مقاله پژوهشی

تاثیر ساخارین بر فرایند اسپرماتوژنز، ساختار بافتی بیضه و محور هورمونی هیپوفیزگناد در موش های صحرایی نژاد ویستار

نویسندگان:

رضا پاک نژاد [۱]، وحید حمایت خواه جهرمی *[۲]

۱- گروه زیست شناسی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحدجهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.4, Winter 2019

چکیده:

مقدمه: ساخارین یک شیرین‌کننده مصنوعی و فاقد کالری است که برای شیرین کردن محصولاتی همچون نوشیدنی‌ها، شیرینی‌جات، بیسکوئیت‌ها، داروها و خمیردندان ها استفاده می‌شود. این درحالی است که بدن ما قادر به متابولیزه کردن آن نیست. در پژوهش حاضر اثر ساخارین بر فرایند اسپرماتوژنز، ساختار بافتی بیضه و محور هورمونی هیپوفیز- گناد در موش‌های صحرایی بررسی شد.

روش کار: ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به ۵ گروه مساوی به صورت کاملاً تصادفی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ‌گونه حلال یا دارویی دریافت نکردند. گروه شاهد روزانه ۱میلی‌لیتر آب مقطر و گروه‌های تجربی۱، ۲ و ۳ یک‌بار در روز و به ترتیب مقادیر ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ساخارین به صورت درون صفاقی به مدت ۳۵ روزدریافت کردند. پس از گذشت ۳۵ روز از حیوانات خون گیری به عمل آمد و بافت بیضه برای بررسی‌های بافتی جدا شد. داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: میزان گلوکز در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت ($P\leq ۰/۰۵$). غلظت هورمون های تستوسترون، دی‌هیدرواپی آندروسترون، لوتئینی و تحریک‌کننده فولیکول در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری داشته است. همچنین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه، اسپرماتید، اسپرماتوزوئید و اسپرم در گروه‌های تجربی کاهش معناداری نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد داشته است، ولی سلول‌های سرتولی و لایدیگ اختلاف معناداری نشان ندادند ($P>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: ساخارین می‌تواند بر مقادیر هورمون‌ها و سلول‌های جنسی نر اثرات مخربی داشته باشد و بافت شناسی نتایج هورمونی را تائید می کند که البته نحوه و مقدار استفاده از این شیرین‌کننده مصنوعی پر کاربرد بسیار مهم است.

واژگان کلیدی: ساخارین، بیضه، محور هورمونی هیپوفیز-گناد، موش صحرایی

Pars J Med Sci 2019;16(4):19-29

مقدمه:

امروزه طیف وسیعی از مواد تحت عنوان افزودنی برای بهبود طعم، رنگ، مزه، بو و ماندگاری غذاها و دیگر مقاصد استفاده می‌شود. اهمیت افزودنی‌ها در حدی است که بدون بهره‌گیری از آنها اساساً تولید و مصرف بسیاری از اقلام و فرآورده‌های غذایی غیر ممکن است. این دسته از مواد بر حسب کالری که در یک سیستم غذایی خواهند داشت، به گروه‌های مختلفی تقسیم می‌شوند، البته باید توجه شود که برخی از مواد افزودنی صرفاً همان نقشی را که عنوان گروه مربوطه دلالت بر آن دارد انجام نداده و قادرند اثرات سودمند متفاوتی را در مواد و سیستم‌های مختلف غذایی ظاهر سازند. افزودنی‌های غذایی شامل آنتی- اکسیدان‌ها، رنگ دهنده‌ها، طعم دهنده‌ها، نگهدارنده‌ها، تثبیت کننده‌ها و شیرین کننده‌ها هستند [۱]. بعضی مطالعات پیشین نشان دادند که

* نویسنده مسئول، نشانی: دانشیار، گروه زیست شناسی، واحدجهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران.

تلفن تماس: ۰۹۱۷۳۹۱۴۶۲۵ پست الکترونیک:dr.hemayatkhah@yahoo.com-hemayatkhahr@jia.ac.ir

دریافت: ۹۷/۶/۱۱ اصلاح: ۹۷/۱۱/۲۹ پذیرش:۹۷/۱۲/۲۵

استفاده از شیرین کننده‌های مصنوعی ممکن است خطراتی را برای مصرف کنندگان در پی داشته باشد. ساخارین یک شیرین کننده مصنوعی و فاقد کالری است که برای شیرین کردن محصولاتی همچون نوشیدنی‌ها، شیرینی‌جات، بیسکوئیت‌ها، داروها و خمیردندان ها استفاده می‌شود [۲].

در مطالعه‌ای فیجوفو و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که ساخارین و آسپارتام موجود در ماست، موجب افزایش وزن بدن در مقایسه با ساکارز می‌شود و این در حالی است که میزان کالری دریافت شده برابر بوده است [۳]. پژوهشگران در مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از ساخارین در موش‌های نر می تواند بر بدن و اندام‌های تناسلی آنها تأثیر گذارد. همچنین مشخص شده است که ساخارین روی میزان باروری این موش‌ها اختلال ایجاد کرده و باعث کاهش تعداد و تحرک اسپرم شده و میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم را افزایش می دهد. ساخارین ممکن است باعث افزایش میزان قطعه قطعه شدن DNA و مرگ اسپرم در موش شود [۲]. در پژوهشی گارلند و همکاران در سال ۱۹۹۱ پس از تیمار رت های نوزاد و والدین آنها با سدیم ساخارین به مدت ۴۵ روز توسعه کم خونی ایجاد شده در اثر کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین را نشان دادند [۴]. همچنین در پژوهشی تامپسون و همکاران در سال ۱۹۸۹ اثرات اعمال ساخارین روی میزان گلوکز خون در موش‌های سوری چاق هیپرگلیسمیک و موش‌های صحرایی ماده مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که ساخارین میزان گلوکز خون را به طور معناداری کاهش می‌دهد. ساخارین ممکن است از طریق تحریک اعصاب چشایی باعث آزاد سازی انسولین و در نتیجه کاهش قند خون شود [۵]. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ساخارین بر فرایند اسپرماتوژنز، ساختار بافتی بیضه و محور هورمونی هیپوفیز– گناد در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

روش کار:

