

تأثیر تجویز توأم عصاره سویا و ویتامین D₃ بر میزان کلسیم سرمی و عملکرد غده تیروئید در موش

سید حسین مرجانمهر^{۱*} شمس السادات موسوی^۱ جمیله سالارآملی^۲ زهرا طوطیان^۲ امیرعلی شهبازفر^۳

(۱) گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران.

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

(۳) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز-ایران.

(دریافت مقاله: ۱۴ اسفند ۱۳۸۹، پذیرش نهایی: ۱۴ شهریور ۱۳۹۰)

چکیده

غده تیروئید متشکل از دولوب متقارن نقشی مهم در متابولیسم بدن و تنظیم کلسیم خون دارد. بسیاری از عوامل شیمیایی و تغذیه‌ای قادر به ایجاد تغییرات در سطوح سرمی هورمون‌های تیروئید و بروز آشفته‌گی در متابولیسم بدن می‌باشند (۱۴). به منظور بررسی هورمون‌های تیروئید به دنبال مصرف خوراکی عصاره سویا و ویتامین D₃، تعداد ۴۲ سر موش ماده بالغ در ۷ گروه به مدت ۳۵ روز مورد مطالعه قرار گرفتند. عصاره سویا با دوز (روزانه ۵ گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن و روزانه ۱۰ گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و ویتامین D₃ نیز با دوز (روزانه ۱۰۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن و روزانه ۲۰۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و ترکیب این دو ماده نیز با هر دو دوز (دوزهای کم و زیاد) به صورت خوراکی به موش‌ها داده شد. در پایان دوره، پس از بیهوش نمودن موش‌ها با دی‌اتیل اتر، خونگیری از آنها جهت تهیه سرم انجام گرفت. برای اندازه‌گیری سطوح سرمی کلسیم از روش کالریمتری و برای اندازه‌گیری هورمون‌های T₃، T₄ و TSH از روش رادیوایمونواسی استفاده شد. پس از انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی و مشخص شدن نتایج و انجام آزمون آماری ANOVA یکطرفه بر روی این داده‌ها، تفاوت آماری معنی‌داری بین نتایج در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده شد (p < ۰/۰۰۱). نتایج این تحقیق نشان‌دهنده کاهش هورمون‌های T₃ و T₄ و افزایش TSH و بروز هیپوتیروئیدیسم در موش‌هایی بود که عصاره سویا مصرف کرده بودند. در مورد موش‌های دریافت‌کننده ویتامین D₃، هیپیرکلسمی و کاهش TSH رخ داده بود. در موش‌هایی که هر دو ماده را دریافت کرده بودند، تنها در موش‌های دریافت‌کننده دوز زیاد عصاره سویا و ویتامین D₃ کاهش هورمون T₃ و افزایش هورمون TSH از نظر آماری معنی‌دار و نشانگر بروز هیپوتیروئیدیسم در آن‌ها بود. در مجموع، نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که مصرف توأم عصاره سویا و ویتامین D₃، البته در مقادیر کم، می‌تواند اثرات ناشی از مصرف هر یک به تنهایی بر روی عملکرد غده تیروئید و نیز هوموستاز کلسیم را تعدیل نماید.

واژه‌های کلیدی: عصاره سویا، هورمون‌های تیروئید، ویتامین D₃، کلسیم، موش.

و وجود دارد (۱۱).

همچنین در افراد بالغ نیز مصرف سویا منجر به سرکوب فعالیت غده تیروئید و بروز گواتر گردیده است (۲، ۱۲). بررسی‌های به عمل آمده حاکی از آن است که ایزوفلاون‌های موجود در سویا فعالیت آنزیم پراکسیداز را که آنزیمی ضروری در سنتز هورمون‌های تیروئید است، مهار می‌نمایند (۱، ۳). از میان گیاهان خانواده لگومینه، سویا حاوی بیشترین میزان اسید فیتیک می‌باشد. این اسید جذب مواد معدنی بویژه روی و همچنین کلسیم، منیزیم و آهن را در روده مهار می‌نماید و فقط یک تخمیر طولانی مدت می‌تواند تا حدود زیادی از محتوای فیتات سویا بکاهد (۵). بنابراین مصرف سویا ممکن است هوموستاز کلسیم را نیز مختل نماید.

از سوی دیگر، بر طبق تحقیقات مختلف، هیپیرکلسمی مزمن می‌تواند موجب کاهش ترشح هورمون TSH از غده هیپوفیز گردد (۸). همچنین ویتامین D₃ نیز می‌تواند به صورت وابسته به دوز موجب کاهش ترشح این هورمون گردد (۱۹).

