

اثرات ذرات آزاد شده از یک کامپوزیت دندانی هیبرید بر روی سیستم تولید مثل موش‌های نر

دکتر معصومه حسنی طباطبایی^۱ - دکتر ایوب پهلوان^۲ - دکتر اسماعیل یاسینی^۳ - دکتر منصوره میرزایی^۴ - دکتر سکینه آرامی^۴ - دکتر حمید کرمانشاه^۲ - دکتر حمیدرضا صادقی پور رودسری^۵ - دکتر سید حسین بصیر^۶ - طاهر اکبری سعید^۷ - حامد حسنی^۷

۱- عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی و دانشیار گروه آموزشی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

۲- دانشیار گروه آموزشی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

۳- استاد گروه آموزشی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

۴- استادیار گروه آموزشی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

۵- استاد گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

۶- دندانپزشک، مرکز پژوهش‌های دانشجویان دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

۷- دانشجوی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

Effects of leached components from a hybrid resin composite on the reproductive system of male mice

Masoomeh Hasani Tabatabaie¹, Ayob Pahlavan², Esmail Yasini³, Mansoreh Mirzaie⁴, Sakineh Arami⁴,
Hamid Kermanshah², Hamidreza Sadeghipour Roudsari⁵, Seyed Hossein Bassir^{6†}, Taher Akbari Saeed⁷,
Hamed Hasani⁷

1- Associate Professor, Department of Operative Dentistry/Dental Research Center, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Associate Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

6†- Dentist, Dental Students' Research Center, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (Hosseinbassir@hotmail.com)

7- Student, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Background and Aims: There is concern that leached components from dental composites may cause adverse changes in the reproductive health. This study aimed to assess the effects of leached components from a hybrid resin composite on the reproductive system of male mice.

Materials and Methods: In the present animal study, twenty adult Syrian male mice were divided into two groups of 10 mice each. In the test group, components which leached from samples made from Filtek Z250 resin composite into 75% ethanol were daily administered to the mice for 28 days. In the control group, the procedure was repeated in the same way as the test group but without placing composite samples in the solution. Then, the body weight, weights of paired testes, Gonado Somatic Index, sperm viability, sperm motility, epididymal sperm reserve and daily sperm production were recorded. Four male mice in each group were mated with untreated female mice for 10 days. After that, the number of pregnant females and number of infants were recorded. The data were analyzed using repeated measures ANOVA, Chi-square test and t-test.

Results: There was a significant reduction in the sperm viability and sperm motility of male mice in the test group compared to the control group ($P=0.001$). There was no any significant differences in other parameters between two groups ($P>0.05$).

Conclusion: This study showed that the leached components from resin composites cannot cause infertility but they could potentially cause some adverse effects on the reproductive system of male mice.

Key Words: Composite resin; Fertility; Methacrylates; Mice

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2012;25(3):151-158

چکیده

زمینه و هدف: اخیراً نگرانی‌هایی در مورد اثر ذرات آزاد شونده از کامپوزیت‌ها بر روی سیستم تولید مثل مطرح شده است. هدف این مطالعه تعیین اثر توکسیک یک کامپوزیت دندان‌هیبرید بر روی سیستم تولید مثل موش‌های نر بود.

روش بررسی: در این مطالعه حیوانی، ۲۰ موش نر سوری در ۲ گروه تقسیم شدند. در گروه تست، ذرات آزاد شده از نمونه‌های ساخته شده از کامپوزیت Filtek Z250 به درون محلول اتانول ۷۵٪ به صورت روزانه به مدت ۲۸ روز به موش‌های نر تجویز شدند. در گروه کنترل، از اتانول ۷۵٪ بدون قرار دادن نمونه‌های کامپوزیتی استفاده شد. سپس شاخص‌های تغییرات وزن بدن، وزن بیضه‌ها، تغییرات وزن بیضه‌ها به وزن بدن، حجم بیضه، میزان اسپرم‌های متحرک، میزان اسپرم‌های زنده، میزان ذخیره اپیدیمی اسپرم و تولید روزانه اسپرم در موش‌ها بررسی شدند. ۴ موش نر در هر گروه در تست آمیزش با موش‌های ماده شرکت کردند. سپس تعداد موش‌های حامله، تعداد کل بچه‌ها، تعداد بچه‌های زنده و مرده ثبت شدند. داده‌ها توسط تست‌های آماری Repeated Measure ANOVA، آزمون T و Chi-square Tests آنالیز شدند.

یافته‌ها: میزان اسپرم‌های متحرک و میزان اسپرم‌های زنده در گروه تست به طرز معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش پیدا کردند ($P=0/001$). اختلاف معنی‌داری در سایر شاخص‌ها در بین دو گروه مشاهده نشد ($P>0/05$).

نتیجه‌گیری: ذرات آزاد شده از کامپوزیت مورد استفاده در این مطالعه نمی‌توانند سبب ناباروری موش نر شوند ولی این ذرات به صورت بالقوه می‌توانند سبب ایجاد اختلالاتی در سیستم تولید مثل شوند.