مطالعه حاضر یک مطالعه تجربی و کاملاً تصادفی است. در این پژوهش از موش‌های صحرایی با وزن ۱۵±۲۲۰ گرم نژاد ویستار تهیه شده از دانشگاه علوم پزشکی شیراز استفاده شد. غلظت ساخارین بر اساس روش LD50 تعیین شد. نمونه‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه هفت تایی شامل گروه‌های کنترل، شاهد، تجربی ۱، تجربی ۲ و تجربی ۳ تقسیم بندی شدند. هر یک از گروه‌ها در قفس‌های جداگانه قرار داده شدند. در طی مدت دو هفته‌ای سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه و همچنین در طول دوره تزریق، تمامی موش‌ها از آب وغذای معمولی در دسترس، دمای ثابت ۳۲–۲۸ درجه سانتی گراد و نور طبیعی بهره داشتند. گروه کنترل هیچ گونه حلال یا دارویی دریافت نکردند. گروه شاهد روزانه ۱ سی سی آب مقطر و گروه‌های تجربی۱، ۲ و ۳ یک بار در روز و به ترتیب مقادیر ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ساخارین به صورت تزریق درون صفاقی به مدت ۳۵ روز دریافت کردند. در پایان دوره آزمایش حیوانات به وسیله اتر بیهوش و سپس نمونه‌های خونی و بافتی برای بررسی جمع‌آوری شدند. برای اندازه گیری گلوکز از دستگاه گلوکومتر مدل اکیوچک–آلمان و برای اندازه گیری غلظت هورمون‌های LH، FSH، DHEA و هورمون تستوسترون از روش الیزا استفاده شد. همچنین سلول‌های جنسی به روش خاکی و همکاران که توسط پژوهشگران این مقاله اصلاح و تغییر یافته، به روش دستی شمارش شدند [۶] است. بدین صورت که از هر بافت بیضه ۱۰ برش به صورت تصادفی انتخاب و در هر برش نیز ۱۰ فیلد به صورت تصادفی انتخاب شد (۱۰۰ توبول به ازای هر موش). سپس سلول های اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه، اسپرماتید، اسپرماتوزوئید، سرتولی و لایدیگ شمارش و میانگین سلول ها محاسبه شد. برای بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگراف – اسمرنوف استفاده شد. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و مقایسه آنها از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ و آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی دانکن استفاده شد. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار در سطح معناداری ($P\leq ۰/۰۵$) بیان شدند. در پژوهش حاضر الزامات اخلاقی کار روی حیوانات رعایت شده است.

یافته‌ها:

هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی ۲ و ۳ نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد کاهش معناداری در سطح $P\leq ۰/۰۵$ نشان داد. تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتوسیت ثانویه، اسپرماتید، اسپرماتوزوئید و اسپرم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد کاهش معنادار نشان داد. تعداد سلول‌های سرتولی و لایدیگ در گروه‌های تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد اختلاف معناداری نداشت ($P>۰/۰۵$، جدول ۱). میانگین هورمون LH، FSH و DHEA در گروه‌های تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد کاهش معنادار در سطح $P\leq ۰/۰۵$ داشت. غلظت گلوکز سرم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد افزایش معناداری نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$) (جدول ۲).

در گروه های کنترل و شاهد توبول‌ها و سلول‌های دودمان جنسی لایه اپی تلیوم ژرمینال به صورت منظم قرار گرفته بودند و آسیب بافتی مشاهده نشد (شکل ۱ و ۲). در گروه تجربی ۱ کاهش تعداد سلول‌های زاینده، وجود نقاط خالی در داخل برخی از توبول‌ها، ایجاد فاصله در بین سلول های اپی تلیوم ژرمینال که نشان دهنده آسیب خفیف بر بافت بیضه است، مشاهده شد (شکل ۳). در گروه

تجربی ۲ خالی شدن برخی از توبول‌ها، کاهش تعداد سلول‌های دودمان جنسی و ایجاد فاصله در بین سلول های اپی تلیوم ژرمینال مشاهده شد که نشان دهنده آسیب بافت بیضه است (شکل ۴). در گروه تجربی ۳ تغییرات بافتی محسوس بود. به طوری که کاهش معناداری در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید مشاهده شد. از طرفی ایجاد فاصله در بین سلول های اپی تلیوم ژرمینال و وجود فضای خالی زیاد در مرکز توبول‌ها وجود داشت که نشان دهنده آسیب بیشتری بر بافت بیضه است (شکل ۵).

جدول ۱: مقایسه کلی گروه های مختلف از نظر پارامترهای مورد بررسی (میانگین± انحراف معیار)

