل مختلف رشد با استفاده از میکرومتر چشمی اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها برآورد گردید. برای این منظور، تنها

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-05]

فولیکول‌هایی که اووسیت آن‌ها واجد یک هسته مشخص بود مورد شمارش و اندازه‌گیری قرار گرفتند. فولیکول‌های تخمدانی در این مطالعه بر اساس ساختار بافتی به انواع مختلف تقسیم‌بندی شدند. فولیکول‌های دارای یک لایه سلول گرانولوزای سنگفرشی شکل در اطراف سلول اووسیت به‌عنوان فولیکول آغازی، فولیکول‌های واجد یک لایه سلول‌های فولیکولی مکعبی شکل در اطراف سلول اووسیت به‌عنوان فولیکول اولیه، فولیکول‌هایی که سلول اووسیت آن‌ها توسط بیش از یک لایه سلول گرانولوزا احاطه شده به‌عنوان فولیکول ثانویه و فولیکول‌های واجد فضاهای خالی کوچک پراکنده و یا یک حفره آنتروم واحد درون طبقه سلول‌های گرانولوزا به‌عنوان فولیکول آنتروم در نظر گرفته شدند.[۱۷] همه فولیکول‌های مورد شمارش به دو دسته سالم و آترتیک طبقه‌بندی شدند. در این مطالعه فولیکول‌هایی که واجد نشانه‌هایی از قبیل پیکنوزه شدن هسته و چین خوردن غشاء سلول اووسیت، جدا شدن سلول‌های گرانولوزا از غشاء پایه، پراکنده شدن و ریزش سلول‌های گرانولوزا به درون حفره آنتروم و ضخیم شدن غشاء پایه سلول‌های گرانولوزا بودند به‌عنوان فولیکول‌های آترتیک در نظر گرفته شدند.[۱۸] در نهایت، داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار Excel و نیز نرم‌افزار SPSS ویراست ۹ و بهره‌گیری از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و توکی در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها

میانگین وزن بدن نوزادان (نمودار ۱) در ۶۰ روزگی پس از تولد بین گروه‌های مختلف مورد مطالعه تغییر معنی‌داری نشان نداد. میانگین وزن تخمدان نوزادان در گروه دریافت‌کننده دوز بالای دی‌اتیل-هگزیل‌فتالات در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری (p=۰/۰۳۷) نشان داد اما اختلاف معنی‌داری بین سایر گروه‌ها و گروه شاهد مشاهده نشد (نمودار ۲). میانگین تعداد فولیکول‌های آغازی در هیچ‌یک از مراحل زمانی پس از تولد در گروه‌های دریافت‌کننده دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۱). میانگین تعداد فولیکول‌های اولیه در گروه دریافت‌کننده ۵۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات نسبت به گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده ۱۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات به‌صورت معنی‌داری (به‌ترتیب p=۰/۰۱۲ و p=۰/۰۳۶) کاهش یافت (جدول ۱). میانگین تعداد و قطر فولیکول‌های ثانویه در گروه دریافت‌کننده ۵۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات نسبت به گروه شاهد به‌صورت معنی‌داری (به‌ترتیب p=۰/۰۲۳ و p=۰/۰۱۲) کاهش نشان داد (جداول ۱ و ۲). همچنین، میانگین تعداد و قطر فولیکول‌های ثانویه در گروه دریافت‌کننده ۵۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات نسبت به گروه دریافت‌کننده ۱۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات به‌صورت معنی‌داری (به‌ترتیب p=۰/۰۴۷ و p=۰/۰۳۵) کاهش یافت (جداول ۱ و ۲). علاوه براین، میانگین تعداد و قطر فولیکول‌های آنترال در ۶۰ روزگی پس از تولد در گروه دریافت‌کننده دوز بالای دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری (به‌ترتیب p=۰/۰۲۵ و p=۰/۰۱۸) کاهش نشان داد (جداول ۱ و ۲). میانگین تعداد و قطر فولیکول‌های آنترال در ۶۰ روزگی پس از تولد در گروه دریافت‌کننده دوز بالای دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات در مقایسه با گروه دریافت‌کننده ۱۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات (به‌ترتیب p=۰/۰۴۵ و p=۰/۰۳۷) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جداول ۱ و ۲). همچنین، میانگین تعداد اجسام زرد در گروه دریافت‌کننده ۵۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل-فتالات نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری (p=۰/۰۲۳) کاهش یافت (نمودار ۳). علاوه بر این، میانگین تعداد فولیکول‌های آترتیک در گروه دریافت‌کننده دوز بالا و متوسط دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات در ۶۰ روزگی پس از تولد در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری

جدول-۱: میانگین و خطای استاندارد تعداد فولیکول‌های تخمدانی نوزاد موش صحرایی (نژاد ویستار) در ۶۰ روزگی در گروه‌های شاهد و در معرض DEHP مقادیر ۱۰ ،۱۰۰ ،۵۰۰mg/kg/day

گروه	تعداد فولیکول آغازی	تعداد فولیکول اولیه	تعداد فولیکول ثانویه	تعداد فولیکول آنترال
شاهد (a)	۹/۷۲±۱/۶۴	۷/۱۳±۱/۰۳ ^{d}	۹/۲۳±۱/۴۴ ^{d}	۵/۰۰±۰/۶۵ ^{d}
دوز کم (b)	۹/۶۳±۱/۵۳	۷/۰۶±۱/۱۰ ^{d}	۹/۱۲±۱/۳۲ ^{d}	۴/۶۶±۰/۷۷ ^{d}
دوز متوسط (c)	۹/۴۲±۱/۱۴	۶/۷۸±۱/۰۹	۷/۲۰±۱/۲۶	۳/۱۳±۰/۶۲
دوز زیاد (d)	۱۰/۰۵±۲/۲۰	۵/۵۳±۰/۵۲ ^{ab}	۵/۹۳±۰/۴۸ ^{ab}	۲/۷۳±۰/۴۷ ^{ab}

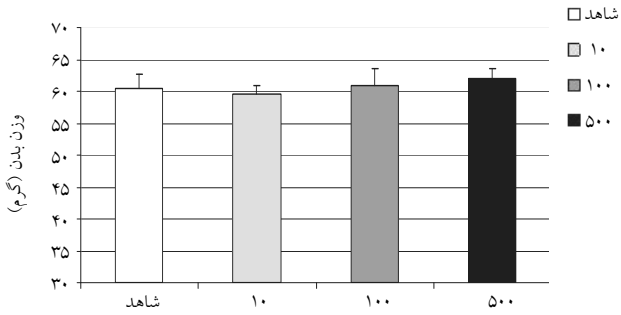
وجود حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (n= ۱۰ و p<۰/۰۵) بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-05]

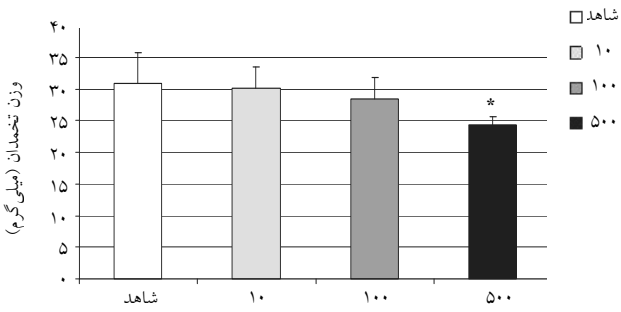
جدول-۲: میانگین و خطای استاندارد قطر فولیکول‌های تخمدانی (µm) نوزاد موش صحرایی (نژاد ویستار) در ۶۰ روزگی در گروه‌های شاهد و در معرض DEHP مقادیر ۵۰۰mg/kg/day، ۱۰۰، ۱۰

گروه	قطر فولیکول آغازی	قطر فولیکول اولیه	قطر فولیکول ثانویه	قطر فولیکول آنترال
شاهد (a)	۲۲/۹۷±۳/۱۵	۵۲/۵۰±۴/۷۰	۱۴۳/۱۲±۴/۶۲ [d]	۲۲۹/۹۰±۸/۲۳ [d]
دوز کم (b)	۲۲/۶۲±۲/۱۶	۵۲/۴۹±۳/۲۹	۱۴۱/۵۱±۳/۶۱ [d]	۲۲۹/۱۴±۷/۴۷ [d]
دوز متوسط (c)	۲۲/۵۱±۳/۰۹	۵۱/۹۳±۲/۷۰	۱۳۹/۲۳±۳/۴۲	۲۲۱/۷۱±۷/۳۱
دوز زیاد (d)	۲۲/۱۹±۲/۱۳	۵۱/۰۱±۳/۰۸	۹۷/۶۲±۲/۵۵ [ab]	۱۹۱/۴۲±۵/۲۸ [ab]

وجود حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (n =۱۰ و p<۰/۰۵) بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد



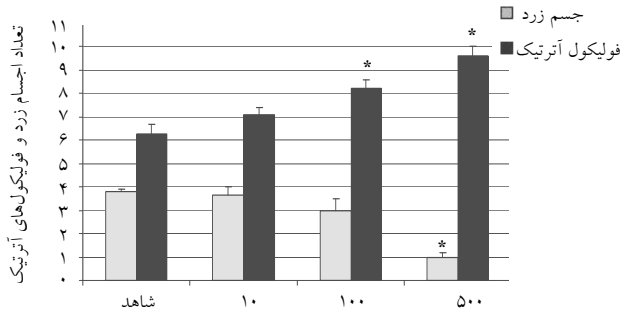
نمودار-۱: میانگین و خطای استاندارد وزن بدن نوزاد موش (نـژاد ویـستار) در ۶۰ روزگی، گروه‌های‌شاهد و دریافت‌کننده DEHP مقادیر ۵۰۰mg/kg/day، ۱۰۰، ۱۰



نمودار-۲: میانگین‌و خطای استاندارد وزن‌تخمدان نوزاد موش (نژاد ویستار) در ۶۰ روزگی، گروه‌های‌شاهد و دریافت‌کننده DEHP مقادیر ۵۰۰mg/kg/day، ۱۰۰، ۱۰

* (n=۱۰ ،p=۰/۰۳۷)

(به‌ترتیب p=۰/۰۱۲ و p=۰/۰۳۶) افزایش نشان داد. ایـن میـانگین در سایر گروه‌های در معرض نیز افزایش یافت امـا در مقایـسه بـا گـروه شاهد معنی‌دار نبود (نمودار ۳).



نمودار-۳: میانگین تعداد جسم زرد و فولیکول آترتیک تخمدان موش ۶۰ روزه در گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده DEHP مقادیر ۵۰۰mg/kg/day، ۱۰۰، ۱۰

* (p< ۰/۰۵ ،n=۱۰)

بحث

ناباروری یـکی از مشـکلات مهم بهداشـتی- درمـانی همـه جـوامع بشری محسوب‌شده و از عوامل مهم ایجاد نگرانی در زوج‌هایی است که زندگی مشترک را آغاز نموده‌اند. در معرض قرارگیری افراد در برابر عوامل خارجی قبل و بعد از شروع بارداری و نیز طی مراحل اولیه پس از تولد می‌تواند توانایی تولیدمثلی و سلامت نوزادان آن‌ها را به خطر بیاندازد.[19] بر پایه مطالعات اپیدمیولوژیک صورت گرفته محققان علت بروز این تغییرات تولیدمثلی را به یک‌سری آلوده‌کننده‌های زیست‌محیطی که بر روی سیستم آندوکرین مهره‌داران تأثیرگذار می‌باشند، مرتبط دانسته و از آن‌ها تحت عنوان برهم‌زننده‌های سیستم آندوکرین یاد می‌کنند.[20] مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در معرض قرارگیری مادر در برابر دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات طی دوره شیردهی روند تکامل پس از تولد فولیکول‌های تخمدانی در نوزادان آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. Ma گزارش نمود که تجویز پیش از بلوغ دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات در موش‌های صحرایی ماده آغاز بلوغ و فعالیت تولیدمثلی پس از بلوغ را تحت تأثیر قرار می‌دهد.[5] مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تعداد فولیکول‌های تخمدانی در تخمدان نوزادان گروه دریافت‌کننده ۵۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات در هنگام بلوغ

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-05]