کلید واژه‌ها: باروری؛ رزین کامپوزیت؛ متاکریلات‌ها؛ موش

وصول: ۹۰/۰۷/۳۰ اصلاح نهایی: ۹۱/۰۴/۱۲ تأیید چاپ: ۹۱/۰۴/۱۵

مقدمه

شوند (۹-۶). علاوه بر این روند سریع آزاد شدن مونومرها بعد از پلیمریزاسیون، این مونومرها می‌توانند به صورت آهسته و دایم در طول زمان تحت اثر فاکتورهای شیمیایی، مکانیکی و آنزیمی که موجب تخریب کامپوزیت‌ها می‌شوند، در محیط دهان آزاد شوند (۱۰).

نگرانی‌هایی در زمینه اثر توکسیک مونومرهای مشتق شده از Bisphenol A، در رزین کامپوزیت‌های بر پایه متاکریلات، وجود دارد (۱۱،۱۲). عنوان شده این مونومرها، دارای اثرات شبه استروژنی می‌باشند. این مواد می‌توانند از طریق روده جذب شوند، همچنین از غشاهای سلولی عبور کنند و سبب اثرات زیان‌آوری در بدن گردند (۱۳). استروژن‌های خارجی می‌توانند سبب سرطان‌های پروستات، ریه و بیضه در مردان و سرطان پستان در زنان گردند. علاوه بر این، می‌توانند سبب تغییرات رشدی- تکاملی در کودکان شوند (۱۴). اخیراً مطالعاتی به منظور بررسی اثر این مواد بر روی باروری انجام شده است. در این مطالعات مشاهده شده است که این مواد سبب اختلال در سیستم تولید مثل در موش‌ها شده‌اند (۱۵،۱۶).

با توجه به احتمال بروز اثر توکسیک مونومرهای آزاد شده از کامپوزیت‌های با پایه دی‌متاکریلات بر روی باروری و اختلاف در نتایج به دست در این زمینه، ضرورت مطالعات بیشتر در این زمینه وجود دارد. با توجه به نکات فوق و ضرورت موجود، هدف از انجام این مطالعه

رزین‌های کامپوزیتی در سال ۱۹۶۰ ابتدا به منظور کاربرد در دندان‌های قدامی معرفی شدند. امروزه تقاضای بیمار برای دریافت ترمیمی که ظاهر طبیعی دندان فرد را بازسازی کند، همچنین نگرانی بیماران در مورد آلیاژهای حاوی جیوه سبب افزایش استفاده از ترمیم‌های کامپوزیتی در دندانپزشکی مدرن شده است (۱).

رزین کامپوزیت‌های دندان‌ی به شکل مرسوم از دو جز فیلر و ماتریکس تشکیل شده‌اند، فیلر عمدتاً از جنس سیلیکا و ماتریکس از مونومرهایی از قبیل Bis-GMA که مونومر اصلی در کامپوزیت‌های دندان‌ی می‌باشد و حاصل واکنش Bisphenol A (BPA) و گلیسیدیل متاکریلات می‌باشد- و همچنین مولکول‌های مشابه‌ای از قبیل Urethane Dimethacrylate (UDMA) و TEG-DMA) Triethylene Glycol Dimethacrylate تشکیل شده است. این مونومرها در زمان اختلاط در طی فرآیند پلیمریزاسیون تبدیل به ماتریکس می‌شوند (۲-۴).

کامپوزیت‌های دندان‌ی اگر به صورت کامل پلیمریزه شوند، نسبت به تغییرات شیمیایی مقاوم‌اند. اما این ترکیبات در عمل تنها قادر به تبدیل ۵۵ تا ۶۵ درصد مونومرهای فعال خود به پلیمر می‌باشند (۵). مونومرهای باقی مانده بعد از پلیمریزاسیون می‌توانند از ماتریکس پلیمریزه شده آزاد

آزمایش به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت، لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه درون دستگاه سونیکاتور قرار داده شدند تا محلول‌ها یکنواخت شوند. سپس نمونه از درون لوله‌های آزمایش خارج شده و توسط جریان هوا خشک شدند. محلول‌های باقی مانده که حاوی ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌ها بودند، تحت حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد درون فور تبخیر شدند تا تنها ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌ها باقی بمانند. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر برای هر گروه به ذرات باقی‌مانده اضافه شد. سپس به منظور اطمینان از حل شدن ذرات در آب، محلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه درون دستگاه سونیکاتور قرار گرفته و یکنواخت شدند. در این زمان محلول برای خوراندن به حیوانات آماده بود. نمونه‌های کامپوزیتی خشک شده به منظور آماده کردن محلول‌های روز دوم، دوباره درون ۵ میلی‌لیتر از محلول تازه مربوط به هر گروه قرار گرفتند. سپس درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. مراحل فوق هر روز، تا مدت زمان ۲۸ روز تکرار شدند. در گروه کنترل تمامی مراحل فوق انجام می‌گرفت با این تفاوت که درون محلول اتانول نمونه‌های کامپوزیتی قرار داده نشدند.

