

بررسی اثرات بنزوات سدیم بر بافت بیضه، گونادوتروپین‌ها و هورمون‌های تیروئیدی در موش سوری (Balb/C) بالغ

داود سهرابی^{۱*}، محسن علیپور^۲، محمدرضا غلامی^۳

خلاصه

سابقه و هدف: بنزوات سدیم به عنوان یک ماده‌ی ضدعفونی‌کننده بر علیه میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی مصرف می‌شود. برخی گزارشات حکایت از آثار سوء بنزوات سدیم بر بافت بیضه، گونادوتروپین‌ها و هورمون‌های تیروئیدی دارد. هدف از این مطالعه تعیین اثرات بنزوات سدیم بر بافت بیضه، گونادوتروپین‌ها و هورمون‌های تیروئیدی در موش سوری نژاد Balb/C نر بالغ است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی ۱۸ سر موش سوری نژاد Balb/C نر بالغ با سن ۱۲-۱۰ هفته به صورت تصادفی در سه گروه ۶تایی قرار گرفتند. به گروه کنترل، آب معمولی و به گروه اول تجربی روزانه ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بنزوات سدیم محلول در آب و به گروه دوم تجربی روزانه ۲۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بنزوات سدیم محلول در آب و به مدت ۶۰ روز داده شد. در پایان تجربه پس از بیهوشی، خون-گیری از بطن چپ به عمل آمد و برای سنجش هورمونی، سانتریفوژ گردید. پس از کشتن موش‌ها، بیضه‌ها از بدن خارج گردید و پس از مطالعات مرفولوژیکی در گلو تارالدئید به عنوان فیکساتیو قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۲ و آزمون t-test انجام شد.

نتایج: تفاوت وزن بدن موش‌ها بین گروه‌های تجربی و کنترل، معنی‌دار نبود. مقادیر هورمون‌های FSH و LH فقط در گروه تجربی دوم نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$). در صورتی که کاهش تستوسترون در هر دو گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$). کاهش هورمون‌های T_3 و T_4 و افزایش هورمون TSH در گروه دوم تجربی معنی‌دار بود ($p < 0.001$). مطالعه‌ی فراساختمانی بیضه نشان داد هسته‌ی سلول‌های جنسی حالت پیکنوزه دارد، همچنین واکوئول‌های متسع فراوان در سیتوپلاسم سلول‌های آن دیده شد.

نتیجه‌گیری: بنزوات سدیم موجب کاهش هورمون‌های گونادوتروپین، تستوسترون و T_3 ، T_4 می‌گردد. در نتیجه پیشنهاد می‌شود در حد امکان در مواد غذایی، دارویی و بهداشتی از مواد جایگزین استفاده شود.

واژگان کلیدی: بنزوات سدیم، بیضه، گونادوتروپین‌ها، هورمون‌های تیروئیدی

۱- استادیار گروه بافت‌شناسی و جنین‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- استادیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۳- مربی گروه آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

* نویسنده مسوول: داود سهرابی

آدرس: زنجان، شهرک کارمندان، دانشکده پزشکی، گروه بافت‌شناسی و تشریح

پست الکترونیک: sohrabidavood@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۲ ۲۴۱ ۵۷۰۷

دورنویس: ۰۲۴۱ ۴۲۴۹۵۵۳

تاریخ دریافت: ۸۷/۳/۲۲

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۷/۷/۳۰

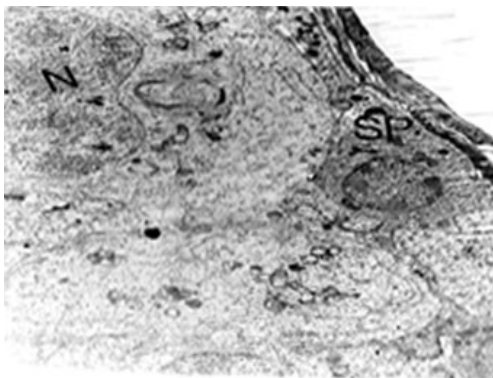
مقدمه

اسید بنزوئیک C_6H_5COONa از اسیدهای آروماتیک کربوکسیلیک می‌باشد، جامد و به میزان ۰.۳۴ گرم در ۱۰۰ گرم آب حل می‌شود. اسید بنزوئیک و املاح آن خاصیت ضدعفونی‌کنندگی داشته و در کنسروسازی و تهیه‌ی مرباها و رب

