

مطالعه تغییرات مورفومتریک و هیستومتریک کلیه در موش‌های نابالغ مواجهه یافته با آسپارتام

زهرا طوطیان^{۱*} حسین لیموئی^۱ محمد تقی شبیانی^۱ سیمین فاضلی پور^۲ جمیله سالار آملی^۱

(۱) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

(۲) گروه آناتومی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، تهران - ایران

(دریافت مقاله: ۵ دی ماه ۱۳۹۱، پذیرش نهایی: ۲۲ فروردین ماه ۱۳۹۲)

چکیده

زمینه مطالعه: آسپارتام بعنوان یک شیرین کننده مصنوعی در طی چند دهه اخیر به طور گسترده‌ای در مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته است. **هدف:** هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات دوزهای متفاوت آسپارتام در تغییرات مورفومتریک و هیستومتریک کلیه در موش سوری بوده است. **روش کار:** ۲۴ سر موش سوری ماده نژاد Balb/C به صورت تصادفی به سه گروه تیمار و یک گروه شاهد شامل شش موش در هر گروه تقسیم شدند. گروه‌های تیمار آسپارتام را به ترتیب به میزان ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و موش‌های گروه شاهد آب مقطر را به همان روش به مدت ۲۱ روز دریافت نمودند. در پایان دوره آزمایش موش‌ها وزن گیری شده و بیپوش شدند. کلیه راست موش‌ها به روش H&E رنگ آمیزی گردیدند. **نتایج:** تفاوت وزن بدن، در گروه‌های تیمار از ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg بر کیلوگرم وزن بدن (۱۹۸/۴۳±۱/۴۳، ۲۸۱/۶۴±۱/۶۴ و ۳۸۸/۶۰±۲/۶۰) در مقایسه با گروه شاهد (۱۳۹/۶۵±۴/۶۵) کاهش معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$). طول، عرض و قطر کلیه‌ها، کاهش معنی داری بین گروه‌های تیمار و شاهد داشت ($p < 0.05$). در مطالعه هیستومتریک، تغییرات قطر کلافه مویرگی، قطر جسمک کلیوی و ارتفاع سلولی بافت پوششی لوله‌های پیچیده دور و نزدیک، در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنی داری بودند ($p < 0.05$). همچنین اندازه فضای ادراری، قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور و نزدیک نیز در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان دادند ($p < 0.05$). **نتیجه گیری نهایی:** چنین نتیجه گیری می‌شود که آسپارتام می‌تواند تغییرات مورفومتریک و هیستومتریک در کلیه ایجاد نماید.

واژه‌های کلیدی: شیرین کننده، بافت شناسی، حیوان، کلیه

(۱۷، ۳۳). البته این امکان وجود دارد که آسپارتام قبل از هیدرولیز، جذب سلول‌های مخاطی روده گشته و داخل این سلول‌ها متابولیزه گردد (۲۶، ۲۷). قابل ذکر است که متانول ماده‌ای است که در داخل آنتروسیت‌ها متابولیزه نمی‌گردد و بلافاصله وارد گردش سیاهرگی باب شده و سپس در کبد به فرم آلدئید اکسیده می‌شود (۹، ۱۸، ۳۵). اثرات سمی فرم آلدئید نیز در مطالعات مختلفی بر روی کلیه نشان داده شده است که ناشی از تشکیل آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن است (۱۰، ۱۴).

اثرات سمی مواد حاصل از متابولیسم آسپارتام و بویژه اثرات فرم آلدئید و متانول بر روی کلیه انسان بصورت تجمع ماده توکسیک توانسته است موجب ایجاد نکرورز در توبول‌های کلیوی شود (۲۸، ۳۵). Azoubel و Martins در سال ۲۰۰۷ با تجویز آسپارتام به روش گاوآژ در طی دوره اورگانوژنز در موش صحرائی، تغییرات مورفومتریک و هیستوپاتولوژیک در کلیه جنین موش صحرائی را گزارش نمودند (۲۱). همچنین محققین نشان داده‌اند که تجویز طولانی مدت آسپارتام به روش ایمپلنت داخل مثانه، باعث ایجاد تغییرات کارسینوژنیک در مثانه موش‌های بالغ ۶۰ تا ۹۰ روزه شد (۵). از دیگر اثرات آسپارتام که توسط Simintzi و همکاران در سال ۲۰۰۷ مورد بررسی قرار گرفته است تأثیر آن بر روی نوروترانسمیترهای مغزی است که این ماده قادر است باعث کاهش فعالیت آنزیمی استیل