موش‌های مورد آزمایش:

قبل از اولین روز تجویز ذرات آزاد شده، موش‌های هر گروه وزن شدند و وزن آنها ثبت شد. روزانه ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول آماده شده هر گروه به هر موش توسط لوله گاوآژ به درون معده موش تزریق می‌شد (شکل ۱). این کار به مدت ۲۸ روز انجام شد. بعد از ۲۸ روز موش‌ها دوباره وزن شدند.



شکل ۱- تجویز ذرات آزاد شده از کامپوزیت دندانی از طریق لوله گاوآژ به موش نر

تعیین اثر توکسیک ذرات آزاد شده از یک نوع کامپوزیت هیبرید با پایه متاکریلات بر روی باروری موش‌های نر بود.

روش بررسی

تحقیق تجربی بر روی موش‌های سوری انجام گرفت.

تهیه و آماده کردن و گروه‌بندی موش‌ها:

۲۰ عدد موش سوری نر حدوداً ۶۰ روزه (که از نظر جنسی بالغ بودند) و ۲۴ عدد موش ماده با وزن تقریبی 31 ± 3 گرم در این مطالعه به کار برده شدند. موش‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند. قبل از شروع آزمایش، موش‌های بالغ به مدت ۱۴ روز در محیط حیوانخانه بخش فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران قرار داده شدند تا با شرایط محیط سازش پیدا کنند. ۲۰ موش نر در ۲ گروه ۱۰ تایی به نحوی تقسیم شدند که میانگین وزنی ۲ گروه تقریباً برابر شود.

نمونه‌های کامپوزیتی:

در این مطالعه کامپوزیت دندانی Filtek Z250 (Shade A3, 3M ESPE, St.Paul, MN, USA) استفاده شد. تعداد ۸۵ عدد دیسک کامپوزیتی با وزن کل $3/99 \pm 0/04$ گرم ساخته شد. برای ساخت نمونه‌های کامپوزیتی، ابتدا مولد فلزی با قطر ۴ میلی‌متر و ارتفاع ۲ میلی‌متر بر روی بلوک شیشه‌ای قرار داده شد و سپس کامپوزیت داخل آن قرار گرفت و اسلاید شیشه‌ای روی نمونه‌ها قرار گرفت، تا از یکنواختی سطح و ضخامت نمونه‌ها اطمینان حاصل شود و حباب‌های هوا حذف گردند. انتهای لایت‌گارد طی پلیمریزاسیون در تماس با اسلاید فوقانی قرار گرفت. به این صورت فاصله منبع نوری و نمونه‌ها با استفاده از اسلاید شیشه‌ای، استاندارد شد. نمونه طبق توصیه شرکت سازنده به مدت ۲۰ ثانیه با استفاده از دستگاه لایت‌کیور Blue phase (Ivoclar Vivadent, Leichtenstein) با شدت 1600 mW/cm^2 کیور شدند. خروجی دستگاه به وسیله رادیومتری که روی خود دستگاه تعبیه شده است، اندازه‌گیری شده و قبل از شروع ساخت نمونه‌ها چک می‌شد.

تهیه محلول روزانه برای تجویز به موش‌ها:

در گروه تست، نمونه‌های کامپوزیتی در ۵ میلی‌لیتر محلول اتانول ۷۵٪ حجمی در یک لوله آزمایش غوطه‌ور شدند. سپس لوله‌های

آزمون Repeated Measure ANOVA با در نظر گرفتن P-Value مرتبط با Repeated Interaction متغیر و Between Subject Factor اندازه‌گیری شده است.

در مورد شاخص‌های وزن بیضه‌ها، بررسی تغییرات نسبی وزن بیضه‌ها به وزن بدن، تغییرات حجم بیضه، درصد تحرک اسپرم‌ها، درصد اسپرم‌های زنده، میزان ذخیره اپیدیدیمی اسپرم، میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه، تعداد کل بچه‌ها، تعداد بچه‌های زنده و تعداد بچه‌های مرده از آزمون تست T استفاده شد و در مورد شاخص تعداد موش‌های ماده حامله از آزمون Chi-square Tests استفاده شد. در تمامی آزمون‌ها $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

شاخص‌های مرتبط با وزن و حجم اندام:

میانگین تغییرات وزن بدن موش‌های نر، میانگین وزن بیضه‌ها، میانگین درصد وزن بیضه‌ها بر وزن کل بدن و میانگین حجم بیضه‌ها در دو گروه تست و کنترل در جدول ۱ آورده شده است. نتایج نشان دادند که اختلاف معنی‌داری در هیچ کدام از این شاخص‌ها در بین دو گروه وجود ندارد ($P > 0.05$).

