



# Protective Effect of Grap Seed Oil on Brain and Spleen of Female Mice after Treated with Bisphenol

Arwa Nashat Qasem<sup>\*</sup>, Yathrib Mashallah Hamed<sup>2</sup>

1College of science , University of Mosul, [arwynshatqasm@gmail.com](mailto:arwynshatqasm@gmail.com) Iraq.

2College of science, University of Mosul, [amwml2664@gmail.com](mailto:amwml2664@gmail.com), Iraq.

\*Corresponding author email: [arwynshatqasm@gmail.com](mailto:arwynshatqasm@gmail.com) mobile: 07724476018

أروى نشأت قاسم<sup>1\*</sup>، يثرب ماشاءالله حامد<sup>2</sup>

1 كلية العلوم، جامعة الموصل، [arwynshatqasm@gmail.com](mailto:arwynshatqasm@gmail.com)، العراق

2 كلية العلوم، جامعة الموصل، <mailto:amwml2664@gmail.com>، العراق

Accepted:

25/5/2026

Published:

30/6/2026

## ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the histological effects of Bisphenol A (BPA) on the brain and spleen tissues of female mice, as well as to investigate the potential protective role of Grape Seed Oil (GSO) against the toxic effects of this compound. The study utilized 40 female mice, aged 9–12 weeks with an average weight of  $23 \pm 2$  g. The mice were randomly divided into four groups: a control group (administered only GSO), second and third groups treated with BPA at concentrations of 300 mg/kg and 450 mg/kg, and a fourth group treated with a combination of BPA (450 mg/kg) and GSO (0.2 ml). All treatments were administered via oral gavage for a duration of 12 days. Results of histological examination revealed significant pathological changes in the brain and spleen tissues of the BPA-treated groups. In the brain, these changes included vacuolar degeneration, nuclear pyknosis, necrotic foci, gliosis, and vascular congestion; these alterations were more severe at the higher dose (450 mg/kg). In the spleen, observations included loss of normal architecture, severe congestion, necrosis, hypertrophy of central artery walls, atrophy of lymphoid follicles, and vascular degeneration, with lesion severity increasing in a dose-dependent manner. On the other hand, the group treated with GSO showed relative improvement in histological structures compared to the group treated with 450 mg/kg of BPA alone. There was a noticeable reduction in the severity of degeneration, congestion, and necrosis in both the brain and spleen. Conclusion: The study concludes that exposure to Bisphenol A induces clear, dose-dependent toxic effects on brain and spleen tissues. Furthermore, Grape Seed Oil may contribute to mitigating these effects through antioxidant mechanisms and the modulation of oxidative stress.

**Keywords:** Bisphenol A, Spleen, Brain, Grape Seed Oil.

## الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم التأثيرات النسيجية لثنائي الفينول أ في أنسجة الدماغ والطحال لإناث الفئران بالإضافة إلى دراسة التأثير الوقائي المحتمل لزيت بذور العنب ضد التأثيرات السمية للمركب. استخدمت في الدراسة (40) فأراً أنثى بعمر (9-12) أسبوعاً وبمعدل وزن (23±2) غم، قسمت الفئران عشوائياً إلى أربع مجاميع: جرعت مجموعة السيطرة بزيت بذور الذرة فقط وجرعت المجموعة الثانية والثالثة بثنائي الفينول أ مذاب بزيت الذرة بتركيز 300 و450 ملغم/كغم على التوالي وجرعت المجموعة الرابعة بثنائي الفينول أ بتركيز (450 ملغم/كغم) مع (0.2 مل) من زيت بذور العنب لمدة 12 يوماً عن طريق التجرع الفموي. أظهرت نتائج الفحص النسيجي حدوث تغيرات مرضية واضحة في أنسجة الدماغ، والطحال في المجموعات المعاملة بثنائي الفينول أ، تمثلت بحدوث تنكس فجوي في الدماغ وتغلظ النوى وبؤر نخرية ودبق (gliosis) واحتقان وعائي وكانت هذه التغيرات أكثر شدة في الجرعة العالية (450 ملغم/كغم)، أما في الطحال فقد لوحظ فقدان البنية الطبيعية احتقان شديد وتنخر وتضخم في جدران الشريان المركزي وضمور الجريبات للمفاوية وتنكس وعائي مع زيادة شدة الآفات مع زيادة التركيز. من جهة أخرى، أظهرت المجموعة المعالجة بزيت بذور العنب تحسناً نسبياً في التغيرات النسيجية مقارنةً بالمجموعة المعاملة بجرعة 450 ملغم/كغم فقط، إذ انخفضت شدة التنكس والاحتقان والنخر في كل من الدماغ والطحال، مما يشير إلى وجود تأثير وقائي محتمل لزيت بذور العنب. استنتجت الدراسة أن التعرض لثنائي الفينول أ يحدث تأثيرات سمية واضحة في أنسجة الدماغ والطحال، وأن زيت بذور العنب قد يساهم في تقليل هذه التأثيرات عبر آليات مضادة للأكسدة ومعدلة للإجهاد التأكسدي.

**الكلمات المفتاحية:** ثنائي الفينول أ، الطحال، الدماغ، زيت بذور العنب

## المقدمة

مركبُ صنع لأول مرة على يد العالم الروسي (الكسندر ديانين) عام (1891م) عن طريق تكثيف الفينول مع الأسيتون بوجود محفز حامضي [1] وقد تم التعرف على خصائصه الأستروجينية في بداية الثلاثينيات من القرن العشرين من العالم البريطاني Adorde Carlos Dos عام 1988 [2] يعد ثنائي الفينول أ مادة كيميائية صناعية أحادية التركيب صلبة تستخدم بشكل واسع في إنتاج متعدد كربونات البلاستيكية التي تدخل في صناعة راتنجات الأيبوكسي المستخدم في طلاء خزانات الماء، وصناعة المنتجات البلاستيكية [2] كذلك يدخل في صناعة الأجهزة الطبية، مثل أجهزة الكلى الإصطناعية، والقلب والرئة، وخوذات الدراجات النارية، والحاضنات، ومعدات السلامة ويؤثر في التطور، والتكاثر من خلال تأثيره على جهاز الغدد الصم؛ إذ يسبب بعيوب خلقية، وقلة الخصوبة وبعض الأمراض كالسرطان وداء السكري فضلاً عن التأثير على سلوك الحيوانات [3]، إنتاج رضاعات ولعب الأطفال والمواد الإلكترونية والدهان ومواد التجميل والورق الحراري وإنتاج الفناني البلاستيكية للمياه وحشوات الأسنان [4] ويزداد استخدام ثنائي الفينول أ في المنتجات التي تلامس الطعام، مما يؤدي إلى خطر التعرض لهذه المادة خاصة عن طريق الجهاز الهضمي [5]، الذي يمكن اعتباره طريقاً لدخول ثنائي الفينول أ إلى الجسم من خلال تناول المنتجات الاستهلاكية الحاوية على متعدد الكربونات وراتنجات الأيبوكسي، وقد يمكن التعرض له من المحيط الخارجي عن طريق استنشاق الهواء المنبعث من المصانع المنتجة للمواد البلاستيكية، أو من المياه نتيجة رمي المخلفات البلاستيكية فيها [6] كذلك يمكن أن يدخل الجسم وينتقل من الأم إلى الجنين ويؤثر على أعضاء الجسم المختلفة منها الكبد والجهاز التناسلي والغدة الدرقية والقلب والأنسجة