مقدمه

هورمون تیروئید با اعمال اثر بر روی طیف وسیعی از بافت‌های بدن، از مهم‌ترین عوامل تنظیم‌کننده متابولیسم پایه به شمار می‌آید (۹). بسیاری از عوامل شیمیایی و تغذیه‌ای قادر به ایجاد اختلال در عملکرد طبیعی غده تیروئید و تغییر در سطوح سرمی هورمون‌های آن و به دنبال آن بروز آشفته‌گی در متابولیسم بدن می‌باشند (۱۵). سویا با نام علمی *Glycine max*، به دلیل داشتن اثرات مثبتی چون پیشگیری و درمان استئوپروزیس و کاهش علائم یائسگی، مدت‌هاست مورد توجه ویژه بانوان در سراسر جهان بوده است. اما در کنار این اثرات مثبت، سویا به عنوان یک عامل ضد تیروئیدی مطرح گردیده است و بروز هیپوتیروئیدیسم و گواتر بویژه در شیرخواران مصرف‌کننده شیر فرموله شده با سویا گزارش شده است (۱۶).

البته گزارش‌هایی مبنی بر بروز گواتر بدون علائم مربوط به هیپوتیروئیدیسم در نوزادان استفاده‌کننده از شیر فرموله شده با سویا نیز



امکان تغلیظ شد. در مرحله تغلیظ، تمام متانول موجود در نمونه تبخیر شده و آنچه باقی مانده بود، عصاره آبی - الکلی و یا عصاره تام سویا بود که جرمی معادل ۲۰ گرم داشت.

ویتامین D₃ خالص و جامد نیز از شرکت داروسازی ارس بازار تهیه و از روغن زیتون به عنوان حلال آن استفاده شد.

محققین ژاپنی اثرات ناشی از مصرف سویا را بر غده تیروئید افراد سالم بررسی و گزارش کرده اند که مصرف روزانه ۳۰ گرم سویا در فردی با وزن ۷۰ کیلوگرم فقط برای مدت یک ماه منجر به افزایش معنی دار TSH سرم و بروز علائم هیپوتیروئیدیسم می شود (۱۰). از سوی دیگر، دوز مؤثر ایزوفلاون ها برای تأثیر بر اندام های مختلف از جمله تیروئید، در جوندگان بسیار بالاتر از انسان و در حدود ۱۰ تا ۲۵ برابر می باشد (۲۱). با توجه به این که در فرآیند عصاره گیری در این تحقیق، سویا به میزان ۲/۵ برابر تغلیظ گردید و جرم موش ها به طور متوسط ۲۰ گرم بود، دوزهای کم و زیاد عصاره سویا برای موش های مورد آزمایش محاسبه گردید.

دوز توکسیک ویتامین D₃ جهت ایجاد هیپرکلسمی در موش برای مدت ۳۵ روز نیز محاسبه و رقت های مختلف از آن تهیه گردید (۱۷).

روش انجام آزمایش: تجویز مواد مورد نظر به موش ها از طریق خوراکی و به روش گاوآبه شرح زیر صورت گرفت:

گروه ۱ (شاهد) - به منظور حفظ شرایط مشابه، فقط معادل ۵۰ ml/kgBW/day سرم فیزیولوژی دریافت می کردند.

گروه ۲ - ۵ g/kgBW/day عصاره سویا.

گروه ۳ - به ۱۰۰ µg/kgBW/day ویتامین D₃.

گروه ۴ - ۵ gr/kgBW/day عصاره سویا + ۱۰۰ µg/kgBW/day

ویتامین D₃.

گروه ۵ - ۱۰ g/kgBW/day عصاره سویا.

گروه ۶ - ۲۰۰ µg/kgBW/day ویتامین D₃.

گروه ۷ - ۱۰ gr/kgBW/day عصاره سویا + ۲۰۰ µg/kgBW/day

ویتامین D₃.

در پایان دوره، به منظور تهیه سرم، پس از القاء بیهوشی بادی اتیل اتر، خونگیری از موش ها به روش پونکسیون قلبی انجام گرفت.

با استفاده از روش رادیوایمونواسی، غلظت سرمی هورمون های T₃، T₄، TSH و با استفاده از روش کالریمتری، غلظت سرمی کلسیم در مورد هر موش اندازه گیری شد. کیت های مورد استفاده در آزمایش های هورمونی، ساخت شرکت Liaison کشور ایتالیا و کیت سنجش کلسیم، ساخت شرکت پارس آزمون ایران بود.

نتایج به دست آمده از این تحقیق، با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای بررسی تفاوت میان میانگین ها در گروه های مختلف، از آزمون TUKEY در سطح معنی داری (p < ۰/۰۱) استفاده گردید.