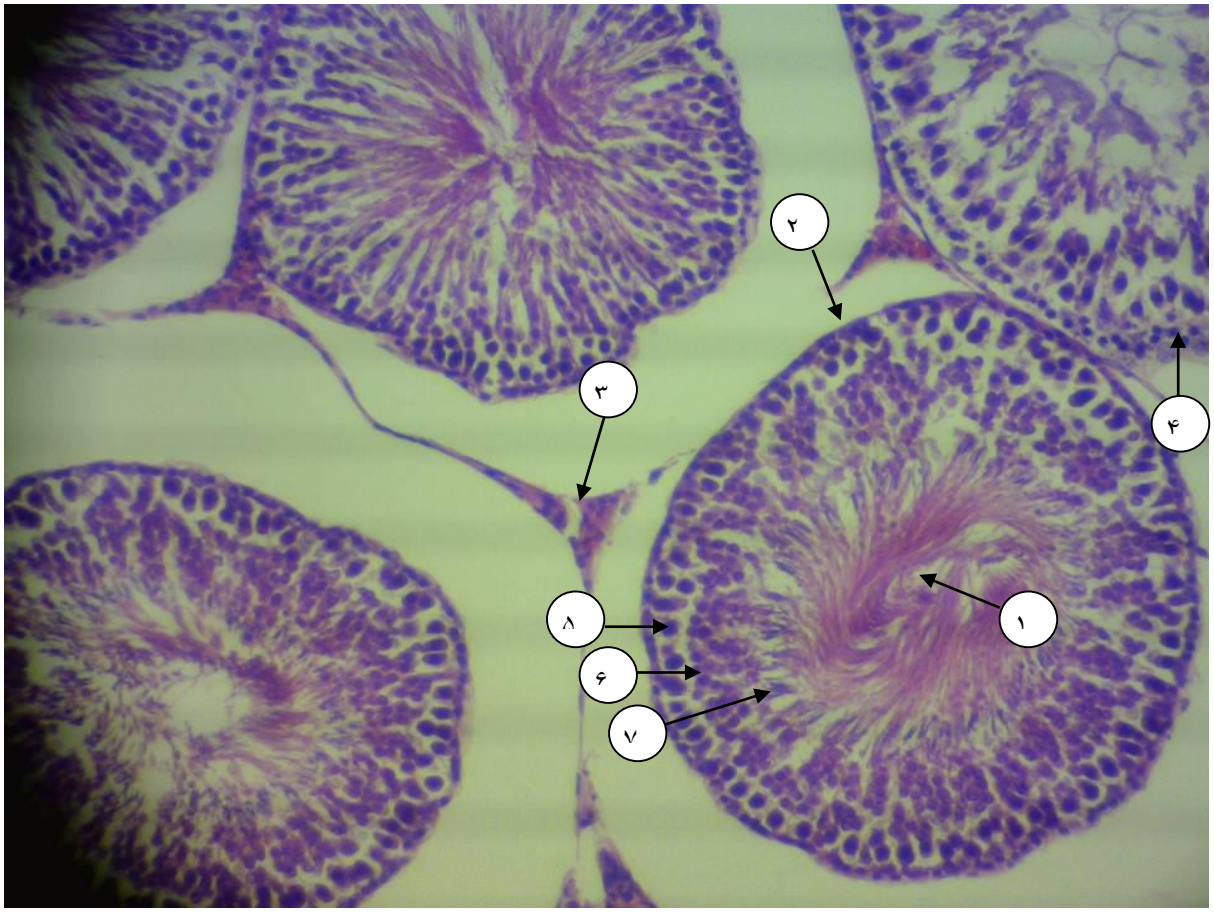
گروه	کنترل	شاهد	تجربی ۱	تجربی ۲	تجربی ۳
وزن بدن (g)	۱۷۷٫۹۳ ۹±٫۱۷a	۱۹۵٫۶۳ ۶±٫۵۰a	۲۲۶٫۲۸ ۶±٫۶۴b	۲۳۴٫۷۰ ۸±٫۵۲b	۲۴۲ ۷±٫۱۱b
وزن بیضه راست (g)	۱٫۲۵ ۰±٫۰۲a	۱٫۲۶ ۰±٫۰۳a	۱٫۳۲ ۰±٫۰۲ab	۱٫۴۷ ۰±٫۰۳b	۱٫۶۷ ۰±٫۱۳b
وزن بیضه چپ (g)	۱٫۲۷ ۰±٫۰۲a	۱٫۳۷ ۰±٫۰۴ab	۱٫۳۹ ۰±٫۰۳ab	۱٫۵۵ ۰±٫۰۵bc	۱٫۶۸ ۰±٫۱۳c
اسپرماتوگونی	۸۸٫۳۳ ۱±٫۵۷c	۸۷٫۲۹ ۱±٫۲۲c	۸۲٫۲۱ ۱±٫۷۴b	۷۹٫۵۸ ۱±٫۵۷ab	۷۶٫۱۲ ۱±٫۲۸a
اسپرماتوسیت اولیه	۸۳٫۶۲ ۱±٫۴۱c	۸۱٫۷۰ ۱±٫۲۵c	۷۴٫۸۷ ۱±٫۴۶b	۷۳٫۶۲ ۱±٫۴۹b	۶۵٫۱۷ ۱±٫۴۹a
اسپرماتوسیت ثانویه	۱۴۴٫۹۲ ۳±٫۲۸b	۱۴۰٫۴۲ ۰±٫۱۴b	۱۲۵٫۸۳ ۰±٫۲۵a	۱۱۵٫۳۳ ۰±٫۵۰a	۱۱۳ ۰±٫۲۲a
اسپرماتید	۶۱٫۵۸ ۲±٫۴۱b	۵۸٫۹۶ ۲±٫۳۱b	۴۹٫۲۱ ۲±٫۸۲a	۵۱٫۴۶ ۲±٫۵۸a	۴۵٫۸۷ ۲±٫۷۱a
اسپرماتوزوئید	۱۳۱٫۶۷ ۵±٫۶۵b	۱۲۸٫۹۶ ۴±٫۱۶b	۷۶٫۰۴ ۷±٫۸۶a	۷۰ ۱۰±٫۳۳a	۶۱٫۰۴ ۸±٫۴۱a
اسپرم (میلی متر مکعب)	۴۵٫۳۷ ۰±٫۵۰d	۴۳٫۱۲ ۰±٫۸۳d	۳۹٫۳۷ ۰±٫۹۰c	۳۵٫۳۷ ۱±٫۲۷b	۳۱٫۵۰ ۱±٫۱۸a
سلول‌های سرتولی	۲۳٫۶۲ ۰±٫۶۹a	۲۳٫۰۸ ۰±٫۶۶a	۲۲٫۱۷ ۱±٫۱۶a	۲۲٫۶۲ ۰±٫۵۹a	۲۲٫۸۷ ۰±٫۶۹a
سلول‌های لایدیگ	۹٫۳۷ ۰±٫۲۸a	۹ ۰±٫۳۳ a	۹٫۱۲ ۰±٫۳۷a	۸٫۸۷ ۰±٫۲۵a	۹٫۱۷ ۰±٫۲۸ a

بر اساس تست دانکن اگر در هر گروه حداقل یک حرف مشترک وجود داشته باشد آن گروه ها با همدیگر تفاوت معناداری ندارند.

جدول ۲: مقایسه کلی گروه های مختلف از نظر پارامترهای هورمونی و گلوکز خون (میانگین ± انحراف معیار)

گروه	کنترل	شاهد	تجربی ۱	تجربی ۲	تجربی ۳
هورمون LH(ng/ml)	۱٫۳۹ ۰±٫۱۰c	۱٫۴۴ ۰±٫۰۵c	۰٫۹۳ ۰±٫۱۲b	۰٫۴۱ ۰±٫۰۶a	۰٫۲۷ ۰±٫۰۵a
هورمون FSH(ng/ml)	۲٫۷۶ ۰±٫۰۹c	۲٫۶۴ ۰±٫۱۰c	۱٫۷۵ ۰±٫۰۸b	۱٫۵۱ ۰±٫۰۸ab	۱٫۲۷ ۰±٫۰۶a
هورمون تستوسترون (ng/ml)	۲٫۹۴ ۰±٫۱۵c	۲٫۶۴ ۰±٫۱۴c	۲٫۲۹ ۰±٫۴۳bc	۱٫۷۰ ۰±٫۴۰ab	۱٫۳۴ ۰±٫۲۱a
هورمون DHEA(ng/ml)	۰٫۴۰ ۰±٫۰۶b	۰٫۳۹ ۰±٫۰۷b	۰٫۲۵ ۰±٫۰۴ab	۰٫۱۷ ۰±٫۰۳a	۰٫۱۲ ۰±٫۰۲a
گلوکز خون (mg/dl)	۱۰۴٫۷۵ ۲±٫۲۱a	۱۰۳٫۲۵ ۲±٫۸۸a	۲۷۴٫۶۲ ۴۲±٫۰۱b	۳۰۰٫۳۷ ۵۰±٫۴۴bc	۳۷۵٫۳۷ ۲۳±٫۴۹c

