

ผลของการได้รับสัมผัสสาร Bisphenol A ที่ความเข้มข้นต่ำต่อพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์
ในหนูไม่ซ้รุ่นลูก

Effects of Low Dose Exposure to Bisphenol A on Reproductive Development in Mice Offspring

ทิพย์อาภา โสภณ (Tip-arpa Sophon)* ดร.กรรณิการ์ ฉัตรสันติประภา (Dr.Kannikar Chatsantiprapa)**

ดร.จินตนา สัตยาสัย (Dr.Jintana Sattayasai)***

บทคัดย่อ

Bisphenol A (BPA) เป็นสารเคมีที่ใช้ผลิตพลาสติกโดยเฉพาะขวดนมเลี้ยงเด็กทารก ซึ่งออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมน เอสโตรเจนในร่างกาย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลต่อพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ในหนูไม่ซ้รุ่นลูกจากการได้รับสัมผัส BPA ในหนูไม่ซ้รุ่นที่ความเข้มข้นต่ำๆ คือ 0.05 mg/kg bw/day (Tolerable Daily Intake, TDI) และ 0.5 mg/kg/bw /day (10 เท่า TDI) ในขณะที่อยู่ในครรภ์ไปจนถึงระยะโตเต็มวัย (9 สัปดาห์) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งพบความผิดปกติของน้ำหนักรูปร่างที่เพิ่มขึ้นและค่า AGDI (Anogenital distance Index) ที่ลดลง โดยผลทางน้ำหนักรูปร่างจะมีนัยสำคัญที่ขนาด 0.5 mg/kg bw/day (10TDI) เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ส่วนค่า AGD Index จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหนูเพศผู้ที่อายุ 4 สัปดาห์และในหนูเพศเมียที่อายุ 9 สัปดาห์ ซึ่งอาจเกิดจากฤทธิ์แบบฮอร์โมน estrogen ของ BPA ที่ทำให้เกิดการกักน้ำทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นและกดการเจริญของ AGD และยังคงพบแนวโน้มการเพิ่มสัดส่วนลูกหนูเพศผู้ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาทางด้านกลไกต่อไป

ABSTRACT

Bisphenol A (BPA) is a chemical monomer in production of plastic for baby feeding bottles and has been considered a weak estrogen. This study was aimed to assess the effects of low dose BPA in mice offspring that were exposed to BPA during perinatal period through adulthood (9 weeks) at 0.05 mg/kg bw/day (Tolerable Daily Intake, TDI) and 0.5 mg/kg/bw /day (10 TDI) compared with control. The body weights on 4 weeks of male and female mice were significantly increased and AGDI (Anogenital distance index) were significantly decreased on 4 weeks of male mice and on 9 weeks of female mice when compared with control. These results may be due to the water retention effect of estrogenic property and suppression of AGD development of BPA. The trend of receiving male pups was also found. The mechanisms of actions require further study to support.

คำสำคัญ: บีพีเอ บิสฟีนอลเอ

Key Words: BPA, Bisphenol A

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเภสัชเวชและพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

Bisphenol A (BPA) เป็นสารเคมีประเภทโมโนเมอร์ที่ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตพลาสติกชนิดแข็งที่เรียกว่า polycarbonated (PC) ในผลิตภัณฑ์ขวดนมเด็ก แผ่นซีดี วัสดุอุดฟัน สิ่งเคลือบอยู่ภายในกระป๋องบรรจุอาหาร ขวดน้ำดื่ม เป็นต้น ซึ่งเมื่อโดนความร้อน จะทำให้สาร BPA หลุดและละลายปะปนออกมาและเกิดการรับเอาสาร BPA เข้าสู่ร่างกายได้ (Chatsantiprapa et al., 2013) ซึ่งสาร BPA จะออกฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมน estrogen ในร่างกาย (WHO, 2010) ในปีค.ศ. 2006 สหภาพยุโรป (EFSA) ได้ประเมินความปลอดภัยของสาร BPA และกำหนดปริมาณที่ยอมรับให้บริโภคสูงสุดต่อวันโดยที่ไม่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพ (Tolerable Daily Intake, TDI) คือ 0.05 mg/kg BW/day และยืนยันการใช้ค่า TDI = 0.05 mg/kg BW/day จนถึงปัจจุบัน (EFSA Journal, 2011) อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาถึงผลเสียของการได้รับสารนี้เข้าสู่ร่างกายว่าอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพเกี่ยวกับพัฒนาการทางร่างกายและระบบสืบพันธุ์และลดความสามารถในการสืบพันธุ์ในอนาคต (U.S. FDA, 2012) ส่วนในมนุษย์กลุ่มที่พ่อแม่ได้รับสัมผัสสาร BPA ปริมาณมากในขณะตั้งครรภ์ ลูกชายจะพบค่า Anogenital distance (AGD) ที่สั้นลง เนื่องจากสาร BPA ไปรบกวนการทำงานของฮอร์โมน testosterone ในระหว่างการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ และการที่ AGD สั้นลงในเด็กผู้ชายอาจส่งผลกระทบต่อภาวะเจริญพันธุ์ในอนาคต (Miao et al., 2011)