مقدمه

آسپارتام یک شیرین کننده مصنوعی است که اولین بار در سال ۱۹۶۵ کشف گردید و از سال ۱۹۸۱ برای استفاده در ایالات متحده مورد تایید قرار گرفته است (۱۹). این شیرین کننده، دی پپتیدی حاصل از ترکیب دو اسید آمینه غیرشیرین اسید آسپارتیک و فنیل آلانین، با فرمول شیمیایی L-آسپارتیل-L-فنیل آلانین متیل استر است (۱۴، ۳۸). آسپارتام به صورت پودر سفید رنگ و فاقد بومی باشد که قدرت شیرین کنندگی آن ۱۶۰-۱۸۰ برابر ساکارز است و فاقد طعم فلزی است (۲۰). امروزه آسپارتام در بیش از ۹۰ کشور جهان و بیش از ۶۰۰۰ فرآورده غذایی و دارویی از جمله در نوشیدنی‌های کم کالری و بدون قند، آب میوه‌ها، آدامس‌ها، بستنی‌ها، آب نبات‌ها، مرباها، نوشیدنی‌های آماده به صورت پودر، ژله‌ها و ماست مورد استفاده قرار می‌گیرد و به نام‌های تجاری Nutrasweet و Aspartil نیز شناخته می‌شود (۱۶، ۱۹). با توجه به مصرف خوراکی این ماده، جذب روده‌ای و متابولیسم آسپارتام در جوندگان، خوک‌ها، پریمات‌ها و انسان مورد مطالعه قرار گرفته است و نشان داده شده که این ماده در داخل دستگاه معده‌ای-روده‌ای توسط استرازاها و پپتیدازها به اسید آمینه‌های سازنده اش (اسید آسپارتیک و فنیل آلانین) و متانول هیدرولیزی می‌گردد



قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور و نزدیک و نیز ارتفاع اپی تلیوم لوله‌های مذکور در همه گروه‌های تیمار و شاهد به طور یکسان اندازه‌گیری گردید. لازم به ذکر است که با توجه به این نکته که در هنگام برش‌گیری، مقاطع لوله‌های ادراری و نیز جسمک‌ها و کلافه مویرگی به حالت‌های مختلف طولی، عرضی و مورب برش می‌خورند، معیار مورد نظر در این پژوهش، اندازه‌گیری مقاطع عرضی و کمترین اندازه جسمک‌های کلیوی و کمترین عرض دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور و نزدیک بوده است. میانگین اقطار حاصل از اندازه‌گیری ثبت و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. جهت تجزیه آماری از روش آزمون واریانس یک طرفه (One Way Anova) و تست تعقیبی توکی (Tukey) استفاده گردید. آسپار تام مورد استفاده در این پژوهش پودر سفید رنگ با فرمول شیمیایی C14H18N2O5 محصول شرکت بازرگانی سیگما با شماره 3-261-245 EC. No. بود.

نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اختلاف وزن بدن موش‌های گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه شاهد از لحاظ آماری کاهش معنی‌داری دارند ($p < 0.05$). قابل ذکر است که در گروه‌های تیمار، اختلاف در وزن بدن در گروه تیمار شده با 400mg آسپار تام به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه‌هایی که آسپار تام را به میزان 100mg و 200mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بودند، وجود داشت ($p < 0.05$). در مطالعه مورفومتریک کلیه‌های موش‌های سوری تیمار یافته با آسپار تام، وزن، طول، عرض و ضخامت کلیه در همه گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0.05$)، اما در مقایسه بین گروه‌های تیمار با یکدیگر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱). در بررسی هیستومتریک کلیه، اندازه فضای ادراری موش‌های تیمار شده با آسپار تام در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). در مقایسه گروه‌های تیمار با یکدیگر اندازه فضای ادراری گروهی که 200mg آسپار تام را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بود، دارای افزایش معنی‌داری در مقایسه با سایر گروه‌های تیمار بود ($p < 0.05$). در مورد اندازه قطر جسمک کلیوی و قطر کلافه مویرگی در گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری ملاحظه گردید ($p < 0.05$). همچنین قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده نزدیک در گروه‌های تیمار دارای افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بودند ($p < 0.05$). ارتفاع بافت پوششی لوله‌های پیچیده نزدیک در گروه‌های تیمار کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد داشتند ($p < 0.05$). از نظر قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور، گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0.05$). همچنین ارتفاع بافت پوششی لوله‌های پیچیده دور در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$) (جدول ۲) (تصویر ۱).