بعد از ۲۸ روز، ۶ موش نر از هر گروه به منظور آنالیز شاخص‌های تولید مثل کشته شدند. در موش‌های نر کشته شده شاخص‌های زیر بررسی شد:

تغییرات وزن بدن، وزن بیضه‌ها، بررسی تغییرات نسبی وزن بیضه‌ها به وزن بدن، تغییرات حجم بیضه، درصد تحرک اسپرم‌ها، درصد اسپرم‌های زنده، میزان ذخیره اپیدیدیمی اسپرمی و میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه (۱۷،۱۸). موش نر باقی مانده در هر گروه به منظور آمیزش (Mating)، هر کدام با ۳ موش ماده در یک قفس به مدت ۱۰ روز قرار داده شدند. موش‌های نری را که برای آمیزش قرار داده شده بودند بعد از ۱۰ روز از موش‌های ماده جدا شدند. موش‌های ماده هر کدام در یک قفس جداگانه قرار گرفته و روزانه از طریق مشاهده بررسی می‌شدند. بدین صورت تعداد موش‌های ماده حامله مشخص شد. همچنین بعد از وضع حمل موش‌های حامله تعداد کل بچه‌های آنها و همچنین تعداد بچه‌های زنده یا مرده گزارش شدند.

لازم به ذکر است که تمامی مراحل آزمایش بر روی موش‌ها با توجه کامل به منشور اخلاق مطالعات حیوانی دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت گرفت.

آنالیز آماری:

در مطالعه حاضر تغییرات متغیر وابسته پس از مداخله با استفاده از

جدول ۱- مقایسه پارامترهای تولید مثل بررسی شده در این مطالعه بین دو گروه تست و کنترل.

متغیر	گروه تست	گروه کنترل	P value
تغییرات وزن بدن (گرم)	۴/۷۸±۲/۹۰	۸/۲۰±۲/۹۲	۰/۰۶۶
وزن بیضه‌ها (گرم)	۰/۲۳±۲/۰۲	۰/۲۳±۰/۰۳	۰/۹۱۳
نسبت وزن بدن به وزن بیضه‌ها (درصد)	۰/۶۲±۰/۱۰	۰/۵۶±۰/۰۹	۰/۳۲۸
حجم بیضه‌ها (میلی‌لیتر)	۰/۰۸±۲/۱۰	۰/۰۹±۲/۰۲	۰/۳۰۲
تولید روزانه اسپرم توسط بیضه برحسب گرم بیضه (۱۰ ^۶)	۴/۹۲±۰/۴۵	۴/۹۶±۱/۰۸	۰/۹۳۵
ذخیره اپیدیدیمی برحسب گرم اپیدیدیم (۱۰ ^۶)	۳۵۲/۲۸±۱۶/۹۳	۳۵۹/۲۸±۴۵/۵۷	۰/۷۳۲
تحرک اسپرم‌ها (درصد)	۵۳/۱۱±۱۰/۱۹	۷۹/۹۷±۳/۹۷	۰/۰۰۱*
قابلیت زنده ماندن اسپرم‌ها (درصد)	۵۶/۵۵±۶/۸۰	۷۲/۶۶±۴/۵۳	۰/۰۰۱*
تعداد موش‌های ماده حامله	۹	۱۰	۰/۵۰۰
تعداد کل بچه‌ها	۶/۸۳±۴/۱۹	۸/۲۵±۳/۹۱	۰/۴۰۱
تعداد بچه‌های زنده	۵/۳۳±۴/۲۳	۶/۵۰±۴/۰۶	۰/۴۹۸
تعداد بچه‌های مرده	۱/۵۰±۲/۹۴	۱/۷۵±۲/۵۶	۰/۸۲۶

* تفاوت آماری معنی‌دار

شاخص‌های مرتبط با کمیت اسپرم‌ها:

میانگین درصد تولید روزانه اسپرم و میزان ذخیره اپیدیدیمی در دو گروه در جدول ۱ آورده شده است. نتایج نشان دادند که اختلاف معنی‌داری در این دو شاخص در بین گروه تست و کنترل وجود ندارد ($P > 0.05$).

شاخص‌های مرتبط با کیفیت اسپرم‌ها:

میانگین درصد تحرک اسپرم‌ها و درصد اسپرم‌های زنده در دو گروه در جدول ۱ آورده شده است. نتایج نشان دادند که درصد تحرک اسپرم و همچنین درصد اسپرم‌های زنده به طرز معنی‌داری در گروه تست نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کردند ($P = 0.001$).

شاخص‌های مربوط به باروری موش‌های ماده:

میانگین تعداد موش‌های حامله، تعداد کل بچه‌ها، تعداد بچه‌های زنده و تعداد بچه‌های مرده در جدول ۱ آورده شده است. نتایج نشان دادند که اختلاف معنی‌داری در هیچ کدام از شاخص‌های ذکر شده در بین دو گروه تست و کنترل وجود نداشت ($P > 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه با هدف بررسی اثر توکسیک کامپوزیت دندان‌سازی Filtek Z250 بر روی سیستم تولید مثل موش‌های نر صورت گرفت. در این مطالعه، نمونه‌های کامپوزیتی درون محلول اتانول ۷۵٪ قرار داده شدند. ذرات آزاد شده از این دو کامپوزیت روزانه به مدت ۲۸ روز به موش‌های نر خوراندند.