ถึงแม้ว่าในบางประเทศจะมีการเข้มงวดเรื่องการใช้สาร BPA มากขึ้น แต่การจำกัดการใช้สารชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆยังไม่ครอบคลุม อีกทั้งยังมีการหมุนเวียนใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีสาร BPA เป็นส่วนประกอบอยู่ทั่วไป รวมทั้งในประเทศไทยที่ประชาชนนิยมใช้ผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้ แม้จะมีการตื่นตัวต่อผลกระทบอยู่บ้าง แต่ยังไม่มีการห้ามจำหน่ายหรือผลิตภาชนะที่มีส่วนผสมของสารนี้อย่างเป็นทางการ ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาผลของสาร BPA ต่อพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ที่ผ่าน

มายังมีข้อมูลไม่ชัดเจนพอ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงออกแบบเพื่อศึกษาผลของการรับสัมผัสสาร BPA ในหนูรุ่นแม่และรุ่นลูกที่มีต่อพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ของหนูรุ่นลูก เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาอันตรายที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของแม่และเด็ก

วัตถุประสงค์การวิจัย

ประเมินผลต่อพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ในหนูไม่ซ้รุ่นลูกที่แม่ได้รับสัมผัสสาร BPA ความเข้มข้น 0.05 mg/kg BW/day (Tolerable Daily Intake, TDI) และ 0.5 mg/kg BW/day (10 เท่า TDI) ในขณะตั้งครรภ์และลูกได้รับสัมผัสสาร BPA ในขนาดเดียวกันหลังหย่านมไปจนถึงระยะโตเต็มวัย (9 สัปดาห์) โดยเปรียบเทียบกับหนูไม่ซ้กลุ่มควบคุม

วิธีการวิจัย

1. สารเคมี

สาร BPA บริสุทธิ์ 99.9 % (lot. MKBH6262V), ฮอร์โมน estradiol benzoate 98 % (lot. 125K1029), และฮอร์โมน progesterone 99 % (lot. 096K1209) ทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Sigma-Aldrich สหรัฐอเมริกา

การเตรียมสารละลาย BPA เพื่อป้อนหนู โดยการละลาย BPA 0.0015 g และ 0.015 g ในแอลกอฮอล์ปริมาณน้อยที่สุด (1 ml) ก่อนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 ml แล้วนำไปป้อนให้สัตว์ทดลองโดยใช้ท่อป้อน (feeding tube) ที่ทำจากเหล็กสแตนเลส ให้สัตว์ทดลองได้สารละลาย BPA ในขนาด 0.05 mg/kg BW/day (กลุ่ม BPA-TDI) และขนาด 0.5 mg/kg BW/day (กลุ่ม BPA-10TDI) ตามลำดับ

2. สัตว์ทดลอง

หนูไม่ซ้สายพันธุ์ ICR อายุ 5 สัปดาห์ จำนวน 25 ตัว (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 20 ตัว) จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อ.ศาลายา จ. นครปฐม เลี้ยงและดูแลภายในศูนย์สัตว์ทดลองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้ทำการ

พัสดุทดลองเพื่อให้หนูปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนเริ่มการทดลอง มีการควบคุมสภาพแวดล้อมภายในห้องเลี้ยงให้เป็นไปตามมาตรฐานที่อุณหภูมิ 23 ± 2 °C, ความชื้นสัมพัทธ์ 30-60%RH, ความเข้มแสงภายในห้องเลี้ยง 350-400 Lux, การระบายอากาศ 10-15 รอบต่อชั่วโมง, มีแสงสว่าง 12 ชั่วโมง (06.00-18.00 น.) มีด 12 ชั่วโมง (18.00-06.00 น.) ควบคุมเสียงไม่เกิน 85 เดซิเบล ให้อาหารและน้ำอย่างเพียงพอตลอดเวลา การศึกษาในสัตว์ทดลองอยู่ภายใต้การกำกับดูแลของสัตวแพทย์ประจำศูนย์ฯ และเป็นไปตามข้อเสนอที่ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยบรรณและมาตรฐานการเลี้ยงและใช้เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (AEKKU 08/2556)

3. การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำหนูเพศเมียมาเหนี่ยวนำให้อยู่ในระยะเป็นสัด (induce estrus phase) (Sattayasai et al., 2010) โดยทำการฉีด 10 µg estradiol /mouse ปริมาตร 0.15 ml. เข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous) ก่อนเริ่มผสมพันธุ์ 48 ชั่วโมง แล้วจึงฉีด 500 µg progesterone/mouse ปริมาตร 0.15 ml. เข้าใต้ผิวหนังก่อนเริ่มผสมพันธุ์ 4 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาจับคู่กับหนูเพศผู้ทีละตัว สังเกตพฤติกรรมของหนู เฉพาะหนูเพศเมียที่ยอมให้เข้าใกล้และผสมพันธุ์จึงจะสามารถใช้ได้ หากหนูเพศเมียตัวไหนที่ไม่ยอมให้หนูเพศผู้เข้าใกล้และผสมพันธุ์ให้นำออกจากทดลอง หลังการจับคู่ผสมพันธุ์จึงแยกตัวเมียกรงละตัว วันรุ่งขึ้นให้ตรวจดู vaginal plug ที่พื้นกรง ถ้าเห็น vaginal plug แสดงว่าการผสมพันธุ์สำเร็จ ให้นับเป็นวันที่ 1 ของการตั้งครรภ์ (Embryonic day; E0) หากไม่เห็นจึงนำไปผสมพันธุ์ใหม่

4. การแบ่งกลุ่มการทดลองและการทดลอง

หนูเพศเมียที่ได้รับการผสมพันธุ์จะถูกแยกออกเพื่อเลี้ยงดูในกรงเดี่ยว โดยกลุ่มแบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง (F0, กลุ่มละ 6-7 ตัว) ดังนี้

1) กลุ่มควบคุม (Control group) แม่หนูได้รับน้ำกลั่นทุกวันนับจากวันที่ 1 ของการตั้งครรภ์ (E0) ไปจนถึงวันที่ลูกหนูหย่านมในสัปดาห์ที่ 4

2) กลุ่มทดลอง BPA-TDI แม่หนูได้รับสาร BPA ขนาด 0.05 mg/kg BW/day ป้อนทางปากทุกวัน นับจากวันที่ 1 ของการตั้งครรภ์ (E0) ไปจนถึงวันที่ลูกหนูหย่านมในสัปดาห์ที่ 4

3) กลุ่มทดลอง BPA-10TDI แม่หนูได้รับสาร BPA ขนาด 0.5 mg/kg BW/day ป้อนทางปากทุกวัน นับจากวันที่ 1 ของการตั้งครรภ์ (E0) ไปจนถึงวันที่ลูกหนูหย่านมในสัปดาห์ที่ 4

ลูกหนูทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง (F1) หลังหย่านมเมื่ออายุได้ 4 สัปดาห์ (P4W) จะถูกสุ่มมากลุ่มละ 24 ตัว (เพศผู้ 12 ตัวและเพศเมีย 12 ตัว-ตามผลการคำนวณขนาดตัวอย่าง) โดยแยกลูกหนูเพศผู้ออกจากลูกหนูเพศเมีย จำนวน 6 ตัว/กรง เก็บข้อมูลตามที่กำหนด แล้วป้อนน้ำกลั่นหรือสาร BPA-TDI, BPA-10TDI โดยตรงที่ลูกหนู (ตามกลุ่มเดิมของแม่) ต่อไป จนลูกหนูโตเต็มวัยเมื่ออายุได้ 9 สัปดาห์ (P9W) เก็บข้อมูลตามที่กำหนดอีกครั้ง ซึ่งข้อมูลต่างๆ ที่เก็บ ได้แก่ น้ำหนักตัวของลูกหนู, รูปร่างลักษณะและการเจริญเติบโตทั่วไปที่เห็นจากภายนอก, ค่า AGDI (Anogenital distance index คือระยะห่างระหว่างทวารหนักกับอวัยวะเพศต่อน้ำหนักตัว (โดยวัดระยะจากจุดกึ่งกลางของทวารหนักไปจนถึงกึ่งกลางของอวัยวะเพศในหนูไมซ์เพศผู้และเพศเมีย) และข้อมูลอื่นๆ จากนั้นนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ

5. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มโดย one - way ANOVA, ใช้สถิติ Fisher's LSD กรณี equal variance และ Tamhane test กรณี non-equal variance ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ด้วยโปรแกรม SPSS Statistics 17.0