کولین استراز و متعاقب آن، سردرد، سرگیجه، عدم تعادل و حتی تشنج در موش سوری و موش صحرایی گردد (۳۱،۳۲). همچنین Bryan در سال ۱۹۷۴ و Ishi در سال ۱۹۸۱ اثرات کارسینوژنیک آسپار تام را به اثبات رساندند (۵،۱۵). عوارض عمومی این ماده بر ساختارهای مختلف بدن مورد مطالعه قرار گرفتند (۱،۲۷). با توجه به مطالعات انجام گرفته و مسائل ابهام برانگیزی که در مورد سالم یا مضر بودن آسپار تام توسط Baudrimont و همکاران در سال ۲۰۰۱ و Magnuson و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطرح گردید، بررسی تغییرات مورفومتریک و هیستومتریک کلیه متعاقب مصرف آسپار تام ضروری به نظر می‌رسد (۲،۲۰). در این مطالعه از دو ناحیه قشری و مرکزی کلیه تنها به ناحیه قشری که از اهمیت بیشتری برخوردار است، تاکید می‌شود (۱۶).

مواد و روش کار

در این پژوهش ۲۴ سر موش سوری نژاد Balb/C ماده، در سن ۲۰ روزگی (از شیر گرفته شده) با وزن اولیه ۱۴-۱۲g از مؤسسه سرم سازی رازی تهیه و پس از مهیا نمودن شرایط محیطی مناسب (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی، دمای بین ۲۴-۲۲°C، آب و غذا به صورت نامحدود (۲۵،۳۴) به مدت ۲۴ ساعت به منظور عادت کردن به محیط جدید نگهداری شدند. جهت انجام این تحقیق پس از ثبت کردن وزن اولیه، موش‌ها به چهار گروه مساوی ۶ تایی شامل سه گروه تیمار و یک گروه شاهد تقسیم شدند. گروه‌های تیمار، آسپار تام را در دوزهای 100mg، 200mg و 400mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به روش گاواژ با استفاده از سوند معدی به مدت سه هفته دریافت کردند و به گروه شاهد فقط آب مقطر فاقد هر گونه ماده افزودنی و دقیقاً به همان روش تجویز گردید. در پایان دوره آزمایش موش‌ها مجدداً وزن‌گیری شده و سپس توسط کلروفورم بیهوش شدند. پس از باز نمودن محوطه شکمی و قبل از خارج کردن کلیه از حفره شکم، جهت مطالعه مورفومتریک کلیه، طول، عرض و ضخامت کلیه راست هر موش توسط کالیبر دیجیتال مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. پس از خارج کردن کلیه راست و شستشو با سرم فیزیولوژی، بافت‌های اضافی و چربی‌های اطراف کلیوی جدا شده و بعد از این مرحله با استفاده از ترازوی الکترونیکی وزن دقیق آن تعیین گردید. جهت مطالعه هیستومتریک کلیه، کلیه راست با برش طولی به دو نیمه مساوی تقسیم و جهت ثبوت در بافر فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. سپس با استفاده از روش‌های رایج تهیه مقاطع بافتی، برش‌هایی به ضخامت ۶-۵μm از نمونه‌ها به دست آمدند و با هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) رنگ‌آمیزی گردیدند. از مقاطع رنگ‌آمیزی شده از هر کلیه، ۸ مقطع به صورت تصادفی انتخاب و از هر مقطع ۳ میدان دید توسط فتومیکروسکوپ مجهز به نرم افزار axiovision مورد عکس برداری قرار گرفت. با استفاده از تصاویر به دست آمده در هر میدان دید، قطر جسمک کلیوی، قطر کلافه مویرگی، اندازه فضای ادراری (میانگین اندازه فضای ادراری در قطب عروقی و ادراری)،



جدول ۱. میانگین و انحراف معیار وزن بدن و مشخصه‌های مورفومتریک کلیه موش سوری نژاد Balb/C در گروه‌های تیمار شده با اسپارتام و گروه شاهد (n=۶). حروف غیر یکسان در هر ردیف افقی، حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $p < 0.05$ می‌باشد.

مشخصه و گروه	گروه شاهد	گروه تجربی ۱ (100 mg/kg BW)	گروه تجربی ۲ (200 mg/kg BW)	گروه تجربی ۳ (400 mg/kg BW)
اختلاف وزن بدن (g)	4/65±0/139 ^a	1/43±0/198 ^b	1/64±0/281 ^{bc}	2/60±0/388 ^c
وزن کلیه (g)	0/14±0/003 ^a	0/11±0/003 ^b	0/10±0/002 ^b	0/11±0/003 ^b
طول کلیه (mm)	10/02±0/066 ^a	9/33±0/172 ^b	9/27±0/069 ^b	9/31±0/061 ^b
عرض کلیه (mm)	7/09±0/092 ^a	6/28±0/172 ^b	6/10±0/194 ^b	6/09±0/084 ^b
ضخامت کلیه (mm)	5/65±0/045 ^a	5/13±0/125 ^b	5/11±0/057 ^b	5/15±0/074 ^b

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار تعداد جسمک‌های کلیوی و مشخصه‌های هیستومتریک کلیه موش سوری نژاد Balb/C در گروه‌های تیمار شده با اسپارتام و گروه شاهد (n=۶). حروف غیر یکسان در هر ردیف افقی، حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $p < 0.05$ می‌باشد.