به دلیل اینکه اطلاعات کافی درمورد میزان آزاد شدن ذرات از کامپوزیت‌های دندان‌سازی در دسترس نمی‌باشد، در این مطالعه در هر گروه، از ۴ گرم کامپوزیت دندان‌سازی استفاده شد. با اینکه این میزان کامپوزیت نسبت به وزن موش‌ها دوز بالایی محسوب می‌شود ولی باید توجه کرد که تنها ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های دندان‌سازی به موش‌ها تجویز شدند. علت استفاده از این دوز بالا، متابولیسم بالای بدن موش نسبت به انسان و مهم‌تر از آن بررسی بدترین حالت ممکن و پاسخ به این سوال که "آیا به صورت بالقوه ذرات آزاد شده از کامپوزیت دندان‌سازی می‌توانند هیچ اثری بر سیستم تولید مثل موش‌های نر داشته باشند؟" بود. لازم به ذکر است که ۴ گرم وزن یک تیوب کامپوزیتی می‌باشد و

در مطالعه مشابه نیز از این میزان کامپوزیت استفاده شده است (۱۹). دلیل استفاده از محلول اتانول ۷۵٪ این بود که این محلول آلی، حلال خوبی برای منورهای آلی موجود در ماتریکس کامپوزیت می‌باشد. همچنین این محلول به صورت گسترده در مطالعات بررسی زیست‌سازگاری کامپوزیت‌های دندان‌سازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۰-۲۲).

در این مطالعه، شاخص‌های مورد بررسی در موش‌های نر را به طور کلی می‌توان در سه دسته شاخص‌های مربوط به حجم و وزن بافت‌ها، شاخص‌های مربوط به کمیت اسپرم‌ها و همچنین شاخص‌های مربوط به کیفیت اسپرم‌ها طبقه‌بندی کرد.

شاخص‌های مورد بررسی مربوط به حجم و وزن بافت‌ها عبارت بودند از: تغییرات وزن بدن، وزن بیضه‌ها، نسبت وزن بیضه‌ها به کل وزن بدن و حجم بیضه‌ها. نتایج این مطالعه نشان داد که در هیچ کدام از گروه‌های تست در مقایسه با گروه کنترل مربوطه، تغییرات معنی‌داری در این شاخص‌ها مشاهده نشد. این نتایج نشان می‌دهند که ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های دندان‌سازی سبب هایپرپلازی و یا آتروفی در بیضه‌ها و همچنین تغییر در الگوی تغذیه موش‌های مورد مطالعه نشده‌اند. با توجه به اینکه تغییر در وزن و حجم ارگان‌های جنسی و وزن بدن به صورت مستقیم تحت تاثیر هورمون‌ها می‌باشد، می‌توان نتیجه گرفت که ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های دندان‌سازی در مقدار استفاده شده در این مطالعه، اختلال هورمونی که بتواند بر وزن بدن و وزن و حجم بیضه اثر بگذارد ایجاد نکرده‌اند. نتایج این مطالعه هم راستا با مطالعه Al-Hiyasat و Darmani در سال ۲۰۰۶ می‌باشد که نشان دادند تجویز Bis-GMA در مقادیر ۲۵ و $100 \mu\text{g/kg}$ به مدت ۲۸ روز بر روی وزن بیضه‌های موش‌ها اثری نداشت (۲۳).

شاخص‌های مربوط به کمیت اسپرم‌ها که در این مطالعه بررسی شدند عبارت بودند از ذخیره اسپرمی اپیدیدیم و همچنین تولید روزانه اسپرم. نتایج حاصل از این مطالعه در موش‌های بررسی شده بعد از ۲۸ روز تجویز دارو، نشان دادند که در هیچ‌کدام از گروه‌ها اختلاف معنی‌داری در این دو شاخص در مقایسه با گروه کنترل مربوطه، وجود ندارد. با توجه به اینکه دو شاخص ذخیره اسپرمی اپیدیدیم و همچنین تولید روزانه اسپرم تحت تاثیر میزان اسپرم تولید شده توسط بیضه‌ها می‌باشند، نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که ذرات آزاد شده از کامپوزیت دندان‌سازی Z250 بر بیضه‌ها اثر نگذاشته‌اند. همچنین در این

