Archive of SID

بررسی اثرات تراتوژنیک بنزوات سدیم بر روی جنین موش صحرایی

شهلا طاهری*، دکتر داود سهرابی**

خلاصه

سابقه و هدف : بنزوات سدیم یکی از مواد شیمیایی است که جهت جلوگیری از تخمیر به کنسروها ، رب گوجه فرنگی و برخی از نوشیدنی ها اضافه می گردد. در این پژوهش اثرات تراتوژنیک دو دوز مختلف بنزوات سدیم بر روی جنین موش صحرایی مورد مطالعه قرار گرفته است .

مواد و روش ها : تحقیق به روش تجربی (Experimental) بر روی ۱۵ موش با وزن ۳۵۰ ـ ۲۵۰ گرم شامل ۲ گروه تجربی و یک گروه شاهد انجام گرفت . دوزهای ۹/۳ و ۱۸/٦ میلی مول بر کیلوگرم بنزوات سدیم محلول در سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی در روزهای ۷ ، ۸ و ۹ حاملگی به ترتیب بر روی موشهای حامله گروه تجربی ۱ و ۲ و برای گروه شاهد نیز تنها سرم فیزیولوژی تزریق شد. جنین ها در روز ۲۰ حاملگی خارج گردیدند و بلافاصله قد و وزن جنین ها و قطر و وزن جفت آنها اندازه گیری ، سپس با استریومیکروسکوپ ظاهر آنها بررسی و برای مطالعات میکروسکوپی از جنین ها مقاطع بافتی تهیه و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین رنگ آمیزی شدند و شاخص های جنین در سه گروه با آزمون آنالیز واریانس مورد قضاوت آماری قرار گرفت .

یافته ها : نتایج نشان داد که بین وزن و قد جنین و هم چنین وزن و قطر جفت در گروههای تجربی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری وجود دارد ($P<0/05$) و نیز تعداد جنین های مرده در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری دارد ولی تغییرات بافتی و مورفولوژیک در جنین ها مشاهده نگردید .

نتیجه گیری و توصیه ها : بنزوات سدیم موجب تغییر در وزن و قد جنین موش صحرایی می گردد. انجام تحقیق در مورد تعیین مقادیر آن در انواع کنسروهای مواد غذایی و رب گوجه فرنگی پیشنهاد می گردد. توصیه می شود زنان باردار از هفته سوم تا پایان ماه دوم بارداری از مواد غذایی حاوی بنزوات سدیم استفاده نکنند .

واژگان کلیدی : بنزوات سدیم ، جنین موش صحرایی

مقدمه

بنزوات سدیم از املاح اسید بنزوییک می باشد که خاصیت ضد عفونی داشته و به انواع کنسروها ، رب گوجه فرنگی و بعضی از نوشیدنی ها و خمیردندان جهت جلوگیری از تخمیر افزوده می گردد (۱) . استنشاق آن ممکن است موجب حساسیت در چشم و کهیر در پوست شده و موجب تنگی نفس و سرفه گردد (۲). هم چنین مصرف دوزبالای بنزوات سدیم موجب رها شدن هیستامین و پروستاگلاندین ها گردیده و ایجاد زخم معده می کند (۳،٤،۵) . گزارشاتی وجود دارد که بنزوات سدیم در لکوسیت پلی مورفونوکلئار موجب کاهش شیمیولومینانس آمیلوپراکسیداز شده وآزاد شدن آنزیمهای لیزوزمی را کاهش می دهد (۵). سنتز گلوکز از لاکتات و تولید اوره از آمونیاک توسط بنزوات سدیم در هپاتوسیت ها مهار شده و

* عضو هیات علمی گروه بافت شناسی ، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

** استادیار گروه بافت شناسی ، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

www.SID.ir

Archive of SID

اکسیداسیون اسید چرب نیز در کبد توسط این ماده مهار می گردد (٦) . در مطالعه ای ذکر شده که مصرف روزانه بنزوات سدیم به میزان ٤٠ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۷ ماه در موشها موجب بی اشتهایی گردیده (۱) و در انسان نیز مصرف روزانه آن به مقدار ١٤ میلی گرم بر کیلوگرم در مدت ٤٤ روز موجب ضعف و تحریک پذیری می گردد (۱) در حالی که بالاترین غلظت بنزوات سدیم که به غذاها افزوده می شود به میزان ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از غذا است. با توجه به گزارشهای متناقض در خصوص کارسینوژن بودن بنزوات سدیم (۷، ۸) این مطالعه به منظور بررسی اثرات سوء بنزوات سدیم بر روی جنین موش صحرایی در سال ۱۳۷۹ انجام گرفت .