مشخصه و گروه	گروه شاهد	گروه تجربی ۱ (100 mg/kg BW)	گروه تجربی ۲ (200 mg/kg BW)	گروه تجربی ۳ (400 mg/kg BW)
قطر جسمک کلیوی (μm)	151/99±0/549 ^a	146/87±0/400 ^b	144/55±0/335 ^c	146/54±0/386 ^b
قطر کلافه مویرگی (μm)	126/83±0/083 ^a	120/60±0/186 ^b	119/00±0/150 ^c	120/34±0/185 ^b
اندازه فضای ادراری (μm)	28/40±0/127 ^a	34/24±0/095 ^b	35/69±0/113 ^c	34/57±0/107 ^b
قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده نزدیک (μm)	20/94±0/084 ^a	22/67±0/163 ^b	24/80±0/149 ^c	24/73±0/162 ^c
ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌های پیچیده نزدیک (μm)	34/38±0/085 ^a	32/36±0/110 ^b	31/67±0/095 ^c	31/76±0/113 ^c
قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور (μm)	32/77±0/118 ^a	39/40±0/089 ^b	39/53±0/111 ^b	38/65±0/094 ^c
ارتفاع اپی‌تلیوم لوله‌های پیچیده دور (μm)	20/86±0/076 ^a	17/84±0/077 ^b	17/33±0/085 ^c	18/35±0/101 ^d

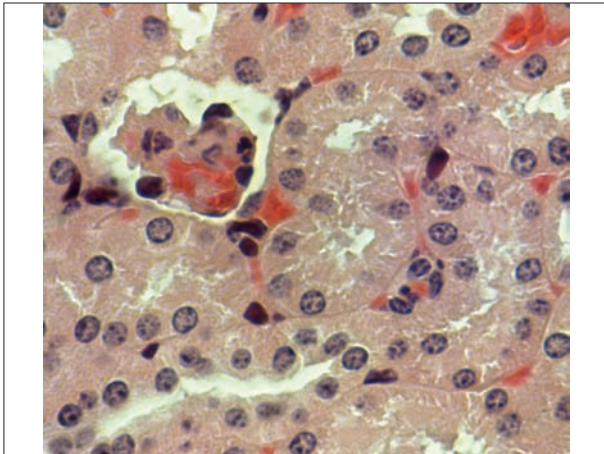
معنی‌دار وزن جنین موش صحرایی گردد (۲۱). همچنین در مطالعات دیگری Nguyen و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Vermunt و همکاران در سال ۲۰۰۳ تأثیر اسپارتام را به روش خوراکی بر روی کاهش وزن در انسان مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که مصرف اسپارتام باعث کاهش وزن و کنترل چاقی می‌گردد (۲۲، ۳۷). Beck و همکاران در سال ۲۰۰۲ طبق پژوهشی بیان نمودند که کاهش وزن بدن توسط اسپارتام به این علت است که این ماده می‌تواند باعث کاهش نوروپپتید Y مغزی شده و کاهش این نوروپپتید که نقش بسیار حیاتی در متابولیسم و سوخت و ساز بدن دارد، باعث کاهش وزن بدن می‌گردد (۴). در مطالعه حاضر نیز اسپارتام احتمالاً به همین دلیل توانسته است کاهش معنی‌داری را بر روی وزن بدن موش‌های نابالغ در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نماید. ولی Trocho و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که استفاده از اسپارتام با دوز ۲۰۰ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به روش خوراکی در مدت زمان ۱۰ روز باعث تجمع فرم‌آلدئید و افزایش وزن کلیه در موش صحرایی می‌گردد که با نتایج مطالعه حاضر همسوس نمی‌باشد (۳۵). همچنین Nguyen و همکاران در سال ۱۹۹۸ در تحقیقی اعلام نمودند که مصرف اسپارتام به میزان ۲۵۰ mg به ازای هر کیلوگرم در افراد بالغ باعث افزایش کلسیم ادرار شده و لذا در افراد مستعد به سنگ کلیوی ریسک فاکتور محسوب می‌گردد (۲۲). Pretorius و Humphries در سال ۲۰۰۹ در تحقیقی نشان دادند که تجویز خوراکی ۱۰۰، ۳۴ mg و ۱۵۰ اسپارتام به ازای هر کیلوگرم وزن بدن طی مدت ۳۷ روز در خرگوش باعث افزایش اندازه فضای ادراری می‌گردد (۲۴). در این مطالعه نیز اسپارتام در گروه‌های تیمار موجب افزایش اندازه فضای ادراری شده