تغییر می‌کند. کاهش تعداد فولیکول‌های اولیه، ثانویه و آنترال و نیز کاهش تعداد اجسام زرد در تخمدان نوزادان موش‌های صحرایی گروه دریافت‌کننده ۵۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات حاکی از کاهش روند فولیکولوژنز و نیز کاهش وقوع اوولاسیون در آن‌ها می‌باشد. Lovekamp نشان داد که در تخمدان موش‌های صحرایی اسپراگو دالی بالغی که در معرض دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات با دوز دو گرم بر کیلوگرم به‌مدت یک تا ۱۲ روز قرار داده شدند، جسم زردی مشاهده نشده و فولیکول‌های تخمدانی کیستی می‌شوند.[۱۰] Takai نیز کاهش تعداد اجسام زرد هنگام تجویز ۳۰۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات به‌مدت چهار هفته را مشاهده نمود.[۲۱] روند فولیکولوژنز در موش‌های صحرایی از روز چهارم پس از تولد با کامل شدن تشکیل فولیکول‌های آغازی در روز سوم پس از تولد و شروع تبدیل آن‌ها به فولیکول‌های اولیه آغاز می‌شود.[۲۲] چنین به‌نظر می‌رسد که دی‌اتیل-هگزیل‌فتالات موجب کاهش تبدیل فولیکول‌های آغازی به فولیکول‌های اولیه و نهایتاً سایر مراحل تکاملی فرآیند فولیکولوژنز شده و به این ترتیب مراحل اولیه روند تکامل فولیکولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. علاوه بر این، افزایش وابسته به دوز تعداد فولیکول‌های آترتیک نشان‌دهنده کاهش جمعیت فولیکول‌های سالم موجود در تخمدان نوزادان موش‌های صحرایی در معرض دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات می‌باشد. Grande نشان داد در موش‌های صحرایی ماده جوانی که از روز شش آبستنی تا روز ۲۱ شیردهی با روش گاویج در معرض دوزهای پایین (۰/۰۱۵، ۰/۰۴۵، ۰/۱۳۵ و ۰/۴۰۵mg/kg) و دوزهای بالای (پنج، ۱۵، ۴۵، ۱۳۵ و ۴۰۵mg/kg) دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات قرار داده شده‌اند، تعداد فولیکول‌های آترتیک ثالثیه در دوز ۴۰۵mg/kg به‌طور معنی‌داری افزایش نشان می‌دهد.[۱۳] Takai دریافت که تجویز دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات با دوزهای ۳۰۰، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰mg/kg با روش گاویج به‌مدت دو یا چهار هفته موجب افزایش تعداد فولیکول‌های آترتیک بزرگ در دوز ۱۰۰۰ و بیشتر می‌شود.[۲۱] علاوه بر این، Lovekamp کاهش قطر فولیکول‌های پیش از تخمک‌گذاری به‌دلیل کاهش ضخامت سلول‌های گرانولوزا، کاهش سطح استرادیول سرم، طولانی شدن چرخه استروس و عدم اوولاسیون در گروه در معرض دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات را گزارش نمود.[۱۰] همچنین، Svechnikova دریافت که تجویز دوز ۵۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات با روش گاویج به‌مدت ۱۰ روز منجر به کاهش سطح سرمی پروژسترون و استرادیول می‌گردد.[۲۳] کاهش تعداد کلی فولیکول‌های سالم تخمدانی و نیز کاهش قطر فولیکول‌های ثانویه و آنترال، کاهش معنی‌دار وزن تخمدان نوزادان گروه دریافت‌کننده ۵۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات را توجیه می‌کند. از این‌رو، می‌توان نتیجه گرفت که دی‌اتیل‌هگزیل-فتالات با کاهش تعداد کلی فولیکول‌های سالم موجود در تخمدان می‌تواند موجب کاهش کارایی تولیدمثلی نوزادان موش‌های صحرایی در هنگام بلوغ شود. Lamb گزارش داد هنگامی‌که موش‌های ماده در معرض دوز ۱۴۰mg/kg در روز دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات به‌مدت ۱۲۶ روز قرار می‌گیرند وزن کل تخمدان‌ها، اویداکت و رحم به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.[۲۴] این در حالی است که تجویز زیرپوستی ۱-۱۰۰ml/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات در روزهای یک، پنج، ۱۰ و ۲۱ پس از تولد در موش‌های صحرایی ماده هیچ‌گونه تغییری در وزن تخمدان‌ها ایجاد نمی‌کند.[۲۵] همچنین، Grande دریافت که در هیچ‌یک از دوزهای مورد استفاده دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات تغییری در وزن بدن و تخمدان‌های موش‌های صحرایی ماده جوان مشاهده نمی‌شود.[۱۳] مطالعه حاضر و بررسی مطالعات مختلف انجام شده در خصوص اثرات تولیدمثلی و تکاملی دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات نشان می‌دهد که دوز مورد استفاده، زمان و طول دوره در معرض قرارگیری، نحوه تجویز و گونه حیوان بر روی نتایج حاصل از این مطالعات مؤثر می‌باشد. در همین راستا مؤسسه ایمنی شیمیایی میتسوبیشی (۲۰۰۳) گزارش می‌دهد که تجویز دوزهای ۱۰۰ و ۵۰۰mg/kg دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات با روش گاویج به‌مدت ۶۵ هفته در میمون‌های مارموزت به‌صورت وابسته به دوز موجب افزایش وزن تخمدان و رحم می‌شود.[۲۶] به‌طور کلی، مطالعه حاضر حاکی از بروز تغییرات ساختاری در تخمدان نوزادان گروه دریافت‌کننده دوز بالای دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات مدت‌ها پس از پایان دوره در معرض قرارگیری مادران می‌باشد. از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که دی‌اتیل‌هگزیل‌فتالات به‌صورت وابسته به دوز تکامل پس از تولد ساختار بافتی تخمدان موش‌های صحرایی که مادران آن‌ها طی دوره شیردهی در معرض این ماده بوده‌اند را تحت تأثیر قرار داده و موجب کاهش باروری و کارایی تولیدمثلی آن‌ها می‌شود. البته مطالعه دقیق‌تر برگشت‌پذیری اثرات دی‌اتیل‌هگزیل-فتالات نیازمند افزایش طول دوره مطالعه می‌باشد. *سپاسگزاری:* بدین‌وسیله از شورای پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تأمین بودجه پژوهشی مورد نیاز تشکر می‌گردد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-05]