مواد و روشها

این مطالعه تجربی بر روی۱۵ موش صحرایی (Rat) از نژاد Wistar انجام گردید . موشها ابتدا در اتاق پرورش حیوانات قرار گرفتند و طی مراحل تحقیق ۱۲ ساعت تحت نور مصنوعی و در دمای حدود۲ ±۲۳ درجه سانتی گراد دراتاق حیوانات قرار داشتند . موش های ماده به سه گروه ۵ تایی با میانگین وزن ۳۰۰ ـ ۲۵۰ گرم تقسیم شدند. به مدت یک شب موشهای نر به قفس موشهای ماده انتقال یافتند صبح روز بعد مشاهده پلاک واژنی به عنوان نشانه حاملگی و روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد. سپس، در روزهای ۷، ۸ و ۹ حاملگی به ترتیب به گروه اول تجربی میزان ۹/۳ میلی مول بر کیلوگرم از وزن بدن (۱/۳ دوز کشنده) بنزوات سدیم و به گروه دوم تجربی به میزان ۱۸/٦ میلی مول بر کیلوگرم از وزن بدن (۲/۳ دوز کشنده) بنزوات سدیم محلول در سرم فیزیولوژی و به گروه شاهد فقط سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی تزریق گردید .موشها در روز ۲۰ حاملگی بیهوش و جنین ها خارج شدند . جنین های مرده و زنده شناسایی و با ترازوی حساس توزین گردیدند. با خط کش مدرج قد و قطر جفت اندازه گیری شد. جنین ها با استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفته و بلافاصله در فرمالین ۱۰ درصد به عنوان ثابت کننده قرار داده شدند . از جنین ها مقاطع میکروسکوپی تهیه و با روش هماتوکسیلین ، ائوزین رنگ آمیزی شدند . داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ، آزمون t و آنالیز واریانس مورد بررسی آماری قرار گرفتند .

یافته ها

از ۱۵ موش ماده مورد بررسی ، ۸۸ جنین به دست آمد که شامل ۲۸ جنین در گروه تجربی اول (۹/۳ میلی مول بر کیلو گرم بنزوات سدیم) و ۳۰ جنین در گروه تجربی دوم (۱۸/٦ میلی مول بر کیلو گرم بنزوات سدیم) و ۳۰ جنین در گروه شاهد بود. وضعیت زنده بودن جنین ها در جدول (۱) ارایه گردیده و نشان می دهد که در گروه شاهد جنین مرده وجود نداشت ، در گروه تجربی اول ۱۰/۷ درصد ، در گروه تجربی دوم، ٤۳/۳ درصد جنین ها مرده بودند و آزمون دقیق فیشر نشان داد که اختلاف دوز بالای بنزوات سدیم (۱۸/٦ میلی مول بر کیلو گرم) با گروههای دیگر معنی دار است ($P<0/01$) و بین دوز پایین بنزوات سدیم (۹/۳ میلی مول بر کیلوگرم) با گروه شاهد اختلاف معنی دار نبود . وزن و قد جنین و هم چنین قطر و وزن جفت جنین موش های مورد

جدول ۱ - توزیع جنین ها بر حسب وضعیت زنده بودن به تفکیک گروههای مورد مطالعه

گروههای مورد مطالعه	وضعیت جنین		جمع
	زنده	مرده	
تجربی ۱ (دوز پایین بنزوات)	۱۷ (٥٦/۷) *	۱۳ (٤۳/۳)	۳۰
تجربی ۲ (دوز بالای بنزوات)	۲٥ (۸۹/۳)	۳ (۱۰/۷)	۲۸
شاهد	۳۰ (۱۰۰)	۰ (۰)	۳۰
جمع	۷۲	۱٦	۸۸

*مقادیر داخل پرانتز بیانگر درصد است. $P<0/01$

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- توزیع فراوانی وضعیت وزن و قد جنین ها و قطر و وزن جفت آنها در موشهای صحرایی برحسب مقادیر مختلف دریافت بنزوات سدیم