بحث

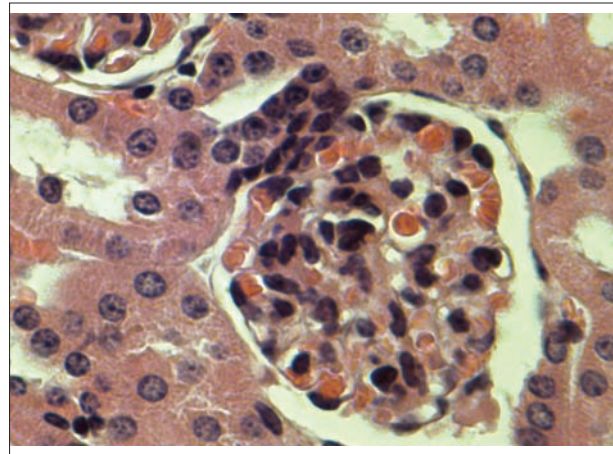
در مطالعه حاضر از شیرین کننده مصنوعی به نام اسپارتام به روش خوراکی استفاده شده است. هیدرولیز این ماده در لوله گوارش و همچنین در سلول‌های مخاط روده انجام می‌گیرد (۱۰، ۱۷، ۲۹، ۳۵). Dart در سال ۲۰۰۴ طی مطالعه‌ای نشان داد که دفع فرم‌آلدئید که ماده حاصل از متابولیسم اسپارتام می‌باشد نیز از طریق کلیه‌ها صورت می‌گیرد (۸). Trocho و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Verhelst و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش نمودند که مواد حاصل از هیدرولیز اسپارتام و به ویژه متانول که در کبد به فرم‌آلدئید اکسیده می‌گردد، در کلیه تجمع می‌یابد (۳۵، ۳۶). Giannini و همکاران در سال ۲۰۰۵ و Harris و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Zarasiz و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش نمودند که عدم فعالیت یک سری از آنزیم‌های دفاعی بدن که دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد و کلیه هستند، می‌تواند باعث تخریب غشاء پایه گلوبول‌های کلیوی و عامل اصلی آسیب به بافت کلیه باشند (۱۱، ۱۳، ۴۰). Cheeseman در سال ۱۹۹۳ و Parthasarathy و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که این عدم فعالیت آنزیمی در اثر سمیت فرم‌آلدئید یا فرمات حاصل از متابولیزه شدن متانول است (۷، ۲۳).

Azoubel و Martins در سال ۲۰۰۷ در مطالعه‌ای که در مورد اثر تجویز اسپارتام به روش خوراکی به میزان ۱۴ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، در موش‌های صحرایی آبستن در طی دوره ارگانوژنز و روزهای ۱۰ و ۱۱ آبستنی انجام دادند، اعلام نمودند که اسپارتام می‌تواند موجب کاهش

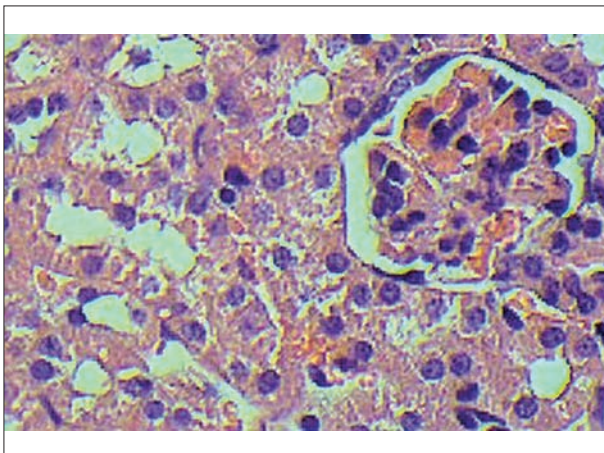




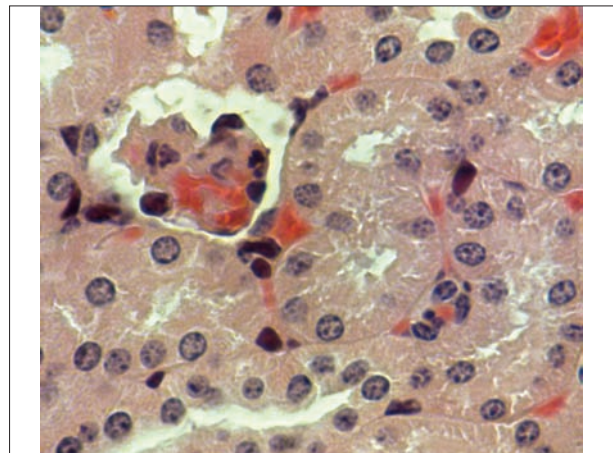
تصویر ۲. اندازه جسمک کلیوی، کلافه مویرگی و فضای ادراری در گروه تجربی تیمار شده با ۱۰۰ mg/kg/bw ملاحظه می‌گردد.