الدهنية [7]، وبذلك تختلف تسمية مراحل التعرض لثنائي الفينول أ حسب الفترة إذ يمكن ان تسمى مرحلة الحمل عند التعرض لثنائي الفينول أ في الفترة الجنينية وقد يكون التعرض بعد الولادة او قبل الفطام وتسمى مرحلة neonatal، او يكون التعرض بعد الفطام والفترات التي تليها وتسمى مرحلة postnatal [8]، ونتيجة دخوله الجسم بطرق متعددة يؤثر في أعضاء الجسم المختلفة منها الطحال الذي يعد الجزء الأساسي المسؤول عن مناعة الجسم ويؤدي العديد من الوظائف منها إزالة كريات الدم الحمراء المسنة والمتدهورة وتخليص الدورة الدموية من الجسيمات والبكتيريا الضارة وتكوين الدم خارج النخاع ولكونه جزءاً أساسياً في جهاز المناعة يعد عضواً مثالياً في تقييم عمل أي مادة سامة ممكن ان تتداخل مع التنظيم الهرموني الطبيعي للاستجابة المناعية وتؤثر فيه [9] وبذلك فان المواد السامة التي تؤثر في الوظائف الطبيعية للطحال تضعف الجهاز المناعي [10] ويؤثر على الدماغ إذ يعمل على توقف التمايز والتجديد الذاتي بين الاسلاف العصبية اثناء التطور القشري فضلا عن زيادة عدد الخلايا الدبقية وقلة الخلايا العصبية في القشرة الدماغية [11]، ويسبب التعرض الى ثنائي الفينول ا الى ضعف التعلم والذاكرة وتلف الحمض النووي في خلايا الدماغ [12]. قد يسبب هذه التأثيرات بسبب تأثير ثنائي الفينول ا على وظائف الغدد الصماء وبالتالي التأثير على عمل الهرمونات في الجسم [13] لذلك فقد اهتم العلماء في معرفة مكونات المواد الغذائية التي لها تأثير على صحة الانسان والحيوان [14] وقد اثبتت الدراسات ان الغذاء الذي يتضمن نسبة عالية من الفواكه يحمي الانسان من العديد من الامراض منها السرطان والقلب [15]. ويعد العنب من الفاكهة الأكثر انتشاراً في العالم اذا يحصد سنوياً ما يقارب من 80 مليون طن على شكل فاكهة طازجة او على شكل عصيرزبيب [16]، اما زيت بذور العنب فيحتوي نسبة عالية من الاحماض الدهنية المتعددة الاواصر الغير مشبعة من ضمنها حامض اللينولييك [17]، يستخدم زيت بذور العنب كمضاد للأكسدة لاحتوائه على مركبات فعالة مثل الفلافونويدات [18]

### المواد طريقة العمل Materias and Methods

1- تصميم التجربة Design Experimenta : تم استخدام 40 أنثى فأر بعد التأكد من سلامتها من الامراض وقسمت على أربعة مجاميع وعلى النحو الآتي: مجموعة السيطرة المعاملة بزيت الذرة فقط، ومجموعتين معاملة بثنائي الفينول ا مذاب في زيت الذرة، ومجموعة رابعة معاملة بثنائي الفينول ا وزيت بذور العنب، وتم عزلها في اقفاص بلاستيكية، كتب على كل قفص التركيز المستخدم وجرعت الفئران باستخدام أنبوبة معدنية معدة لضمان وصول المادة الى المعدة، وعدم حدوث أي خدش او اذى للفأرة لمدة 12 يوم بعد التجريب تعاد الى الاقفاص.

### 2- تحضير المقاطع النسجية Histological Preparation sections

حضرت المقاطع النسجية بعد 12 يوم من التجريب بلاعتماد على [19] إذ تم تخدير الأجنة باستخدام الكلوروفورم (القتل الرحيم) واستخراج الدماغ والطحال منها مررت بخطوات كالاتي: بعد تثبيت الأعضاء بواسطة الفورمالين لمدة 24-48 ساعة غسلت بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة/تركيز ومررت بتركيز تصاعدي من الايثانول 50%، 70%، 90%، 100% لمدة 30 دقيقة/تركيز عدا الأخير لمدة ساعتين ثم روقت باستعمال الزيلين لمدة 30 دقيقة، بعدها تم التشريب والطهر باستعمال بارافين درجة انصهاره (54-56) ثم وضعت العينات في فرن درجة حرارته 60 م °، التشذيب والتقطيع من خلال الجهاز المشراح الدوار Microtome Rotary بسلك 5-7 مايكروليتر من أجل الحصول على شريط حاوي على مقاطع مستعرضة وطولية، بعدها تم إزالة الشمع من المقاطع النسجية ولونت بملونات نسجية Eosin and Harmatoxylin Stain (E&H) اعتماداً [20] [21] حملت المقاطع

بـDPX بعدها فحصت وصورت المقاطع النسجية بالمجهر الضوئي المركب ، تم حساب قوة التكبير من خلال معامل قوة تكبير العدسة العينية في معامل قوة تكبير العدسة الشيئية

## النتائج والاستنتاجات:

### 1-الدماغ

اظهر نتائج الفحص المجهرى لانسجة دماغ وطحال الفئران بعد التجريب بمادة ثنائي الفينول حدوث تغيرات نسيجية لكل من الطحال والدماغ عند التراكيز 300 و 450 ملغم /كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة (شكل -1, 2).

يظهر المقطع النسيجي للدماغ وطحال الفئران في المجموعة الثانية والمجرعة بتركيز 300 ملغم من المادة يظهر حدوث تنكس فجوي نووي ودبقاً وتدلي واحتقان مقارنة مع مجموعة السيطرة (شكل -3).

أما في المجموعة الثالثة يوضح المقطع النسيجي لتكوين دماغ الفئران المجرعة بـ 450 ملغم / كغم (شكل -4) وجود بؤر نخرية وتغلظ النواة وتنكس فجوي وتدبق واحتقان.