با توجه به وجود اثرات متقابل کلسیم و هورمون های تیروئید بر یکدیگر و وجود احتمال اثرات سوء ناشی از مصرف سویا بر غده تیروئید و جذب کلسیم از یک سو، همچنین موارد فراوان مصرف توأم سویا و ویتامین D₃ در بانوان از سوی دیگر، انجام مطالعه ای با هدف بررسی تأثیرات سویا و ویتامین D₃ بر میزان کلسیم سرم و فعالیت غده تیروئید به تنهایی و نیز به صورت توأم مورد نیاز است. تحقیق حاضر نیز به این منظور انجام شده تا به این سوال پاسخ داده شود که آیا افزودن ویتامین D₃ به جیره غذایی حاوی سویا و به دنبال آن افزایش میزان کلسیم خون، قادر به اصلاح و برطرف نمودن تغییرات احتمالی حاصل از مصرف سویا می باشد یا خیر؟

مواد و روش کار

در این پژوهش، به بررسی اثرات ناشی از مصرف خوراکی عصاره سویا و ویتامین D₃ بر فعالیت غده تیروئید پرداخته شده است.

حیوانات مورد آزمایش: در این تحقیق، از ۴۲ سرموش BALB/C ماده بالغ استفاده شد. موش ها در ۷ گروه ۶ تایی و به مدت ۳۵ روز در آزمایشگاه با درجه حرارت ۲۳-۲۰ درجه سانتیگراد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعت نگهداری شدند. غذای پلتی استاندارد - محصول شرکت بهپور - و آب به طور آزاد در اختیار حیوانات قرار داشت.

سویای خوراکی، با نام تجاری هرتا، محصول شرکت آسان گوار خریداری و سپس عصاره آبی - الکلی آن با استفاده از متانول (Merck_ Art-No: 1.06009) و دستگاه سوکسله تمام اتوماتیک Plate Hot مدل HP 6-500 ساخت شرکت Spectrom Scientifics، که دارای بالون ۲۵۰ سی سی، مبرد و جاکارتوشی بود، تهیه گردید.

روش عصاره گیری: مراحل تهیه عصاره سویا در آزمایشگاه سم شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد (۲۰).

نمونه سویای مورد نظر با کمک آسیاب پودر شده و ۵۰ گرم از پودر سویا داخل کارتوش مدل ACHERY-NAGEL اندازه ۲۸×۱۰۰ mm, 645013 Art-No: قرار گرفت. جهت جلوگیری از خروج مواد هنگام ریختن محلول، روی آن با کاغذ سلولزی پوشانده شد. کارتوش آماده، داخل دستگاه سوکسله قرار گرفت. سپس ۱۰۰ سی سی محلول ۸۰ درصد متانول (۸۰ سی سی متانول + ۲۰ سی سی آب مقطر) به عنوان حلال با استفاده از قیف از بالای مبرد به آرامی داخل دستگاه ریخته شد. هیتر (مدل HCH-COMBITHERM ساخت شرکت IKA)، در زیر دستگاه قرار گرفته و روشن شد و نمونه با حرارت ملایم حداقل به مدت ۸ ساعت گرماداده شد (تا زمانی که حلال اطراف کارتوش کاملاً بی رنگ شود). سپس حرارت قطع و اجازه داده شد تا محلول کاملاً سرد شود. دستگاه باز شده و همه محلول های داخل مسیر در همان بالون ۲۵۰ سی سی جمع آوری گردید. در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، با استفاده از دستگاه تبخیر در خلا چرخان، مدل BËchi _ soofer B10G، ساخت شرکت Soofer، محلول تا حد



نتایج

در طول دوره، موش‌ها از نظر شرایط فیزیولوژیک ظاهری، وزن بدن، تحرک و میزان دریافت آب و غذا کنترل می‌شدند و تفاوت خاصی از این جهات میان گروه‌های مختلف مشاهده نشد.

در بررسی تغییرات سرمی کلسیم و هورمون‌های T_3 , T_4 و TSH با استفاده از تست ANOVA، تفاوت آماری معنی‌داری میان گروه‌ها مشاهده شد ($p < 0.01$) که نتایج آن در جدول ۱ آمده است.

کلسیم: مطابق جدول ۱، سطوح سرمی کلسیم در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است، اما این افزایش تنها در گروه‌های ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است. همچنین این دو گروه، از نظر سطح کلسیم نسبت به هم تفاوت آماری معنی‌داری ندارند. علاوه بر این، افزایش کلسیم سرم در موش‌های گروه ۶، نسبت به همه گروه‌ها معنی‌دار است.

TSH: غلظت هورمون TSH در گروه‌های ۲، ۵ و ۷، نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار یافته است. تفاوت غلظت TSH میان گروه ۲ و ۷، از نظر آماری معنی‌دار نیست، اما در گروه ۵، این افزایش نسبت به همه گروه‌ها معنی‌دار است. همچنین در گروه‌های ۳ و ۶، غلظت TSH نسبت به گروه کنترل و سایر گروه‌ها کاهش معنی‌دار یافته است، این در حالی است که میزان هورمون TSH در گروه ۶ از گروه ۳ نیز کم‌تر است، ولی این تفاوت نیز از نظر آماری معنی‌دار نیست.

