

## تأثير الظروف البيئية المؤدية الى تلوث قناني الماء البلاستيكية بمادة Bisphenol A ( BPA ) باستخدام التشخيص النسجي المرضي والفحوصات الهرمونية

سراب رضا مصطفى\* هدى ساجر ناصر\* اميرة حسين قادر\*\*  
عبد الجبار عباس علي\* صفا محمد جاسم\*

### الملخص

أُجريت الدراسة للكشف عن التأثيرات المرضية النسجية والهرمونية لمادة ثنائي ميثيل الفينول [Bisphenol A (BPA)] في الفئران المخبرية، إذ أكدت العديد من الدراسات السمية والكيميائية الحيوية على ان مادة BPA تمتلك خصائصاً استروجينية التي بدورها تعمل باتجاه مستقبلات هرمون الأستروجين ونتيجة لذلك صنفت على إنها مادة تسبب خللاً في التوازن الهرموني في الإنسان والحيوان. استخدمت في الدراسة 66 فأرة قسمت الى 6 مجاميع كل مجموعة ضمت 11 فأرة تركت المجموعة الأولى كسيطرة سالبة ولم تعط اية مادة. وجرعت ثلاث مجاميع أخرى بمادة BPA الذائبة في زيت الزيتون بتركيزات (0.005, 0.001, 0.002) جزء بالمليون. أما المجموعة الخامسة فقد اعطيت زيت الزيتون التي عُدت سيطرة موجبة، تم تعريض قناني الماء البلاستيكية المعقمة الى أشعة الشمس لمدة ثلاثة أشهر (حزيران، تموز وآب) عام 2016 وتم تجريع المجموعة السادسة من ماء القناني البلاستيكية وبعد (6 أشهر) من التجريع جمع دم من قلب الفئران وتم قتلها واخذت نماذج أعضاء ( الكبد، الكلية، الدماغ، الاعضاء التناسلية والقلب) بعدها أُجري التحليل النسيجي المرضي وتم تقويم هرموني الاستروجين و التستستيرون بتقنية الايلازا وبينت النتائج وجود تغييرات مرضية في الأنسجة فيما يخص التحليل الهرموني لنماذج المصل الذي تم فصله من الدم، فقد أظهرت النتائج وجود فرق معنوي بين المجموعة الثانية والرابعة لهرمون التستستيرون وعدم وجود فرق معنوي على مستوى  $p \leq 0.05$  لهرمون الأستروجين لمجاميع التجربة .

### المقدمة

تعدّ مادة ثنائي فينيل الميثان (Bisphenol A) (BPA) راتنجات الأيوكسي مادة كيميائية تستخدم أساساً أحادي التركيب monomer في إنتاج مواد البولي كاربونات البلاستيكية وراتنجات الأيوكسي، فتستخدم مادة البولي كاربونات على نطاق واسع في المواد الملامسة للأغذية على غرار قوارير رضاعة الأطفال وأدوات المائدة وأدوات فرن الموجات الدقيقة المقاومة للحرارة وقناني المياه وقوارير الحليب والمشروبات ومعدات التصنيع وأنايب المياه (1). أكتشفت مادة BPA عام 1891 عن طريق الكيميائي الروسي (Aleksandr Dianin)، وبما ان مادة BPA تدخل في تركيب البلاستيك وان كثرة استعمال البلاستيك وبشكل كبير ومتكرر في اثناء حياة الفرد خصوصاً في الوقت الحاضر فقد أدى الى نشوء مخاوف بيئية كبيرة ليس من المواد والفضلات الناتجة من صناعة البلاستيك، وانما من إرتشاح أو نضوح المواد الداخلة في تركيبه الى السوائل والمواد الغذائية التي يحويها البلاستيك وخاصة عند تعرضها للحرارة، وبالتالي إنتقالها الى جسم الإنسان، فيكون لها تأثيرات فسلجية واضحة مرتبطة بوظائف الغدد الصم (19). يكون تأثيرها في جهاز الغدد الصم من خلال تنافسها مع الهرمونات الستيرويدية للإرتباط بالمستقبلات (receptors) الخاصة بهذه الهرمونات وكذلك الإرتباط بالبروتينات الناقلة لها او من خلال قدرتها على تحويل عملية التخليق الحيوي او عملية الايض لهذه الهرمونات، كما ان هذه المواد تؤثر في عملية التعبير الجيني في الخلية (23). وأشارت تقارير

\* وزارة العلوم والتكنولوجيا، بغداد، العراق

\*\* وزارة الزراعة، بغداد، العراق

عديدة الى حدوث تسمم في نسيج الخصية عند التعرض لمادة BPA (22) ان تجمع مادة BPA في الأعضاء التناسلية تترك أثراً سريرية حتى عند التعرض لنسب قليلة منه في اثناء حياة الجنين (3) وقد سجل Lang وجماعته (13) وجود علاقة معنوية بين تركيز BPA في الإدرار وحدوث تشوهات في الجهاز القلبي الوعائي، وقد أثبتت التجارب على الحيوانات المختبرية وجود تأثيرات عكسية للـ BPA في الدماغ ويؤدي الى تكوين الخلايا العملاقة متعددة الأنوية (Multinucleated giant cells) في الخلايا الكبدية للجرذان ويسبب تنكس (Degeneration) في النيبات الكلوية لكلية الفئران (18) وكذلك سجلت العديد من الدراسات حدوث الإجهاد التسممي بعد التعرض BPA وأشارت الى انها تسبب حدوث جرح أنسجة الكبد والكلية والدماغ والأعضاء الأخرى عن طريق تكوين أنواع من الأوكسجين المتفاعل reactive oxygenspecies (ROS) (12) في السابق عُدت مادة BPA مادة غير مضرة بصحة الإنسان، وقد تم تحديد وجودها في البيئة الطبيعية وفي ماء الشرب ومنتجات الأغذية، إلا إنَّ البحوث والدراسات الحديثة بدأت تظهر التأثيرات المضرة في الإنسان ، ففي عام 1996 قامت المفوضية الاوربية بتصنيف مادة BPA على انها مادة خارجية المنشأ ذات تأثيرات سلبية في صحة الإنسان، إذ يمتص الـ BPA عن طريق الجهاز الهضمي الى الدم (8) ويرتبط بالكبد ليكون ناتجاً أيضاً هو Bisphenol glucuronid الذي يطرح عن طريق الكلية (20) و قد لوحظ إنخفاض في أعداد النطف (lower sperm counts) مع انخفاض في مستوى الهرمون الذكري التستوستيرون (Testosterone) في ذكور الجرذان المعرضة BPA مقارنة مع الجرذان غير المجرعة BPA إضافة الى حدوث ضمور في العضلات مع اكتسابها سلوك مشابه لسلوك الإناث (14,9).