تصویر ۱. اندازه جسمک کلیوی، کلافه مویرگی و فضای ادراری در گروه کنترل ملاحظه می‌گردد.



تصویر ۴. اندازه جسمک کلیوی، کلافه مویرگی و فضای ادراری در گروه تجربی تیمار شده با ۴۰۰ mg/kg/bw ملاحظه می‌گردد.



تصویر ۳. اندازه جسمک کلیوی، کلافه مویرگی و فضای ادراری در گروه تجربی تیمار شده با ۲۰۰ mg/kg/bw ملاحظه می‌گردد.

هیچگونه تغییر هیستومتریکی در اندازه قطر جسمک کلیوی ایجاد نماید که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا قرار ندارد (۳۰). این عدم تغییرات احتمالاً به علت خواص مثبت گیاه Aloe vera بوده است. براساس پژوهش دیگری Gopalipour و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که تجویز بخار فرم آلدئید به مقدار ۱/۵ ppm به مدت ۲ ساعت در دروز از هفته، ۲ ساعت در چهار روز از هفته و ۴ ساعت در چهار روز از هفته، علیرغم اینکه باعث احتقان و دژنراسیون بافت کلیه و لوله‌های ادراری می‌گردد، ولی نمی‌تواند باعث ایجاد تغییرات مورفومتریک و هیستومتریکی در اندازه قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده دور و نزدیک شود که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر همخوانی ندارد، اما موجب کاهش اندازه قطر کلافه مویرگی و جسمک کلیوی می‌گردد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۱۲). اما مطالعه مشابهی که توسط Woutersen و همکاران در سال ۱۹۸۷ صورت گرفته حاکی از این مطلب است که مقادیر ۰،۰ ppm و ۲۰ بخار فرم آلدئید به مدت ۶ ساعت در ۵ روز از هفته، باعث ایجاد تغییرات هیستومتریکی در کلیه موش صحرایی گردید که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۳۹). به طور

است که با نتایج مطالعه مذکور همسومی باشد. در مطالعه حاضر آسپارتام قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده نزدیک را افزایش داده و ارتفاع اپی‌تلیوم این لوله‌ها را کاهش داده است که این افزایش قطر دهانه داخلی لوله‌های پیچیده نزدیک به علت کاهش ارتفاع بافت پوششی لوله‌های پیچیده نزدیک بوده است. همچنین طی مطالعه Kaley و Salocks در سال ۲۰۰۳ مشخص شده است که مصرف خوراکی متانول که یکی از محصولات حاصل از متابولیسم آسپارتام در دستگاه معده‌ای - روده‌ای است، باعث آنوری، آسیب حاد کلیوی، آتروفی، التهاب کلیوی و هماتوری در انسان می‌گردد و لذا به علت آتروفی باعث کاهش اندازه قطر جسمک کلیوی و کلافه مویرگی می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا قرار دارد (۲۸). در تحقیق دیگری Saritah و Anilakumar در سال ۲۰۱۰، در یک مطالعه حاد ابراز داشتند که تجویز خوراکی ۸، ۱۶ و ۲۰ عصاره متانولی گیاه Aloe vera به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در موش‌های صحرایی به مدت ۱۴ روز و در یک مطالعه تحت حاد تجویز ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ عصاره متانولی گیاه Aloe vera به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۴۲ روز نتوانسته است