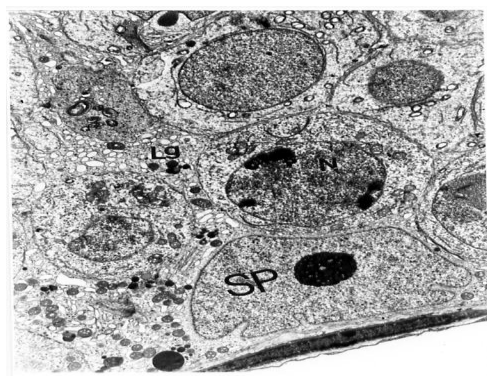
گوشت‌فرنگی مصرف می‌شوند. اسید بنزوئیک و بنزوات سدیم به عنوان مواد دارویی در بیماران مبتلا به چرخه آنزیمی اوره‌آز مصرف می‌شوند [۱]. گفته می‌شود بسیاری از هیپودروکربن‌های آروماتیک غیبرفعال، فوق‌العاده، سرطان‌زا هستند. اما بسیاری از پژوهشگران می‌گویند هیدروکربن-

مطالعات تشریحی و میکروسکوپی بیضه‌ها: مطالعات

تشریحی بیضه‌ی موش‌های تجربی و شاهد نشان داد چروکیدگی اندکی در بیضه‌ها وجود دارد ولی سایر آنومالی‌های تشریحی در آن‌ها دیده نمی‌شد. مطالعه میکروگراف‌های الکترونی نشان داد: تغییرات اندکی در ارگان‌های سلول‌های ژرمینال وجود دارد که مربوط به عامل ثانویه یعنی بنزوات سدیم است، از جمله این تغییرات می‌توان تفـتـیـرات میتوکندری‌ها را نام برد که متسع و به هم ریخته بودند. افزایش در گرانول‌های لیزوزومی که احتمالا واکوئول‌های اتوفاژی هستند وجود داشت و زیکول‌های متسع حاصل از شبکه آندوپلاسمی صاف نیز به تعداد کمی در میکروگراف‌ها دیده می‌شود ولی تغییرات خیلی آشکاری در سلول‌های لیدیگ و سرتولی دیده نشد (میکروگراف ۱ و ۲).



میکروگراف الکترونی ۱- قسمتی از لوله اسپرم‌ساز بیضه‌ی موش شاهد دیده می‌شود که شامل اسپرماتوگونی (SP) و اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید و بخش‌هایی از سلول سرتولی (N) که کاملاً به صورت طبیعی هستند. (بزرگنمایی ۳۰۰۰ برابر)



میکروگراف الکترونی ۲- قسمتی از لوله اسپرم‌ساز بیضه‌ی موش تجربی گروه اول دیده می‌شود که شامل اسپرماتوگونی (SP) و اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید و بخش‌هایی از سلول سرتولی است " هسته متراکم‌تر و کوچک‌تر است و حالت پیکنوزه دارد" افزایش اندکی در گرانول‌های لیزوزومی (Lg) دیده می‌شود (بزرگنمایی ۳۰۰۰ برابر).

حیوانات در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد (کنترل) تغییرات معنی‌داری را نشان نداد.

۲- سنجش هورمون‌های جنسی:

الف: هورمون FSH: کاهش معنی‌داری در هورمون FSH در گروه تجربی اول در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد (جدول شماره ۱). اما کاهش هورمون FSH در گروه تجربی دوم نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($p < 0.001$).

ب: هورمون LH: کاهش هورمون LH نیز در اثر بنزوات سدیم فقط در گروه دوم تجربی نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (جدول شماره ۱)، ($p < 0.001$).

ج: هورمون تستوسترون: هورمون تستوسترون کاهش معنی‌داری را در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شاهد نشان داد (جدول شماره ۱)، ($p < 0.001$).

۳- سنجش هورمون‌های تیروئیدی:

الف: هورمون TSH: افزایش معنی‌داری در هورمون TSH در گروه تجربی اول در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد (جدول شماره ۲). اما افزایش هورمون TSH در گروه تجربی دوم نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($p < 0.001$).

ب: هورمون T_3 : کاهش هورمون T_3 در اثر بنزوات سدیم فقط در گروه دوم تجربی نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (جدول شماره ۲)، ($p < 0.001$).

ج: هورمون T_4 : کاهش معنی‌داری در هورمون T_4 در گروه تجربی اول در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد (جدول شماره ۲). اما کاهش هورمون T_4 در گروه تجربی دوم نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($p < 0.001$).