## المواد وطرق البحث

### الحيوانات المختبرية

استخدمت فئران مختبرية من نوع Swiss Albino ذات اوزان تتراوح ما بين 15-20 غم الحصول عليها من شعبة حيوانات التجارب/ قسم الرقابة الدوائية/ دائرة البيطرة / وزارة الزراعة، تركت لمدة اسبوعين في البيت الحيواني للتأقلم، ثم قسمت الحيوانات الى 6 مجاميع كل مجموعة تحتوي على 11 حيواناً، وكما يأتي: المجموعة الأولى/ سيطرة Control جُرعت ماء القناني بدون التعرض لأشعة الشمس المجموعة الثانية/ تم تجريعها مادة BPA بتركيز 0.002 جزء بالمليون المجموعة الثالثة/ تم تجريعها مادة BPA بتركيز 0.001 جزء بالمليون المجموعة الرابعة/ تم تجريعها مادة BPA بتركيز 0.0005 جزء بالمليون المجموعة الخامسة/ تم تجريعها مادة زيت الزيتون Olive Oil (1µL) الذي استخدم كمادة مذبية لمادة BPA . المجموعة السادسة/ تم تجريعها ماء القناني البلاستيكية الذي تم تعريضه الى أشعة الشمس بصورة مباشرة لمدة ثلاثة اشهر (حزيران، تموز وآب)، تركيز 0.3 جزء بالمليون من BPA

### المواد الكيميائية المستعملة في التجربة

ان المادة الكيميائية المستعملة في التجربة هي مادة الـ BPA على شكل حبيبات التي تم الحصول عليها من شركة BDH وتمت إذابتها بمادة زيت الزيتون كمادة مذبية.

تحضير المحلول التخزين 1 (Stock 1): تم تحضير المحلول التخزين 1 (stock 1) وذلك من خلال وزن 10 ملغم من مادة BPA وتمت إذابتها ب 5 مل من مادة زيت الزيتون.  
تحضير المحلول التخزين 2 (Stock 2): تم أخذ مل من المحلول التخزين 1 (Stock 1) وأضيف إليه 50 مل من زيت الزيتون.

## تحليل الماء

جلبت قناني ماء بلاستيكية معقمة وتركت تحت أشعة الشمس لمدة ثلاثة أشهر هي (حزيران، تموز وآب) وبعد التعرض لأشعة الشمس، أُجري تحليل للماء في مختبر الكيمياء/مركز معالجة الملوثات/ دائرة البيئة والمياه واستخدم جهاز الكروماتوغراف السائل ذو الضغط الفائق (fluorescent) HPLC لتحديد تركيز مادة الـ BPA في الماء في ظروف فصل  $CH_3CN:H_2O-40:60$ /Flow Rate:1.2 ml/min and Loop :20  $\mu$ l . COLUMN TYPE: C18 /MOBIL PHASE:

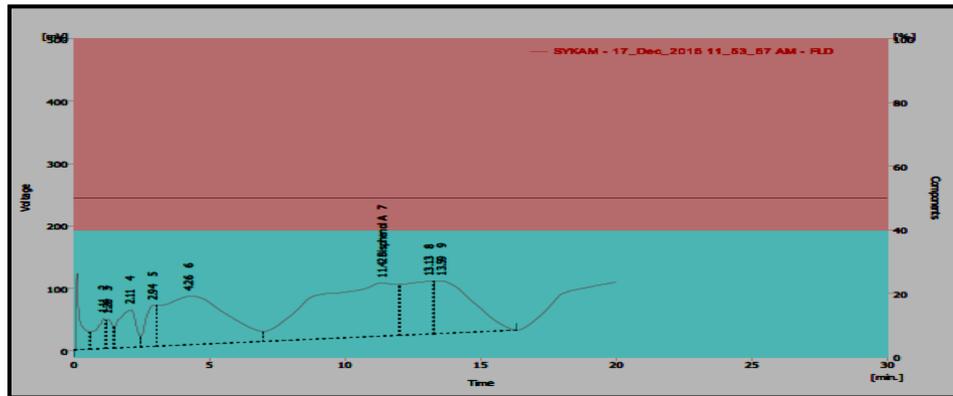
جمع وتحليل النماذج: بعد ستة أشهر من التعرض تم جمع نماذج دم من مجاميع الفئران ثم قتلها وإجراء الصفة التشريحية وجمع نماذج أنسجة من أعضاء الجسم ( الكبد، الكلى، القلب والأعضاء التناسلية )، ثم حفظت الأعضاء في محلول الفورمالين الدائري 10% لتثبيت النماذج وبعد يومين أُجري تمرير النماذج في تراكيز من كحول الايثانول بصورة تدريجية حضرت شرائح من الأنسجة وصبغت بصبغتي الهيماتوكسولين والايوسين حسب طريقة luna (15) وفحصت بالمجهر الضوئي لتشخيص التغييرات المرضية في الأعضاء. اما نماذج الدم فقد تم فصل المصل بجهاز البند المركزي بسرعة 2000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة، ثم أُجري التحليل الهرموني لهرمونات التناسل الأستروجين والتستستيرون بتقنية الايلازا وذلك باستعمال العدة التشخيصية (kit) من شركة Human الألمانية (16) فيقسم المختبرات والبحوث/دائرة البيطرة/ وزارة الزراعة.