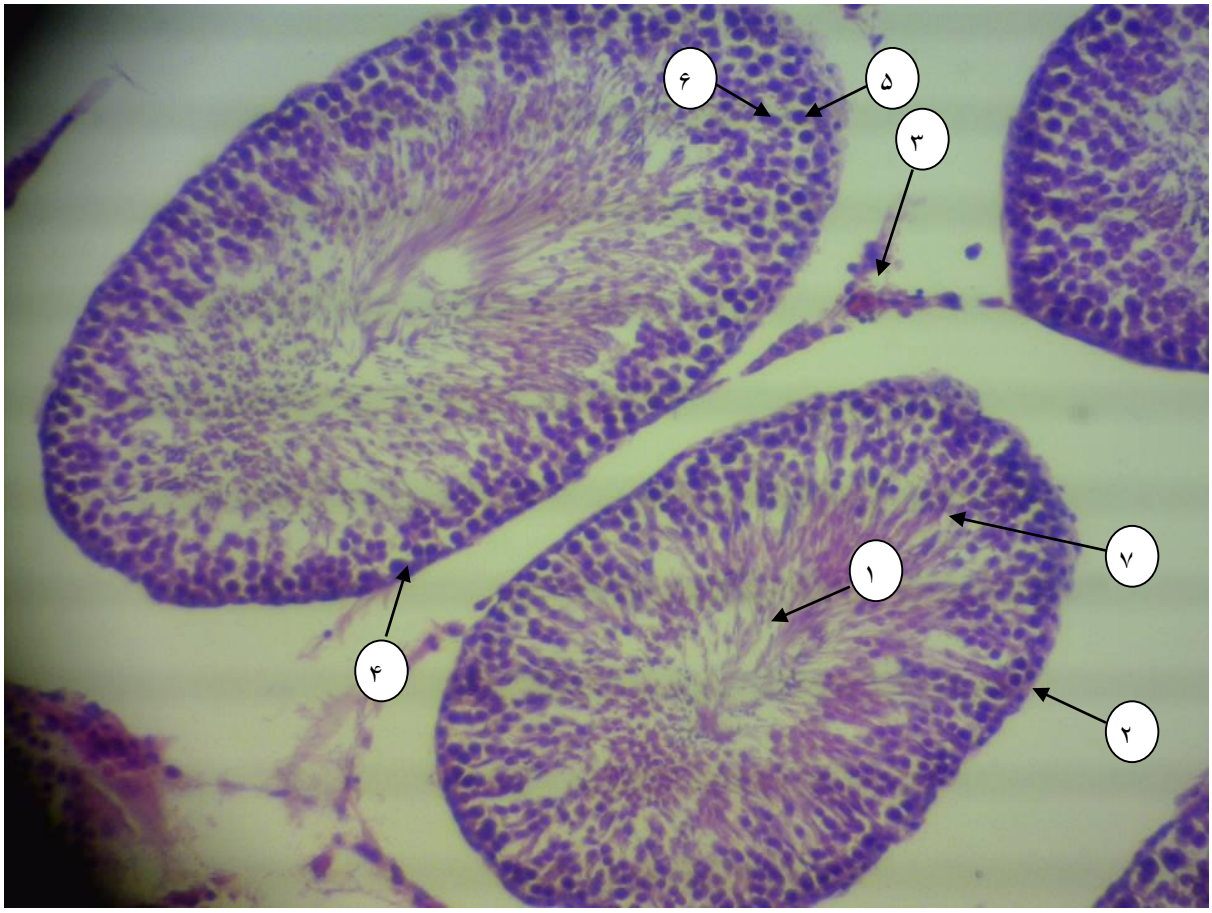
بر اساس تست دانکن اگر در هر گروه حداقل یک حرف مشترک وجود داشته باشد آن گروه ها با همدیگر تفاوت معناداری ندارند.



شکل ۱: فتومیکروگراف از بافت بیضه در گروه کنترل: با رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی ۱۰۰×

۱- اسپرماتوزوئید ۲- اپیتلیوم ژرمینال ۳- سلول لایدیگ ۴- سلول اسپرماتوگونی ۵- سلول اسپرماتوسیت اولیه ۶- سلول اسپرماتوسیت ثانویه ۷- اسپرماتید

