

Artikel Asli /Original Article

Bisfenol F Merubah Struktur Glomerulus Ginjal Tikus Sprague Dawley Jantan Melalui Mekanisme Tekanan Oksidatif

Bisphenol F Alter The Glomerulus Structure of Kidney in Male Sprague Dawley Rats via Oxidative Stress Mechanism

IZATUS SHIMA TAIB^{1,2*}, ASMA' AFIFAH SHAMHARI¹, NUR ERYSHA SABRINA JEFFERI¹,
MUHAMMAD HAIKAL AHMAD², KAVILAA GANASAN², ZARIYANTEY ABD HAMID^{1,2},
SITI BALKIS BUDIN^{1,2}

¹ Pusat Kajian Diagnostik, Terapeutik dan Penyiasatan (CODTIS), Fakulti Sains Kesihatan, Universiti Kebangsaan Malaysia, Jalan Raja Muda Abdul Aziz, 50300 Kuala Lumpur

² Program Sains Bioperubatan, Fakulti Sains Kesihatan, Universiti Kebangsaan Malaysia, Jalan Raja Muda Abdul Aziz, 50300 Kuala Lumpur

*Corresponding author; email: izatusshima@ukm.edu.my

Received date: 19 June 2025

Revised date: 23 August 2025

Accepted date: 10 September 2025

ABSTRAK

Kesan ketoksikan Bisfenol A (BPA) telah membawa kepada pengenalan Bisfenol F (BPF) sebagai pengganti BPA. Penggunaan BPF secara berleluasa ini menyebabkan BPF telah dikesan dalam urin manusia. Namun, sehingga kini tiada kajian melaporkan tentang kesan BPF terhadap ginjal. Oleh itu, kajian ini dilakukan untuk mengkaji kesan BPF terhadap ginjal tikus jantan Sprague Dawley dengan menilai status tekanan oksidatif, sodium-potasium ATPase (Na^+/K^+), dan pemerhatian histologi. Sebanyak 28 ekor tikus jantan Sprague Dawley dibahagikan kepada empat kumpulan (7 ekor setiap kumpulan) iaitu kumpulan kawalan yang diberikan 1 mg/kg minyak jagung, kumpulan BPF1, BPF5 dan BPF10 masing-masing diberikan BPF pada dos 1, 5 dan 10 mg/kg selama 60 hari. Di akhir kajian, tikus dikorbankan dan ginjal tikus diambil untuk analisa tekanan oksidatif, penentuan ATPase natrium kalium (Na^+/K^+) dan pemerhatian histologi. Hasil kajian menunjukkan BPF menyebabkan aras glutathione (GSH) kumpulan BPF5 dan BPF10 lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan kawalan ($p < 0.05$). Kumpulan BPF10 menunjukkan aktiviti superoksida dismutase (SOD) yang lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan BPF1 ($p < 0.05$). Tiada perbezaan yang signifikan antara kumpulan kajian bagi aktiviti Na^+/K^+ ATPase. Pemerhatian histologi menunjukkan struktur glomerulus yang lebih kecil pada kumpulan BPF10 berbanding kumpulan kawalan. Tiada perbezaan yang signifikan diperhatikan pada struktur tubul distal dan proksimal. Kesimpulannya, pendedahan BPF pada dos 10 mg/kg secara berterusan telah menyebabkan perubahan pada struktur glomerulus melalui mekanisme tekanan oksidatif.

Kata Kunci: Bisfenol, glomerulus, sodium-potasium ATPase, tubul proksimal, tubul distal.

ABSTRACT

The toxicity effects of Bisphenol A (BPA) have led to the introduction of Bisphenol F (BPF) as a substitute for BPA. The widespread replacement has resulted in the detection of BPF in human urine. However, to date, there have been no studies reporting on the effects of BPF on the kidneys. Therefore, this study was conducted to investigate the effects of BPF on the kidneys of male Sprague Dawley rats by evaluating the oxidative stress status, sodium-potassium ATPase (Na^+/K^+), and histological observations. A total of 28 male Sprague Dawley rats were divided into four groups (seven rats per group): a control group given 1 mg/kg corn oil, and three groups (BPF1, BPF5, and BPF10) given BPF at doses of 1, 5, and 10 mg/kg for 60 days. At the end of the study, the rats were sacrificed, and their kidneys were collected for analyses of oxidative stress, determination of sodium-potassium ATPase (Na^+/K^+), and histological observations. The results showed that BPF caused significantly higher levels of glutathione (GSH) in the BPF5 and BPF10 groups compared to the control group ($p < 0.05$). BPF10 caused significantly higher in superoxide dismutase (SOD) activity compared to BPF1 ($p < 0.05$). No significant differences were observed between the study groups for Na^+/K^+ ATPase activity. Histological observations

indicated shrinkage of glomerular structures in the BPF10 group compared to the control group. No significant differences were noted in the structure of distal and proximal tubules. In conclusion, repeated exposure to BPF at a dose of 10 mg/kg has caused changes in glomerular structure through oxidative stress mechanisms.

Keywords: Bisphenol, glomerulus, sodium-potassium ATPase, proximal tubule, distal tubule.

PENGENALAN

Bisfenol A (BPA) merupakan bahan kimia perindustrian yang digunakan dalam pengeluaran plastik polikarbonat dan resin epoksi khususnya dalam pembuatan bekas minuman dan makanan, lapisan dalaman tin logam serta alat permainan kanak-kanak (Bousoumah et al. 2021). Penggunaannya yang meluas telah menyebabkan BPA dikesan di persekitaran dan turut dikesan dalam sampel biologi manusia (Liu et al. 2021). BPA telah dikategorikan sebagai bahan kimia pengganggu endokrin (EDC), iaitu bahan yang menyebabkan gangguan pada sistem endokrin manusia. BPA berupaya mengganggu dan menghalang ikatan antara hormon dengan reseptornya, bertindak secara mimik kepada hormon endokrin serta mengakibatkan hormon androgen yang berlebihan dalam badan manusia (Hafezi & Abdel-Rahman 2019). Oleh itu, BPA telah menyebabkan kesan ketoksikan pada manusia seperti yang dilaporkan dalam kajian terdahulu.

Disebabkan kesan ketoksikan BPA yang semakin membimbangkan, pihak industri pembuatan telah mengambil inisiatif untuk mencari pengganti BPA berdasarkan struktur induknya yang dikenali sebagai analog BPA. Analog BPA adalah bahan yang mempunyai persamaan struktur dan fungsi dengan BPA tetapi komposisi kimia yang berbeza (Trullemans et al. 2021). Analog BPA ini mempunyai ciri-ciri BPA yang diingini seperti rintangan haba dan daya tahan yang kuat. Bisfenol F (BPF) merupakan antara analog BPA yang paling banyak digunakan bagi menggantikan BPA, terutamanya dalam industri pembuatan makanan. BPF digunakan dengan meluas dalam pengeluaran plastik, resin, tin makanan, resit kertas terma, dan tin minuman ringan (Santonicola et al. 2021).