References

1. Nielsen L, Baatrup E. Quantitative studies on the effects of environmental estrogens on the testis of the guppy, Poecilia reticulata. *Aquat Toxicol* 2006;80(2):140-8.
2. Lopez J. Endocrine-disrupting chemical pollution: why the EPA should regulate these chemicals under the clean water act. *Sustainable Development Law and Policy* 2010:19-22.
3. Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter JP. A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ Health Perspect* 1995;103(6):582-7.
4. Silva MJ, Barr DB, Reidy JA, Malek NA, Hodge CC, Caudill SP, et al. Urinary levels of seven phthalate metabolites in the U.S. population from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2000. *Environ Health Perspect* 2004;112(3):331-8.
5. Ma M, Kondo T, Ban S, Umemura T, Kurahashi N, Takeda M, et al. Exposure of prepubertal female rats to inhaled di(2-ethylhexyl)phthalate affects the onset of puberty and postpubertal reproductive functions. *Toxicol Sci* 2006;93(1):164-71.
6. Doull J, Cattley R, Elcombe C, Lake BG, Swenberg J, Wilkinson C, et al. A cancer risk assessment of di(2-ethylhexyl)phthalate: application of the new U.S. EPA Risk Assessment Guidelines. *Regul Toxicol Pharmacol* 1999;29(3):327-57.
7. Calafat AM, Needham LL, Silva MJ, Lambert G. Exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate among premature neonates in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics* 2004;113(5):e429-34.
8. Kurahashi N, Kondo T, Omura M, Umemura T, Ma M, Kishi R. The effects of subacute inhalation of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the testes of prepubertal Wistar rats. *J Occup Health* 2005;47(5):437-44.
9. Kavlock R, Boekelheide K, Chapin R, Cunningham M, Faustman E, Foster P, et al. NTP Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction: phthalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate. *Reprod Toxicol* 2002;16(5):529-653.
10. Lovekamp-Swan T, Davis BJ. Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environ Health Perspect* 2003;111(2):139-45.
11. Aldyreva MV, Klimova TS, Iziumova AS, Timofeevskaia LA. The effect of phthalate plasticizers on the generative function. *Gig Tr Prof Zabol* 1975;(12):25-9.
12. Davis BJ, Maronpot RR, Heindel JJ. Di-(2-ethylhexyl) phthalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;128(2):216-23.
13. Grande SW, Andrade AJ, Talsness CE, Grote K, Golombiewski A, Sterner-Kock A, et al. A dose-response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): reproductive effects on adult female offspring rats. *Toxicology* 2007;229(1-2):114-22.
14. Gray LE Jr, Laskey J, Ostby J. Chronic di-n-butyl phthalate exposure in rats reduces fertility and alters ovarian function during pregnancy in female Long Evans hooded rats. *Toxicol Sci* 2006;93(1):189-95.
15. Durmaz E, Ozmert EN, Erkekoglu P, Giray B, Derman O, Hincal F, et al. Plasma phthalate levels in pubertal gynecomastia. *Pediatrics* 2010;125(1):e122-9.
16. Bolon B, Bucci TJ, Warbritton AR, Chen JJ, Mattison DR, Heindel JJ. Differential follicle counts as a screen for chemically induced ovarian toxicity in mice: results from continuous breeding bioassays. *Fundam Appl Toxicol* 1997;39(1):1-10.
17. Britt KL, Drummond AE, Cox VA, Dyson M, Wreford NG, Jones ME, et al. An age-related ovarian phenotype in mice with targeted disruption of the Cyp 19 (aromatase) gene. *Endocrinology* 2000;141(7):2614-23.
18. Myers M, Britt KL, Wreford NG, Ebling FJ, Kerr JB. Methods for quantifying follicular numbers within the mouse ovary. *Reproduction* 2004;127(5):569-80.
19. Céspedes R, Lacorte S, Ginebreda A, Barceló D. Chemical monitoring and occurrence of alkylphenols, alkylphenol ethoxylates, alcohol ethoxylates, phthalates and benzothiazoles in sewage treatment plants and receiving waters along the Ter River basin (Catalonia, N. E. Spain). *Anal Bioanal Chem* 2006;385(6):992-1000.
20. Brooks DE. Epididymal functions and their hormonal regulation. *Aust J Biol Sci* 1983;36(3):205-21.
21. Takai R, Hayashi S, Kiyokawa J, Iwata Y, Matsuo S, Suzuki M, et al. Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity. 10) Two- or four-week repeated dose studies and fertility study of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in female rats. *J Toxicol Sci* 2009;34 Suppl 1:SP111-9.
22. Rajah R, Glaser EM, Hirshfield AN. The changing architecture of the neonatal rat ovary during histogenesis. *Dev Dyn* 1992;194(3):177-92.
23. Svechnikova I, Svechnikov K, Söder O. The influence of di-(2-ethylhexyl) phthalate on steroidogenesis by the ovarian granulosa cells of immature female rats. *J Endocrinol* 2007;194(3):603-9.
24. Lamb JC 4th, Chapin RE, Teague J, Lawton AD, Reel JR. Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 1987;88(2):255-69.
25. Agarwal DK, Lawrence WH, Turner JE, Autian J. Effects of parenteral di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) on gonadal biochemistry, pathology, and reproductive performance of mice. *J Toxicol Environ Health* 1989;26(1):39-59.
26. Mitsubishi Chemical Safety Institute. Sixty-five week repeated oral dose toxicity study of Di(2-ethyhexyl)Phthalate (DEHP) in juvenile common marmosets. Japan: Ibaraki, 2003.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-05]