T_3 : میزان هورمون T_3 ، در تمام گروه‌ها نسبت به گروه شاهد کاهش یافته، اما این کاهش تنها در گروه‌های ۲، ۵ و ۷ از نظر آماری معنی‌دار است و با وجود این که غلظت این هورمون در گروه ۵ از تمام گروه‌ها کم‌تر است، این سه گروه از جهت میزان هورمون T_3 ، با هم تفاوت آماری معنی‌داری ندارند.

T_4 : غلظت این هورمون، در همه گروه‌ها نسبت به گروه شاهد کاهش یافته، ولی با وجود کم‌ترین میزان هورمون T_4 در موش‌های گروه ۵، میان هیچ یک از گروه‌ها از نظر میزان این هورمون، تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد.

بحث

نتایج این مطالعه، بروز هیپوتیروئیدسم در اثر مصرف عصاره سویا را تأیید می‌نماید. در موش‌های گروه‌های ۲ و ۵، کاهش سطوح سرمی هورمون‌های T_3 و T_4 و افزایش سطح هورمون TSH گواه این مطلب است. همچنین شدت این عارضه در موش‌های گروه ۵ که دوز دو برابر عصاره سویا را دریافت کرده‌اند، بیشتر است.

طی دهه ۱۹۵۰، اولین گزارش‌های مربوط به آسیب تیروئید در نوزادان استفاده‌کننده از شیر فرموله شده با سویا، حاکی از بروز گواتر بدون علائم مربوط به هیپوتیروئیدسم در آن‌ها بود (۱۱).

عده‌ای از محققین خاصیت ضد تیروئیدی سویا را مربوط به

ایزوفلاون‌های آن می‌دانند. چرا که معتقدند ایزوفلاون‌ها موجب مهار آنزیم پراکسیداز تیروئید می‌گردند (۱). آنزیم پراکسیداز در رأس غشاء سلول‌های فولیکولی تیروئید حضور دارد و یک آنزیم حاوی آهن بوده و هر دو واکنش مورد نیاز جهت سنتز هورمون‌های تیروئیدی یعنی یددار شدن باقیمانده‌های تیروزیل مولکول تیروگلوبولین و جفت شدن اکسیداتیو مولکول‌های تیرونین جهت تشکیل T_4 و T_3 را کاتالیز می‌نماید (۹). در عین حال طبق مطالعات Doerge و Sheehan در سال ۲۰۰۲، اگرچه ۸۰ درصد کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز تیروئید در موارد مصرف مقادیر زیاد ایزوفلاون‌ها و بویژه در حیوانات ماده گزارش شده است، اما مهار این آنزیم حتی در موارد وجود مقدار بسیار کم ایزوفلاون در غذای نیز رخ می‌دهد (۳). همچنین طبق مطالعه Chang و Doerge در سال ۲۰۰۰، علی‌رغم کاهش فعالیت تیروپراکسیداز در رت‌ها، تغییری در وزن و بافت‌شناسی غده تیروئید این حیوانات مشاهده نشده بود (۱). اما در مطالعه حاضر، تغییراتی قابل توجه در سطوح هورمون‌های غده تیروئید موش‌های دریافت‌کننده عصاره سویا مشاهده شد که نشان می‌دهد نه تنها سویا قادر به ایجاد این تغییرات است، بلکه حرارت دادن و عصاره‌گیری آن موجب از بین رفتن ماده مؤثر بر تیروئید نشده است.

ایزوفلاون‌های سویا در واقع فیتواستروژن‌هایی با خاصیت استروژنی پایین هستند و با اتصال به رسپتورهای استروژنی اثرات خود را اعمال می‌نمایند (۱۸). برخی دانشمندان بر این باورند که مصرف سویا حتی برای مدت یک ماه موجب می‌شود نیاز به ید در رژیم غذایی افزایش یابد و در واقع بروز گواتر، حاصل وجود نوعی سینرژسم میان مصرف سویا و کمبود ید در رژیم غذایی و بخش کوچکی از این اثر وابسته به مسیر هیپوفیز-هیپوتالاموس است (۱۰). در مطالعه‌ای که توسط Ikeda و همکارانش در سال ۲۰۰۰ صورت گرفت، سویا به تنهایی موجب افزایش سطح TSH سرم شده بود، در حالی که T_4 بدون تغییر مانده بود و این رخداد و وجود تفاوت میان مکانیسم اثر سویا با مکانیسم اثر کمبود ید نشان می‌دهد، چرا که در موارد کمبود ید و بروز گواتر، کاهش T_4 به همراه افزایش TSH رخ می‌دهد (۱۰). این در حالی است که در مورد انسان گزارش‌هایی مبنی بر ایجاد گواتر و علائم ناشی از هیپوتیروئیدسم در موارد مصرف سویا حتی بدون کمبود ید در غذا نیز وجود دارد (۱۲).