BPF telah ditemui dalam sampel persekitaran seperti tanah, sedimen, cecair kumbahan, serta dalam urin orang dewasa dan kanak-kanak pada kepekatan yang tinggi. Jumlah BPF dalam urin bertindak sebagai penanda biologi terhadap tahap pendedahan BPF. Selain daripada urin, BPF juga telah ditemui dalam serum manusia, plasenta dan darah tali pusat (Lehmle et al. 2018). Malahan, BPF turut dikesan dalam urin kanak-kanak berumur 6 tahun (Lee et al. 2022). BPF berkemungkinan mempunyai mekanisme ketoksikan yang sama seperti BPA. Walau bagaimanapun, kesan ketoksikan BPF tidak diketahui dengan sepenuhnya kerana bahan ini serta metabolitnya belum dikaji dengan terperinci. Memandangkan BPF dijumpai

dalam urin manusia (Wang et al. 2019), metabolisme dan perkumuhan BPF adalah penting untuk dikaji.

Organ perkumuhan utama manusia iaitu ginjal merupakan organ yang berpotensi sebagai sasaran EDC seperti BPA. BPA mampu mengganggu fungsi ginjal dan mengakibatkan fibrosis ginjal dan kerosakan pada glomerulus dan tubul ginjal seterusnya menyebabkan tekanan oksidatif ginjal (Yoo et al. 2022). Hal ini boleh menyebabkan kerosakan ginjal akibat pendedahan secara berterusan kepada BPA (Kobroob et al. 2018). Ginjal adalah organ yang bertanggungjawab dalam metabolisme dan perkumuhan bahan buangan dan metabolit oleh unit berfungsinya iaitu nefron. Nefron terdiri daripada glomerulus dan tubul yang masing-masing bertanggungjawab dalam proses filtrasi dan serapan semula air dan bahan terlarut. Proses penyerapan semula air dan bahan terlarut memerlukan bantuan pam sodium-potassium ATPase (Na^+/K^+ ATPase) (Clemente-Suárez et al. 2023). Namun begitu, sehingga ke hari ini tiada kajian yang melaporkan tentang kesan BPF terhadap ginjal walaupun bahan ini telah dikesan dalam urin manusia. Oleh itu, kajian ini dijalankan untuk menilai kesan BPF terhadap ginjal selepas 60 hari pendedahan secara berterusan.

METODOLOGI KAJIAN

BAHAN KIMIA

Bisfenol F (SUP-51453-100 mg) dengan ketulenan 98% dan serbuk kolesterol telah dibeli daripada Sigma-Aldrich, Amerika Syarikat. Bahan kimia lain yang digunakan dalam kajian ini diperolehi daripada MERCK, Jerman, manakala lilin parafin diperolehi daripada Leica Biosystem Richmond, Inc., Jerman. Untuk pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E), serbuk Eosin Y dan Hematoksilin dibeli daripada Acros Organics™, Belgium. BPF seterusnya dilarutkan dalam minyak jagung untuk menghasilkan kepekatan 10 mg/kg, yang digunakan sebagai larutan stok. Larutan stok ini kemudian dicairkan untuk mendapatkan kepekatan 1 mg/kg dan 5 mg/kg. Pemilihan dos dalam kajian ini dipilih berdasarkan $\frac{1}{2}$ dos lowest-observed-adverse-effect level (LOAEL) iaitu 10 mg/kg (Higashihara et al. 2007) dan $\frac{1}{2}$ dos no-observed-adverse-effect level (NOAEL) iaitu 1 mg/kg (Lee et al. 2022). Pemilihan dos 5 mg/kg pula dipilih berdasarkan dos julat pertengahan bagi dos 10 mg/kg yang dianggarkan

memberi kesan yang lebih teruk berbanding dos 1 mg/kg.

REKA BENTUK KAJIAN

Tikus jantan Sprague Dawley (n=28) dengan berat antara 230-250 g telah digunakan dalam kajian ini dan dibeli daripada syarikat tempatan, A Sapphire Enterprise, Malaysia. Setiap ekor tikus diletakkan dalam sangkar plastik berlabel bebas BPA secara berasingan dengan kitaran cahaya 12 jam cerah/gelap pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum* sepanjang tempoh kajian. Tikus telah diambil seminggu lebih awal untuk tujuan aklimatisasi. Pengendalian tikus ini telah mendapat kebenaran dan kelulusan daripada Unit Etika Haiwan, Fakulti Perubatan, Universiti Kebangsaan Malaysia (FSK/2022/IZATUS-SHIMA/25-MAY/1250-MAY-2022-SEPT.-2023).

Tikus dibahagikan secara rawak kepada empat kumpulan kajian (n=7 bagi setiap kumpulan): kumpulan kawalan (minyak jagung 1 ml/kg berat badan), BPF1 (larutan BPF 1 mg/kg berat badan), BPF5 (larutan BPF 5 mg/kg berat badan), dan BPF10 (larutan BPF 10 mg/kg berat badan). Semua bahan diberikan secara oral secara paksa setiap hari selama 60 hari. Pada akhir kajian, tikus dikorbankan menggunakan kombinasi ketamin/xylazine/atropin pada dos 60/12/0.6 mg/kg melalui suntikan intraperitoneal (i.p.) (dos berlebihan). Seterusnya, ginjal diambil dan disimpan dalam peti sejuk beku bersuhu -80°C dan dalam formalin untuk analisis tekanan oksidatif, termasuk aras glutathione (GSH), aktiviti superoksida dismutase (SOD), dan aras malondialdehid (MDA), serta untuk penentuan aktiviti ATPase natrium kalium (Na^+/K^+) dan pemerhatian histologi menggunakan pewarnaan Hematoksin dan Eosin (H&E).

STATUS TEKanan OKSIDATIF

Ginjal dinyahbeku pada suhu bilik dan ditimbang sebelum larutan salin normal ditambah dalam nisbah 1 : 9 (g tisu/ml salin normal). Ginjal dihomogenat dan diemparkan pada kelajuan 10,000 x g pada suhu 4°C selama 10 minit. Supernatan diasingkan untuk analisa GSH, SOD dan MDA masing-masing menggunakan kaedah oleh Ellman (1959), Beyer & Fridovich (1987) dan Stocks & Dormandy (1971). Kesemua hasil tindak balas diukur secara kolorimetrik menggunakan spektrofotometer.