## التحليل الإحصائي

تم تحليل النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS الإصدار 20 واستخدم تحليل التباين باستخدام (fisher test) (5) و عُدت قيم P المساوية او اصغر من 0.05 ( $P \leq 0.05$ ) ذات معنوية إحصائياً.

## النتائج والمناقشة

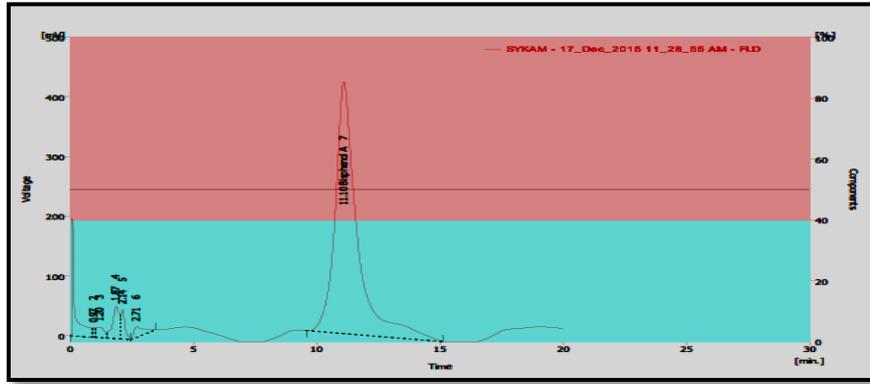
هدفت الدراسة الى معرفة التأثير المرضي الناتج من تعرض المياه المعبأة في قناني الماء البلاستيكية لحرارة الشمس التي تؤدي الى تحرير مواد كيميائية (Bisphenol A) التي تُعدُّ أستروجينات خارجية باستخدام الفحوص النسيجية المرضية والهرمون. أُجري تحليل مركبات الماء الذي تم تعريضه الى أشعة الشمس لمدة ثلاثة أشهر (حزيران، تموز وآب) باستخدام تقنية الكروماتوغراف السائل ذو الضغط الفائق (HPLC)، إذ أظهرت نتائج التحليل ان زمن الإحتجاز (retention time) لمركب BPA هو 11.416 دقيقة بمساحة 11896.458 (mv.s) كما مبين في شكل: 1، وجدول (3).



جدول 1 : نتائج تحليل الماء المعرض لأشعة الشمس باستخدام تقنية الكروماتوغراف السائل ذو الضغط الفائق

	Reten.time (min)	Area (mv.s)
1	0.120	1387.602
2	1.109	1269.066
3	1.277	739.979
4	2.109	2692.198
5	2.944	1733.218
6	4.259	12846.732
7	11.416	18896.548
8	13.128	6287.563
9	13.587	8233.881

وقد تم أيضاً استخدام تقنية الكروماتوغراف السائل ذو الضغط الفائق (HPLC) لتحليل المحلول القياسي لمادة BPA وأظهرت النتائج ان زمن الإحتجاز (retention time) للمحلول القياسي كان 11.104 دقيقة ومساحة 26172.002 mv.s وكما مبين في شكل 2 وجدول 2 .



جدول 3: نتائج قيم هرمون التستستيرون (ml/ng) في الفئران للمجاميع الاربعة مقارنة مع مجموعة السيطرة

Groups	N	Mean	Standard error
Control	11	1.5845	0.03301 ab
ppm 0.0005	11	1.5445	0.03307 a
ppm 0.001	11	1.6073	0.00945 ab
ppm 0.002	11	1.6373	0.00945 b
Ppm 0.3 تركيز الـ BPA في الماء المعرض لاشعة الشمس	11	1.5900	0.01912 ab

a: significant b:significant ab:non-significant

الحروف المتشابهة تشير الى عدم وجود فرق احصائي والحروف المختلفة تشير الى وجود فرق احصائي معنوي على مستوى  $P \leq 0.05$ .

اما قيم هرمون الاستروجين فقد كانت نتائج التحليل الإحصائي وكما مبين في جدول 4:

جدول 4: يبين قيم هرمون الاستروجين (ml/ng)

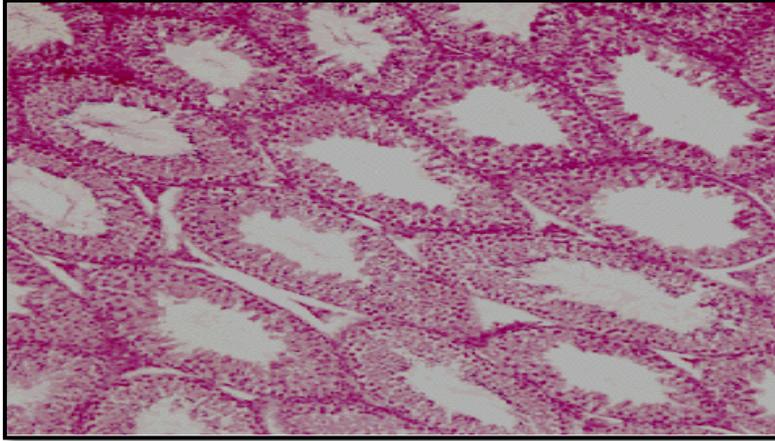
Groups	N	Mean	Standard error
Control	11	1.5509	0.07246
ppm 0.0005	11	1.5391	0.14506
ppm 0.001	11	1.3227	0.18888
ppm 0.002	11	1.6800	0.01221
Ppm 0.3 تركيز الـ BPA في الماء المعرض لاشعة الشمس	11	1.4529	0.15865