برخی از فلاونوئیدهای موجود در غذا، علاوه بر مهار فعالیت پراکسیداز تیروئید با مکانیسم‌های مختلف، فعالیت آنزیم دیدیناز کبدی رانیز مهار می‌کنند. آنزیم دیدوتیرونین دیدیناز مسئول تبدیل T_4 به T_3 - که هورمونی فعال از نظر بیولوژیک است می‌باشد. در بیماری Grave's به دلیل افزایش فعالیت این آنزیم غلظت هورمون T_3 افزایش می‌یابد. این آنزیم دارای دو ایزوآنزیم است: تیپ ۱ و تیپ ۲. تیپ ۱ اغلب در کبد، کلیه و تیروئید یافت می‌شود و مسئول تولید بخش عمده T_3 در گردش خون است. مهار این آنزیم در نتیجه کاهش تبدیل T_4 به T_3 به صورت موضعی، می‌تواند موجب کاهش T_3 سرمی گردد. نتیجه مطالعه Ferreira و



مطالعه نشان می‌دهد که در گروه‌های ۲ و ۵ که تنها عصاره سویا دریافت نموده‌اند، نه تنها هاپیوکلسمی رخ نداده است، بلکه به میزان بسیار جزئی شاهد هاپیوکلسمی در این گروه‌ها هستیم. این افزایش کلسیم سرم از نظر آماری معنی‌دار نیست، ولی ممکن است دلیل بروز آن کم بودن میزان اسید آمینه‌های گوگرددار در سویا باشد. طبق مطالعات Zemel، مصرف سویا موجب کاهش نیاز به کلسیم در جیره غذایی می‌شود، چرا که میزان اسید آمینه‌های گوگرددار که موجب کاهش باز جذب کلسیم از لوله‌های ادراری و در نتیجه موجب بروز هاپیوکلسمی یوری می‌گردند، در سویا بسیار کم است. بنابراین در اثر مصرف سویا، افزایش باز جذب کلیوی کلسیم و هاپیوکلسمی یوری مشاهده می‌گردد و اثر این پدیده بر اثر حضور فیتات‌ها بر جذب کلسیم غالب می‌شود (۲۳).

از سوی دیگر، Fallon و همکاران در سال ۱۹۹۵، به این نتیجه رسیدند که تنها فرآیندی که می‌تواند از میزان اسید فیتیک موجود در سویا بکاهد، تخمیر طولانی مدت است (۵). با توجه به نتایج حاصل از مطالعه پیش رو، مبنی بر افزایش جزئی کلسیم سرم در موش‌های دریافت‌کننده عصاره سویا، می‌توان چنین نتیجه گرفت که ممکن است فرآیند عصاره‌گیری نیز قادر به حذف و یا کاهش محتوای فیتات سویا باشد.

مطالعات دیگری نیز در زمینه تأثیر ویتامین D₃ بر غده تیروئید وجود دارد که از جمله آنها می‌توان به نتایج مطالعات Tornquist و همکاران در سال ۱۹۹۰ اشاره نمود که نشان می‌دهد ویتامین D₃ به صورت وابسته به دوز موجب کاهش TSH سرم می‌گردد (۱۹). در تحقیق Gillet و همکارانش در سال ۱۹۹۰ نیز هاپیوکلسمی مزمن موجب کاهش TSH و نرمال ماندن T₄ و T₃ شده بود. این مشاهدات نشان می‌داد که کلسیم در دو سطح عمل می‌کند: ۱- برای افزایش ترشحات غده تیروئید در پاسخ به TSH، ۲- برای کاهش TSH توسط تأثیر مستقیم بر غده هیپوفیز (۸).

بر اساس تحقیق Kalisnik و همکاران در سال ۱۹۹۰، تنظیم فعالیت سلول‌های فولیکولی غده تیروئید و ترشحات این غده از طریق افزایش کلسیم خون مهم تر و مؤثرتر از تنظیم داخلی توسط تیروتروپین و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز است (۱۳).

در پژوهش پیش رو نیز موش‌های گروه ۳ و ۶ که تنها ویتامین D₃ دریافت نموده‌اند، دچار هاپیوکلسمی شده‌اند و نیز دارای سطح TSH کمتری در سرم خود هستند. گفتنی است شدت این عوارض در موش‌های گروه ۶ که دوز بالای ویتامین D₃ را دریافت کرده‌اند، بیشتر است. کاهش هورمون‌های T₄ و T₃ در این دو گروه نیز می‌تواند متعاقب کاهش TSH رخ داده باشد.