PENENTUAN AKTIVITI NATRIUM KALIUM ATPase

Pengukuran aras Natrium Kalium ATPase dilakukan dengan menggunakan kit asai immunojerapan berpaut enzim komersil atau *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) yang diperolehi daripada syarikat Elabscience. Aktiviti natrium kalium ATPase diukur

dengan menentukan aras fosforus, iaitu salah satu bahan yang terhasil akibat penguraian ATP semasa aktiviti natrium kalium ATPase. Hasil tindak balas diukur pada panjang gelombang 660 nm. Graf piawai nilai penyerapan melawan kepekatan piawai fosforus diplot untuk penentuan aktiviti natrium kalium ATPase.

PEMERHATIAN HISTOLOGI

Tisu ginjal yang telah difiksasi diambil dan diproses terlebih dahulu menggunakan mesin automasi pemprosesan tisu sebelum dibenamkan ke dalam blok parafin. Proses pemprosesan tisu melibatkan tiga peringkat yang dimulakan dengan dehidrasi menggunakan siri kepekatan alkohol (50%, 70%, 100%, 100%, 100%), pembersihan menggunakan campuran etanol dan xilena (1:1), serta xilena, dan impregnasi dengan lilin parafin. Selepas itu, sampel tisu dibenamkan ke dalam acuan pembenam dengan lilin parafin panas dan dibekukan untuk membentuk blok tisu. Blok tisu tersebut dipotong pada ketebalan 4 μm sebelum diwarnakan dengan pewarnaan H&E. Akhirnya, tisu histologi diperhatikan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 40X dengan skala 20 μm . Sebanyak 50 glomerulus, tubul proksimal dan tubul distal diukur diameter dan ketebalan epitelium untuk setiap kumpulan kajian. Setiap pengukuran diulang sebanyak tiga kali bagi mendapatkan nilai purata. Pemerhatian histologi ini telah disemak dan disahkan oleh pakar histopatologi.

ANALISIS STATISTIK

Semua ujian dilakukan secara duplikat, dan nilai purata dianalisis menggunakan ujian statistik melalui The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versi 27. Normaliti data diuji menggunakan ujian Shapiro-Wilk, dan hasilnya menunjukkan bahawa data yang diperoleh adalah normal. Oleh itu, analisis dilakukan menggunakan ujian parametrik, iaitu analisis varian sehala (one-way ANOVA). Data yang menunjukkan nilai signifikan kemudiannya dianalisis menggunakan ujian post hoc Tukey. Kesemua data diekspresikan dalam bentuk purata $\pm$ SEM dan dianggap signifikan jika $p < 0.05$.

HASIL KAJIAN

STATUS TEKanan OKSIDATIF

Rajah 1, 2 dan 3 masing-masing menunjukkan aras GSH, aktiviti SOD dan aras MDA ginjal tikus bagi semua kumpulan kajian. Hasil kajian menunjukkan aras GSH bagi kumpulan BPF5 (0.110 ± 0.0066) $\mu\text{mol/mg}$ dan BPF10 (0.108 ± 0.0031) $\mu\text{mol/mg}$ adalah lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan kawalan (0.082 ± 0.0038) $\mu\text{mol/mg}$

($p < 0.05$). Tiada perbezaan yang signifikan diperhatikan bagi kumpulan BPF1 (0.094 ± 0.0063) $\mu\text{mol/mg}$ dengan semua kumpulan kajian.

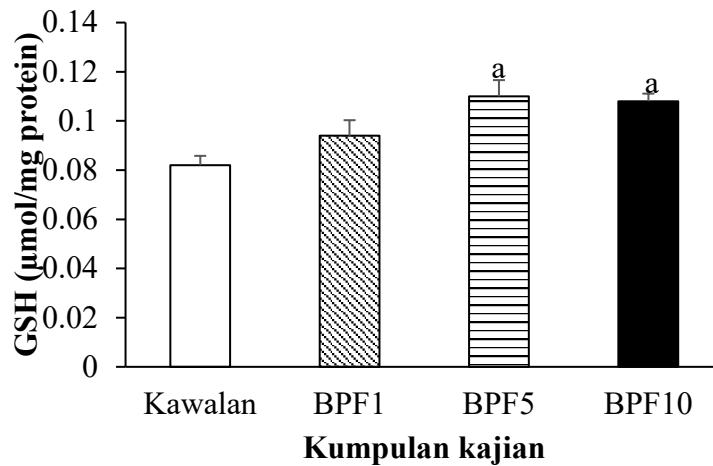
Malahan, aktiviti SOD turut menunjukkan nilai yang lebih tinggi secara signifikan bagi kumpulan BPF10 (0.643 ± 0.0284) U/min/g berbanding kumpulan kawalan (0.454 ± 0.0264) U/min/g ($p < 0.05$). Tiada perbezaan yang signifikan diperhatikan bagi kumpulan BPF1 (0.437 ± 0.0434) U/min/g dan BPF5 (0.513 ± 0.0377) U/min/g dengan semua kumpulan kajian.

Aras MDA bagi kumpulan kawalan ialah (1.768 ± 0.1608) $\mu\text{mol/g}$ protein, kumpulan BPF1 ialah (1.767 ± 0.0924) $\mu\text{mol/g}$ protein, kumpulan BPF5 ialah (1.611 ± 0.1994) $\mu\text{mol/g}$ protein dan BPF10 ialah (2.147 ± 0.3269) $\mu\text{mol/g}$ protein. Namun, tiada

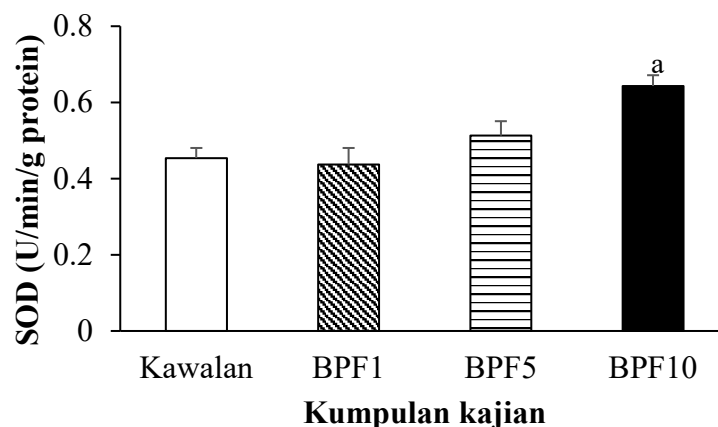
perbezaan yang signifikan diperhatikan pada aras MDA antara semua kumpulan kajian.