References

1. Abhilash, M., Sauganth Paul, M.V., Varghese, M.V., Nair, R.H. (2011) Effect of long term intake of aspartame on antioxidant defense status in liver. *J Food Chem Toxicol.* 3: 1-5.
2. Baudrimont, I., Sostaric, B., Yenot, C., Betbeder, A. M. (2001) Aspartame prevents the karyomegaly induced by achrotoxin in rat kidney. *Arch Toxicol.* 75: 176-183.
3. Bauman, K., Angerer, J. (1979) Occupational chronic exposure to organic solvents with formic acid concentrations in blood is indicator of methanol exposure. *Int Arch Occup Environ Health.* 42: 241.
4. Beck, B., Bulet, A., Max, J. P., Stricker-Krongard, A. (2002) Effects of long-term ingestion of aspartame on hypothalamic neuropeptide Y, plasma leptin and body weight gain and composition. *Physiol Behav.* 75: 41-47.
5. Bryan, G.T. (1974) A 56 week urinary bladder tumorigenicity study in the mouse by the intravesical pellet implants technique. *University of Wisconsin School of Medicine and Public Health.* 3: 14-19.
6. Butchko, H.H., Stargel, W.W., Comer, C.P., Mayhew, D.A., Benninger, C., Blackburn, G.L., et al. (2002) Aspartame: review of safety. *Regul Toxicol Pharmacol.* 35: 81-93.
7. Cheeseman, K.H. (1993) Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Mol Aspects Med.* 14: 191-197.
8. Dart, R.C. (2004) Antiseptics and disinfectants. In: *Medical Toxicology.* Lippincot, W. (ed.). (3rd ed.) Wilkins. New York, USA.
9. Davoli, E. (1986) Serum methanol concentration in rats and in men after a single dose of aspartame. *Food Chem Toxicol.* 24: 187-189.
10. Dubreuil, A., Bouley, G., Godin, J., Boudene, C.J. (1976) Inhalation en continu de faibles doses de formaldehyde. *Eur J Toxicol.* 9: 245-250.
11. Giannini, E.G., Testa, R., Savarino, V. (2005) Liver enzyme alterations: A guide for clinicians. *CMAJ.* 172: 367-379.
12. Golalipour, M.J., Azarhoush, R., Ghafari, S., Davarian, A., Fazeli, H.S.A. (2009) Can formaldehyde exposure induce histopathologic and morphometric changes on rat kidney?. *Int J Morphol.* 27: 1195-1200.
13. Harris, C., Dixon, M., Hansen, J.M. (2004) Glutathione depletion modulates methanol, formaldehyde and formate toxicity in cultured rat conceptuses. *Cell Biol Toxicol.* 20: 133-145.
14. Iman, M.M. (2011) Effect of aspartame on some oxidative stress parameters in liver and kidney of rats. *Afr J Pharm Pharmacol.* 5: 678-682.
15. Ishi, H. (1981) Incidence of Brain Tumors in Rats Fed Aspartame. *J Toxicol Lett.* 7: 433-437.
16. Janqueira, L.C., Carneiro, J. (2003) *Basic Histology (text and atlas).* (10th ed.) Lange Medical Books. Mc Graw-Hill. London, UK.
17. Karim, A., Burns, T. (1996) *Metabolism and Pharmacokinetics of Radio Labeled Aspartame in Normal Subjects.* (4th ed.) CRC Publication. Boca Raton, USA.
18. Leisivouri, J., Heikki, S. (1991) Methanol and formic acid toxicity, biochemical mechanisms. *J Pharmacol Toxicol.* 69: 91-102.
19. Leme, L.F.A.G., Azoubel, R. (2006) Effects of aspartame on exocrine pancreas of rat fetuses. *Int J Morphol.* 24: 679-684.
20. Magnuson, B.A., Burdock, G.A., Kores, G.M., Marsh, G.M. (2007) Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations and toxicological and epidemiological studies. *Crit Rev Toxicol.* 37: 629-727.
21. Martins, M.R.I., Azoubel, R. (2007) Effects of aspartame on fetal kidney: a morphometry and stereological study. *Int J Morphol.* 25: 689-694.
22. Nguyen, U.N., Dumoulin, G., Henriet, M.T., Regnard, J.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران جهت تأمین بودجه کمال تشکر را دارم.