يُعدُّ Bisphenol A مادة كيميائية استروجينية خارجية بيئية، إذ إنه يكتسب جذر الهيدروكسيد (OH) داخل الجسم (11) ويرتبط بالـ DNA (2) فالتغيرات التي شوهت في الخصية التي تمثلت بتنخرن في المحفظة واحتقان بالأوعية الدموية وزيادة في عدد الخلايا المولدة للحيامن وتساقطها desquamate في بعض النسيب المنوية ووجود مواد نضحية exudative في النسيج الخلالي مع قلة في عدد خلايا Leydig كما في شكل 4 بالمقارنة مع شكل 3 الذي يمثل النسيج الطبيعي للخصية فقد أكدها Helal وجماعته (6) فيعزى قلة خلايا Leydig التي اقترنت بقلة هرمون التستستيرون بالإضافة الى قابلية خلايا Leydig الى التصنيع الحيوي للاندروجين لذلك يشط الـ BPA انتاج التستستيرون. اما الكبد فهو من الاعضاء التي تُعدُّ هدفاً للملوثات وتُعدُّ التغيير في تركيبه مهماً في تقويم الصحة ويظهر تأثيرات مختلف الملوثات (17). فقد أظهرت نتائج التعرض لمادة BPA تغييرات في عضو الكبد التي تمثلت بتنخرن في جدران الشرايين الكبدية والأقنية الصفراوية الموجودة في الباحة الكبدية وكذلك تنكس استسقائي Hydropic degeneration في نسيج الكبد بصورة عامة وتنخرن مفرد للخلايا الكبدية Apoptosis كما في شكل 6 مقارنة بالشكل 5 الذي يبين النسيج الطبيعي للكبد واحتقان congestion بالأوردة المركزية وتحلل الدم وتكثف جدرانها بالخلايا الإلتهابية (اللمفاوية، العدلة) ericuffing infiltration of inflammatory cells (lymphocyte neutrophil), وأيضاً تنخرن في الخلايا الكبدية المحيطة بالأوردة كما في شكلي 7, 8 وهذه التغييرات تتوافق مع ما وجدته Daniela-Saveta وجماعته (4)، فيعزى هذه التغييرات الى المتأيضات (Isopropyl-hydroxyphenol) الناتجة من تكسر الـ BPA التي تكون سامة خلويًا (10). اما التغييرات التي لوحظت بؤر في نسيج الدماغ بؤر لتجمع خلايا إلتهاية مع وجود وذمة odema وتنخرن مفرد للخلايا العصبية single cell necrosis كما في شكل 10 التي تعود الى التأثير السمي في BPA مقارنة مع شكل 9 الذي يبين النسيج الطبيعي للدماغ. فيما يخص التغييرات التي لوحظت في الكلية فقد تمثلت بتنخرن وانكماش في بعض الكبيبات الكلوية و ارتشاح النسيج الخلالي ما بين النسيب بالخلايا الإلتهاية المزمنة كما في شكل 12 بالإضافة الى حدوث تنكس استسقائي hydropic degeneration في الخلايا المبطنة للنيبات الكلوية وتوسع واحتقان في الأوعية الدموية مقارنة مع شكل 11 الذي يبين النسيج الطبيعي للكلية وهذا التغيير ناتج من تجمع الـ BPA ونواتج ايضه السامة وعدم قدرة الكلية على التخلص منه (21) وكذلك التغييرات في عضلة القلب التي تمثلت باحتقان في الأوعية الدموية المغذية لعضلة البطين و وجود نزف ما بين الياف العضلة القلبية وارتشاح خلايا التهاية بين ألياف العضلة القلبية كما في شكل 14 مقارنة مع شكل 13 الذي يبين

النسيج الطبيعي لعضلة القلب، وهذا يعود الى تأثير مادة BPA في القلب، إذ أكدت العديد من الدراسات ان هنالك إرتباط بين إرتفاع مستويات حامض اليوريك الناتج من التأثير السمي في متأبضات المBPA وبين أمراض القلب والأوعية الدموية (7). يستدل من هذه الدراسة وجود تغييرات مرضية في أعضاء الجسم وبالأخص مجموعة الحيوانات المختبرية التي جرعت بماء الفناي البلاستيكية المعرضة لاشعة الشمس التي يمكن ان يكون لمادة BPA المتحررة من جدران هذه الفناي تأثيراً في الصحة العامة. لذلك يستحسن عدم شراء فناي الماء البلاستيكية من الاماكن التجارية ذات الخزن السيء لتلافي التعرض لمادة BPA.