PENENTUAN AKTIVITI NATRIUM KALIUM ATPase

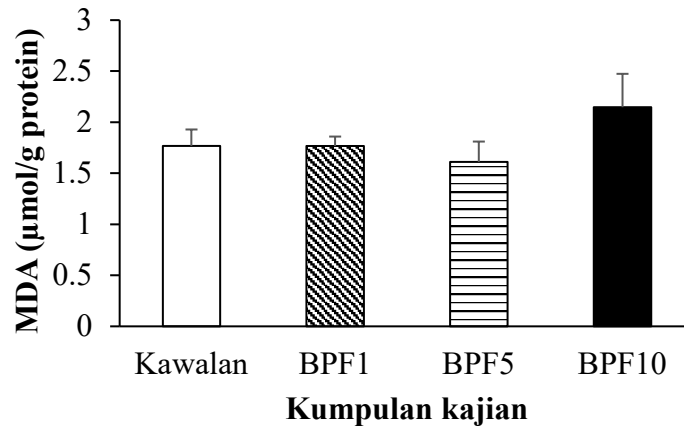
Rajah 4 menunjukkan aktiviti Na^+/K^+ ATPase ginjal tikus bagi semua kumpulan kajian. Hasil kajian menunjukkan tiada perbezaan yang signifikan bagi aktiviti Na^+/K^+ ATPase antara semua kumpulan kajian dengan purata nilai bagi setiap kumpulan adalah kawalan (4.39 ± 0.49) $\mu\text{mol Pi/mg/jam}$, kumpulan BPF1 (5.78 ± 0.92) $\mu\text{mol Pi/mg/jam}$, kumpulan BPF5 (6.32 ± 0.83) $\mu\text{mol Pi/mg/jam}$, dan kumpulan BPF10 (6.66 ± 0.89) $\mu\text{mol Pi/mg/jam}$



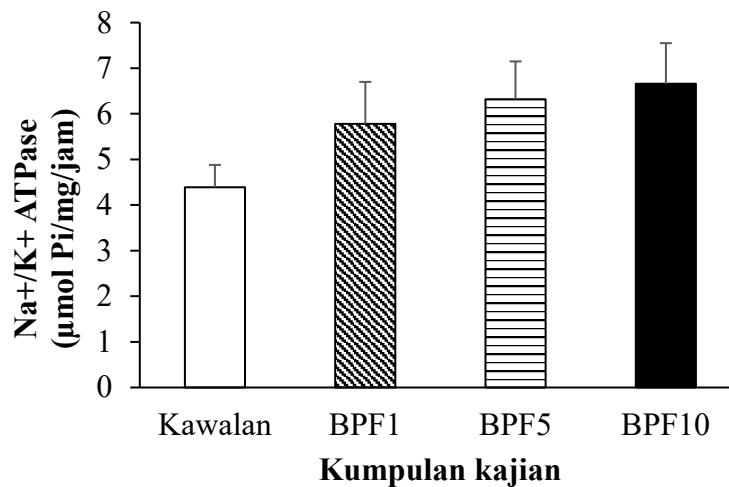
RAJAH 1 Perbandingan aras GSH ginjal tikus antara kumpulan kajian ($n=7$). Setiap data dinyatakan dalam purata $\pm$ SEM. a: Signifikan berbanding kumpulan kawalan ($p < 0.05$)



RAJAH 2 Perbandingan aktiviti SOD ginjal tikus antara kumpulan kajian ($n=7$). Setiap data dinyatakan dalam purata $\pm$ SEM. a: Signifikan berbanding kumpulan kawalan ($p < 0.05$)



RAJAH 3 Perbandingan aras MDA ginjal tikus antara kumpulan kajian (n=7).
Setiap data dinyatakan dalam purata $\pm$ SEM.



RAJAH 4 Perbandingan aktiviti Na+/K+ ATPase ginjal tikus antara kumpulan kajian (n=7).
Setiap data dinyatakan dalam purata $\pm$ SEM.

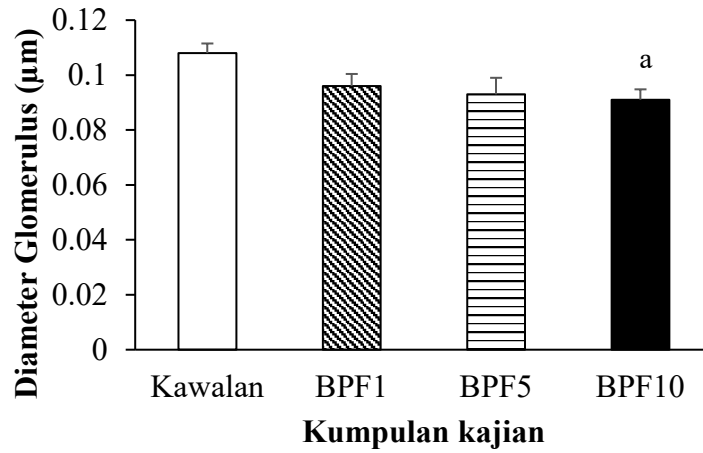
PEMERHATAN HISTOLOGI

Rajah 5 menunjukkan purata diameter saiz glomerulus ginjal tikus bagi semua kumpulan kajian. Kumpulan BPF10 (0.091 ± 0.0038) μm menunjukkan diameter glomerulus yang lebih kecil secara signifikan berbanding kumpulan kawalan (0.108 ± 0.0035) μm ($p < 0.05$). Tiada perbezaan yang signifikan diperhatikan bagi kumpulan BPF1 (0.096 ± 0.0044) μm dan BPF5 (0.093 ± 0.006) μm dengan semua kumpulan kajian.