ผลการวิจัย

จากการศึกษาในหนูรุ่นแม่ (F0) ที่ได้รับสาร BPA ที่ความเข้มข้น 0.05 (BPA-TDI) และ 0.5 mg/kg BW/day (BPA-10TDI) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของน้ำหนักตัวแม่ทั้ง 3 ช่วงการศึกษา ได้แก่ ช่วงก่อนตั้งครรภ์ (อายุ 6

สัปดาห์) ช่วงระหว่างตั้งครรภ์ (ตั้งครรภ์ได้ 9 วัน) และช่วงหลังตั้งครรภ์ (หลังคลอด) รวมทั้งเปอร์เซ็นต์การตายของลูกและระยะเวลาตั้งครรภ์ แต่พบว่าสัดส่วนเพศผู้ของลูกหนู (F1) ที่ได้ มีจำนวนลดลงตามความเข้มข้นของสาร BPA ที่ได้รับ แต่ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 1)

เมื่อศึกษาหนูรุ่นลูก (F1) ที่อายุ 4 สัปดาห์ (ระยะหย่านม, P4W) พบว่าน้ำหนักตัวของลูกหนูเพศเมียกลุ่ม BPA-TDI ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่ลูกหนูเพศเมียกลุ่ม BPA-10TDI แตกต่างจากกลุ่มควบคุมโดยมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p=0.001$ (Fisher's LSD) และลูกหนูเพศเมียกลุ่ม BPA-10TDI นี้ยังมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่ม BPA-TDI อย่างมีนัยสำคัญที่ $p=0.002$ (Fisher's LSD) ส่วนในลูกหนูเพศผู้ น้ำหนักตัวกลุ่ม BPA-TDI ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่น้ำหนักตัวกลุ่ม BPA-10TDI เพิ่มขึ้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p=0.041$ (Tamhane) (รูปที่ 1)

เมื่อวิเคราะห์น้ำหนักตัวที่อายุ 9 สัปดาห์ พบว่าลูกหนูเพศเมียกลุ่ม BPA-10TDI มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่ม BPA-TDI และกลุ่มควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 2)

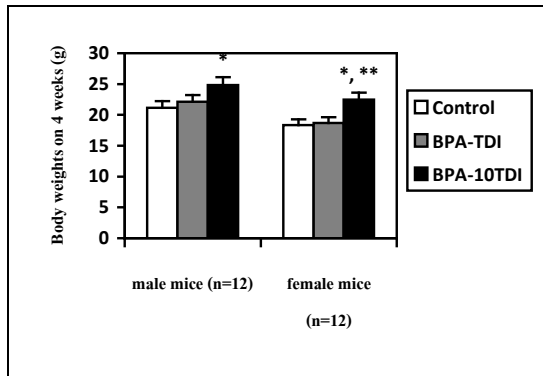
ส่วนค่า AGDI ของลูกหนูเมื่ออายุ 4 สัปดาห์พบว่าลูกหนูเพศเมียทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในลูกหนูเพศผู้พบว่า กลุ่ม BPA-TDI มีค่า AGDI ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่ $p=0.031$ (Fisher's LSD) และกลุ่ม BPA-10TDI มีค่า AGDI ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม BPA-TDI ที่ $p=0.022$ (Fisher's LSD) (รูปที่ 3)

เมื่อศึกษาหนูรุ่นลูก (F1) ที่อายุ 9 สัปดาห์ (โตเต็มวัย, P9W) ค่า AGDI (Anogenital distance index) ของลูกหนูเพศเมียพบว่า AGDI ลดลงตามลำดับเมื่อความเข้มข้นของ BPA เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม BPA-TDI กับกลุ่มควบคุมจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่กลุ่ม BPA-10TDI จะมีค่า AGDI ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่ $p=0.011$ (Fisher's LSD) และลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม BPA-TDI ที่ $p=0.031$ (Fisher's LSD) (รูปที่ 4)

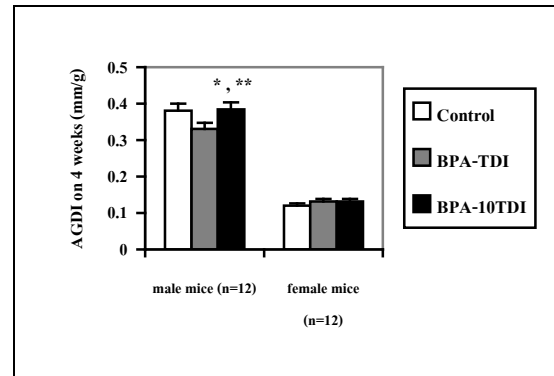
ตารางที่ 1 ผลการศึกษาในหนูรุ่นแม่ (F0) ที่ได้รับสาร BPA ที่ความเข้มข้น TDI และ 10TDI เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Study group	No. of dams	Body weights (g) of dams			Total no. of pups		Percent dead	Pups sex ratio ^a	Time to first delivery (days)
		Prenatal	Perinatal	Postnatal	Dead	Live	pups		
		(6weeks)	(P9day)	(PND)					
Control	4	28.33	33.32	36.95	0	43	0.00	1.427	17.66 ± 0.58
BPA-TDI	6	26.92	31.25	36.35	1	57	1.72	0.786	19.00 ± 1.58
BPA-10TDI	6	27.87	33.18	37.36	1	56	1.75	0.698	18.75 ± 0.50