جدول ۱ - شاخص‌های آماری گونادوتروپین‌های پلازما و تستوسترون در گروه‌های شاهد و تجربی تحت تاثیر بنزوات سدیم در موش سوری (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

گروه‌های آزمایشی	FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	تستوسترون (ng/ml)
شاهد (کنترل)	0.535 ± 0.061	0.178 ± 0.039	8.2 ± 0.24
تجربی (۱۴۰ mg/kg)	0.561 ± 0.069	0.163 ± 0.035	1.15 ± 0.84 ***
تجربی (۲۸۰ mg/kg)	0.342 ± 0.051 ***	0.091 ± 0.018 ***	0.31 ± 0.16 ***

جدول ۲ - شاخص‌های آماری هورمون‌های تیروئیدی در گروه‌های شاهد و تجربی تحت تاثیر بنزوات سدیم در موش سوری (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

گروه‌های آزمایشی	T_3 (nmol/l)	T_4 (ng/dl)	TSH (mIU/l)
شاهد (کنترل)	1.78 ± 0.08	4.17 ± 0.03	0.16 ± 0.02
تجربی (۱۴۰ mg/kg)	1.56 ± 0.06	4.06 ± 0.03	0.18 ± 0.03
تجربی ۲ (۲۸۰ mg/kg)	1.32 ± 0.05 ***	3.91 ± 0.01 ***	0.25 ± 0.08 ***

بحث

در مورد اثرات اسید بنزویک و املاح آن از جمله بنزوات سدیم بر روی غدد جنسی و سایر غدد آندوکراین بدن اطلاعات کمی در دست می باشد. نتایج این مطالعه نشان می دهد بنزوات سدیم می تواند مقدار ترشح هورمون تستوسترون را کاهش دهد. بین ترشح تستوسترون و گونادوتروپین ها فیدبک منفی وجود دارد. انتظار می رفت با کاهش ترشح تستوسترون، افزایشی در ترشح گونادوتروپین ها دیده شود در صورتی که این گونه نیست، در این پژوهش تغییرات FSH و LH با دوز کم معنی دار نیست در صورتی که بنزوات سدیم با دوز بالا موجب کاهش معنی دار این دو هورمون شده است. می توان گفت بنزوات سدیم نه تنها بر روی سلول های لایدیگ می تواند اثرات سویی داشته باشد و موجب کاهش هورمون تستوسترون شود، حتی می تواند با دوز بالا موجب اختلال در کار سلول های گونادوتروف نیز شود که البته برای اثبات آن احتیاج به مطالعات تکمیلی است. از طرفی کاهش هورمون های تیروئیدی، میزان پایه ی هورمون تستوسترون را کاهش می دهد، این اثر ناشی از کاهش تولید تستوسترون توسط بافت بیضه در پاسخ به hCG و GnRH، کاهش پاسخ سلول های بینابینی بیضه ی گنادوتروپین ها و کاهش تولید cAMP و ورود کلسیم به سلول است [۱۶]. مطالعه ی میکروگراف های الکترونی نشان می دهد اثرات بنزوات سدیم بر بافت بیضه خیلی چشم گیر نیست یعنی تغییرات بافتی و سلولی از نوع آزار سلولی (Cell Injury) هستند. این تغییرات عبارتند از: پیکنوزه شدن هسته سلول ها، افزایش تولید واکوئول در شبکه آندوپلاسمی صاف و افزایش گرانول های لیزوزومی، که با برداشتن عامل پاتولوژیک سلول ها می توانند دوباره فعالیت فیزیولوژیک خود را از سر بگیرند. البته به صورت مزمن ممکن است تغییرات، برگشت پذیر نباشند و سلول از بین برود. مطالعه ی وزن بدن در گروه های سه-

گانه نشان دهنده ی طبیعی بودن رشد و نمو حیوانات می باشد. شاید بتوان این عدم تاثیر بنزوات سدیم را بر روی وزن بدن از امتیازات آن به شمار آورد. مطالعات نشان می دهند که بنزوات سدیم با ایجاد رادیکال های آزاد اثر مهاری بر فعالیت غده ی تیروئید دارد و کاهش میزان T_3 در گروه های دریافت کننده ی بنزوات سدیم ممکن است به علت آسیب هایی ناشی از تبدیل T_4 به T_3 باشد [۱۷]. مطالعات هیستوشیمیایی سایر پژوهشگران نشان می دهد در جوجه هایی که بنزوات سدیم دریافت کرده اند، فعالیت فولیکولی کاهش می یابد و باعث کاهش میزان هورمون های تیروئیدی در گردش خون می شود [۱۸]. نتایج به دست آمده در این بررسی نشان می دهد که بنزوات سدیم باعث کاهش معنی دار در غلظت T_3 و T_4 و افزایش معنی دار در غلظت هورمون TSH می شود با توجه به این که غده ی تیروئید هورمون های T_3 و T_4 را ترشح می کند، تحت شرایط طبیعی کاهش T_3 و T_4 باعث آزادسازی TRH از هیپوتالاموس می شود، سپس TRH باعث آزادسازی TSH از هیپوفیز شده و تولید و ترشح T_3 و T_4 را تحریک می کند. نتایج این مطالعه موافق یافته های آنهاست. البته در این مورد نیز پیشنهاد می شود پژوهش های تکمیلی به ویژه هیستوپاتولوژیک انجام گیرد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایجی که از این مطالعه به دست آمد و مطالعات دیگران، می توان گفت بنزوات سدیم به عنوان یکی از عوامل شیمیایی محیطی با مقادیر بیش از اندازه در محیط زیست بدن می تواند به بافت بیضه آسیب برساند. پیشنهاد می شود تا انجام مطالعات تکمیلی در مواد غذایی و بهداشتی از این ماده کمتر استفاده شود و در صورت امکان از مواد جایگزین استفاده گردد.