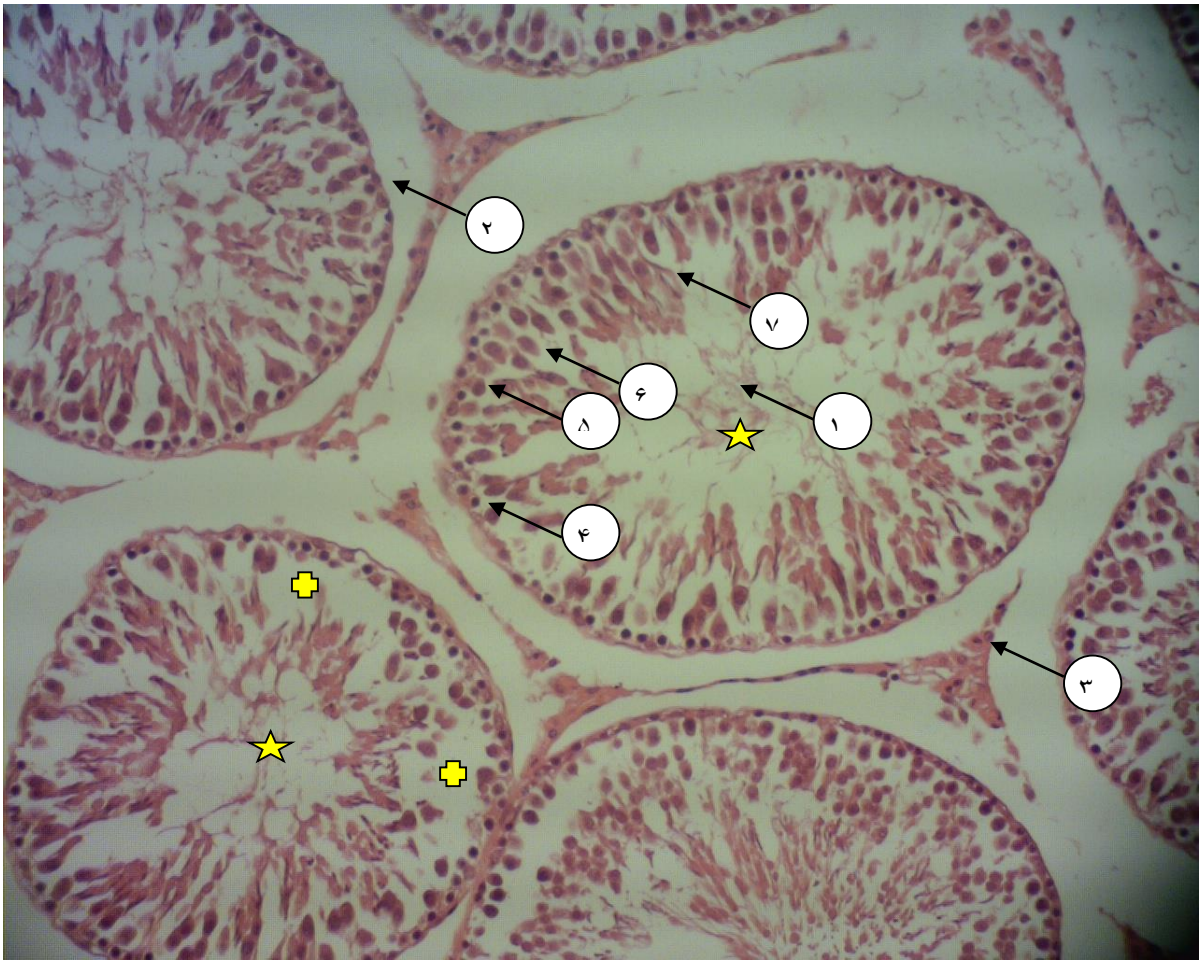
در این گروه توبول‌ها و سلول‌های زاینده به صورت طبیعی بوده و هیچگونه تغییر پاتولوژیکی مشاهده نمی‌شود.



شکل ۲: فتومیکروگراف از بافت بیضه در گروه شاهد: با رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی ۱۰۰×

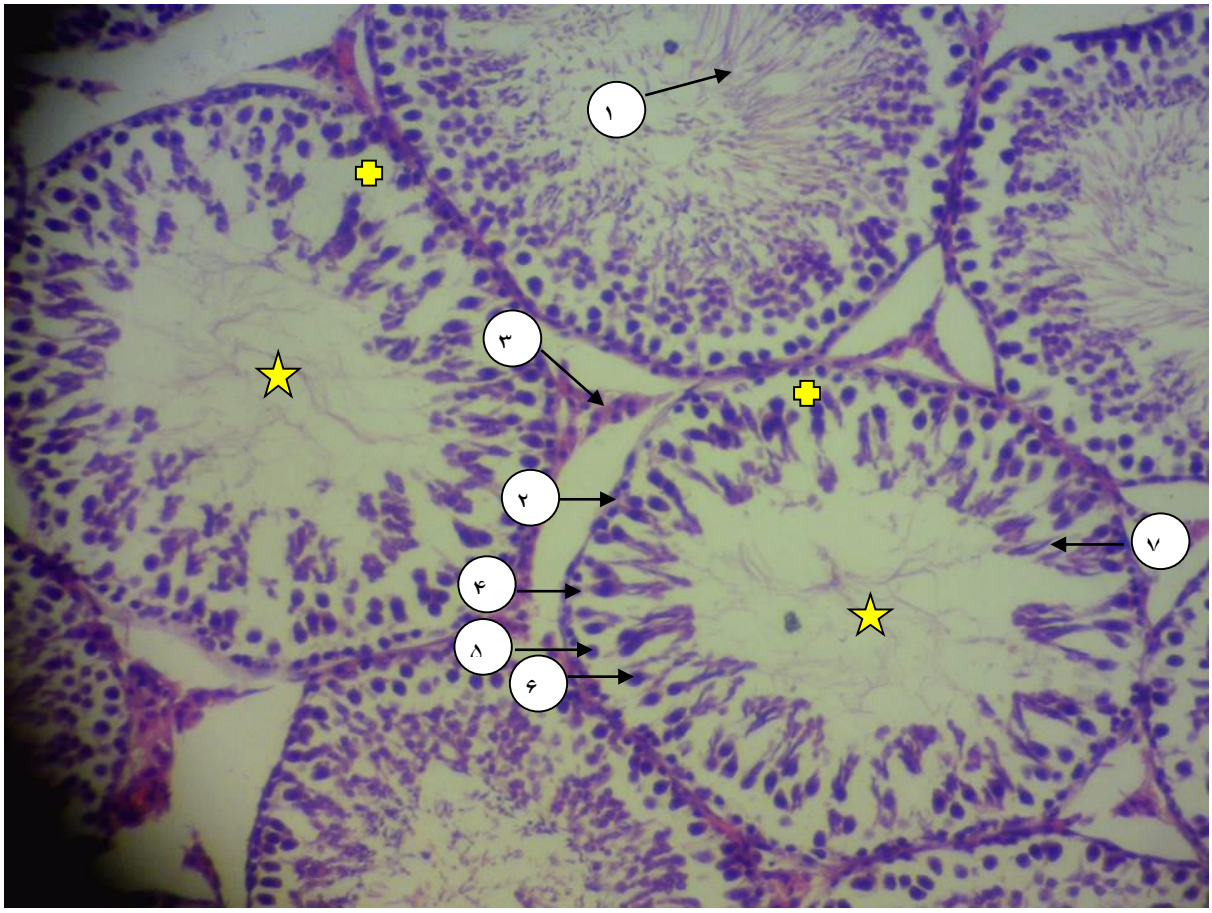
۱- اسپرماتوزوئید ۲- اپیتلیوم ژرمینال ۳- سلول لایدیگ ۴- سلول اسپرماتوگونی ۵- سلول اسپرماتوسیت اولیه ۶- سلول اسپرماتوسیت ثانویه ۷- اسپرماتید

در این گروه همانند گروه کنترل توبول‌ها و سلول‌های دودمان جنسی لایه اپی تلیوم ژرمینال به صورت منظم قرار گرفته اند. همچنین هیچگونه آسیب بافتی در این گروه مشاهده نشد.