در گروه‌های ۴ و ۷ که هر دو ماده را دریافت نموده‌اند و هدف اصلی از این مطالعه نیز بررسی اثرات توأم این دو ماده بر فعالیت غده تیروئید بوده است، تغییراتی به چشم می‌خورد:

در این دو گروه، کلسیم سرم نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است و این افزایش معنی‌دار با توجه به اثرات جداگانه ویتامین D₃ و سویا که

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار سطح سرمی کلسیم، TSH، T₃، T₄ در موش‌های تحت درمان با عصاره سویا و ویتامین D₃ به تنهایی و با هم (p < ۰/۰۰۱). حروف غیر مشابه در هر ستون، نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار میان گروه‌هاست. ۱- گروه شاهد، ۲- عصاره سویا (۵۰ mg/kgBW/day)، ۳- ویتامین D₃ (۱۰۰ μg/kgBW/day)، ۴- عصاره سویا (۵۰ mg/kgBW/day) + ویتامین D₃ (۱۰۰ μg/kgBW/day)، ۵- عصاره سویا (۱۰۰ mg/kgBW/day)، ۶- ویتامین D₃ (۲۰۰ μg/kgBW/day)، ۷- عصاره سویا (۱۰۰ mg/kgBW/day) + ویتامین D₃ (۲۰۰ μg/kgBW/day).

گروه	Calcium(mg/dl)	TSH(mIU/dl)	T ₃ (ng/dl)	T ₄ (mg/dl)
۱	۹/۴۲±۰/۸۳ ^A	۰/۳۳±۰/۰۵ ^A	۲۰۷±۱۴/۲۶ ^A	۵/۲±۰/۴۸ ^A
۲	۱۰/۱±۰/۲۸ ^A	۰/۴۹±۰/۰۵ ^B	۱۱۸±۲۹ ^B	۴±۲/۲۷ ^A
۳	۱۱±۰/۲۵ ^B	۰/۱۸±۰/۱ ^C	۱۷۸±۲۵/۷ ^A	۳/۸±۱/۳۴ ^A
۴	۱۰/۵±۰/۷۸ ^B	۰/۲۸±۰/۰۹ ^A	۱۸۲±۳۶/۵ ^A	۴±۲/۱۶ ^A
۵	۱۰/۳۹±۰/۶ ^A	۰/۶۶±۰/۱ ^D	۱۱۵±۶۳ ^B	۳±۱/۳۵ ^A
۶	۱۲/۱±۰/۴۴ ^C	۰/۱۴±۰/۰۴	۱۹۶±۶۰ ^A	۴/۹±۱/۶ ^A
۷	۱۰/۱±۰/۳۱ ^A	۰/۴۲±۰/۱۳ ^B	۱۴۰±۴۳ ^B	۵±۰/۵۴ ^A

همکاران در سال ۲۰۰۲، گواتر را بودن فلاونوئیدها را تأیید می‌نماید (۶). در مطالعه حاضر نیز کاهش T₄ در گروه‌های ۲ و ۵ که تنها عصاره سویا دریافت کرده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار نیست. این نتیجه نیز می‌تواند تأیید کننده نقش ایزوفلاون‌ها در مهار آنزیم دیدیناز باشد. برخی از دانشمندان معتقدند که ساپونین موجود در دانه سویا نیز می‌تواند موجب بزرگی غده تیروئید گردد (۱۱).

مکانیسم دیگری برای ایجاد گواتر در موارد مصرف سویا مطرح گردیده و آن عبارتست از ایجاد پیوند کووالانت میان ایزوفلاون‌هایی از قبیل Genistein با آنزیم تیروپراکسیداز که منجر به تولید یک نئوآنتی‌ژن می‌گردد و زمینه را برای ایجاد تیروئیدیت خودایمن و به دنبال آن هیپوتیروئیدسم فراهم می‌نماید (۳).

برخی از دانشمندان معتقدند که امکان ندارد ایزوفلاون‌های موجود در سویا در بروز گواتر نقش داشته باشند و این اثرات می‌تواند ناشی از ترکیبات ناشناخته در سویا یا مجموعه‌ای از عوامل باهم باشد (۲۲). چرا که در یک تحقیق، مصرف روزانه ۱۲۸ میلی‌گرم ایزوفلاون موجب کاهش T₃ بدون تغییر در میزان T₄ و TSH شده بود که از نظر فیزیولوژیکی، تغییر قابل توجهی نیست (۴). همچنین، در مطالعات مختلف، مصرف پروتئین سویا در حیوانات منجر به افزایش T₄ سرم شده بود (۲، ۷).

سویا دارای توکسین ناشناخته‌ای نیز می‌باشد که مستقیماً روی غده هیپوفیز اثر می‌گذارد و منجر به بزرگ شدن این غده و تغییرات هیستوپاتولوژیکی در آن می‌گردد. چه بسا تغییرات مربوط به TSH تا حدی مرتبط با این اثر باشد (۱۰).