کاهش سطح گلوکاتینون داخل سلولی شود. با توجه به اینکه گلوکاتینون یکی از سیستم‌های اصلی واکنش‌های اکسیداسیون- احیا می‌باشد که در ترمیم مولکول‌های آسیب دیده و اکسیده نقش دارد، کاهش این ماده سبب افزایش میزان آپاپتوزیس حتی تا ۵۰٪ می‌شود (۲۵). همچنین گلوکاتینون پراکسیداز یکی از آنزیم‌های اصلی‌ای می‌باشد که سبب کاهش Reactive Oxygen Species (ROS) در سلول‌های سیستم تولید مثل نر می‌شود (۲۶). بنابراین کمبود گلوکاتینون داخل سلولی سبب افزایش میزان ROS در سلول‌های دستگاه تولید مثل نر می‌شود. با توجه به اینکه نشان داده شده است افزایش ROS تاثیر مستقیمی بر کاهش میزان زنده ماندن اسپرم‌ها و همچنین کاهش میزان تحرک اسپرم‌ها دارد (۲۷)، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ذرات آزاد شونده از کامپوزیت Z250 از قبیل Bis-GMA می‌توانند سبب افزایش ROS در سلول‌های دستگاه تولید مثل نر و در نتیجه کاهش میزان زنده ماندن اسپرم‌ها و همچنین کاهش میزان تحرک اسپرم‌ها شوند.

تولید اسپرم‌ها در بیضه و تکامل آنها در اپیدیم صورت می‌گیرد (۲۸). در این مطالعه مشاهده شد که ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های دندان‌ی سبب کاهش تولید اسپرم نشده‌اند و تنها سبب کاهش کیفیت اسپرم‌ها شده‌اند. با توجه به نکات فوق، می‌توان عنوان کرد که احتمالاً ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های دندان‌ی بر سلول‌های اپیتلیال اپی‌دیدیم اثر خود را اعمال می‌کنند. ولی یافتن دقیق مکانیسم عمل ذرات آزاد شده از کامپوزیت دندان‌ی نیازمند مطالعات بیشتری در سطح سلولی می‌باشد.

در موش‌های ماده‌ای که با موش‌های نر هر گروه در تست آمیزش شرکت کردند، شاخص‌های تعداد موش‌های ماده حامله، تعداد کل بچه‌ها، تعداد بچه‌های زنده و تعداد بچه‌های مرده بررسی شدند. نتایج نشان دادند که در شاخص‌های تعداد ماده‌های حامله، تعداد کل بچه‌ها و تعداد بچه‌های زنده، به جز در یک گروه، در بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین در شاخص تعداد بچه‌های مرده در بین گروه‌ها هیچگونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

در مطالعات عنوان شده است که تماس حیوانات آزمایشگاهی با عواملی که در سیستم تولید مثل حیوان نر اختلال ایجاد می‌کنند در صورتی منجر به کاهش باروری می‌شود که میزان اسپرم‌های سالم را تا

مطالعه در مقدار $25 \mu\text{g/kg}$ تغییری در میزان تولید اسپرم روزانه مشاهده نشد. ولی مقدار $100 \mu\text{g/kg}$ سبب کاهش در میزان تولید روزانه اسپرم شد. این امر نشان‌دهنده اثر وابسته به دوز این ماده بر روی تولید اسپرم می‌باشد (۲۳). می‌توان به این نکته اشاره کرد که در مطالعه ما تنها ذرات آزاد شده از کامپوزیت به موش‌ها تجویز شد. بنابراین احتمالاً میزان آزاد شدن منومرها کمتر از میزانی بوده است که در مطالعه Al-Hiyasat و همکاران به موش‌ها تجویز شده است. نتایج مطالعه حاضر در تضاد با نتایج مطالعه دیگری از Al-Hiyasat و همکاران می‌باشد (۱۹). در آن مطالعه محققین ذرات آزاد شده از کامپوزیت Z100 را به موش‌های نر تجویز کردند و نتایج نشان دادند که میزان تولید روزانه اسپرم کاهش پیدا کرد. تضاد حاصل می‌تواند با تفاوت در نوع کامپوزیت استفاده شده بین دو مطالعه توجیه شود. کامپوزیت دندان‌ی Z100 بر پایه منومرهای Bis-GMA و TEGDMA می‌باشد درحالی که کامپوزیت Z250 بر پایه UDMA و Bis-GMA می‌باشد. نشان داده شده است که آزاد شدن ذرات از کامپوزیت‌های دندان‌ی ارتباط مستقیمی با ساختار منومرهای به کار رفته در کامپوزیت دارد. بیشترین میزان منومر آزاد شده در کامپوزیت Z100 TEGDMA می‌باشد؛ درحالی که در کامپوزیت UDMA Z250 به بیشترین میزان آزاد می‌شود (۲۴). بنابراین تفاوت در نتایج حاصل می‌تواند مربوط به تفاوت در میزان سمیت منومرهای به کار رفته در دو کامپوزیت باشد. در نتیجه تاثیر احتمالی نوع کامپوزیت نیاز به تحقیقات بیشتر در مطالعه آینده دارد.

میزان زنده ماندن اسپرم‌ها و میزان تحرک اسپرم‌ها، شاخص‌های مرتبط با کیفیت اسپرم‌ها می‌باشند که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان دادند که ذرات آزاد شده از کامپوزیت Z250 سبب کاهش معنی‌داری در میزان زنده ماندن اسپرم‌ها و همچنین میزان تحرک اسپرم‌ها در مقایسه با گروه کنترل شدند.

تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثر ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های دندان‌ی بر میزان زنده ماندن اسپرم‌ها و یا میزان تحرک اسپرم‌ها انجام نشده است. با توجه به مطالعات *in vitro* که سمیت BPA، Bis-GMA و ترکیبات مشابه را بررسی کرده‌اند، می‌توان عنوان کرد که در معرض تماس قرار گرفتن سلول‌ها با Bis-GMA می‌تواند سبب

سال ۱۹۷۰ به دنیا آمده تا ۴۰٪ در طی ۵۰ سال اخیر کاهش پیدا کند (۳۱). با توجه به اینکه عوامل مختلف خارجی می‌توانند در باروری اثر منفی بگذارند، ممکن است ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های دندان‌ی به تنهایی سبب ناباروری نشوند. اما با توجه به اینکه این مواد می‌توانند بر کیفیت اسپرم‌ها اثر بگذارند، اثر تجمعی و سینرژیک این ذرات با سایر عوامل خارجی را نباید نادیده گرفت. بنابراین باید تلاش‌هایی صورت گیرد که در معرض قرار گرفتن با این ذرات و سایر موادی که می‌توانند در سیستم تولید مثل اثر منفی بگذارند تا حد امکان کاهش یابد. در پایان باید عنوان کرد اگرچه میزان کامپوزیت استفاده شده در این مطالعه نسبت به وزن بدن موش‌ها از شرایط کلینیکی بیشتر بود، ولی نتایج این مطالعه نشان داد که این کامپوزیت دندان‌ی به صورت بالقوه می‌توانند در سیستم تولید مثل موش‌های نر اختلال ایجاد کنند. انجام مطالعات بیشتر برای روشن شدن کامل مکانیسم عمل ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های دندان‌ی بر سیستم تولید مثل موش‌های نر پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

با سپاس فراوان از گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی تهران و همچنین مرکز تحقیقات دندانپزشکی که این طرح در آزمایشگاه‌های این مراکز انجام گرفت. بدین وسیله از جناب آقای دکتر محمد جواد خرازی‌فرد که مراحل آماری این طرح تحت نظارت ایشان انجام گردید صمیمانه قدردانی می‌گردد. با تشکر از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب به کد ۹۵۹۳/۶۹/۰۱/۸۹ می‌باشد.

۶۰٪ کاهش دهند (۲۹). با توجه به عدم کاهش تولید اسپرم توسط بیضه‌ها در این مطالعه و همچنین این نکته که میزان زنده ماندن اسپرم‌ها و همچنین میزان تحرک اسپرم‌ها در مقایسه با گروه‌های کنترل ۶۰٪ کاهش پیدا نکرده است، عدم تاثیر ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های مورد مطالعه بر تعداد موش‌های ماده حامله قابل توجیه می‌باشد. همچنین عدم کاهش در تعداد کل بچه‌ها در راستای عدم کاهش باروری می‌باشد.

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان ذکر کرد که اثر ذرات آزاد شده از کامپوزیت‌های دندان‌ی مورد مطالعه، در دوز مورد استفاده، سبب کاهش باروری موش‌ها نشده است اما می‌تواند سبب اختلالاتی در سیستم تولید مثل موش‌های نر شود. باید این نکته ذکر شود که دوز مورد استفاده در این مطالعه با توجه به وزن موش‌ها خیلی بیشتر از میزانی می‌باشد که در کلینیک مورد استفاده قرار گیرد. اما باید توجه کرد که در این مطالعه تنها ذرات آزاد شده در محیط‌های مورد مطالعه در ۲۸ روز به موش‌ها تجویز شد. درحالی که در شرایط کلینیکی، سایش کامپوزیت و همچنین اثرات آنزیم‌های بزاقی می‌توانند سبب آزاد شدن ذرات در طی سال‌ها شوند. علاوه بر این باید خاطر نشان کرد که کامپوزیت‌های دندان‌ی تنها موادی نیستند که انسان را در معرض مواد شبه استروژنی آن قرار می‌دهند. کنسروهای غذایی، محصولات پلاستیکی، شیشه شیر بچه، فلاسک‌های لابراتوری و سیلان‌های دندان‌ی از سایر مواردی هستند که می‌توانند بدن را در معرض این مواد قرار دهند (۳۰). بنابراین نباید اثرات تجمعی طولانی مدت ذرات آزاد شده را نادیده گرفت.

