

مطالعه اثرات کبدی و کلیوی ساخارین و عصاره هیدروالکلی استویا ربادیانا (*Stevia rebaudiana*) و تجویز همزمان آنها در رت نر بالغ

حسین اریک اغاجی^{۱*}، عاطفه هرویانی^۲، علی کریمی گودرزی^۳، فریبرز معیر^۳، محمد بابائی^۴

چکیده

علاقه روزافزون به زندگی سالم و افزایش بروز چاقی و دیابت، مصرف شیرین کننده های غیر مغزی و بدون کالری مصنوعی مانند ساخارین را رواج داده است. استویا یک عصاره شیرین کننده طبیعی است و خاصیت آنتی اکسیدانی آن به اثبات رسیده. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات تجویز همزمان ساخارین و عصاره استویا بر روی کبد و کلیه بود. در این مطالعه تجربی ۲۴ سر رت نر بالغ نژاد ویستار به صورت تصافی به یک گروه کنترل و سه گروه تجربی تقسیم شدند. گروه اول یا کنترل روزانه ۳ میلی لیتر آب مقطر و گروه دوم ساخارین با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه سوم عصاره هیدروالکلی استویا با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه چهارم به صورت همزمان ساخارین و استویا را با همان دوز به صورت گاوژ به مدت ۴۸ روز دریافت نمودند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تیمار، نمونه های کبد و کلیه و نمونه های خونی مورد ارزیابی قرار گرفتند. قطر هپاتوسیتها و فضای ادراری در گروه ساخارین افزایش معنا دار و قطر و اپیتلیوم لوله های پیچ خورده نزدیک و جمع کننده، قطر گلومرول و اپیتلیوم و قطر لوله پیچ خورده دور و قطر بخش ضخیم لوله هنله کاهش معناداری داشت. قطر گلومرول و لوله های جمع کننده در گروه ساخارین+استویا به صورت معنی داری افزایشی بود. ساخارین به واسطه تولید رادیکالهای آزاد و نیز تضعیف دستگاه آنتی اکسیدانی بدن و تغییرات در پارامترهای بافتی، قادر به اختلال در عملکرد فیزیولوژیک کبد و کلیه خواهد بود که مصرف همزمان استویا، میتواند اثرات ساخارین را تعدیل نماید.

واژگان کلیدی: ساخارین، عصاره هیدروالکلی استویا، هیستومورفومتریک

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۱۷

مقدمه

با توجه به علاقه روزافزون به زندگی سالم و افزایش بروز چاقی و دیابت، شیرین کننده های مصنوعی مانند ساخارین

محبوبیت پیدا کرده اند. این شیرین کننده های غیر مغذی که بیشتر به عنوان مصنوعی شناخته می شوند، کالری ندارند و معمولاً چندین برابر شیرین تر از ساکارز می باشند. ساخارین اولین شیرین کننده مصنوعی است. از سال ۱۹۰۰ مورد استفاده قرار گرفته است و برای شیرین کردن محصولات مختلف مانند نوشابه ها، محصولات پخته شده، مربا، آدامس، میوه های کنسرو شده، آب نبات، دسر و سس سالاد، و همچنین محصولات آرایشی و بهداشتی (مانند خمیر دندان، دهان شویه و براق کننده لب و ...)، ویتامین ها و داروها استفاده می شود. خطرات سلامتی ناشی از مصرف شیرین کننده های مصنوعی هنوز یک موضوع بسیار بحث برانگیز است. گفته می شود شیرین کننده های مصنوعی با برخی از اثرات مانند سرطان، افزایش وزن، اختلالات متابولیک، میگرن، دیابت نوع ۲، حوادث عروقی، زایمان زودرس، اختلالات عملکرد کلیه، سیستم آنتی اکسیدانی کبد، سمیت کبدی، اختلالات سیستم ایمنی و تغییر فعالیت میکروفلور روده مرتبط هستند. مطالعات انسانی نتوانستند ارتباط مستقیم با خطر سرطان را نشان دهند. با این حال، مطالعات دیگر، ارتباط با کاهش عملکرد کلیه و عوامل خطر عروقی را نشان داده اند (۱).

استویا یک عصاره شیرین کننده طبیعی است که از گیاه *Stevia rebaudiana* به دست می آید و شامل ترکیبات متعددی است که طعم شیرینی دارند. جنس استویا شامل ۲۳۰ گونه است، اما تنها *Stevia rebaudiana Bertoni* طعم

۱- بخش آناتومی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران herikaghaji@gmail.com

۲- دانش اموزخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی واحد کرج، کرج، ایران

۳- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی واحد کرج، کرج، ایران

۴- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

گروه سوم: دریافت ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استویا ربادیانا از طریق گاواژ به مدت ۴۸ روز. گروه چهارم: دریافت ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ساخارین و ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استویا ربادیانا از طریق گاواژ به مدت ۴۸ روز.