گروه های مورد بررسی	شاخص های مورد بررسی (میانگین ± انحراف معیار)			
	وزن (گرم)*	**قد** (میلی متر)*	**قطر جفت** (میلی متر)*	**وزن جفت** (گرم)*
شاهد (بدون دریافت بنزوات سدیم)	۴/۷±۰/۴	۳۵±۲/۱	۱۷/۵±۱/۵	۰/۷۸±۰/۰۴
گروه تجربی ۱ (دوز کم بنزوات سدیم)	۲/۹±۰/۳	۲۹/۳±۲/۸	۱۳/۵±۱/۳	۰/۳۷±۰/۵
گروه تجربی ۲ (دوز بالای بنزوات سدیم)	۱/۵±۰/۳	۱۷/۹±۲/۸	۱۰/۸±۱/۴	۰/۲۲±۰/۱

*تفاوت سه گروه در مورد تمامی شاخص ها معنی دار بود. $P<0.05$

مطالعه در جدول(۲) ذکر گردیده و بیانگر آن است که وزن جنین موش دریافت کننده دوز پایین بنزوات به طور متوسط ۱/۸ گرم و یا حدود ۳۸/۷ درصد کمتر از گروه شاهد و در گروه دوز بالا به میزان ۳/۲ گرم(۶۸/۷ درصد) نسبت به گروه شاهد از وزن کمتری برخوداربودند . آزمون آنالیز واریانس نشان داد که این اختلاف در سه گروه به لحاظ آماری معنی دار است ($P<0/05$) و نیز وزن جنین موش هایی که دوز بالای بنزوات سدیم دریافت کرده اند نسبت به گروه دریافت کننده دوز پایین ، حدود ۱/۴ گرم (۴۸/۹ درصد) کاهش داشت ($P<0/0001$) . قد جنین گروه دوز کم به میزان ۱۶/۵ درصد و در گروه دوز بالا به میزان ۴۸/۹ درصد ($P<0/05$) ، قطر جفت گروه دوز کم به میزان ۲۵ درصد و در دوز بالا به میزان ۳۸ درصد ($P<0/05$) و بالاخره وزن جفت گروه دوز کم نسبت به گروه شاهد ۵۲ درصد و در گروه با دوز بالا به میزان ۷۱ درصد کاهش نشان می داد ($P<0/05$) . در بررسی با استریومیکروسکوپ در تمام جنین های به دست آمده در گروه ۱ و ۲،در صورت جنین ها هیچ گونه ناهنجاری مشاهده نگردید . دست و پا ، کلیه انگشتان و ستون مهره ها طبیعی است . فقط اندامها در مقایسه با گروه شاهد کوچکتر بودند.

در بررسی میکرسکوپی چشم ها در گروه ۱ و۲ تجربی عنبیه و جسم مژگانی تشکیل شده و طبیعی بودند. تیرویید نیز واجد فولیکول بوده، مجاری آلونولی ششها طبیعی، تیموس بزرگ و کورتکس مشخص نبود. به طور کلی ، در بررسی های میکروسکوپی هیچ گونه تغییراتی مبنی بر تراتوژن بودن بنزوات سدیم قابل مشاهده نبود.

بحث

بر اساس این پژوهش کاهش وزن و قد جنین ، وزن و قطر جفت آنها در گروه هایی که بنزوات سدیم را دریافت کرده بودند ، نسبت به گروه شاهد معنی دار می باشد . گزارشی در این مورد در مطالعات دیگر در دسترس نیست ولی در مطالعه ای که توسط Stenberg و همکاران آنها بر روی موشهای صحرایی انجام گرفته گزارش شده که مصرف طولانی مدت بنزوات سدیم به مدت ۱۰ ـ۵ روز به شکل خوراکی به میزان ۱۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب کاهش وزن موش و کاهش وزن اعضا گردیده است (۲).

در مطالعه دیگری توسط Nair گزارش شده که مصرف روزانه بنزوات سدیم با دوز ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۸ ماه در موشهای صحرایی هیچ گونه عارضه ای نداشته است (۹).