اظهر المقطع النسيجي للدماغ في المجموعة الرابعة (المجموعة المعالجة ) بزيت بذور العنب وجود تنكس فجوي مع احتقان خفيف (شكل -5) مقارنة مع مجموعة السيطرة.

### 2- الطحال

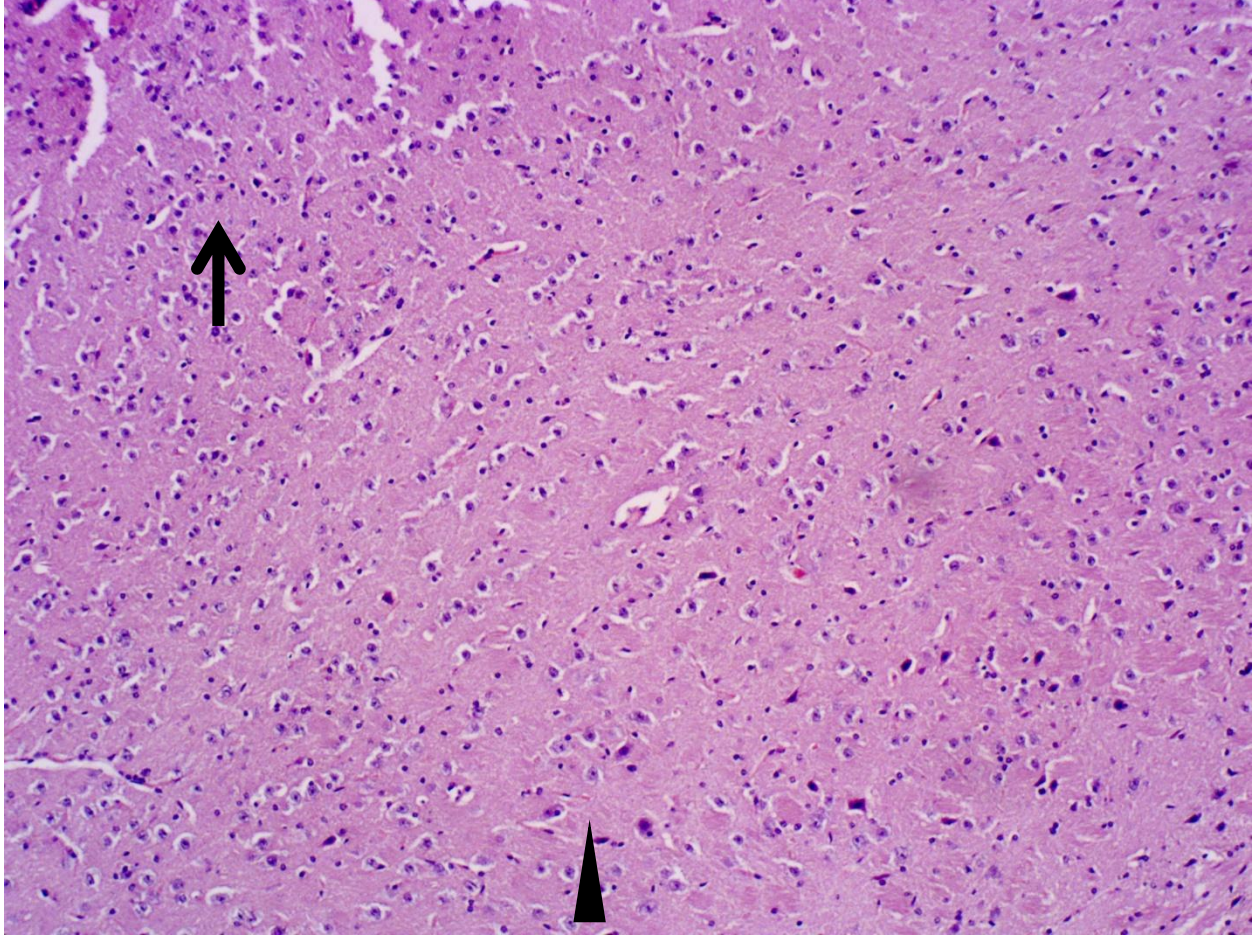
اظهر المقطع النسيجي للطحال في المجموعة المجرعة بـ 300 ملغم/كغم فقداناً في البنية الطبيعية للنسيج مع احتقان شديد وتخر وسمك جدران الشريان المركزي مقارنة مع مجموعة السيطرة (شكل - 6,5).

كما لوحظ فقداناً في البنية الطبيعية للطحال مع وجود بصيلات ضامرة وتنكس وعائي شديد مع احتقان شديد وتخر في المجموعة المجرعة بـ 450 ملغم/كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة (شكل -7).

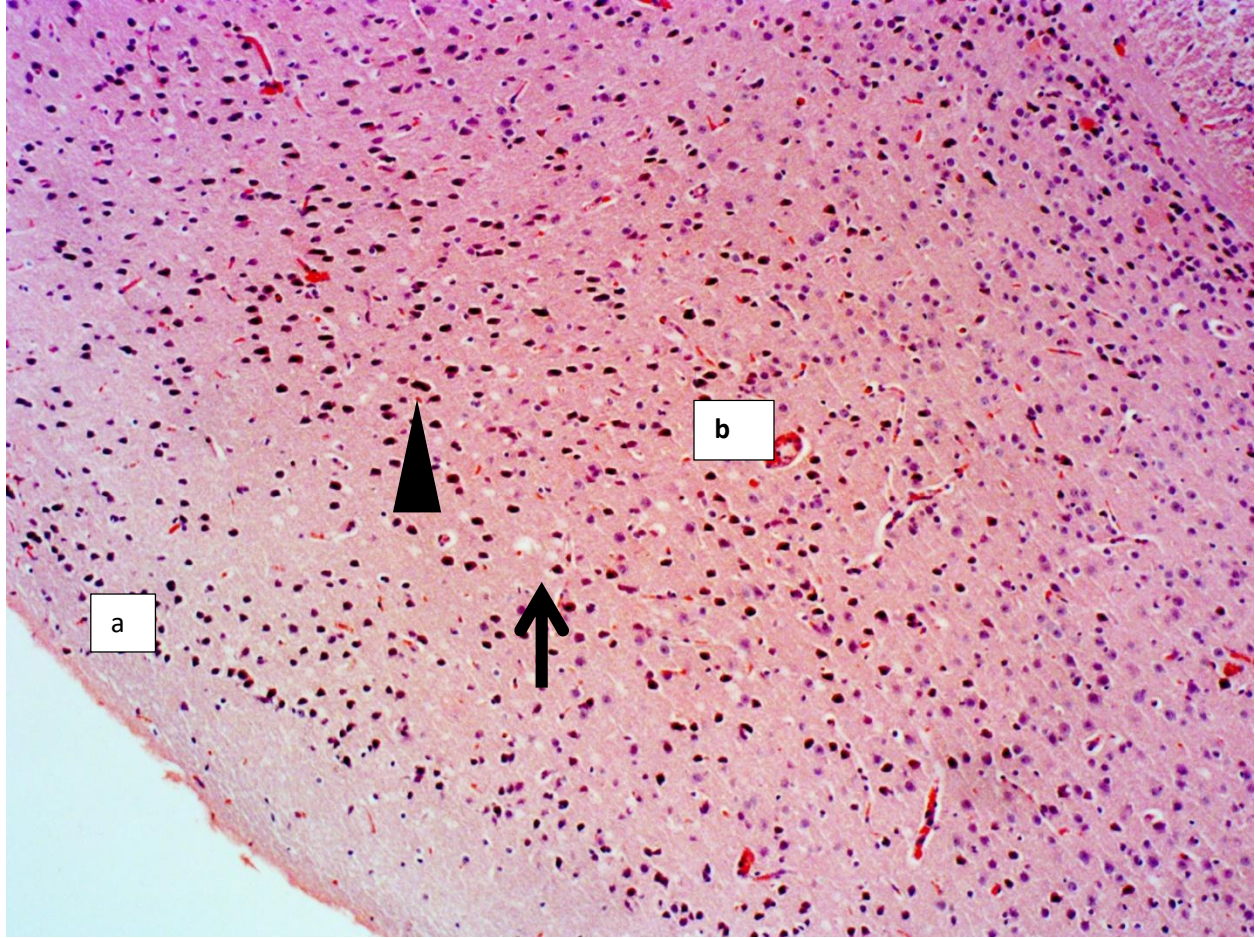
واظهر المقطع النسيجي للطحال في مجموعة المعالجة وجود احتقان خفيف وتخر مقارنة مع مجموعة السيطرة (شكل -8).