در تماس قرار گرفتن با مواد مختلف شیمیایی در دنیای مدرن سبب شده است که میزان کمیت و کیفیت اسپرم در مردهایی که بعد از

منابع:

- 1- Moszner N, Salz U. New developments of polymeric dental composites. *Prog Polym Sci*. 2001;26(4):535-76.
- 2- Taylor DF, Kalachandra S, Sankarapandian M, McGrath JE. Relationship between filler and matrix resin characteristics and the properties of uncured composite pastes. *Biomaterials*. 1998;19(1-3):197-204.
- 3- Tabatabaee MH, Mahdavi H, Zandi S, Kharrazi MJ. HPLC analysis of eluted monomers from two composite resins cured with LED and halogen curing lights. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009;88(1):191-6.
- 4- Ruddell DE, Maloney MM, Thompson JY. Effect of novel filler particles on the mechanical and wear properties of dental composites. *Dent Mater*. 2002;18(1):72-80.
- 5- Roberson TM, Heymann HO, Swift Jr Ej. *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry*. 5th ed. St. Louis: Mosby Elsevier;2006:208
- 6- Nathanson D, Lertpitayakun P, Lamkin MS, Edalatpour M, Chou LI. In vitro elution of leachable components from dental sealant. *J Am Dent Assoc*. 1997;128(11):1517-23
- 7- Inoue K, Hayashi I. Residual monomer (Bis-GMA) of composite resins. *J Oral Rehabil*. 1982;9(6):493-7.
- 8- Ortengren U, Wellendorf H, Karlsson S, Ruyter IE. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment. *J Oral*

Rehabil. 2001;28(12):1106-15.

9- Hamid A, Hume WR. A study of component release from resin pit and fissure sealants in vitro. *Dent Mater.* 1997;13(2):98-102.

10- Freund M, Munksgaard EC. Enzymatic degradation of BISGMA/TEGDMA-polymers causing decreased microhardness and greater wear in vitro. *Scand J Dent Res.* 1990;98(4):351-5

11- Söderholm KJ, Mariotti A. BIS-GMA-based resins in dentistry: are they safe? *J Am Dent Assoc.* 1999;130(2):201-9.

12- Fleisch AF, Sheffield PE, Chinn C, Edelstein BL, Landrigan PJ. Bisphenol A and related compounds in dental materials. *Pediatrics.* 2010;126(4):760-8

13- Geurtsen W, Leyhausen G. Chemical-Biological Interactions of the resin monomer triethyleneglycol-dimethacrylate (TEGDMA). *J Dent Res.* 2001;80(12):2046-50

14- Harrison PT, Holmes P, Humfrey CD. Reproductive health in humans and wildlife: are adverse trends associated with environmental chemical exposure? *Sci Total Environ.* 1997;205(2-3):97-106.

15- Al-Hiyasat AS, Darmani H, Elbetieha AM. Effects of bisphenol A on adult male mouse fertility. *Eur J Oral Sci.* 2002;110(2):163-7.

16- Darmani H, Al-Hiyasat AS. Reproductive toxic effect of bisphenol A dimethacrylate in mice. *J Biomed Mater Res A.* 2004;69(4):637-43.

17- Robb GW, Amann RP, Killian GJ. Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *J Reprod Fertil.* 1978;54(1):103-7.

18- Cosentino MJ, Pakyz RE, Fried J. Pyrimethamine: an approach to the development of a male contraceptive. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87(4):1431-35.

19- Al-Hiyasat AS, Darmani H, Elbetieha AM. Effects of resin based dental composites on fertility of male mice. *Eur J Oral Sci.* 2002;110(1):44-7.

20- Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil.* 1994;21(4):441-52.

21- Geurtsen W. Substances released from dental resin

composites and glass ionomer cements. *Eur J Oral Sci.* 1998;106(2):687-95.

22- Kopperud HM, Schmidt M, Kleven IS. Elution of substances from a silorane-based dental composite. *Eur J Oral Sci.* 2010;118(1):100-2.

23- Al-Hiyasat AS, Darmani H. In vivo effects of BISGMA-a component of dental composite-on male mouse reproduction and fertility. *J Biomed Mater Res A.* 2006;78(1):66-72.

24- Sideridou ID, Achilias DS. Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;74(1):617-26.

25- Engelmann J, Janke V, Volk J, Leyhausen G, von Neuhoff N, Schlegelberger B, et al. Effects of BisGMA on glutathione metabolism and apoptosis in human gingival fibroblasts in vitro. *Biomaterials.* 2004;25(19):4573-80.

26- Kleinsasser NH, Wallner BC, Harréus UA, Kleinjung T, Folwaczny M, Hickel R, et al. Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay. *J Dent.* 2004;32(3):229-34.

27- Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet Med Int;*2010. pii: 686137.

28- Patrão MT, Silva EJ, Avellar MC. Androgens and the male reproductive tract: an overview of classical roles and current perspectives. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009;53(8):934-45

29- Aafjes JH, Vels JM, Schenck E. Fertility of rats with artificial oligozoospermia. *J Reprod Fertil.* 1980;58(2):345-51.

30- Papaconstantinou AD, Umbreit TH, Fisher BR, Goering PL, Lappas NT, Brown KM. Bisphenol A-induced increase in uterine weight and alterations in uterine morphology in ovariectomized B6C3F1 mice: role of the estrogen receptor. *Toxicol Sci.* 2000;56(2):332-9.

31- Hughes PJ, McLellan H, Lowes DA, Kahn SZ, Bilmen JG, Tovey SC, et al. Estrogenic alkylphenols induce cell death by inhibiting testis endoplasmic reticulum Ca(2+) pumps. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;277(3):568-74.