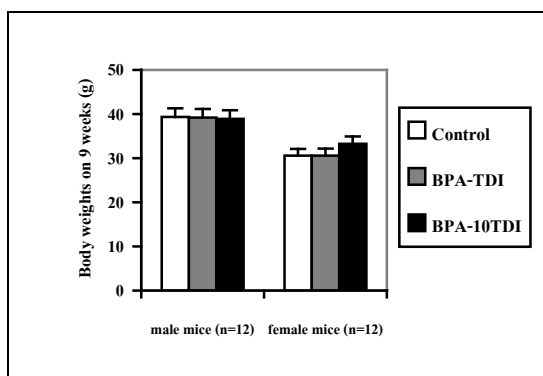
^aRatio of males to females



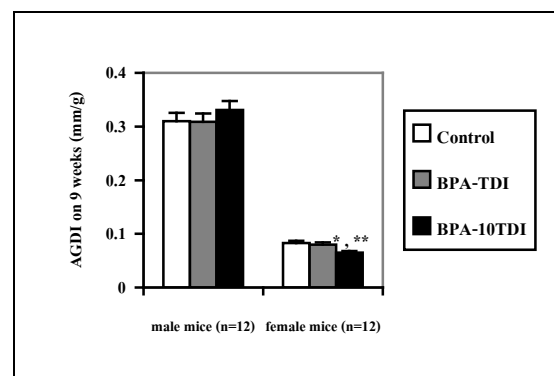
รูปที่ 1 แสดงน้ำหนักตัวของลูกหนูเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่น้ำหนักตัวของลูกหนูเพศผู้กลุ่ม BPA-10TDI และน้ำหนักตัวของลูกหนูเพศเมียกลุ่ม BPA-10TDI (*significant when compared with control, **significant when compared with BPA-TDI)



รูปที่ 3 แสดงค่า AGD Index ของลูกหนูเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในลูกหนูเพศผู้กลุ่ม BPA-10TDI (*significant when compared with control, **significant when compared with BPA-TDI)



รูปที่ 2 แสดงน้ำหนักตัวของลูกหนูเมื่ออายุ 9 สัปดาห์ ไม่พบความแตกต่างทั้งในหนูเพศผู้และเพศเมียทุกกลุ่มการทดลอง



รูปที่ 4 แสดงค่า AGD Index ของลูกหนูเมื่ออายุ 9 สัปดาห์ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในลูกหนูเพศเมียกลุ่ม BPA-10TDI (*significant when compared with control, **significant when compared with BPA-TDI)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

BPA เป็นสารเคมีซึ่งออกฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมน estrogen ในร่างกายซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศหญิง โดยฮอร์โมนเพศเป็นฮอร์โมนที่มีผลต่อการกระตุ้นพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตทั่วไป เมื่อสัตว์ทดลองได้รับสัมผัสสาร BPA ตั้งแต่เริ่มพัฒนาการของตัวอ่อน (อยู่ในครรภ์แม่) อาจทำให้ฮอร์โมนแปลกปลอมจากภายนอกไปรบกวนพัฒนาการปกติของร่างกายโดยเฉพาะเมื่อได้รับตั้งแต่เริ่มปฏิสนธิ ซึ่งการแบ่งตัวและปรับสภาพของเซลล์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงอาจส่งผลต่อพัฒนาการและการเจริญเติบโตในด้านต่างๆ ของตัวอ่อนได้ โดยเฉพาะระบบสืบพันธุ์ การพัฒนาและการเจริญเติบโตของร่างกาย