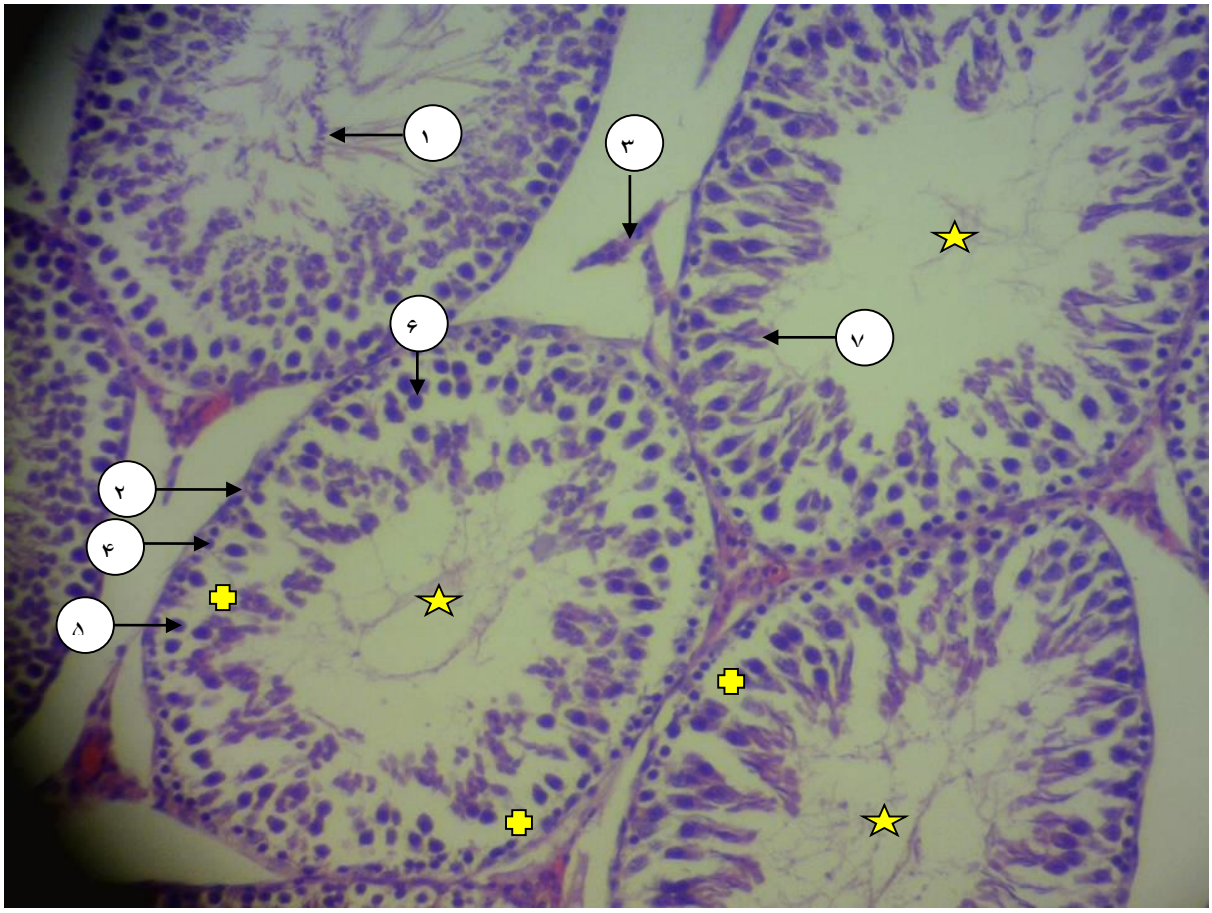
شکل۳: فتومیکروگراف از بافت بیضه در گروه تجربی ۱ (گروه دریافت کننده ساخارین ۲۵۰ mg/kg) با رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی ۱۰۰×
۱- اسپرماتوزوئید ۲- اپیتلیوم ژرمینال ۳- سلول لایدیگ ۴- سلول اسپرماتوگونی ۵- سلول اسپرماتوسیت اولیه ۶- سلول اسپرماتوسیت ثانویه ۷- اسپرماتید

در این گروه کاهش تعداد سلول‌های زاینده و وجود نقاط خالی در داخل برخی از توبول‌ها (علامت *) و ایجاد فاصله در بین سلول های اپی تلیوم ژرمینال (علامت +) نشان دهنده آسیب خفیف بر بافت بیضه است.



شکل ۴: فتومیکروگراف از بافت بیضه در گروه تجربی ۲ (گروه دریافت کننده ساخارین ۵۰۰ mg/kg) با رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی ۱۰۰×
۱- اسپرماتوزوئید ۲- اپیتلیوم ژرمینال ۳- سلول لایدیگ ۴- سلول اسپرماتوگونی ۵- سلول اسپرماتوسیت اولیه ۶- سلول اسپرماتوسیت ثانویه ۷- اسپرماتید

در تصویر فوق خالی شدن برخی از توبول‌ها (علامت *) و کاهش تعداد سلول‌های دودمان جنسی و ایجاد فاصله در بین سلولهای اپی تلیوم ژرمینال (علامت +) مشاهده شد که نشان دهنده آسیب است.