جدول 5: نتائج التحليل والتشخيص المرضي النسجي لنماذج أنسجة الفئران المجرعة بالماء المتعرض لأشعة الشمس مقارنة بالسيطرة الموجبة والسالبة

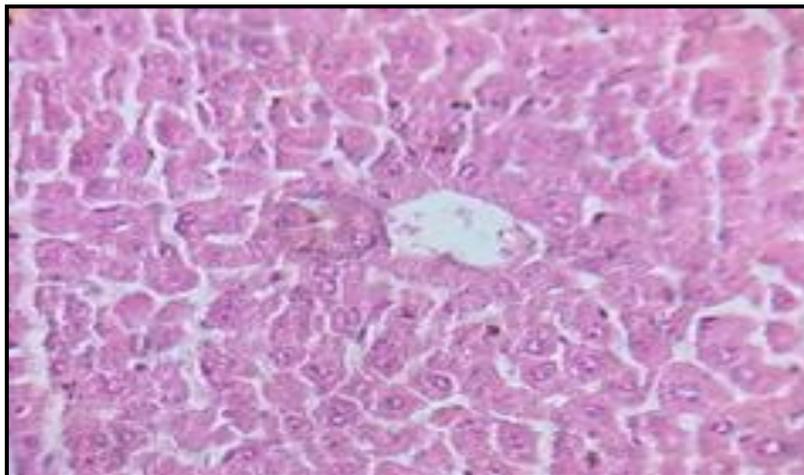
6 اشهر					
الاعضاء التناسلية	الدماغ	القلب	الكلى	الكبد	التركيز (جزء بالمليون)
لا توجد تغييرات مرضية	لا توجد تغييرات مرضية	لا توجد تغييرات مرضية	لا توجد تغييرات مرضية	لا توجد تغييرات مرضية	مجموعة السيطرة المجموعة الاولى
لا توجد تغييرات مرضية تذكر	وجود وذمة Odema حول الخلايا العصبية	احتقان الاوعية الدموية في عضلة البطن وتكثف جدرانها بالخلايا الانتهائية	نزف في النسيج الخلائي بالإضافة الى إرتشاح خلايا التهابية وتخر في بعض الكبيبات الخلوية وتكس في البيبات الكلوية في المنطقة المحطة للكبيبات الكلوية	تكس استسقامي مع إرتشاح خلايا التهابية مزمنة واحتقان في بعض الأوردة المركزية	0.002 المجموعة الثانية
لا توجد تغييرات مرضية تذكر	بؤر لتجمع خلايا التهابية مع وجود وذمة Odema وتخر مفرد للخلايا العصبية Single cell necrosis	احتقان بالاعية الدموية المغذية لعضلة البطن وتكس في الياف العضلة القلبية	تكس في الخلايا المطبة للبيبات الكلوية وانكماش في بعض الكبيبات الكلوية مع إرتشاح النسيج الخلائي بالخلايا الانتهائية المزمنة Chronic inflammatory cell	تكس استسقامي في الخلايا الكبدية وتوسع واحتقان في الأوردة المركزية وتكثف جدرانها بالخلايا الالتهابية مع تخر مفرد للخلايا الكبدية	0.001 المجموعة الثالثة
لا توجد تغييرات مرضية تذكر	وجود وذمة Odema حول الخلايا العصبية	إرتشاح عضلة القلب بخلايا إنتهائية	نزف في النسيج الخلائي بالإضافة الى إرتشاح خلايا التهابية وتخر في بعض الكبيبات الخلوية وتكس في البيبات الكلوية في المنطقة المحطة للكبيبات الكلوية	تكس استسقامي مع إرتشاح خلايا التهابية مزمنة واحتقان في بعض الأوردة المركزية	0.0005 المجموعة الرابعة
لا توجد تغييرات مرضية	لا توجد تغييرات مرضية	لا توجد تغييرات مرضية	لا توجد تغييرات مرضية	لا توجد تغييرات مرضية	المجموعة الخامسة زيت الزيتون (1µl)
تفتخ في المحفظة واحتقان بالأوعية الدموية وزيادة في عدد الخلايا المولدة للحيامن وتساقطها desquamate في بعض البيبات المنوية وجود مواد نضحية exudative في النسيج الخلائي مع قلة في عدد خلايا leydag	تفجي حول الخلايا العصبية وكذلك احتقان في الاوعية الدموية	احتقان في الاوعية الدموية المغذية لعضلة البطن، وجود نزف ما بين الياف العضلة القلبية وارتشاح خلايا التهابية بين الياف العضلة القلبية	تخر وانكماش في بعض الكبيبات الكلوية وارتنشاح النسيج الخلائي ما بين البيبات بالخلايا الإنتهائية المزمنة بالإضافة الى حدوث تكس استسقامي hydropic degeneration في الخلايا المطبة للبيبات الكلوية، توسع واحتقان في الاعية الدموية وتتخن في جدرانها وتكثفها بالخلايا الإنتهائية lymphocyte المغاوية زيادة في عدد خلايا mesengeal في النسيج الخلائي.	تكس استسقامي في خلايا نسيج الكبد و تكثف جدران الأوردة المركزية بالخلايا الإنتهائية المزمنة وتمدد في الوريد البابي الكبدية واحتقان في بعض الأوردة المركزية، حدوث تغلظ pyknotic في انوية الخلايا الكبدية وجود بؤر تنخرية في نسيج الكبد وحدوث تكاثر proliferation في خلايا جدران القنوات الصفراوية	0.3 تركيز الBPA في الماء المعرض لأشعة الشمس المجموعة السادسة



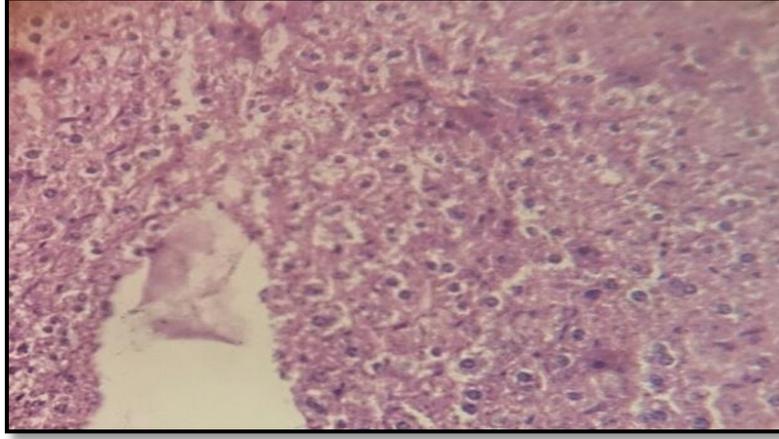
شكل 3: يبين النسيج الطبيعي للخصية قوة 40x