จากผลการศึกษาครั้งนี้ โดยภาพรวมเมื่อได้รับสาร BPA พบความผิดปกติของน้ำหนักรูปร่างที่เพิ่มขึ้นและค่า AGDI ลดลงในหนูไม่ซ ซึ่งสะท้อนพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์แบบเพศชายลดลง โดยผลทางน้ำหนักรูปร่างจะเห็นชัดในกลุ่ม BPA-10TDI เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ทั้งเพศผู้และเพศเมียที่มีน้ำหนักรูปร่างเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และค่า AGDI จะลดลงจนเห็นชัดในลูกหนูเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับ BPA โดยพบนัยสำคัญทางสถิติในหนูเพศผู้ที่อายุ 4 สัปดาห์ และหนูเพศเมียที่อายุ 9 สัปดาห์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นไปตามสมมุติฐานการวิจัยเนื่องจากสาร BPA เป็น xenoestrogen มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเพศหญิงในร่างกาย คือ estradiol ซึ่งมีฤทธิ์กักน้ำเพิ่มปริมาณน้ำเลือดของร่างกาย (Stachenfeld, 2008) จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ น้ำหนักรูปร่างลูกหนูเพิ่มขึ้นทั้งเพศหญิงและเพศชาย ส่วน AGD นั้น ถูกควบคุมด้วย dihydrotestosterone ซึ่งเป็น metabolite ของ testosterone (Clarke et al., 1990) ซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศชายในร่างกาย ดังนั้นการรับสัมผัสกับสาร BPA ซึ่งมีฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเพศหญิง แปลกปลอมที่ได้รับจากภายนอกร่างกายระหว่างพัฒนาการของตัวอ่อนจึงอาจมีผลด้านฤทธิ์ของฮอร์โมนเพศชาย (antiandrogen) ทำให้เกิดการเจริญของ AGD และทำให้ AGDI ลดลงตามขนาด BPA ที่สูงขึ้น และ

AGD จัดว่าเป็นตัวชี้วัดที่ไว (sensitive marker) ต่อการทำงานของ antiandrogen ระหว่างการเจริญเติบโตของร่างกายจากการศึกษาความเป็นพิษในสัตว์ฟันแทะ ซึ่งโดยปกติในเพศชายจะมีค่าเป็น 2 เท่าของเพศหญิงทั้งในมนุษย์และสัตว์ฟันแทะ (Swan et al., 2005)

ส่วนผลการวิจัยที่พบว่าเมื่อแม่ได้รับสาร BPA ระหว่างตั้งครรภ์ ลูกหนูที่เกิดจะมีแนวโน้มเป็นเพศชายมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ BPA ที่แม่ได้รับแม่จะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นั้น อาจอธิบายได้ว่าเนื่องจากสาร BPA เป็น xenoestrogen และงานวิจัยในสัตว์ฟันแทะและโมเดลสัตว์ทดลองอื่นๆ มีรายงานการศึกษาว่าฮอร์โมน testosterone จากลูกออัณฑะ (testes) จะถูกเปลี่ยนกลับเป็นฮอร์โมน estradiol ได้โดยเอนไซม์ aromatase ระหว่างอยู่ในครรภ์มารดา (De Vries and Simerly, 2002; McEwen and Alves, 1999) จึงอาจเป็นไปได้ที่ BPA จะมีบทบาทต่อการปรับสภาพทางเพศ (sexual differentiation) ตั้งแต่อยู่ในครรภ์มารดาของลูกหนู

การพบการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักรูปร่างและการลดลงของค่า AGD ในหนูไม่ซรุ่นลูกของงานวิจัยนี้ สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Kobayashi et al. (2012) ที่พบว่า AGD มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญในหนูเพศเมียอายุ 5 สัปดาห์ที่ได้รับสาร BPA ความเข้มข้น 3.3 และ 33 ppm/day โดยยังปริมาณ BPA ที่รับสัมผัสสูงขึ้น ค่า AGD ที่พบก็ยิ่งลดลงจากการศึกษาหนูขาว (Sprague-Dawley rat) รุ่นลูกที่แม่ได้รับอาหารที่มีสาร BPA ในระหว่างตั้งครรภ์ได้ 6 วันไปจนถึงวันที่ 21 หลังคลอด และลูกหนูได้รับสาร BPA ในปริมาณเดียวกันนี้ต่อไป หลังจากหย่านม แม้ว่างานวิจัยชิ้นก่อนหน้าของเขา (Kobayashi et al. (2002) ที่ศึกษาผลของสาร BPA ต่อค่า AGD ในหนูขาว (rat) รุ่นลูกที่ได้รับสาร BPA จากแม่ที่ความเข้มข้น 0, 4 และ 40 mg /kg/day เมื่อตั้งครรภ์ได้ 6 วัน ไปจนถึงวันที่ 20 หลังคลอด จะไม่พบความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักรูปร่างและค่า AGD ทั้งในหนูรุ่นลูกเพศผู้และเพศเมียก็ตาม ผลที่แตกต่างของ Kobayashi et al. ทั้ง 2 ครั้งอาจแสดงให้เห็นว่าการที่ลูกยังคงได้รับ