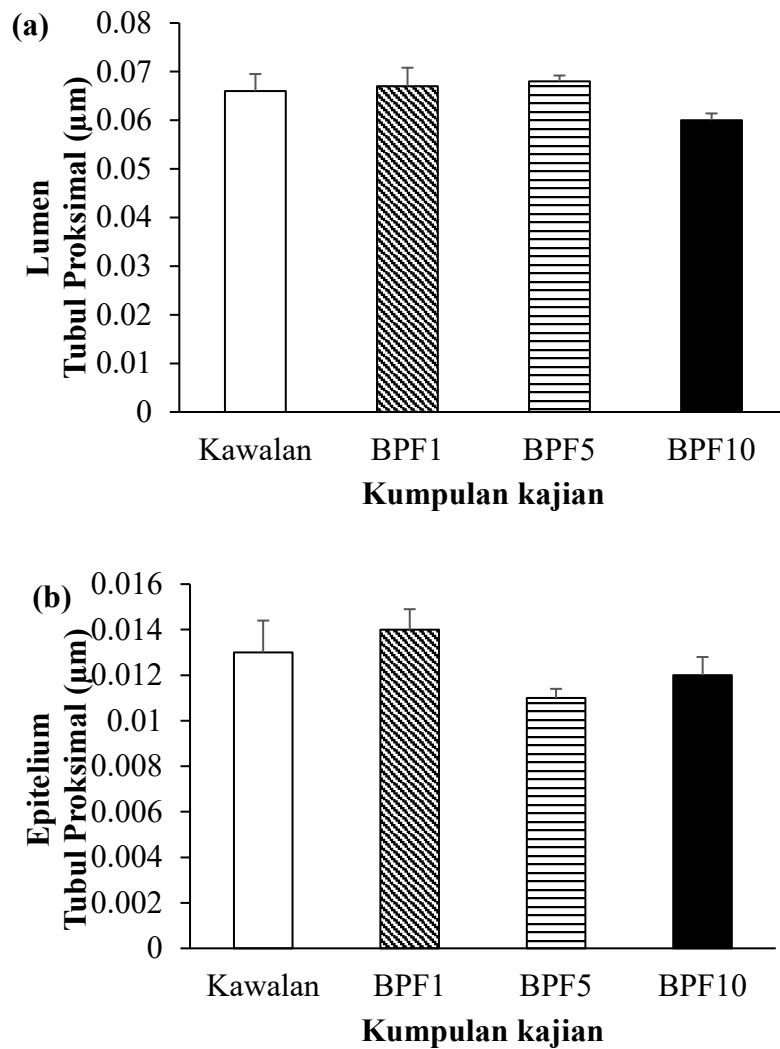
Rajah 6 menunjukkan purata diameter tubul proksimal ginjal tikus bagi semua kumpulan kajian. Purata diameter lumen tubul proksimal kumpulan kawalan ialah (0.066 ± 0.0035) μm , kumpulan BPF1 ialah (0.067 ± 0.0038) μm , kumpulan BPF5 ialah (0.068 ± 0.0012) μm , dan kumpulan BPF10 ialah (0.060 ± 0.0014) μm . Tiada perbezaan yang signifikan diperhatikan pada diameter lumen tubul proksimal antara semua kumpulan kajian (Rajah 6(a)). Rajah 6(b) menunjukkan purata ketebalan epitelium tubul proksimal ginjal tikus kajian. Purata

ketebalan epitelium tubul proksimal kumpulan kawalan ialah (0.013 ± 0.0014) μm , kumpulan BPF1 ialah (0.014 ± 0.0009) μm , kumpulan BPF5 ialah (0.011 ± 0.0004) μm , dan kumpulan BPF10 ialah (0.012 ± 0.0008) μm . Tiada perbezaan yang signifikan diperhatikan pada ketebalan epitelium tubul proksimal antara semua kumpulan kajian.

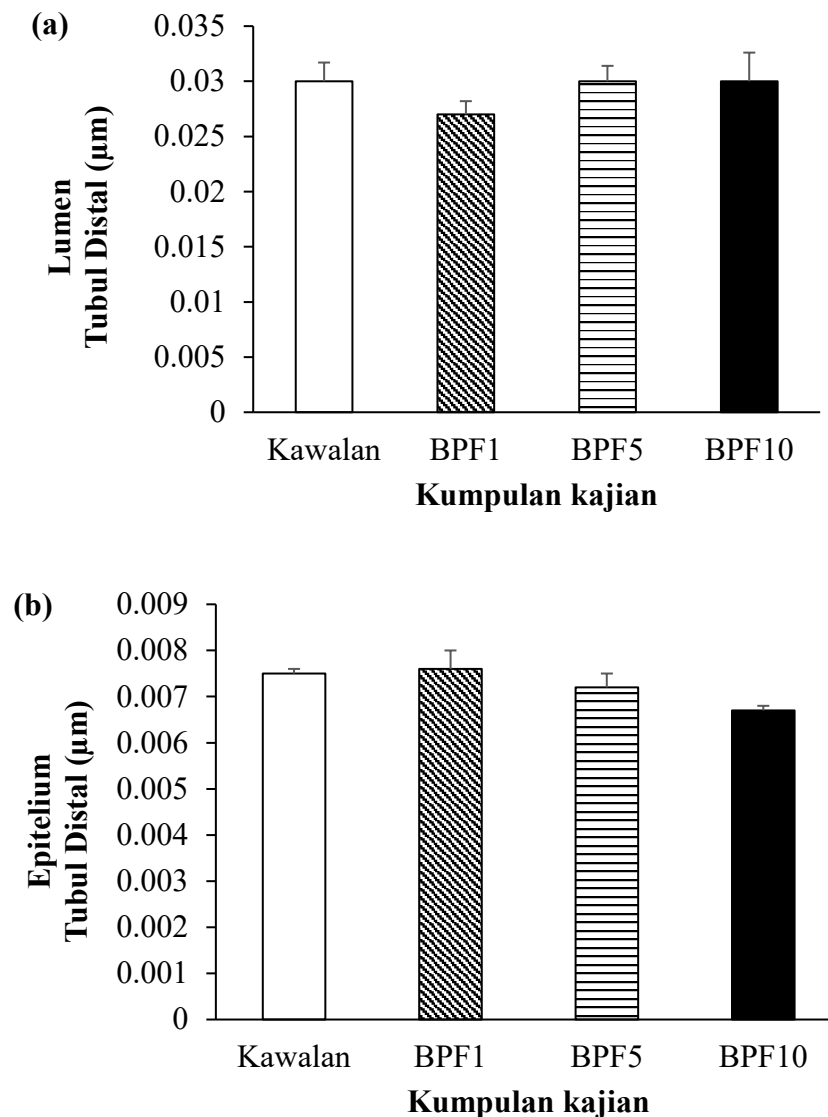
Rajah 7 menunjukkan purata diameter tubul distal ginjal tikus bagi semua kumpulan kajian. Purata diameter lumen tubul distal kumpulan kawalan ialah (0.030 ± 0.0017) μm , kumpulan BPF1 ialah (0.027 ± 0.0012) μm , kumpulan BPF5 ialah (0.030 ± 0.0014) μm , dan kumpulan BPF10 ialah (0.030 ± 0.0026) μm . Tiada perbezaan yang signifikan diperhatikan pada diameter lumen tubul distal antara semua kumpulan kajian (Rajah 6(a)). Rajah 6(b) menunjukkan purata ketebalan epitelium tubul distal ginjal tikus kajian. Purata ketebalan epitelium tubul distal kumpulan kawalan ialah (0.0075 ± 0.0001) μm , kumpulan BPF1 ialah



RAJAH 5 Perbandingan diameter glomerulus ginjal tikus antara kumpulan kajian (n=7). Setiap data dinyatakan dalam purata $\pm$ SEM. a: Signifikan berbanding kumpulan kawalan ($p < 0.05$)



RAJAH 6 Perbandingan tubul proksimal ginjal tikus antara kumpulan kajian (n=7). (a) Diameter lumen tubul proksimal; (b) Ketebalan epitelium tubul proksimal. Setiap data dinyatakan dalam purata $\pm$ SEM.