لوحظ من خلال الفحص النسيجي وجود تغيرات مختلفة في أنسجة الدماغ والطحال للفئران المجرعة بمادة ثنائي الفينول أ وتراوحت النتائج بين التخر والتنكس وحدثت بؤر نخرية وتغلظ للانوية وعدت هذه التغيرات نتائج لاستخدام مادة ثنائي الفينول أ الذي يعد مادة سامة عند دخوله للجسم والذي يؤثر على أعضائه ومنها الطحال الذي يعد الجزء الأساسي المسؤول عن مناعة الجسم والقيام بالعديد من الوظائف ومنها إزالة كريات الدم الحمراء المسنة والمتدهورة وتخلص الدوة الدموية من المواد الضارة التي تدخل في التنظيم الهرموني للاستجابة المناعية [21]

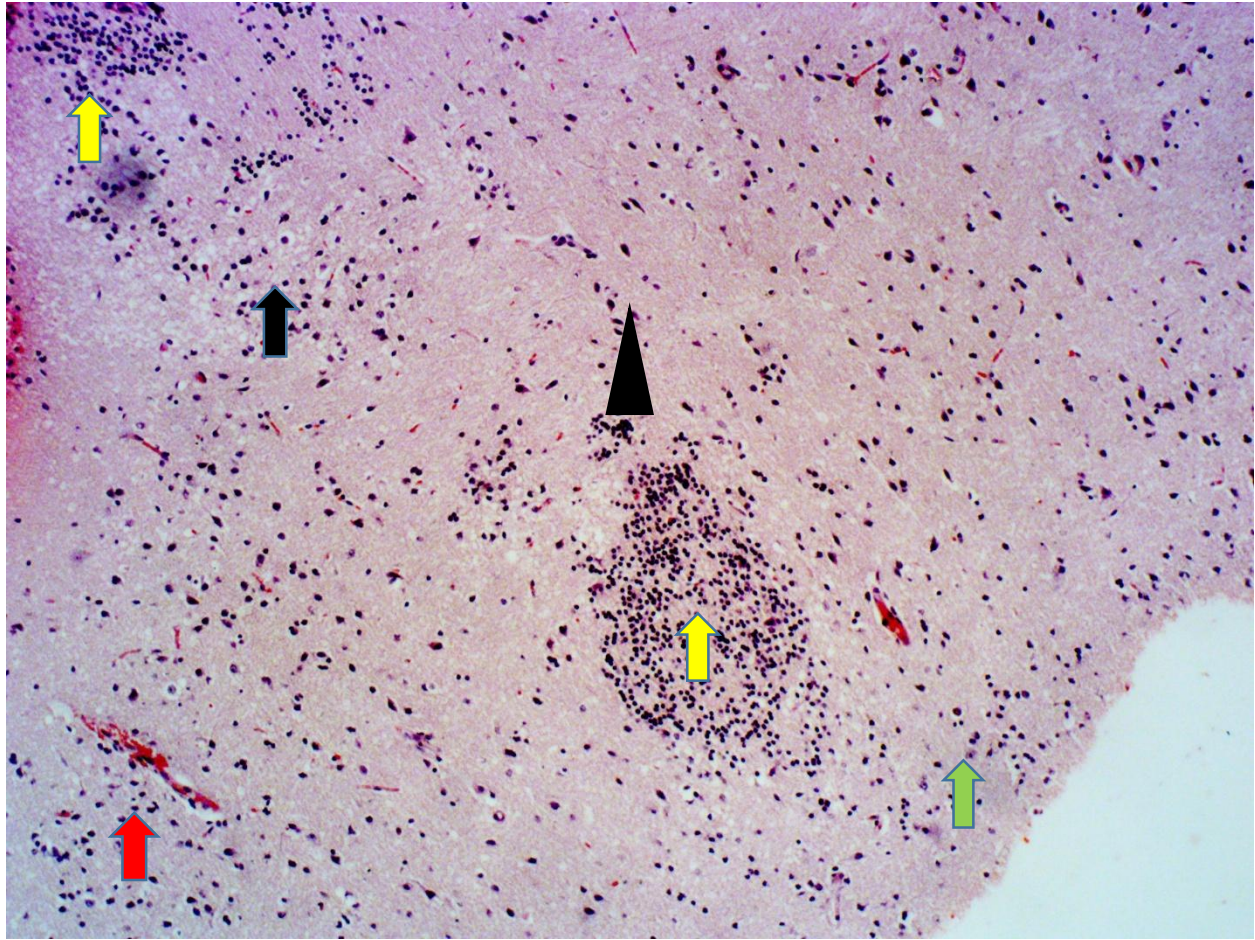
وكذلك تأثير هذه المادة على أنسجة الدماغ الذي تعمل على توقف التمايز والتجديد الذاتي بين الاسلاف العصبية اثناء التطور القشري وكذلك زيادة عدد الخلايا الدبقية وقلة الخلايا العصبية في قشرة الدماغ [22] وبسبب التعرض الى مادة ثنائي الفينول أ حدث تلف للحامض النووي في خلايا الدماغ وحدثت تنكسات في الدماغ قد تكون هذه التأثيرات بسبب تأثير مادة ثنائي الفينول أ على وظائف الغدد الصماء وبالتالي التأثير على عمل الهرمونات في الجسم [23]