شکل۵: فتومیکروگراف از بافت بیضه در گروه تجربی ۳ (گروه دریافت کننده ساخارین ۱۰۰۰ mg/kg) با رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی ۱۰۰×
۱- اسپرماتوزوئید ۲- اپیتلیوم ژرمینال ۳- سلول لایدیگ ۴- سلول اسپرماتوگونی ۵- سلول اسپرماتوسیت اولیه ۶- سلول اسپرماتوسیت ثانویه ۷- اسپرماتید

در این گروه تغییرات بافتی محسوس بود. به طوری که کاهش معناداری در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید مشاهده شد. از طرفی ایجاد فاصله در بین سلول های اپی تلیوم ژرمینال (علامت+) و وجود فضای خالی زیاد در مرکز توبول‌ها (علامت *) مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری:

ساخارین یک شیرین کننده مصنوعی و فاقد کالری است که در بدن حیوانات و انسان‌ها متابولیزه نمی‌شود و بدون تغییر ترشح می‌شود، بنابراین، توسط بدن به عنوان عامل انرژی‌زا به کار نمی‌رود[۲و۷]. در مطالعه حاضر اثر ساخارین بر فرایند اسپرماتوژنز، ساختار بافتی بیضه و محور هورمونی هیپوفیز-گناد در موش های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان گلوکز در گروه‌های دریافت کننده ساخارین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشته است. افزایش گلوکز در گروه دریافت کننده ساخارین در مطالعه حاضر با نتیجه مطالعه تامپسون در سال ۱۹۸۹ و نتایج مطالعه کلیفورد و همکاران در سال ۱۹۹۷ مغایرت دارد [۵ و ۸]. شاید یکی از علل احتمالی این تناقض، شرایط متفاوت مطالعه حاضر (بررسی موش های نرمال) و مطالعات تامپسون و کلیفورد (بررسی موش‌های چاق هیپرگلیسمیک) باشد. مولر و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مطالعه‌ای روی سایر شیرین کننده‌های مصنوعی بیان کردند که این شیرین کننده‌ها، توسط کبد هضم شده و به گلوکز تبدیل می‌شوند و رفته رفته سبب افزایش گلوکز خون و القای هایپر لیپیدمیا می‌شوند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد [۹].

همچنین بررسی‌های پژوهش حاضر نشان داد که غلظت هورمون‌های تستوسترون، دی هیدرواپی آندروسترون، LH و FSH در گروه‌های دریافت کننده ساخارین در مقایسه با گروه کنترل کاهش داشته است که با نتایج مطالعات موذن در سال ۱۳۹۵ مطابقت دارد [۱۰]. محور هیپوتالاموس- هیپوفیز-گناد با کنترل ژنتیکی و هورمونی در تنظیم فعالیت‌های تولید مثلی دخالت دارد و تولید مثل فرآیندی است که تحت عوامل مختلفی قرار می‌گیرد. جهش در میان ژن‌های موجود در محور

هیپوتالاموس–هیپوفیز–گناد یا اختلال در کنترل و سنتز هورمون‌های جنسی، همچنین ایجاد اختلال در مورفولوژی یا تعداد سلول‌های جنسی می‌تواند موجب اختلالاتی در دستگاه تولید مثلی و ناباروری شود [۱۱ و۱۲]. پژوهش ها نشان می‌دهد که استفاده از ساخارین در موش‌های نر می‌تواند بر بدن و اندام‌های تناسلی آنها تأثیر گذاشته و در میزان باروری اختلال ایجاد کند [۲]. همچنین در برخی پژوهش‌ها نیز مشخص شده است که مواد افزودنی به غذاها و نوشیدنی‌ها مانند آسپارتام می‌تواند سبب تغییر در محور هیپوفیز– گناد– آدرنال شود [۱۳].

مطالعات مورفومتریک و شمارش سلول‌های لوله‌های منی ساز در گروه‌های تجربی نسبت به گروه های کنترل و شاهد اختلاف معناداری نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$) که تأثیر عوارض ناشی از مصرف ساخارین را مورد تأیید قرار می‌دهد. در مقایسه هیستوپاتولوژیکی ساختار سلولی لوله‌های منی ساز مشاهده شد که رده‌های سلولی جداری در لوله‌های منی ساز گروه‌های کنترل و شاهد از تعداد و تنوع بیشتری برخوردار بوده و روند اسپرماتوژنز در این گروه‌ها طبیعی است، در حالی که در گروه‌های تجربی، کاهش چشمگیری در سلول‌های جنسی در حال تکثیر به همراه تمایز دیده می‌شود. از این رو، بر اساس کاهش تراکم سلولی در جدار لوله‌های منی‌ساز این گروه‌ها به نظر می‌رسد که ساخارین توانسته است به گونه‌ای بر روند اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد و این پدیده را با مرگ سلولی مواجه کند. بر اساس چنین فرضیه‌ای احتمالاً قبل از این که سلول‌های جداری لوله‌های اسپرم‌ساز در نمونه‌های گروه‌های تجربی از تمایز کافی برخوردار شوند و قبل از رسیدن به مراحل نهایی تکامل دچار مرگ سلولی شده و از دست می‌روند. مطالعه رحیمی پور و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داد در پی مصرف ساخارین، تعداد و تحرک اسپرم‌ها کاهش و میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی افزایش می‌یابد. این پژوهشگران بیان کردند ساخارین روی پارامترهای اسپرم اثرات منفی داشته و منجر به افزایش میزان قطعه قطعه شدن DNA و آپوپتوز اسپرم موش‌های سوری می‌شود[۲]. علاوه بر این، مشخص شده است که ساخارین سبب افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) در برخی از سلول ها می شود. برای مثال الصالح در سال ۲۰۱۰ نشان داد که ساخارین به صورت وابسته به دوز سبب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در سلول های بتای پانکراس در موش سوری می شود [۱۴]. بنابراین، استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن در اثر مصرف ساخارین می تواند از دلایل احتمالی آسیب DNA اسپرم باشد [۲].

گونگ و همکاران نیز در سال ۲۰۱۶ به بررسی اثرات ساخارین و سوکروز بر عملکرد بیضه در موش سوری پرداختند. نتایج مطالعه آنها نشان داد ساخارین سبب کاهش تولید هورمون های جنسی و همچنین آسیب بیضه و اسپرم ها می شود. این پژوهشگران اثرات مخرب ساخارین بر بافت و عملکرد بیضه را با افزایش بیان فاکتورهای آپوپتوزی نظیر کاسپاز ۳ مرتبط دانستند [۱۵]. به نظر می‌رسد که ساخارین با برهم زدن تعادل بین آپوپتوز سلولی و تقسیمات سلولی باعث کاهش سلول‌های اسپرماتوگونی و لایه ژرمینال می‌شود. با تخریب سلول‌های اسپرماتوگونی، تعداد سلول‌های ژرمینال کاهش می‌یابد و در نتیجه ضخامت اپیتلیوم لوله‌های منی‌ساز و میزان اسپرماتوژنز هم تحت تأثیر قرار می‌گیرند. با کاهش جمعیت سلولی بیضه می‌توان انتظار داشت که از قطر لوله‌های منی ساز کاسته شود. همچنین با توجه به مطالعات قبلی، ساخارین با افزایش سطح گونه های فعال اکسیژن (ROS) با ایجاد تغییر در سیستم آنزیمی سلول‌های اسپرم، میزان پراکسیداسیون فسفولیپیدها را افزایش، سیالیت و تراوایی غشاء سلول‌ها و تحرک اسپرم را کاهش می‌دهد [۱۶]. با توجه به نتایج به دست آمده از سنجش‌های هورمونی و شمارش سلولی جدار لوله‌های منی ساز می‌توان نتیجه گرفت که ساخارین می‌تواند بر شاخص‌های جنسی نر اثرات مخربی داشته باشد و بافت شناسی نتایج هورمونی مطالعه حاضر تائید می شود که البته در این مورد، نحوه و مقدار استفاده از این شیرین کننده مصنوعی پر کاربرد بسیار مهم است.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از معاون پژوهشی و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و مسئول آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جهرم که در انجام این پژوهش همکاری صمیمانه داشته اند، تقدیر و تشکر می شود.