Reference:

- [1] Maki T, Suzuki Y. Benzoic acid and derivatives .In: Ullmann F. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. Weinheim, Federal Republic of Germany : VCH Verlagsgesellschaft ; Deerfield Beach, FL, USA : Distribution, USA and Canada, VCH Publishers, 1985. p. 555-68 (Vol.A3).
- [2] Villanueva MBG , Jonai H , Kanno S, Takeuchi Y .Dietary sources and back ground levels of hippuric acid in urine: comparison of Philippine and Japanese levels. *Ind health* 1994;32(4):239-41.
- [3] Toyoda M , Ito Y, Ishiki K, Orishi K, Kato T.Estimation of daily intake of many kind of food additives according to the market basket studies in Japan . *JJSNutrition* 1983;36:489-97.
- [4] Toth B. Lack of tumorigenicity of sodium benzoate in mice. *Fundam Appl Toxicol* 1984;4(3Pt1):494-6.
- [5] Urano K, Kato Z. Evaluation of biodegradation ranks of priority organic compounds. *J Hazard Mater* 1986;13:147-59.
- [6] Taheri SH, Sohrabi D. Teratogenic effects of Sodium Benzoate on the mouse Embryo. *Journal of Zanjan University of Medical Sciences & Health Services* 2003;39:1-4 [In Persian].

- [7] Sohrabi D, Rahnema M, Shamseddin M, Fakheri F. The effects of Sodium Benzoate (C_6H_5COONa) on Ovary and Gonadotrophins Hormones on the mice(Balb/C). *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences & Health Services* 2007;3:64-70 [In Persian].
- [8] Fujitani T. Short- term effect of sodium benzoate in F344 Rats and B6C3F1mice. *Toxicology Letters* 1993;69:171-79.
- [9] Datson GP, Baines D, Elmore E, Fitzgerald M, Sharma S. Evolution of chick embryo neural retina cell culture as screen for developmental toxicants. Fundamental of applied. *Toxicology* 1995;26:203-10.
- [10]-Ishiguro S , Mayomoto A, Obi T, Nishio A.Teratological studies on benzyl acetate in pregnant rats. *Kadnau (bulltine of Faculty of agriculture, Kagoshina university)* 43:25-31(cited in WHO,1996).
- [11] Nair B .Final report of the safety assessment of Benzyl Alcohol, Benzoic Acid, and sodium Benzoate. *Int J Toxicol* 2001;20:23-50.
- [12] Yang MH, scharich KL. Factor affecting DNA Damage caused by Lipid hydroperoxidase and aldehydes. *Free Radicals Bio Med* 1996;20(2):223-6.
- [13] Lu YP, Lou YR, Xie JG, Peng QY, Zhou S, Lin Y, et al. Caffeine and caffeine sodium benzoate have a sunscreen effect, enhance UVB-induced apoptosis, and inhibit UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice. *Carcinogenesis* 2007;28(1):199- 202.
- [14] Nettis E, Colanardi MC, Ferrannini A, Tursi A. Sodium benzoate-induced repeated episodes of acute urticaria/angio-oedema: randomized controlled trial. *Br J Dermatol* 2004 ;151(4):898-902.
- [15] Stenberg A, Ingater A .Toxicological evaluation of some combination of food preservatives. *Food cosment Toxico* 1970;8(4):369-80.
- [16] Chiao YC, Lee HY, Wang SW, Hwang JJ, Chien CH, Huang SW, et al. Regulation of thyroid hormones on the production of testosterone in rats. *J Cell Biochem* 1999;73(4):554-62.
- [17] Jütten P, Schumann W, Härtl A, Dahse HM, Gräfe U. Thiosemicarbazones of formyl benzoic acids as novel potent inhibitors of estrone sulfatase. *J Med Chem* 2007;50(15):3661-6.
- [18] Andersen A. Final report on the safety assessment of benzaldehyde. *Int J Toxicol* 2006;25:11-27.