Tehran University Medical Journal; Vol. 68, No. 7, Oct 2010: 377-383

Developmental effects of Di 2 ethylhexylphthalate on ovarian follicles in Wistar rats

Mehran Dorostghoal PhD.*
Ahmad Ali Moazedi PhD.
Elham Ghalambaz MSc.

Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahwaz, Ahwaz, Iran

Received: May 23, 2010 Accepted: September 07, 2010

Abstract

Background: In the recent years, concerns have been raised about the incidence of reproductive disorders in human populations. The present study was aimed to determine the effects of maternal exposure to Di 2 ethylhexylphthalate (DEHP) on postnatal development of ovary in Wistar rat offsprings.

Methods: Forty female Wistar rats were randomly divided in four equal experiment groups; an oil vehicle group and three DEHP-treated groups that received 10, 100 and 500 mg/kg/day Di 2 ethylhexylphthalate by gavage during lactation, respectively. The ovaries of pups were removed at 60 days of postnatal development; their weights recorded and fixed in Bouin's solution; subsequently 6 µm serial paraffin sections were stained with haematoxylin-eosin; the structural changes of ovarian follicles and corpora lutea were studied.

Results: There was no significant difference on mean body weights of offsprings among different groups. However, the mean of ovary weight was decreased significantly (p= 0.037) in 500 mg/kg/day DEHP group. Significant decreases were seen in mean number of primary follicles (p= 0.012) and mean number and diameter of secondary (p= 0.023 and p= 0.012, respectively) and antral (p= 0.025 and p= 0.018, respectively) follicles in high dose DEHP-treated group compared to sham group. Also, mean number of corpora lutea decreased significantly (p= 0.023) at 60 days of age in ovary of offspring in 500 mg/kg/day DEHP group. Moreover, significant increases were seen in number of atretic follicles in moderate (p= 0.012) and high (p= 0.036) DEHP-treated groups.

Conclusion: Present study showed that maternal exposure to Di 2 ethylhexylphthalate during lactation affects postnatal development of ovary in offspring Wistar rats and reduces their fertility and reproductive efficiency at puberty.

Keywords: Di 2 ethylhexylphthalate, fertility, ovarian follicles, postnatal development.

* Corresponding author: Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahwaz, Ahwaz, Iran.
Tel: +98-611-3331045
email: mdorostghoal@yahoo.com

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-05]