RAJAH 7 Perbandingan tubul distal ginjal tikus antara kumpulan kajian (n=7). (a) Diameter lumen tubul distal; (b) Ketebalan epitelium tubul distal. Setiap data dinyatakan dalam purata $\pm$ SEM.

0.0076 $\pm$ 0.0004) μ m, kumpulan BPF5 ialah (0.0072 $\pm$ 0.0003) μ m, dan kumpulan BPF10 ialah (0.0067 $\pm$ 0.0001) μ m. Tiada perbezaan yang signifikan diperhatikan pada ketebalan epitelium tubul distal antara semua kumpulan kajian.

Pemerhatian histologi ginjal tikus kajian menggunakan mikroskop cahaya ditunjukkan pada Rajah 8. Histologi glomerulus serta tubul proksimal dan distal kumpulan kawalan menunjukkan struktur yang normal. Tikus kumpulan BPF10 menunjukkan saiz glomerulus yang lebih kecil berbanding kumpulan kawalan. Histologi tubul proksimal dan distal tikus aruhan BPF menunjukkan struktur yang masih normal seperti kumpulan kawalan.

PERBINCANGAN

Penggunaan BPF secara meluas telah menyebabkan bahan kimia ini ditemui di persekitaran termasuklah dalam urin manusia (Bousoumah et al. 2021; Liu et al. 2021). Ini menunjukkan ginjal berpotensi menjadi salah satu organ sasaran BPF. Oleh itu, data awalan kesan BPF terhadap ginjal telah dilakukan dengan menilai status tekanan oksidatif, aktiviti Na⁺/K⁺ ATPase serta morfologi ginjal selepas pendedaannya secara berturutan selama 60 hari. Pendedahan berterusan sesuatu bahan xenobiotik boleh menyebabkan berlakunya peningkatan penghasilan spesis oksigen reaktif (ROS) yang akhirnya mengganggu sistem pertahanan antioksidan (Garcia-Caparrós et al. 2021). Keadaan ini seterusnya akan menyebabkan berlakunya tekanan oksidatif yang boleh menyebabkan kerosakan struktur ginjal. Pemberian BPF secara berterusan dalam kajian ini menggambarkan pendedahan yang berlaku dalam kehidupan seharian

manusia dengan anggaran dos sebanyak ~1.6 mg/kg/hari. Dos pendedahan ini dikira berdasarkan peratus BPF yang boleh disingkirkan melalui urin sebanyak ~54%. Oleh itu, berdasarkan pengiraan, dos 1.6 mg/kg pada manusia adalah bersamaan 10 mg/kg tikus kajian.

Hasil kajian mendapati BPF pada dos 10 mg/kg telah menyebabkan aras GSH dan aktiviti SOD yang lebih tinggi secara signifikan berbanding kawalan, namun tidak menyebabkan perbezaan pada aras MDA. Hasil kajian ini tidak selari dengan kajian terdahulu yang mana pendedahan BPA pada dos 50 mg/kg/sehari selama 5 minggu secara suntikan intraperitoneal telah menyebabkan penurunan aras GSH dan aktiviti SOD serta peningkatan aras MDA ginjal tikus kajian (Kobroob et al. 2018). Kajian yang dijalankan oleh Ishtiaq et al. (2022) turut menunjukkan BPA pada dos 10 mg/kg telah menyebabkan penurunan pada aras GSH dan aktiviti SOD serta peningkatan aras MDA ginjal tikus kajian selepas 56 hari pendedahannya. Perbezaan hasil penemuan ini mungkin disebabkan oleh perbezaan cara pemberian BPA serta dos yang digunakan adalah lebih tinggi berbanding dos kajian. Peningkatan aras GSH dan aktiviti SOD serta tiada pembentukan peroksidasi lipid pada ginjal tikus kajian aruhan BPF menunjukkan tekanan oksidatif yang berlaku adalah pada peringkat permulaan. Ini mungkin menunjukkan berlakunya kompensasi mekanisme pertahanan antioksidan pada ginjal tikus kajian.