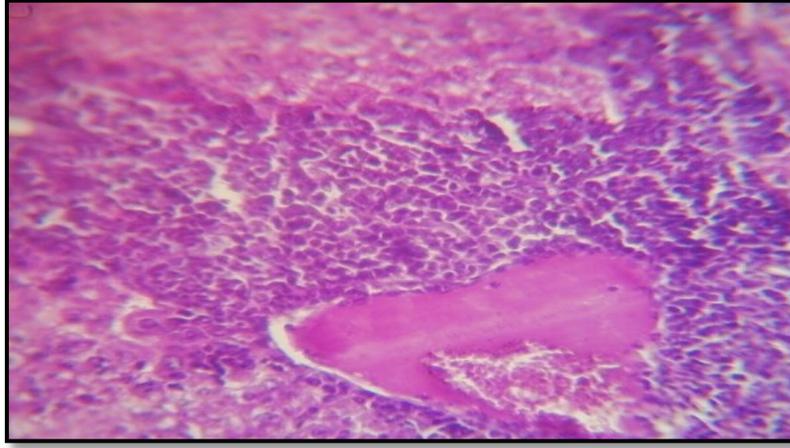
شكل 4: يبين زيادة في عدد الخلايا المولدة للحيامن وتساقطها *desequamat* في بعض لنبيبات المنوية وجود مواد نضحية *exudative* في النسيج الخلالي مع قلة في عدد خلايا *leydig* قوة 40x



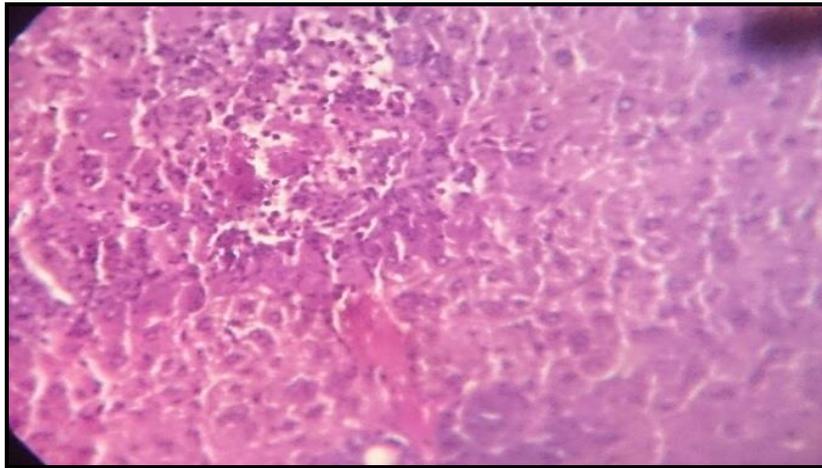
شكل 5: يبين النسيج الطبيعي للكبد قوة التكبير 40x



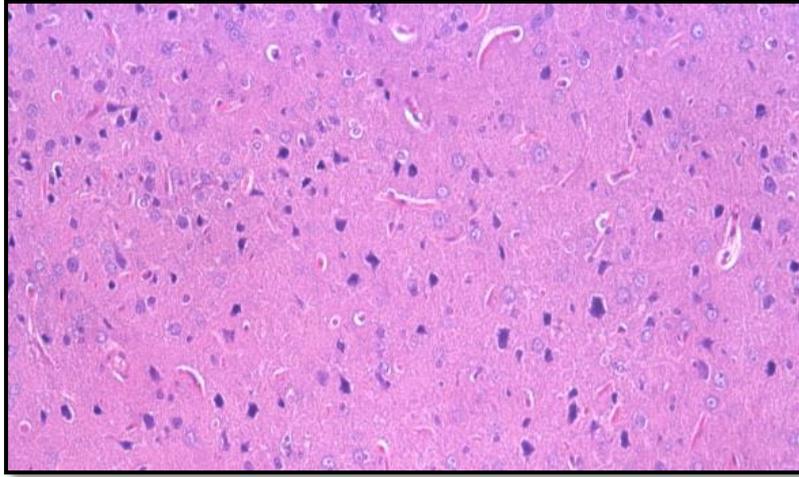
شكل6: يبين تنكس استسقاوي وتنخر في انوية الخلايا الكبدية قوة التكبير 40x



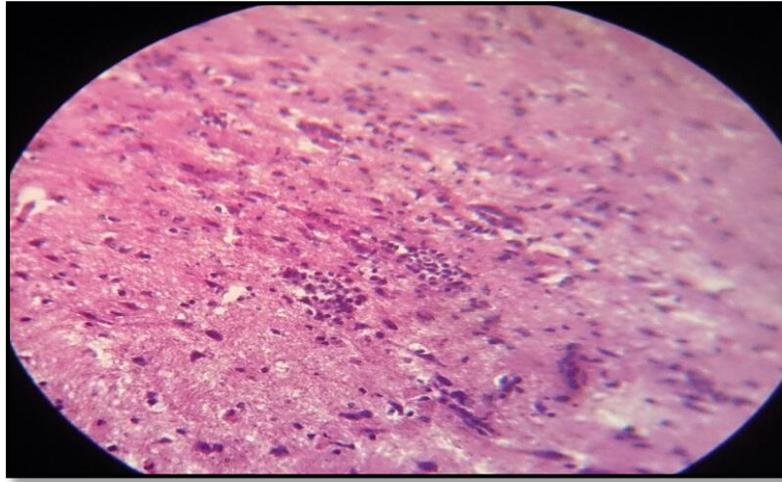
شكل 7: يبين تنخر مع ارتشاح خلايا النهائية مزمنة حول الاوردة و تمدد واحتقان وتحلل للدم في بعض الاوردة المركزية قوة التكبير 40x