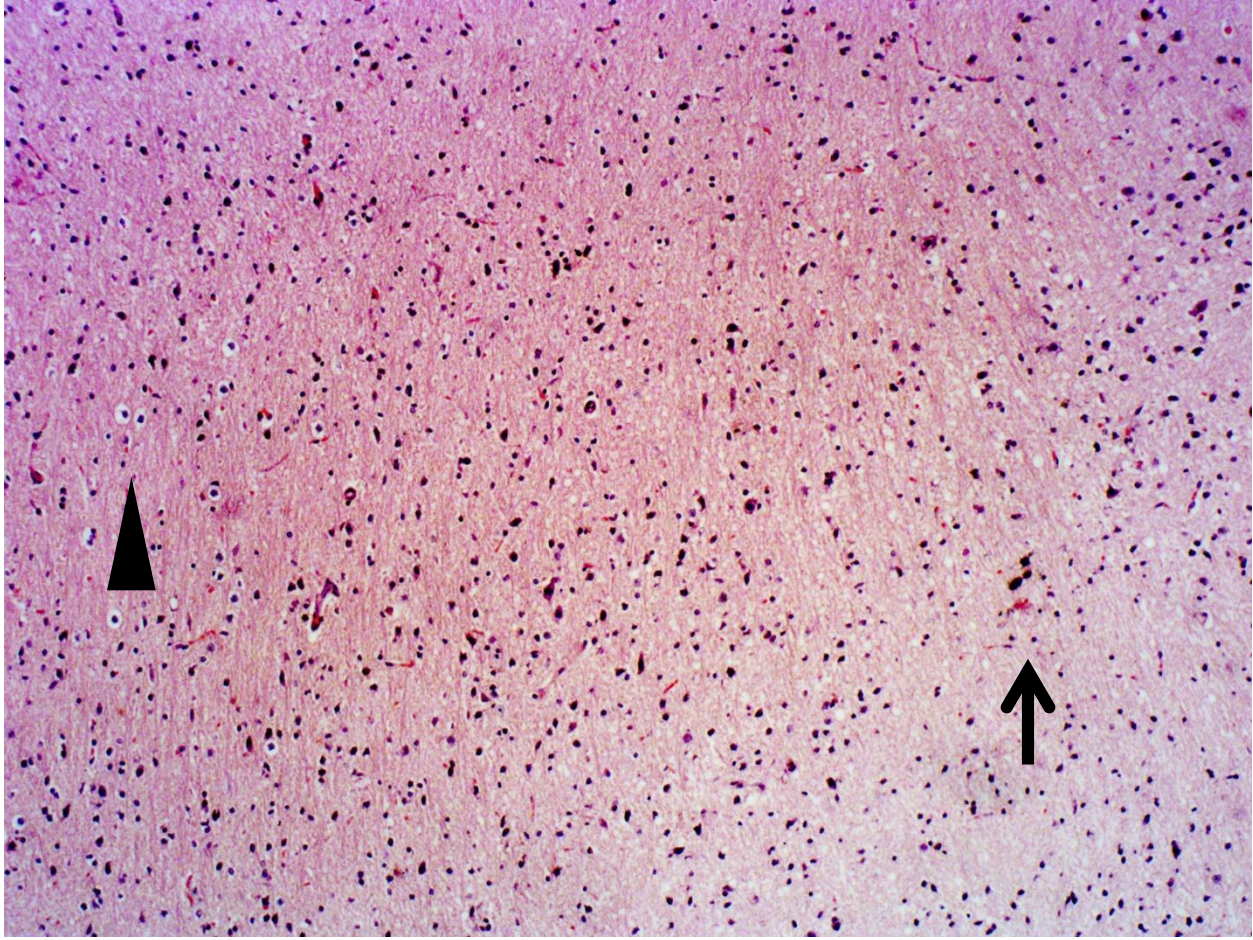
شكل (1): مقطع نسيجي لدماع فئران مجموعة السيطرة، يُظهر البنية الطبيعية لأنسجة الدماغ، العصبون (رأس السهم) والخلايا الدبقية (السهم)، صبغة الهيماتوكسيلين، 100X



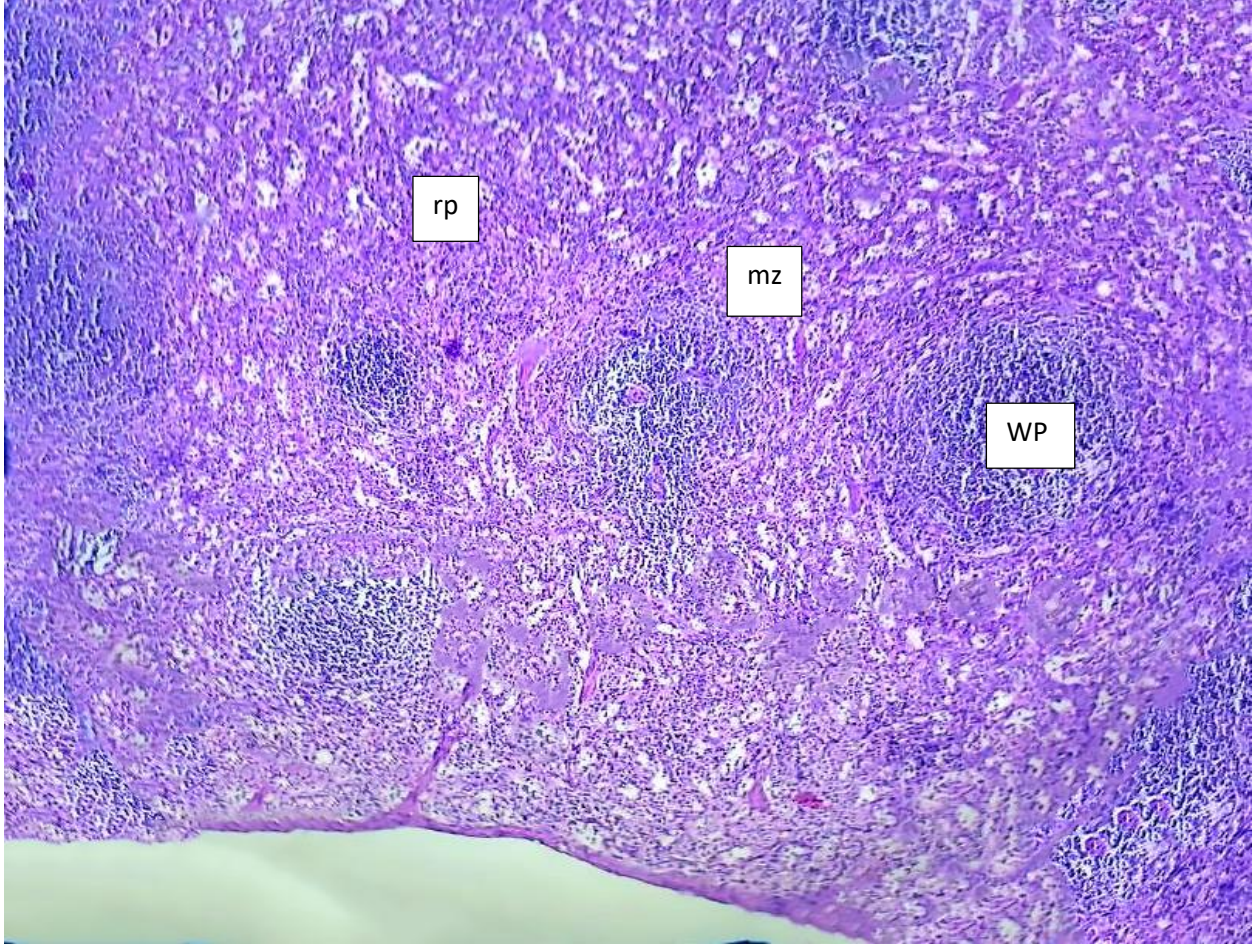
شكل (2): مقطع نسيجي لدماع فأر معاملة بجرعة 300 ملغم/كغم، يُظهر تكتفاً نووياً (رأس السهم)، وتكتسا فجوياً (السهم)، وتليفاً دقيقاً (أ)، واحتقاناً (ب). صبغة الهيماتوكسيلين والإيوسين،  $\times 100$