สาร BPA ต่อไประหว่างการเจริญเติบโตมีผลต่อน้ำหนักตัวและค่า AGD มากกว่าการได้รับระหว่างอยู่ในครรภ์เท่านั้น และผลต่อ AGD นี้ยังสอดคล้องกับผลงานวิจัยในมนุษย์โดย Miao et al. (2011) พบว่า เด็กชายในกลุ่มที่พ่อแม่ได้รับสัมผัสสาร BPA ในขณะตั้งครรภ์มาก ลูกชายก็จะพบค่า AGD ที่สั้นลง แสดงว่า BPA ส่งผลต่อพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ เนื่องจากสาร BPA ไปรบกวนการทำงานของฮอร์โมน testosterone ในระหว่างการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ และการที่ AGD สั้นลงในเด็กผู้ชายอาจส่งผลกระทบต่อภาวะการเจริญพันธุ์ในอนาคต และงานวิจัยของ Mendiola et al. (2011) ระบุว่าในมนุษย์ผู้ชายที่มีค่า AGD สั้น คนนั้นยังมีโอกาสเกิดภาวะการเจริญพันธุ์ต่ำ เนื่องจากมีปริมาณของน้ำอสุจิน้อยและมีตัวอสุจิน้อย

ส่วนการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลของสาร BPA ต่อน้ำหนักตัวในสัตว์ทดลอง พบว่าผลการศึกษาสอดคล้องกับหลายงานวิจัยเช่น Cagen et al. (1999) ที่พบว่าเมื่อแม่ได้รับสาร BPA ทางปากตั้งแต่วันที่ 11-17 ของการตั้งครรภ์ มีผลให้น้ำหนักตัวของหนูไมซ์ (CF-1 mice) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉพาะในลูกหนูเพศผู้กลุ่ม BPA ขนาด 0.2 $\mu\text{g/kg/day}$ ที่อายุ 57 วัน, กลุ่ม BPA ขนาด 2 $\mu\text{g/kg/day}$ ที่อายุ 36 วัน และกลุ่ม BPA ขนาด 20 $\mu\text{g/kg/day}$ ที่อายุ 36, 50, 57 และ 64 วัน งานของ Howdeshell et al. (1999) พบว่าในหนูไมซ์ (CF-1 mice) ที่ได้รับสาร BPA ขนาด 2.4 $\mu\text{g/kg/day}$ ระหว่างตั้งครรภ์วันที่ 11-17 เฉพาะลูกหนูเพศเมียหลังหย่านม (อายุ 22 วัน) มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน Rubin et al. (2001) ศึกษาในหนูขาวเพศเมีย (Sprague-Dawley rat) ที่ได้รับน้ำที่มีสาร BPA ขนาด 0.1 และ 1.2 mg/kg/day ตั้งแต่ตั้งครรภ์วันที่ 6 ไปจนถึงระยะให้นม เฉพาะในลูกหนูเพศเมียกลุ่มที่ได้รับสาร BPA ขนาด 0.1 mg/kg/day ที่อายุ 11 วันและ 22 วัน มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ และ Kobayashi et al. (2012) ก็พบว่าเมื่ออายุครบ 3 เดือน เฉพาะหนูขาวเพศผู้กลุ่มที่ได้รับ BPA ขนาด 0.33 ppm/day มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน จึงสรุปได้ว่าการได้รับสาร BPA มีผลเพิ่มน้ำหนักตัวสัตว์ทดลองที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันแม้ขนาดสารและสายพันธุ์สัตว์ทดลองจะแตกต่างกัน

ผลการวิจัยครั้งนี้จึงสนับสนุนข้อสรุปว่าการรับสัมผัสสาร BPA ในหนูไมซ์ตั้งแต่วัยในครรภ์ แม้ในระดับต่ำ (TDI หรือ 0.05 mg/kg BW/day , 10 TDI หรือ 0.5 mg/kg BW/day) ก็อาจมีผลรบกวนพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตอื่นๆ ของร่างกายได้ ทั้งนี้ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม โดยเฉพาะการศึกษาในระดับโมเลกุลเพื่ออธิบายกลไกของความเสี่ยงต่อการเปลี่ยนแปลงในร่างกายที่เป็นผลจากสารเป็นลำดับไป