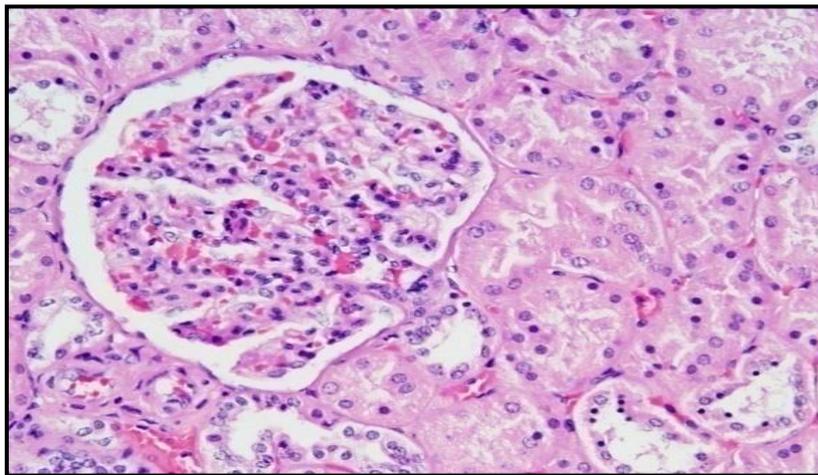
شكل 8: يبين بؤر تنخرية في نسيج الكبد ومحاطة بالخلايا الالتهابية المزمنة قوة تكبير 40x



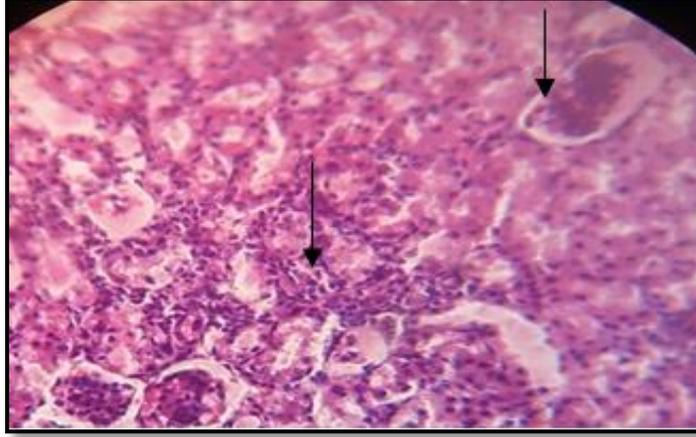
شكل 9 يبين النسيج الطبيعي للدماغ قوة التكبير 40x



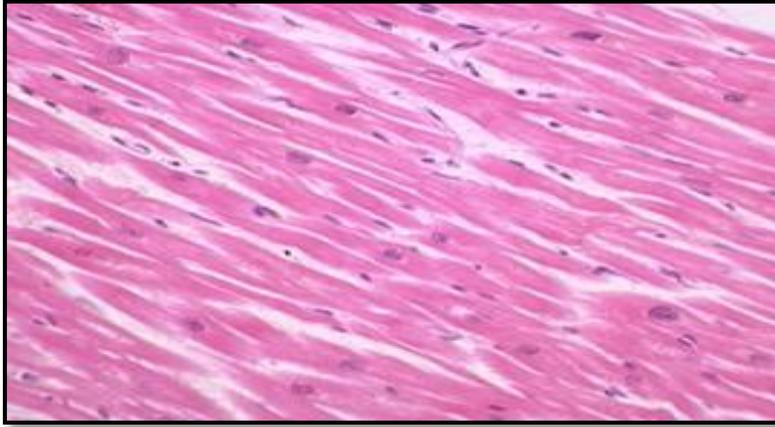
شكل 10: يؤر لتجمع خلايا النهائية مع وجود وذمة odema و تنخر مفرد للخلايا العصبية single cell necrosis قوة 40x



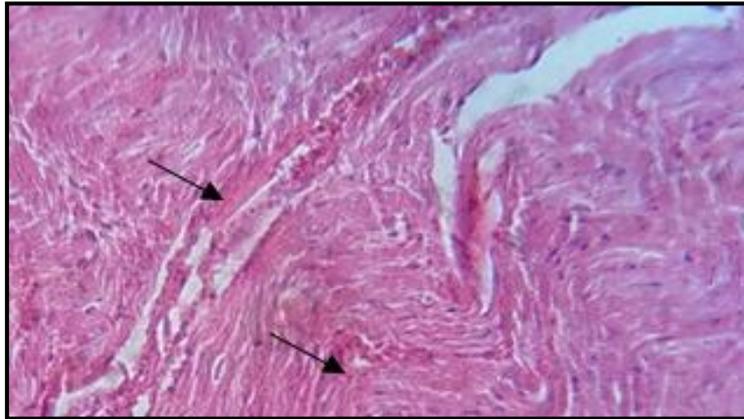
شكل 11: يبين النسيج الطبيعي للكلى قوة التكبير 40x



شكل 12: يبين تنخر و انكماش في بعض الكبيبات الكلوية و ارتشاح النسيج الخلالي ما بين النبيبات بالخلايا الالتهابية المزمنة بالاضافة الى حدوث تنكس استسقاوي **hydropic degeneration** في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية



شكل 13: يبين النسيج الطبيعي لعضلة القلب. قوة التكبير 40x



شكل 14: احتقان في الأوعية الدموية المغذية لعضلة البطين، وجود نزف ما بين الياف العضلة القلبية و ارتشاح خلايا التهابية بين الياف العضلة القلبية