تزریق بنزوات سدیم به موشهای حامله در مطالعه حاضر موجب مرگ و میر جنین و کاهش نوزادان زنده به دنیا آمده گردید .این نتیجه در مطالعات دیگر گزارش گردیده است (۱) . در این مطالعه با دوز مصرف شده ناهنجاری جسمی در جنین ها ملاحظه نشد . در مطالعه Fujitani در مورد اثرات امبریوتوکسیک و فیتوتوکسیک بنزوات سدیم بر روی گونه های مختلف گزارش شده که فقط در دوزهایی که باعث مسمومیت مادر گردیده ناهنجاری وجود

www.SID.ir

Archive of SID

داشته و در مطالعاتی که دوز مصرفی هیچ گونه اثـر سـمیت بر روی مادر نداشته ناهنجاری جنینی دیده نمی شود (۱۰). در مطالعـه ای کـه بـا بـنزوات سـدیم روزانـه بـه مـیزان ۱۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم در موشهای صحرایی انجام شد ، گزارش گردید که هیچ گونـه مسـمومیت در جنیـن و مـادر حامله و آثار تراتوژنیک مشاهده نشد (۱) ولـی بـا دوز بـالا ۱۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طـور روزانـه بعـد از ۱۰ ـ۵ روز تغییرات هیستوپـاتولوژیـک و بـی نظمـی در سیسـتم عصبی دیده شد (۱۱) . این یافته ها موافـق تحقیقـات Nair در سال ۲۰۰۱ است که گزارش مـی دهـد در اثـر بـنزوات سدیم وزن جنین کاهش می یابد ولـی در مـوش خـانگی و صحرایی (Rat) ناهنجاری دیده نمـی شـود (۹). مطالعـات بیشتری نیز در مورد اثرات بـنزوات سـدیم بـر روی DNA سلولی و آسیب دیدن آن وجود دارد و این را ناشی از ایجاد رادیکالهای آزاد و در اثر بنزوات سدیم می دانند (۱۱).

با توجه به مطالعات قبلی و نتایج پژوهـش حـاضر پیشـنهاد می شود استفاده از بنزوات سدیم در مواد غذایی ، دارویی و بهداشتی با رعایت احتیاط انجام گیرد و خانم های باردار از هفته سوم حاملگی تا پایان ماه دوم بارداری از مـواد غذایـی که دارای بنزوات سدیم است استفاده نکنند .

منابع

1 – Food and drug administration. Evaluation of the health aspect of benzoic acid and sodium benzoate as food ingredients. ***DHEW, Washington Dc Report***, NO-SCOGS-7. NTISPB-223, 837/6.

2 – Stenberg AJ, Ignatev AD. Toxicological evaluation of some combinations of food preservatives. ***Food cosment Toxicol*** 1970; 8(4): 369-380.

3 – Kreindler JJ. Slutuky J, Haddad ZH. The effect of food colorsand sodium benzoate on rat peritoneal mast cells. ***Amn- Allerrgy*** 1980; 44(2): 76-81.

4 – Evanglista S, Meli A. Influence of antioxidant and radical carcinogen, ethanol Induced gastric ulcer in the rat. ***Gen pharmacol*** 1985; 16(3): 285-8.

5 – Schaubschlager WU, Beker MW, Schade V. Release mediators from human gastric mucosa and blood in adverse reaction to benzoate. ***Int Arch Allergy APPI Immunol*** 1991; 96(2): 97-101.

6 – Oyanagi K, KuniJa Y, Nagoa M. Cytotoxicities of sodium benzoate in primary culture of hepatocytes from adult ral liver. ***Tohoku J Exp Med*** 1987; 152(1): 45-51.

7 – Toth B. Lack of tumorgenicity of sodium benzoate in mice. ***Fund APPI Toxicol*** 1984;4(3):494-96.

8 – Sodematto Y, Enomoto M. Report of corcinogenesis bioassay of sodium benzoate in rats. ***Pathol Toxicol*** 1980; 4(1): 87-95.

9 – Nair B. Final report on the safety assessment of benzyl alcohol, benzoic acid and sodium benzoate. ***Int J Toxicol*** 2001; 1:3123-50.

10 – Fujitani T. Short term effect of sodium benzoate in F344 rat and 36C3F mice. ***Toxicol lett*** 1993; 69(2): 171-9.

11 – Yang MH, Scharich KL. Factors affecting DNA damage caused by lipid hydroperoxidase and aldehydes. ***Free Radic Biol Med*** 1996; 20(2): 223-236.

www.SID.ir