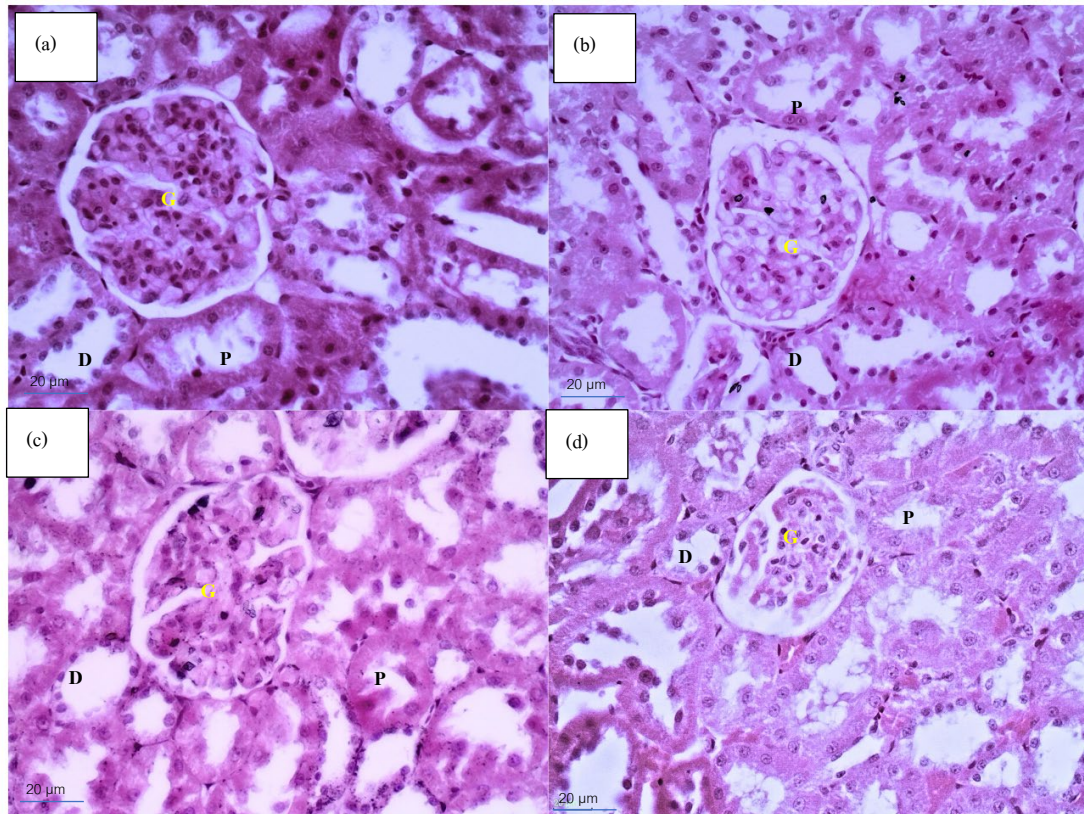
Pendedahan BPF secara berterusan turut dilaporkan menyebabkan berlakunya peningkatan ROS (Shamhari et al. 2021). Ketidakseimbangan antara ROS dan pertahanan antioksidan telah menyebabkan tekanan oksidatif dan seterusnya boleh menyebabkan kerosakan ginjal. Unit berfungsi ginjal yang dikenali sebagai nefron terdiri daripada glomerulus dan tubul. Antara fungsi utama nefron adalah penyerapan semula air dan ion ke dalam saluran darah serta rembesan sisa toksik dan ion ke dalam urin. Kedua-dua proses ini dilakukan oleh Na⁺/K⁺ ATPase yang mempunyai kepekatan yang tinggi pada ginjal, terutamanya tubul proksimal dan tubul distal (Schwartz & Rashid 2021). Hasil kajian menunjukkan tiada perbezaan yang signifikan antara semua kumpulan kajian bagi aktiviti Na⁺/K⁺ ATPase. Hal ini bercanggah dengan keputusan kajian oleh Yoo et al. (2022) yang mendapati bahawa BPA mampu mengganggu fungsi ginjal dan mengurangkan pengekspresan Na⁺/K⁺ ATPase pada tubul ginjal tikus progeni Sprague Dawley. Dalam kajian ini, Yoo et al (2022) telah memberikan sebanyak 250 mg/kg BPA secara oral kepada tikus neonatal dari hari ketujuh sehingga hari ke-21. Penyelidik terdahulu menunjukkan terdapat pengurangan pengekspresan Na⁺/K⁺ ATPase selepas pendedahan kepada BPA dalam jangka masa yang panjang (Yoo et al. 2022). Satu lagi kajian oleh Macczak et al. (2017) membandingkan kesan BPA,

bisfenol S (BPS), BPF dan bisfenol AF (BPAF) terhadap nilai ATP dan Na⁺/K⁺ ATPase pada membran sel darah merah manusia. BPA dan analognya mampu mengurangkan aktiviti Na⁺/K⁺ ATPase dan tahap ATP intraselular pada sel darah merah dengan signifikan selepas terdedah kepada BPA dan analognya pada kepekatan 0.1 hingga 25 µg/mL. BPAF dan BPA mempunyai keupayaan yang lebih tinggi untuk mengurangkan aktiviti Na⁺/K⁺ ATPase. Bagi BPF pula, kepekatan yang tinggi diperlukan untuk mengurangkan aktiviti Na⁺/K⁺ ATPase secara signifikan (Macczak et al. 2017). Hal ini mungkin menjelaskan keputusan kajian yang menunjukkan tiada perbezaan signifikan terhadap aktiviti Na⁺/K⁺ ATPase pada ginjal antara semua kumpulan kajian dengan aruhan BPF.

Aktiviti Na⁺/K⁺ ATPase yang tidak berubah turut ditunjukkan melalui pemerhatian dan pengukuran histologi struktur tubul proksimal dan distal. Kajian oleh Bosch-Panadero et al. (2018) menunjukkan BPA mengakibatkan kecederaan mitokondria dan menyebabkan kematian pada sel tubul selepas pendedahan secara akut dan kronik. Pada tahap akut, viabiliti tubul proksimal didapati menurun dengan ketara selepas pendedahan BPA pada kepekatan yang tinggi iaitu ≥50 µM sementara pada tahap kronik, pendedahan BPA pada dos yang lebih rendah selama 7 hari menunjukkan tubul proksimal kehilangan sedikit viabiliti yang tidak boleh dikesan melalui pemerhatian histologi sahaja (Bosch-Panadero 2018). Pendedahan jangka panjang BPF pada dos yang rendah mungkin telah menyebabkan perubahan nanomolar pada sel tubul ginjal namun tidak dapat dilihat melalui pemerhatian histologi. Selain itu, pendedahan BPF turut menyebabkan berlakunya pengecutan pada struktur glomerulus tikus kajian. Pemberian BPA secara kombinasi dengan plumbum dan endosulfan telah menyebabkan glomerulus mengecil pada tikus jantan albino Wistar melalui mekanisme tekanan oksidatif (Dökmeci et al. 2022). Ini mungkin menerangkan pengecutan glomerulus pada tikus kajian akibat aruhan BPF adalah disebabkan oleh peningkatan pembentukan ROS dalam ginjal tikus kajian.

KESIMPULAN

Pemberian BPF pada dos 10 mg/kg telah menyebabkan berlakunya tekanan oksidatif pada ginjal tikus kajian. Selain itu, BPF tidak menyebabkan gangguan pada aktiviti Na⁺/K⁺ ATPase ginjal tikus kajian. Namun begitu, BPF telah menyebabkan pengecutan struktur glomerulus tikus kajian yang diaruh BPF pada dos 10 mg/kg.



RAJAH 8 Histologi ginjal tikus kumpulan kajian di bawah pembesaran X40 dengan skala: 20 µm menggunakan mikroskop cahaya. (a) Kumpulan kawalan; (b) Kumpulan BPF1; (c) Kumpulan BPF5; (d) Kumpulan BPF10. Glomerulus (G) kumpulan kawalan, BPF1 dan BPF5 menunjukkan struktur yang normal yang dicirikan dengan struktur kapilari yang kompleks dan saiz kapsul Bowman yang normal. Glomerulus (G) kumpulan BPF10 menunjukkan pengecutan seperti yang ditunjukkan dengan tanda*. Tubul proksimal (P) untuk semua kumpulan tidak menunjukkan sebarang perubahan yang dicirikan dengan lapisan epitelium yang bersilia menjadikan lumen kurang jelas (P). Tubul distal (D) untuk semua kumpulan tidak menunjukkan sebarang perubahan yang dicirikan dengan lapisan epitelium yang tidak bersilia menjadikan lumen lebih luas (D).

Tiada perubahan dikesan pada tubul proksimal dan distal. Oleh itu, pengecutan struktur glomerulus adalah disebabkan oleh peningkatan ROS pada ginjal tikus aruhan BPF. Kajian seterusnya perlu dilakukan bagi menilai fungsi ginjal dengan mengukur aras kreatinin dan urea serta kadar filtrasi glomerulus dalam tikus aruhan BPF.