چنانچه گفته شد، به دلیل وجود مقادیر زیادی اسید فیتیک در سویا که مانع جذب مواد معدنی از جمله کلسیم در محیط روده می‌شود، مصرف سویا ممکن است فرد را دچار هاپیوکلسمی نماید، اما نتیجه این



References

1. Chang, H. C., Doerge, D. R. (2000) Dietary genistein inactivates rat thyroid peroxidase in vivo without an apparent hypothyroid effect. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168: 244-52.
2. Divi, R. L., Chang, H. C., Doerge, D.R. (1997) Anti-thyroid isoflavones from soybeans: isolation, characterization, and mechanisms of action. *Biochem. Pharmacol.* 54:1087-1096.
3. Doerge, D. R., Sheehan, D. M. (2002) Goitrogenic and estrogenic activity of soy isoflavones. *Environ. Health Perspect.* 10: 349-353.
4. Duncan, A. M., Merz, B. E., Xu, X., Nagel, T. C., Phipps, W. R., Kurzer, M. S. (1999) Soy isoflavones exert odest hormonal effects in prremenopausal women. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 84: 192-197.
5. Fallon, S. W., Eing, M. G. (1995) Soy products for Dairy products Not so fast. *Health Freedom News.* 15: 12.
6. Ferreira, F. C. F., Lima, L. P., Barros, I. A., Carvalho, D. P. (2002) Inhibition of thyroid type1 deiodinase activity by flavonoids. *Food Chem. Toxicol.* 40: 913-917.
7. Forsyth, III., WA. (1995) Soy protein, thyroid regulation and cholesterol metabolism. *J. Nutr.* 125: 619S-623S.
8. Gillet, C., Carvilain, J., Matte-Hiriart, J., Willems, D., Bergmann, P. (1990) Effect of acute hypercalcemia on thyrotropin (TSH) and triiodothyronin response to TSH-releasing hormone in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 71: 516-519.
9. Greco, D. S., Stabenfeld, G. H. (2007) *Endocrinology. In: Textbook of Veterinary Physiology.* (4th ed). Cunningham, J. G., Klein, B. G. (eds.) Elsevier Saunders Inc. Philadelphia, USA.
10. Ikeda, T., Nishikawa, A., Kimura, S., Hirose, M. (2000) Dramatical synergism between excess soybean intake and iodine deficiency on the development of rat thyroid hyperplasia. *Carcinogenesis.* 21:707-713.
11. Irvine, C. H. G., Fitzpatrick, M. G., Alexander, S. L. (1998) Phytoestrogens in soy based infant foods: concentrations, daily intake and possible biological

پیشتر توضیح داده شد، قابل انتظار است. همچنین هایپیرکلسمی در موش های گروه ۷ که دوزهای زیاد از هر دو ماده را دریافت کرده اند، نسبت به موش های گروه ۴ که دوزهای کم از هر دو ماده را دریافت کرده اند، خفیف تر است. ممکن است پس از بروز هایپیرکلسمی اولیه در موش های گروه ۷، به تدریج هورمون دیگر غده تیروئید - کلسی تونین - که از سلول های C (سلول های پارافولیکولر) این غده و در پاسخ به هایپیرکلسمی آزاد شده و از طریق کاهش باز جذب استخوانی کلسیم موجب کاهش کلسیم خون می گردد، وارد عمل شده و از شدت هایپیرکلسمی در موش های این گروه کاسته باشد.

از آنجا که طبق مطالعات گذشته، در موارد هایپیرکلسمی غلظت هورمون TSH کاهش می یابد (۸)، در گروه ۴ نیز متعاقب بروز هایپیرکلسمی، شاهد کاهش TSH در سرم موش های این گروه هستیم. اما سطح هورمون TSH در موش های گروه ۷ از گروه ۱ بیشتر است که نشان می دهد در هایپیرکلسمی خفیف، دوز بالای عصاره سویا اثر خود را بر افزایش TSH به خوبی بروز می دهد و با توجه به تغییرات سرمی (افزایش TSH و کاهش T_4 و T_3) در موش های گروه ۷، بروز هیپوتیروئیدسم نسبتاً شدید در این موش ها تأیید می گردد.

کاهش هورمون های تیروئیدی T_3 و T_4 ، در این دو گروه که البته از نظر آماری معنی دار نیست، می تواند متعاقب کاهش TSH رخ داده باشد. در مجموع بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق می توان گفت که عصاره سویا قادر به ایجاد اختلال در عملکرد غده تیروئید است و ویتامین D_3 احتمالاً با ایجاد هایپیرکلسمی تا حدودی می تواند این اختلال را جبران نموده و سطوح سرمی هورمون های تیروئید را تعدیل نماید.

تشکر و قدر دانی

این پژوهش با استفاده از اعتبارات طرح مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه تهران به شماره ۷۵۰۲۰۱۳/۶/۳ انجام پذیرفته است.