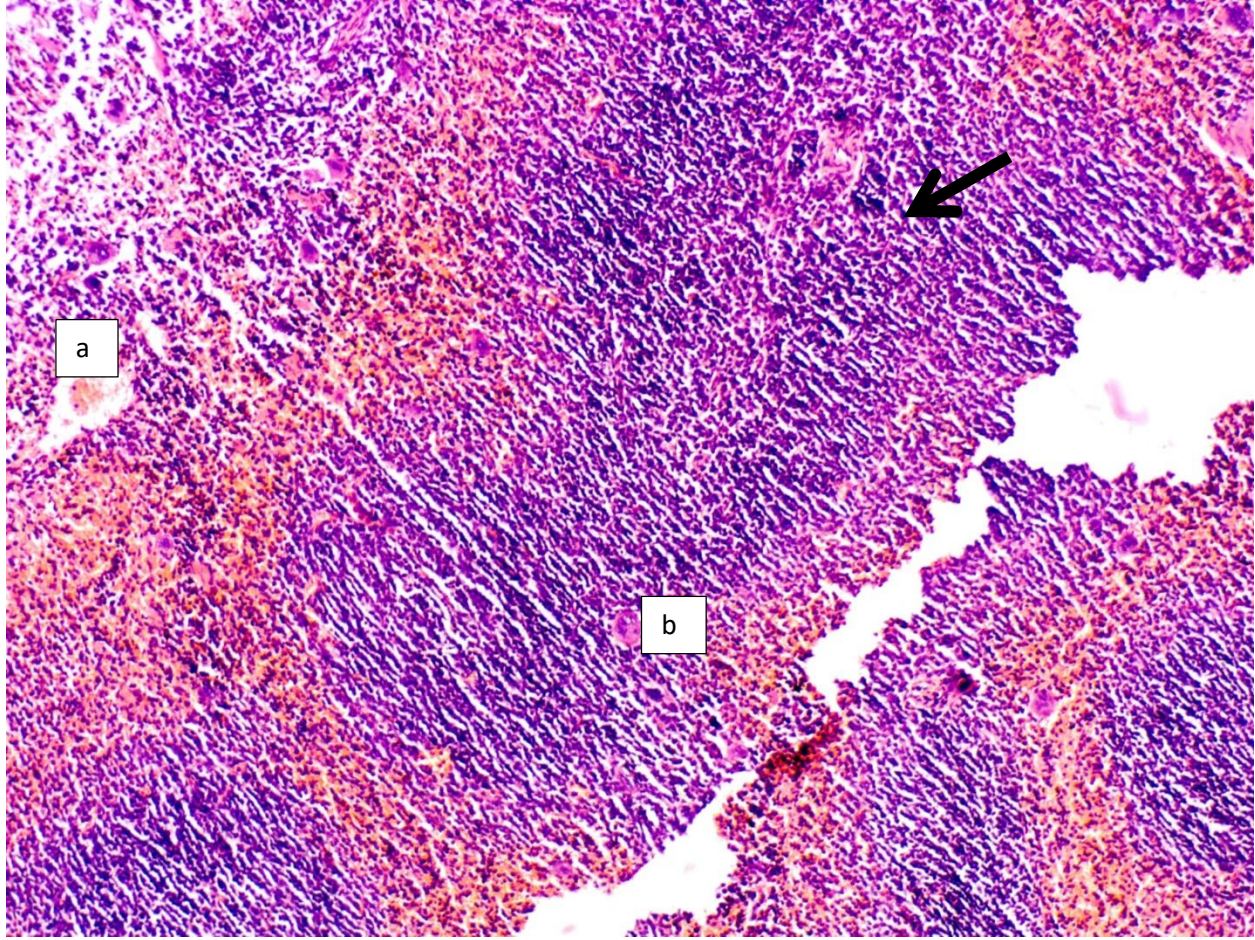
شكل (3): مقطع نسيجي لدماغ إناث الفئران المعاملة بجرعة 450 ملغم/كغم، يُظهر بؤراً نخرية (السهم الأزرق)، ونوى متكثفة (رأس السهم)، وتكسما فجوياً (السهم)، وتليفاً دبقياً (السهم الأحمر)، واحتقاناً (السهم الأخضر). صبغة الهيماتوكسيلين والإيوسين، 100X