## المصادر

- 1- الشبكة الدولية للسلطات المعنية بالسلامة الغذائية (انفوسان INFOSAN، منظمة الصحة العالمية (WHO) (2009). مادة ثنائي الفينول ألف: وضع المعارف الراهن واعمال منظمة الصحة العالمية ومنظمة الاغذية والزراعة القادمة.
- 2- Atkinson, A. and D. Roy (1995). *In vitro* conversion of environmental estrogenic chemical bisphenol-A to DNA binding metabolite(s). *Biochemical and Biophysical Research Commun*; 210: 424-433
- 3- Chitra, K.C.; K.R. Rao, and P. Mathur (2003). Effect of bisphenol A and co-administration of bisphenol A and vitamin C on epididymis of adult rats: a histopathological and biochemical study. *Asian J. Androl.*; 5: 203-208.
- 4- Daniela-Saveta, P.; P. Bolfa; K. Bela; L. Vlase; R. Paltinean; P. Anca; C. Catoi; G. Cran and F. Loghin (2014). Influence of Genista Tinctoria L or Methylparaben on Subchronic Toxicity of Bisphenol A in Rats. *Biomedical and Environmental Sciences*, 27: 85-96.
- 5- Duncan, D.B. (1955). Multiple range and Multiple F test biometric. 11:1-42.
- 6- Eman G.E.Helal; M.M. Mohamed Badawi \*\*; G.Maha Soliman \*; A. Nadia Abdel-Kawi \*; A. E. Hewaida Fadel \*\*\*; M. G. Nashwa Abozaid \*\*. (2013). . Physiological and Histopathological studies on Bisphenol-A compound as xenoestrogen in male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* , 50:127 – 136.
- 7- Fang, J .and M.H. Alderman (2000). Serum uric acid and cardiovascular mortality. The NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971–1992. *J .Am. Med. Assoc.*, 283: 2404-2410.
- 8- Fisher, J.W.; N.C. Twaddle; M. Vanlandingham and D.R. Doerge (2011). Pharmacokinetic modeling: prediction and evaluation of route dependent dosimetry of bisphenol A in monkeys with extrapolation to humans. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 257: 122-136.
- 9- Huang, H. and L.K. Leung (2009). "Bisphenol a downregulates CYP19 transcription in JEG-3 cells". *Toxicology Letters*, 189 (3):248-252.
- 10- Jaeg J.P.; E. Perdu and D.L. Dolol (2004). Characterization of new Bisphenol-A metabolites produced by CDI mice liver microsome and 59 fractions. *American Chemical Society*, 15: 2638-2645.
- 11- Knaak, J. B. and, L. J. Sullivan (1966) Metabolism of bisphenol A in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 8:175-184.
- 12- Kabuto, H.; M. Amakawa and T. Shishibori (2004). Exposure to bisphenol A during embryonic/ fetal life and infancy increases oxidative injury and causes underdevelopment of the brain and testis in mice. *Life Sci.*; 74: 2931-2940.
- 13- Lang, I.A.; T.S. Galloway; A. Scarlett; W.E. Henley; M. Depledge; R.B. Wallace, and D. Melzer (2008). Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA.*, 300 :1303-1313.

- 14- Li, M.W.; D.D. Murk; W.M. Lee and C.Y. Cheng (2009). "Disruption of the blood-testis barrier integrity by bisphenola in vitro: Is this a suitable model for studying blood-testis barrier dynamics?". *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 41 (11): 2302-14.
- 15- Luna, L.G. (1968) . *Manual of histopathological staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology* . 3<sup>rd</sup> ed . U.S.A. McGraw Hill Book.
- 16- Moltz L.; U. Schewartz; R. Sorensen (1984). Ovarian and Adrenal vein steroids in patients with nonneoplastic hyperadogenism selective catheterization findings , fertile, sterile : 42: 69-75.
- 17- Myers, M. S.; L. L., Johnson; O. P. Olson; C. M. Sther; B. H. Horness; T. K. Collier and B.B. McCain(1998). Toxicopathic hepatic lesions as biomarkers of chemical contaminant exposure and effects in marine bottom fish species from the Northeast Pacific Coast. USA. *Marine Pollution Bulletin*, 37: 92-113.
- 18- Nakagawa, Y. and S. Tayam (2000). Metabolism and cytotoxicity of bisphenol A and other bisphenols in isolated rat hepatocytes. *Arch. Toxicol*, 74: 99-105.
- 19- Oehlmann, J.; U. Schulte-Oehlmann; W. Kloas; O. Jagnytsch; I. Lutz; K.O. Kusk; L. Wollenberger; E.M. Santos; G.C. Paull; K.J. Van Look and C.R. Tyler, (2009). A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 364: 2047-2062.
- 20- Pottenger, L.H.; J. Y. Domoradzki; D.A. Markham; S.C. Hansen; S.Z. Cagen and J.M. Waechter (2000). The relative bioavailability and metabolism of bisphenol A in rats is dependent upon the route of administration. *Toxicol. Sci.*, 54(8): 3-18.
- 21- Sangai, N.P.; R.J. Verma and M.H. Trivedi (2012). Testing the efficacy of quercetin in mitigating bisphenol A toxicity in liver and kidney of mice. *Toxicology and Industrial Health*, pp: 1-17.
- 22- Takahashi, O. and S. Oishi (2001). Testicular toxicity of dietary 2,2-bis(4-hydroxyl phenyl) propane (bisphenol A) in F344 rats. *Arch. Toxicol.* ; 75: 42-51.
- 23- Wetherill Y. B.; B. T. Akingbemi; J. Kanno; J. A. McLachlan; A. Nadal; C. Onnenschein; C. S., Watson; R. T. Zoeller and S. M. Belcher (2007). *In vitro* molecular mechanisms of bisphenol A action. *Reprod. Toxicol.*, 24, 178-198.