تعارض منافع:

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References:

1. Duyff RL. American Dietetic Association Complete Food and Nutrition Guide. 2nd ed. John Wiley &Sons, Inc. 2002. 194-198.

2. Rahimipour M, Talebi AR, Anvari M, Sarcheshmeh AA, Omidi M. Saccharin consumption increases sperm DNA fragmentation and apoptosis in mice. Iranian journal of reproductive medicine. 2014; 12(5): 307-312. (Persian)

3. Feijófde M, Ballard CR, Foletto KC, et al. Saccharin and Aspartame, compared with sucrose, induce greater weight gain in adult Wistar rats, at similar total caloric intake levels. J Appetite. 2013; 60: 203-207.

4. Garland EM, Shapiro R, Kraft PL, et al. Effects of in utero and postnatal saccharin exposur on the nutritional status of young rat 11.Dose responsand reversibility. Food Chem Toxical. 1991; 29 (10): 669-679.
5. Thompson MM, Mayer J. Hypoglycemic effects of saccharin in experimental animals. American Journal of clinical Nutrition. 1989; 7: 80-85.
6. Khaki A, Sohrabi Haghdoust I, Ghaffari Novin M, et al. Effect of ciprofloxacin in rat spermatogenesi. Iran South Med J. 2014; 17(2): 173-181
7. Danci KE, Kanarek RB, Marks-Kaufman R. Beyoundseet taste: saccharin, sucrose, and polycose differ in their effects upon morphine induced analgesia. Pharmacol Biochem Biohav 1997; 56: 341-345.
8. Bailey CJ, Day C, Knapper JM, Turner SL, Flatt PR. Antihyperglycaemic effect of saccharin in diabetic ob/ob mice. British journal of pharmacology. 1997; 120(1): 74-8.

9. Muller M, Jungbauer A. Culinary plants, herbs and spices e a rich source of PPARgligands. Food Chemistry. 2009; 117(4): 660-667.
10. Moazzen Z. the impact of Aspartam (Artificial Sweetener)on spermatogensis, Fertility and testicular tissue structure in rats, master's thesis. jahrom, Fars, Iran: Azad university of jahrom, 1395. (Persian)
11. Acherman Jc, Jameson JL. Fertility and infertility: Genetic contribution form the hypothalamic- pituitary-Go nadal axis. Molecular Endocrinology. 1999; 13: 812-818.
12. Lyman LC. Human gene mutation causing infertility. J med Genet. 2002; 39: 153-161.
13. Hee JS, Ham HD, Jin HY, et al. Chronic Administration of Monosodium Glutamate under Chronic Variable Stress Impaired Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function in Rats. Korean J PhysiolPharmacol. 2010; 14: 213-221.
14. Al-Saleh AM. Effect of Artificial Sweeteners on Insulin Secretion, ROS, and Oxygen Consumption in Pancreatic [Beta]-cells. Boston University, Boston. 2010; 530-1.
15. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. Fertility and sterility. 2003; 79(4): 829-43.
16. Gong T, Wei Q-W, Mao D-G. Effects of Daily Exposure to Saccharin and Sucrose on Testicular Biologic Functions in Mice. Biology of Reproduction. 2016; 95(6): 1–13.

Original Article

The effect of Saccharin on spermatogenes, testiscular tissue and pituitary – gonad hormones axis in rats

Reza Paknejad[1], Vahid Hemayatkhah Jahromi[*2]

Received: 2018.09.2 Revised: 2019.02.18 Accepted: 2019.03.16

1. Department of biology,Jahrom branch,Islamic Azad University ,Jahrom, Iran
2. Associated Proffessor, Department of biology,Jahrom branch ,Islamic Azad University,Jahrom,Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.4,Winter 2019

Pars J Med Sci 2019;16(4):19-29

Abstract:

Introduction:
Saccharin is an artificial, non-caloric sweetener used to sweeten products such as beverages, confectionery, biscuits, medicines and toothpastes. This is while our body is not able to metabolize it. In the present study, the effect of saccharin on spermatogenesis process, testicular tissue structure and hormonal axis of pituitary gonad in rats was investigated.

Materials and Methods:
35 adult male Wistar rats were classified into 5 equal groups in a completely randomized design. The control group did not receive any solvent or medicine. The control group received 1 ml distilled water per day as an intraperitoneal injection. Experimental groups received 1, 2 and 3 times daily, respectively, 250, 500 and 1000 mg / kg body weight saccharin intraperitoneal injection for 35 days, respectively. Blood samples were taken from animals after 35 days and testis tissue was isolated for histological examination. The obtained data were analyzed by SPSS software version 16 and one way ANOVA and Duncan's post hoc test.

Results:
The amount of glucose in the experimental group was significantly higher than the control group ($P \leq 0.05$). The concentrations of testosterone, Dehydroepiandrosterone (DHEA), lutein and follicle stimulator in experimental groups have significantly reduced in comparison to the control group. Also, the number of Spermatogonium cells, primary and secondary spermatocytes, spermatid, spermatozoids and sperm in experimental groups have decreased significantly compared to the sham and control groups; but Sertoli and Leydig cells showed no any significant difference ($P>0.05$).

Conclusion:
Saccharin can have a harmful effects on the rate of hormone and male sex cells, and the histology confirms the obtained hormonal results. Of course in this regard, the mode and dosage of using this common used artificial sweeter is very important.

Keywords: Saccharin, testis, Pituitary-Gonad hormones axis, Rat

* Corresponding author Email: dr.hemayatkhah@yahoo.com-hemayatkhahr@jia.ac.ir