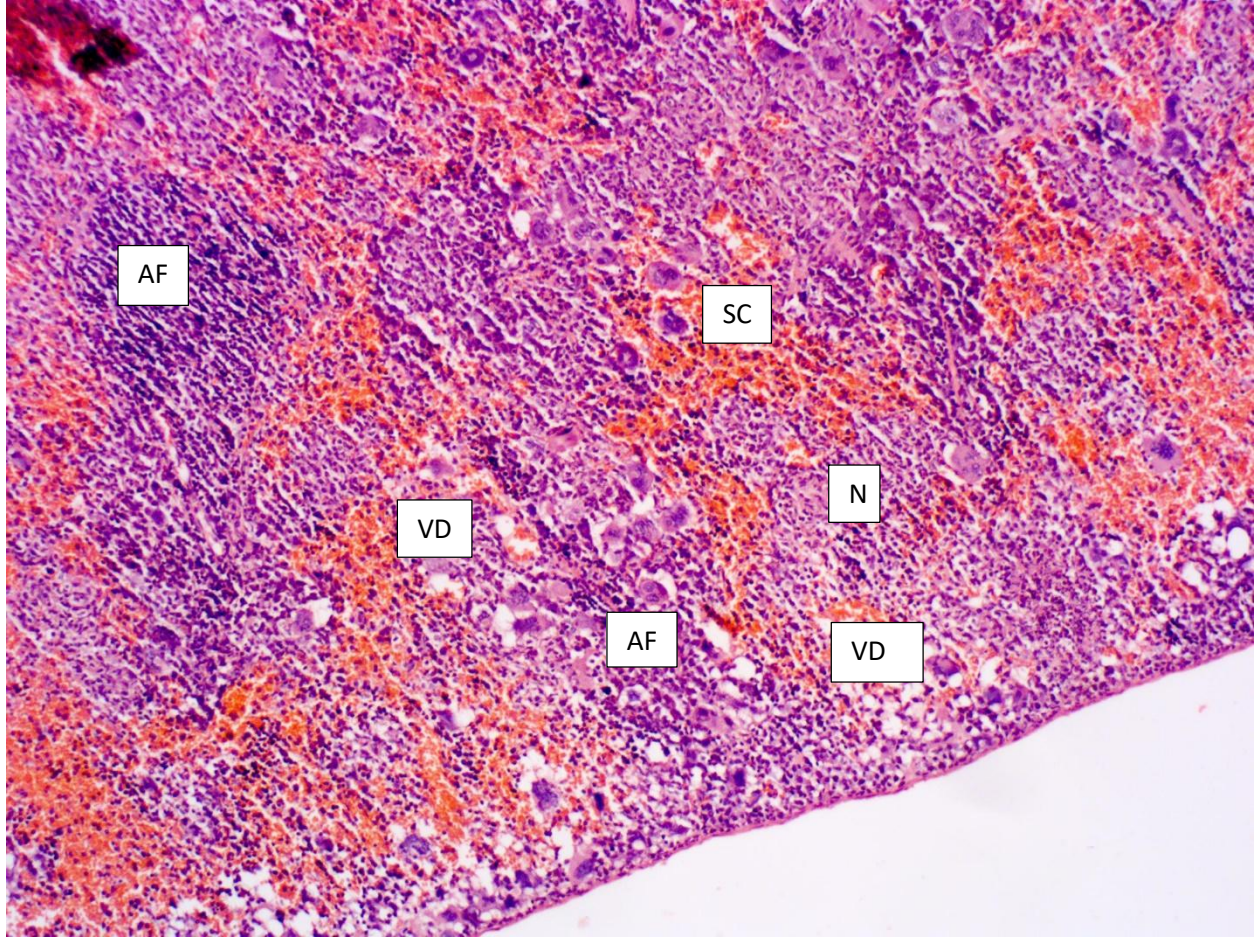
شكل (4): مقطع نسيجي لدماع الفئران المعاملة بزيت بذور العنب، يظهر التكتس الفجوي (رأس السهم) والاحتقان الخفيف (السهم الأسود) صبغة الهيماتوكسيلين والإيوسين، X100.



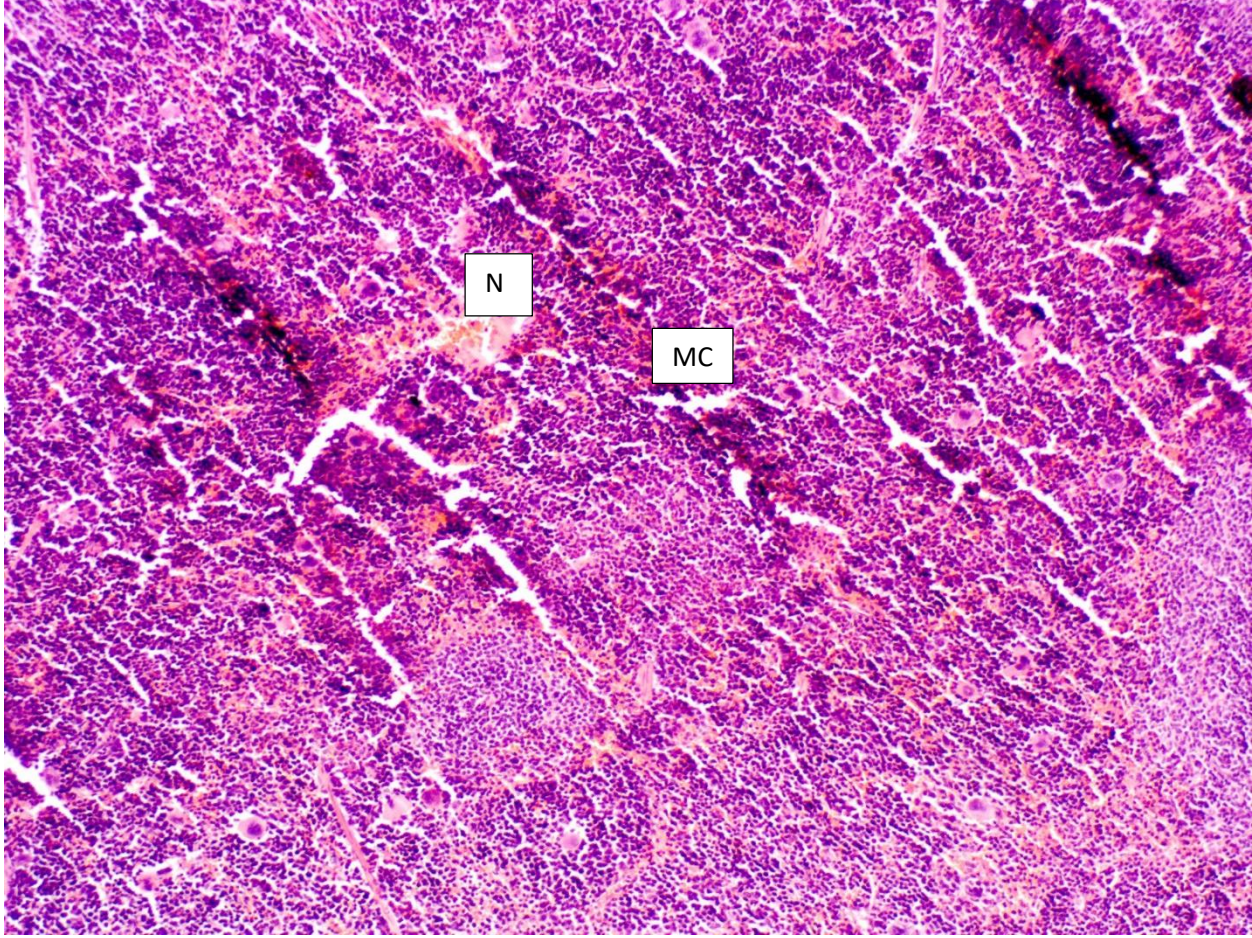
شكل (5): مقطع نسيجي لطحال الفئران (مجموعة السيطرة)، يُظهر جريب الطحال سليماً وواضحاً مع لب أبيض صافٍ (wp)، ولب أحمر (rp)، ومنطقة هامشية (mz). صبغة الهيماتوكسيلين والإيوسين، X100.