อย่างไรก็ตาม แม้จะยังไม่สามารถอธิบายถึงกลไกการเกิดผลเหล่านี้ได้อย่างชัดเจน และความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์หนูไมซ์กับมนุษย์ยังไม่มีใครทราบชัด แต่เพื่อความปลอดภัยของมนุษย์ก็สามารถนำผลเหล่านี้มาใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาเพื่อลดความเสี่ยงและอันตรายที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ได้ โดยเฉพาะในหญิงมีครรภ์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ ระดับบัณฑิตศึกษา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย, คณะเภสัชศาสตร์ และ ศูนย์สัตว์ทดลองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่นสำหรับการสนับสนุนสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Cagen, SZ., Waechter, Jr., Dimond, SS., Breslin, WJ., Butala, JH., Jekat, FW., Joiner, RL., Shiotsuka, RN., Veenstra, GE., and Harris, LR. 1999. Normal reproductive organ development in CF-1 mice following prenatal exposure to bisphenol a. *Toxicological Sciences*. 50: 36-44.
- Chatsantiprapa, K., Srihan, S., Navakoksri, R., and Kunthaprom, N. 2013. Risk assessment of Bisphenol A migration from baby feeding bottle. *KKU Res. J.* 18(6): 1021-1025.
- Clark, RL., Antonello, JM., Grossman, SJ., Wise, LD., Anderson, C., Bagdon, WJ., Prahalada, S., MacDonald, JS., and Robertson, RT. 1990. External genitalia abnormalities in male rats exposed in utero to finasteride, a 5 alpha - reductase inhibitor. *Teratology*. 42: 91-100.
- De Vries, GJ., and Simerly, RB. 2002. Anatomy, development, and function of sexually dimorphic neural circuits in the mammalian brain. *Hormones, brain and behavior*. 4: 137-191.
- European Food Safety Authority. 2011. Statement on the ANSES reports on bisphenol A. *EFSA Journal*. 9(12): 2475.
- Howdeshell, KL., Hotchkiss, AK., Thayer, KA., Vandenbergh, JG., and vom Saal, FS. 1999. Exposure to bisphenol a advances puberty. *Nature*. 401: 763-764.
- Kobayashi, K., Miyagawa, M., Wang, RS., Sekiguchi, S., Suda, M., and Honma, T. 2002. Effects of in utero and lactational exposure to bisphenol a on somatic growth and anogenital distance in F1 rat offspring. *Industrial Health*. 40: 375-381.
- Kobayashi, K., Kubota, H., Ohtani, K., Hojo, R., and Miyakawa, M. 2012. Lack of effects for dietary exposure of bisphenol a during in utero and lactational periods on reproductive development in rat offspring. *The Journal of Toxicological Sciences*. 37(3): 565-573.
- McEwan, BS., and Alves, SE. 1999. Estrogen actions in the central nervous system. *Endocr. Rev.* 20: 279-307.
- Mendiola, J., Stahlhut, RW., Jorgensen, N., Liu, F., and Swan, SH. 2011. Shorter anogenital distance predicts poorer semen quality in young men in Rochester, New York. *Environmental Health Perspectives*. 119: 958-963.
- Miao, M., Yuan, W., He, Y., Zhou, Z., Wang, J., Gao, E., Li, G., and Li, DK. 2011. In utero exposure to bisphenol-A and anogenital distance of male offspring. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 91(10): 867-72.
- Rubin, BS., Murray, MK., Damassa, DA., King, JC., and Soto, AM. 2001. Perinatal exposure to low doses of bisphenol a affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. *Environ. Health. Perspect.* 109: 675-680.
- Sattayasai, J., Srisuwan, S., Arkaravichien, T., and Aromdee, C. 2010. Effects of andrographolide on sexual functions, vascular reactivity and serum testosterone level in rodents. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 1934-1938.

Stachenfeld, NS. 2008. Sex hormone effects on body fluid regulation. *Exerc Sport Sci Rev.* 36(3): 152-159.

Swan, SH., Main, KM., Liu, F., Stewart, SL., Kruse, RL., Calafat, AM., Mao, CS., Redmon, JB., Ternand, CL., Sullivan, S., Teague, JL., and the Study for Future Families Research Team. 2005. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environmental Health Perspectives.* 113(8): 1056-1061.

U.S. Food and Drug Administration. 2012. Bisphenol A (BPA): Use in Food Contact Application. January 2010; Updated March 30, 2012. Retrieved January 5, 2013, from <http://www.fda.gov/newsevents/publichealthfocus/ucm064437.htm>

World Health Organization. 2010. Toxicological and health aspects of Bisphenol A. Report of Joint FAO/WHO Expert Meeting, 2-5 November 2010 and report of Stakeholder Meeting on Bisphenol A. Ottawa, Canada.