- effects. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 217: 247-253.
12. Ishizuki, Y., Hirooka, Y., Togashi, K. (1991) The effects on the thyroid gland of soybeans administered experimentally in healthy subjects. Nip. Gak. Zas. 67: 622-629.
 13. Kalisnik, M., Zork-Pleskovic, R., Pajer, Z., Palvin, K. (1990) The effect of chronic hypercalcemia and hypocalcemia on the follicular and parafollicular cells in rat thyroid gland. Am. J. Anat. 189: 201-206.
 14. La Perle, K. M. D., Capen, C. C. (2007) Thyroid gland. In: Pathologic Basis of Veterinary Diseases (4th ed.) McGavin, M. D., Zachary, J. F. (eds.) Mosby Elsevier Inc. St. Louis, USA. p. 698-700.
 15. Ramesh, C., Gupta. (2007) Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles. (1st ed), Academic press Ltd. Aesterdam, Netherland.
 16. Rawson, R. W., Rall, J. E. (1955) Endocrinology of neoplastic disease. Recent Prog. Horm. Res. 11: 257-290.
 17. Thys-Jacobs, S., Chan, F. K. W., Koberle, L. M. C., Bilezikian, J. P. (1997) Hypercalcemia due to vitamin D toxicity. In: Vitamin, D. (1st ed.). Feldman, D., Glorieux, F. H., Pike, J. W. (eds.) Academic Press. Ltd. Clifornia, USA. p. 885-886.
 18. Tong, W., Perkins, R., Xing, L., Welsh, W. J., Sheehan, D. M. (1997) QASR models for binding of estrogenic compounds to estrogen receptor alpha and beta subtypes. Endocrinology. 138: 4022-4025.
 19. Tornquist, K., Fross, L., Lamberg Allardt, C. (1990) Effect of vitamin D₃ metabolites on thyrotropin secretion from rat pituitary cells in culture. J. Endocrinol. Invest. 13: 391-395.
 20. Van Ruth, S. M. E. S., Morrissey, P. A. (2002) Influence of methanolic extracts of soybean seeds and soybean oil on lipid oxidation in linseed oil. J. Food Chem. 75: 177-184.
 21. Whitten, P. L., Patisaul, H. B. (2001) Cross-species and interassay comparisons of phytoestrogen action. Environ Health. Perspect. 109: 5-20.
 22. Yong Son, H., Nishikawa, A., Ikeda, T., Imazawa, T., Kimura, S., Hirose, M. (2001) Lack of effect of soy isoflavone on thyroid hyperplasia in rats receiving an iodine-deficient diet. Jpn J. Cancer Res. 92: 103-108.
 23. Zemel, M. B. (1988) Calcium utilization: effect on varying level and source of dietary protein. Am. J. Clin. Nutr. 48: 880-883.

EFFECTS OF CO-ADMINISTRATION OF SOY EXTRACT AND VITAMIN D3 ON SERUM CALCIUM LEVEL AND THYROID FUNCTION IN MICE

Marjanmehr, S.H.^{1*}, Mousavi, Sh.S.¹, Salar Amoli, J.², Tootian, Z.², Shahbazfar, A.A.³

¹Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

³Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz- Iran.

(Received 5 March 2011 , Accepted 5 September 2011)

Abstract:

The Thyroid gland with two symmetrical lobes has an important role in metabolism of the body and regulating of calcium. Any factor making structural and hormonal changes in this gland can produce metabolic disorders. To investigate the functional changes of the thyroid gland following coadministration of soy extract and Vitamin D3, 42 mature female mice in 7 groups were studied for 35 days. Two doses of soy extract (5 and 10 g/kgBW/day); two doses of Vitamin D3 (100 and 200 µg/kgBW/day); and, a combination of both soy extract and Vitamin D3 with two doses were fed to each mouse by gavage. At the end of the feeding trial, following anesthetizing by diethyl ether, mice were bled. Serum levels of calcium were determined by method Colorimetry, and serum concentrations of T3, T4 ,TSH were determined by method Radio Immuno Assay. Data was statistically analyzed by the one way ANOVA test and significant differences were observed between groups ($p < 0.001$). Results showed the occurrence of a dose-dependent hypothyroidism in mice receiving only soy extract. In mice receiving only vitamin D3, significant and dose-dependent increases of calcium levels, significant and dose-dependent decreases of TSH levels and, insignificant decreases in serum concentrations of T3 and T4 were observed. Finally, groups receiving a combination of high doses of soy extract and Vitamin D3, showed hypothyroidism. In conclusion, this study suggests that co-administration of soy extract and Vitamin D3, only in low doses, can balance the effects of individual use of these components on thyroid function and calcium homeostasis.

Key words: Soy extract, Thyroid hormones, Vitamin D₃, Calcium, mice.

*Corresponding author's email: hmehr@ut.ac.ir, Tel: 021-61117063, Fax: 021-66933222