شكل (6): مقطع نسيجي لطحال فئران عولجت بجرعة 300 ملغم/كغم، يُظهر احتقانًا شديدًا (أ) ونخرًا (ب) وجدارًا سميكًا للشريان المركزي (السهم). صبغة الهيماتوكسيلين والإيوسين، X100



شكل (7): مقطع نسيجي لطحال الفئران المعالجة بجرعة 450 ملغم/كغم، يُظهر ضمور الجريبات (AF)، وتدهورًا وعائياً حاداً (VD)، واحتقاناً حاداً (SC)، ونخراً (N). صبغة الهيماتوكسيلين والإيوسين، X100.



شكل (8): مقطع نسيجي لطحال فئران عولجت بزيت بذور العنب، يُظهر احتقانًا طفيفًا (MC) ونخرًا (N). صبغة الهيماتوكسيلين والإيوسين،  $\times 100$



### Conflict of interests.

There are non-conflicts of interest.

### References

- [1] I. Cimmino, F. Fiory, G. Perruolo, C. Miele, F. Beguinot, and P. Formisano, "Potential mechanisms of bisphenol A (BPA) contributing to human disease," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 16, p. 5761, 2020.
- [2] B. E. Erickson, "Bisphenol under scrutiny," *Chemical and Engineering News*, vol. 86, no. 22, pp. 36–39, 2008.
- [3] A. Fahrenkopf and C. K. Wagner, "Bisphenol A (BPA) induces progesterone receptor expression in an estrogen receptor  $\alpha$ -dependent manner in perinatal brain," *Neurotoxicology and Teratology*, vol. 78, p. 106864, 2020.
- [4] A. F. Fleisch, P. E. Sheffield, C. Chinn, B. L. Edelstein, and P. J. Landrigan, "Bisphenol A and related compounds in dental materials," *Pediatrics*, vol. 126, no. 4, pp. 760–768, 2010.
- [5] H. A. Jeng, "Exposure to endocrine disrupting chemicals and male reproductive health," *Frontiers in Public Health*, vol. 2, p. 55, 2014.
- [6] J. Peretz, R. K. Gupta, J. Singh, I. Hernández-Ochoa, and J. A. Flaws, "Bisphenol A impairs follicle growth, inhibits steroidogenesis, and downregulates rate-limiting enzymes in the estradiol biosynthesis pathway," *Toxicological Sciences*, vol. 119, no. 1, pp. 209–217, 2011.
- [7] K. Rogers, "Bisphenol A," *Encyclopedia Britannica*, 2021. [Online]. Available: <https://www.britannica.com/science/bisphenol-A>
- [8] E. Ribeiro, C. Ladeira, and S. Viegas, "Occupational exposure to Bisphenol A (BPA): a reality that still needs to be unveiled," *Toxics*, vol. 5, no. 3, p. 22, 2017.
- [9] R. B. Gear and S. M. Belcher, "Impacts of Bisphenol A and ethanol estradiol on male and female CD-1 mouse spleen," *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, p. 856, 2017.
- [10] A. W. Suttie, "Histopathology of the spleen," *Toxicologic Pathology*, vol. 34, no. 5, pp. 466–503, 2006.
- [11] C. Y. Lee, S. A. Hyun, M. Y. Ko, H. R. Kim, J. Rho, K. K. Kim, and M. Ka, "Maternal Bisphenol A (BPA) exposure alters cerebral cortical morphogenesis and synaptic function in mice," *Cerebral Cortex*, vol. 31, no. 12, pp. 5598–5612, 2021.
- [12] Y. Zhou, Z. Wang, M. Xia, S. Zhuang, X. Gong, J. Pan, and S. Lu, "Neurotoxicity of low Bisphenol A (BPA) exposure for young male mice: Implications for children exposed to environmental levels of BPA," *Environmental Pollution*, vol. 229, pp. 40–48, 2017.
- [13] F. Catterall, J. M. Souquet, V. Cheynier, S. de Pascual-Teresa, C. Santos-Buelga, M. N. Clifford, and C. Ioannides, "Differential modulation of the genotoxicity of food carcinogens by naturally occurring monomeric and dimeric polyphenolics," *Environmental and Molecular Mutagenesis*, vol. 35, no. 2, pp. 86–98, 2000.
- [14] S. Eladak et al., "A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound," *Fertility and Sterility*, vol. 103, no. 1, pp. 11–21, 2015.
- [15] L. Jahodar, "Plants with hypoglycemic effects," *Gesk-Farm*, vol. 42, no. 6, pp. 251–259, 1993.
- [16] V. Kapcsándi, E. H. Lakatos, B. Sik, L. Á. Linka, and R. Székelyhidi, "Characterization of fatty acid, antioxidant, and polyphenol content of grape seed oil from different *Vitis vinifera* L. varieties," *OCL*, vol. 28, no. 6, pp. 1–6, 2021.
- [17] N. Hasona and T. Hussien, "Biochemical, histopathological and histochemical effects of *Vitis vinifera* L extract on acetic acid-induced colitis," *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, vol. 6, no. 4, pp. 351–356, 2017.



- [18] L. Fernandes, S. Casal, R. Cruz, J. A. Pereira, and E. Ramalhosa, "Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties," *Food Research International*, vol. 50, no. 1, pp. 161–166, 2013.
- [19] J. Michałowicz, "Bisphenol A – Sources, toxicity and biotransformation," *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 37, no. 2, pp. 738–758, 2014.
- [20] S. K. Suvarna, C. Layton, and J. D. Bancroft, *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, 8th ed. 2019, pp. 40–535.
- [21] E. Gurr, *Staining Animal Tissue: Practical and Theoretical*. London: Leonard Hill, 1962, pp. 548–552.
- [22] C. F. A. Culling, R. T. Allison, and W. T. Barr, *Cellular Pathology Technique*, 4th ed. London: Mid-County Press, 1985, pp. 135–159.
- [23] M. A. Al-Griw et al., "Therapeutic potential of vitamin D against bisphenol A-induced spleen injury in Swiss albino mice," *PLOS ONE*, vol. 18, no. 3, p. e0280719, 2023.

.

.