- (1998) Aspartame ingestion increases urinary calcium, but not oxalate excretion, in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 83: 165-168.
23. Parthasarathy, J.N., Ramasundaram, S.K., Sundaramahalingam, M., Pathinasany, S.D. (2006) Methanol induced oxidative stress in rat lymphoid organs. *J Occup Health.* 48: 20-27.
24. Pretorius, E., Humphries, P. (2009) A review of the histological morphology of the liver and kidney affected by aspartame. University of Pretoria South Africa. 8: 137-180.
25. Rajakrishnan, V., Subramanian, P., Viswanathan, P., Menon, V.P. (1999) Effect of chronic ethanol ingestion on biochemical circadian rhythms in Wistar rats. *J Alcohol Toxicol.* 18: 147-152.
26. Rajasekar, P., Subramanian, P., Manivasagam, T. (2004) Circadian variations of biochemical variables in aspartame treated rats. *J Pharm Biol.* 42: 1-7.
27. Ranney, R.E., Oppermann, J.A. (1979) A review of the metabolism of the aspartyl moiety of aspartame in experimental animals and man. *J Environ Pathol Toxicol.* 2: 979-985.
28. Salocks, C., Kaley, K.B. (2003) Technical support document: toxicology clandestine drug/labs methamphetamine: methanol. Cal/Epa, office of Env Health. 10: 1-11.
29. Saravis, S., Schachar, R., Zoltkin, S., Leiter, L.A., Anderson, G.H. (1990) Aspartame, physiology and biochemistry. *Pediatrics.* 86: 75-83.
30. Saritah, V., Anilakumar, K.R. (2010) Toxicological evaluation of methanol extract of aloe vera in rats. *Int J Pharm Biomed Res.* 5: 142-149.
31. Simintzi, I., Schulpis, K.H., Angelogianni, P., Liapi, C., Tsakiris, S. (2007) The effect of aspartame on the acetylcholinesterase activity in hippocampal homogenates of suckling rats. *J Pharmacol Res.* 56: 155-159.
32. Simintzi, I., Schulpis, K.H., Angelogianni, P., Liapi, C., Tsakiris, S. (2007) The effect of aspartame metabolites on the suckling rat frontal cortex acetylcholinesterase. *Food Chem Toxicol.* 45: 2397-2401.
33. Stegnik, L.D., Filer, L.J. (1996) Effects of Aspartame Ingestion on Plasma Aspartate, Phenylalanine and Methanol Concentrations in Normal Adults. (2nd ed.) CRC Publication. Boca Raton, USA.
34. Subramanian, P., Balamurugan, E. (1999) Temporal oscillations of serum electrolytes in N-phthaloyl GABA-treated rats. *J Pharmacol Biochem Behav.* 62: 511-514.
35. Trocho, C., Pardo, R., Rafecas, I., Virgili, J., Remesar, X., Fernandez Lopez, J.A., et al. (1998) Formaldehyde derived from dietary aspartame binds to tissue components *in vivo*. *Life Sci.* 65: 337-379.
36. Verhelst, D., Moulin, P., Haufroid, V., Wittebole, X., Jadoul, M., Hantson, P. (2004) Acute renal injury following methanol poisoning: analysis of a case series. *Int J Toxicol.* 23: 267-272.
37. Vermunt, S.H., Pasman, W.J., Schaffsma, G., Kardinal, A.F. (2003) Effects of sugar intake on body weight: A review. *Obes Rev.* 4: 91-99.
38. Watson, D.H. (2002) Food Chemical Safety. (2nd ed.). Woodhead Publishing. Cambridge, UK.
39. Woutersen, R.A., Appleman, L.M., Wilmer, J.W., Falke, H.E., Feron, V.J. (1987) Subchronic (13 weeks) inhalation toxicity study of formaldehyde in rats. *J Appl Toxicol.* 7: 43-49.
40. Zarasiz, I., Sarsilmaz, M., Tas, U., Kus, I., Meydan, S., Ozan, E. (2007) Protective effect of melatonin against formaldehyde-induced kidney damage in rats. *Toxicol Ind Health.* 23: 573-579.



Morphometrical and histometrical changes of kidney in immature mice exposed to aspartame

Tootian, Z.^{1*}, Limouei, H.¹, Sheibani, M.T.¹, Fazelipour, S.², Salar Amoli, J.¹

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

²Department of Anatomy, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran-Iran

(Received 25 December 2012 , Accepted 10 April 2013)

Abstract:

BACKGROUND: Aspartame, as a synthetic sweetener, has been widely used in food products during the recent decades and renal excretion of aspartame lasts several days. **OBJECTIVES:** The aim of the present study was to investigate the dose-dependent effects of aspartame on morphometrical and histometrical changes of the kidney in immature mice. **METHODS:** 24 immature female Balb/C mice, were randomly categorized to three experimental and one control groups of 6 mice each. Experimental and control groups received aspartame 100, 200 and 400 mg/kg/bw respectively and distilled water with the same method for 21 days. At the end of the experiment, the mice were weighed and anesthetized their right kidneys were stained with Hematoxylin and Eosin. **RESULTS:** body weight difference showed significant decrease in experimental groups of 100, 200, 400 mg/kg/bw (1.43 ± 0.198 , 1.64 ± 0.281 , 2.60 ± 0.388) respectively compare to the control groups (4.65 ± 0.139), length, width, diameter and weight of kidneys had significant decrease between experimental and control groups ($p < 0.05$). In the case of histometrical changes, the diameter of glomeruli, diameter of renal corpuscles and the height of epithelium of proximal and distal convoluted tubules showed significant decrease in experimental groups compared to control group ($p < 0.05$). The diameter of urinary space and lumen of proximal and distal convoluted tubules, experimental groups showed significant increase compared to control group ($p < 0.05$). **CONCLUSIONS:** This can be concluded that aspartame can induce morphometrical and histometrical changes in mice kidney.

Key words: sweetener, histology, animal, kidney

Figures Legends and Table Captions

Figure 1. The diameter of renal corpuscle, glomerulus and urinary space of control group are shown.

Figure 2. The diameter of renal corpuscle, glomerulus and urinary space of treatment group exposed to 100mg/kg/bw are shown.

Figure 3. The diameter of renal corpuscle, glomerulus and urinary space of treatment group exposed to 200mg/kg/bw are shown.

Figure 4. The diameter of renal corpuscle, glomerulus and urinary space of treatment group exposed to 400mg/kg/bw are shown.

Table 1. Mean and Standard Error of body weight and morphometrical items of Balb/C mice kidney exposure to aspartame in treatment and control groups (n=6).

Table 2. Mean and Standard Error of histometrical items of Balb/C mice kidney exposure to aspartame in treatment and control groups (n=6). In all tables different superscript letters show significant difference at ($p < 0.05$).