PENGHARGAAN

Setinggi-tinggi penghargaan diucapkan kepada Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM) atas geran universiti penyelidikan, GUP-2022-053. Sekalung penghargaan juga turut ditujukan kepada kakitangan program Sains Bioperubatan dan Pusat Kajian Diagnostik, Terapeutik dan Penyiasatan (CODTIS), Fakulti Sains Kesihatan, UKM yang telah banyak

membantu dalam kajian ini sama ada secara langsung atau tidak langsung.

RUJUKAN

- Beyer, W. F. & Fridovich, I. 1987. Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions . *In Analytical Biochemistry*. Vol. 161.
- Bosch-Panadero, E., Mas, S., Civantos, E., Abaigar, P., Camarero, V., Ruiz-Priego, A., Ortiz, A., Egido, J. & Gonzalez-Parra, E. 2018. Bisphenol A is an exogenous toxin that promotes mitochondrial injury and death in tubular cells. *Environ Toxicol* 33(3): 325-332.
- Bousoumah, R., Leso, V., Iavicoli, I., Huuskonen, P., Viegas, S., Porras, S.P., Santonen, T.,

- Frery, N., Robert, A. & Ndaw, S. 2021. Biomonitoring of occupational exposure to bisphenol A, bisphenol S and bisphenol F: A systematic review. *Science of the Total Environment* 783: 146905.
- Clemente-Suárez, V.J., Martín-Rodríguez, A., Redondo-Flórez, L., Villanueva-Tobaldo, C.V., Yáñez-Sepúlveda, R. & Tornero-Aguilera, J.F., 2023. Epithelial Transport in Disease: An Overview of Pathophysiology and Treatment. *Cells* 12(20): 2455.
- Dökmeci, A. H., Karaboğa, İ., Güzel, S., Erboğa, Z. F. & Yılmaz, A. 2022. Toxicological assessment of low-dose bisphenol A, lead and endosulfan combination: chronic toxicity study in male rats. *Environmental Science and Pollution Research* 29(7):10558–10574.
- Ellman G. Tissue sulphhydryl group. *Archives of Biochem Biophys* 32: 70–77.
- Garcia-Caparrós, P., De Filippis, L., Gul, A., Hasanuzzaman, M., Oztürk, M., Altay, V. & Lao, M.T. 2021. Oxidative stress and antioxidant metabolism under adverse environmental conditions: a review. *The Botanical Review* 87: 421-466.
- Hafezi, S. A. & Abdel-Rahman, W. M. 2019. The Endocrine Disruptor Bisphenol A (BPA) Exerts a Wide Range of Effects in Carcinogenesis and Response to Therapy. *Curr Mol Pharmacol* 12(3): 230-238.
- Ishtiaq, A., Ijaz, M.U., Ehsan, N., Imran, M., Naz, H., Alvi, K. & Zhu, G. 2022. Therapeutic Effect of Oroxylin A Against Bisphenol A-induced Kidney Damage in Rats: a Histological and Biochemical Study. *Pakistan Veterinary Journal* 42(4).
- Kobroob, A., Peerapanyasut, W., Chattipakorn, N. & Wongmekiat, O. 2018. Damaging effects of bisphenol A on the kidney and the protection by melatonin: emerging evidences from in vivo and in vitro studies. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2018(1): 3082438.
- Lee, D. Y., Lim, Y., Shin, C. H., Kim, B. N., Kim, J. I., Hong, Y., Cho, Y. & Lee, Y. H. 2022. Relationship between bisphenol A, bisphenol S, and bisphenol F and serum uric acid concentrations among school-aged children. *PLOS ONE* 17(6):0268503.
- Lehmle, H. J., Liu, B., Gadogbe, M. & Bao, W. 2018. Exposure to Bisphenol A, Bisphenol F, and Bisphenol S in U.S. Adults and Children: The National Health and Nutrition Examination Survey 2013-2014. *ACS Omega* 3(6): 6523-6532.
- Liu, J., Zhang, L., Lu, G., Jiang, R., Yan, Z. & Li, Y., 2021. Occurrence, toxicity and ecological risk of Bisphenol A analogues in aquatic environment—A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 208: 111481.
- Macczak, A., Duchnowicz, P., Sicinska, P., Koter-Michalak, M., Bukowska, B. & Michalowicz, J. 2017. The in vitro comparative study of the effect of BPA, BPS, BPF and BPAF on human erythrocyte membrane; perturbations in membrane fluidity, alterations in conformational state and damage to proteins, changes in ATP level and Na(+)/K(+) ATPase and AChE activities. *Food Chem Toxicol* 110: 351-359.
- Santonicola, S., Albrizio, S., Ferrante, M.C. & Raffaelina, M. 2021. Study on bisphenol F, a bisphenol A analogue, at a dairy company: Health hazard and risk assessment. *Food and Chemical Toxicology* 154: 112334.
- Schwartz, G.J. & Rashid, M. 2021. Overview, structure, and function of the nephron. *Pediatric Critical Care: Text and Study Guide*: 863-909.
- Shamhari, A.A., Abd Hamid, Z., Budin, S.B., Shamsudin, N.J. & Taib, I.S. 2021. Bisphenol a and its analogues deteriorate the hormones physiological function of the male reproductive system: A mini-review. *Biomedicines* 9(11): 1744.
- Stocks, J. & Dormandy, T. L. 1971. The Autoxidation of Human Red Cell Lipids Induced by Hydrogen Peroxide. In *British Journal of Haematology* 20.
- Trullemans, L., Koelewijn, S.F., Scodeller, I., Hendrickx, T., Van Puyvelde, P. & Sels, B.F. 2021. A guide towards safe, functional and renewable BPA alternatives by rational molecular design: structure–property and structure–toxicity relationships. *Polymer Chemistry* 12(41): 5870-5901.
- Wang, Y., Liu, C., Shen, Y. H., Wang, Q., Pan, A., Yang, P., Chen, Y., Deng, Y., Lu, Q., Cheng, L., Miao, X., Xu, S., Lu, W. & Zeng, Q. 2019. Urinary levels of bisphenol A, F and S and markers of oxidative stress among healthy adult men: Variability and association analysis. *Environment International* 123: 301-309.
- Yoo, M.H., Lee, S.J., Kim, W., Kim, Y., Kim, Y.B., Moon, K.S. & Lee, B.S., 2022. Bisphenol A impairs renal function by reducing Na⁺/K⁺-ATPase and F-actin expression, kidney tubule formation in vitro and in vivo. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 246:114141.