یک روز پس از پایان دوره تیمار، رت‌ها دوباره توزین شده و پس از بیهوشی با کتامین (۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و خون‌گیری از قلب، به روش جابجایی مهره‌های گردن آسان‌کشی شده و سپس محوطه شکمی باز گردید. پس از خون‌گیری از قلب نمونه‌های خون به منظور جداسازی سرم با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و بلافاصله سرم آن‌ها جدا شده و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و نمونه‌های بافت کبد و کلیه پس از وزن‌کشی و اندازه‌گیری قطر و دانسیته در محلول فرمالین بافری ۱۰٪ فیکس گردیدند. نمونه‌های بافت ابتدا با آب جاری به مدت ۲ ساعت شسته شده، سپس با الکل اتیلیک ۷۰، ۸۰، ۹۰ و دو مرتبه در الکل ۱۰۰٪ (هر مرحله به مدت یک ساعت) آب‌گیری شدند. پس از انجام عمل آب‌گیری نمونه‌ها دو مرتبه و هرکدام به مدت یک ساعت و نیم جهت شفاف‌سازی در گزیرلول قرار داده شدند. در نهایت نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت در پارافین مذاب در ۵۸ درجه سانتی‌گراد (دو طرف هر کدام دو ساعت) قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در پارافین بلوک‌گیری شده و با ضخامت ۵ میکرومتر با دستگاه میکروتوم (مدل ۱۵۱۲ از Leitz)، برش داده شدند و هر برش با هماتوکسیلین - ائوزین زنگ‌آمیزی گردید.

هر برش از نمونه‌های کلیه از نظر وضعیت حفره بومن و شبکه گلومرولی ارزیابی شد. سلول‌های پوششی لوله‌های کلیوی به همراه عروق بافت بینابینی، تعداد سلول‌های

شیرین را می‌دهد. چندین فرآورده طبیعی به وفور از برگ‌های آن جدا شده‌اند که شناخته‌شده‌ترین آنها استویول و گلیکوزیدهای آن است: استویوزید و ربائودیوزید (۲). با توجه به طعم شیرین شدید و خواص کم‌کالری در مقایسه با بسیاری از شیرین‌کننده‌های دیگر، گلیکوزیدهای استویول به طور جامع توسط کمیته مشترک FAO/WHO در مورد افزودنی‌های غذایی مورد ارزیابی قرار گرفته و به عنوان افزودنی‌های غذایی مجاز شده‌اند. تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که استویوزید همراه با ترکیبات مرتبط ممکن است فواید درمانی فراتر از شیرینی، مانند اثرات ضد قند خون، ضد فشار خون، ضد التهاب، ضد تومور، ضد اسهال، ادرارآور و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی را نیز ارائه دهد (۳، ۴، ۵، ۶).

با توجه به بررسی‌های انجام شده و مشاهده اثرات نامطلوب شیرین‌کننده‌های مصنوعی مانند ساخارین، نیاز به استفاده از شیرین‌کننده‌های طبیعی بیشتر شده است. کبد و کلیه از مهمترین بافت‌های بدن در متابولیسم داروها و مواد افزودنی می‌باشند و از آنجایی که احتمال آسیب به بافت‌های کبد و کلیه در اثر مصرف شیرین‌کننده‌های مصنوعی مثل ساخارین وجود دارد، استفاده از یک شیرین‌کننده طبیعی مانند استویا ممکن است بتواند اثرات نامطلوب ساخارین را بر بافت‌های کلیه و کبد بهبود بخشد.

مواد و روش کار

در این تحقیق از ۲۴ سر رت نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. رت‌های نر را پس از تعیین وزن، توسط فیکساتیو بوئن نشان‌دار نموده و به ۴ گروه تقسیم شدند.

گروه کنترل: دریافت ۳ میلی لیتر آب مقطر از طریق گاواژ به مدت ۴۸ روز.

گروه دوم: دریافت ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ساخارین از طریق گاواژ به مدت ۴۸ روز.

جدول ۱- مقایسه میانگین وزن کبد، قطر هپاتوسیت، هسته هپاتوسیت و قطر سینوزوئید در گروه‌های کنترل و تجربی

وزن کبد (گرم)	قطر هپاتوسیت (میکرومتر)	قطر هسته هپاتوسیت (میکرومتر)	قطر سینوزوئید (میکرومتر)	
۷.۹ ± ۱.۷۱ ^a	۱۸.۸۴ ± ۱.۸۲ ^a	۷.۹۹ ± ۰.۹۸ ^a	۷.۰۱ ± ۰.۸۵ ^a	کنترل
۸.۰۱ ± ۰.۸۱ ^a	۲۴.۲۱ ± ۲.۲۳ ^b	۸.۷۸ ± ۱.۲۵ ^a	۸.۹۳ ± ۱.۱۱ ^a	ساخارین
۶.۸۸ ± ۱.۵۹ ^a	۱۸.۱۵ ± ۱.۵۷ ^a	۸.۲۸ ± ۰.۷۴ ^a	۷.۵۳ ± ۰.۴۸ ^a	استویا
۷.۵۹ ± ۰.۵۹ ^a	۲۰.۰۴ ± ۲.۳۶ ^a	۸.۰۹ ± ۰.۶۷ ^a	۸.۱۱ ± ۰.۶۹ ^a	ساخارین+استویا

همانطور که در جدول ۲ اشاره شده است، مقایسه میانگین تعداد سلول‌های کوپفر، حجم هسته سلول‌ها و حجم سینوزوئیدها در بین گروه‌های مختلف آزمایشی تغییرات معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$). اما مقایسه میانگین حجم سیتوپلاسم سلولی مابین گروه‌های مختلف مشخص کرد که میانگین حجم سیتوپلاسم سلولی در گروه ساخارین + استویا به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه استویا بود ($p < 0.05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین تعداد سلولهای کوپفر، حجم سیتوپلاسم هپاتوسیت، هسته هپاتوسیت و حجم سینوزوئید در گروه‌های کنترل و تجربی

تعداد سلول‌ها کوپفر (۱۲۰×۱۶۰)	حجم سیتوپلاسم هپاتوسیت (%)	حجم هسته هپاتوسیت (%)	حجم سینوزوئید (%)	
۱۱.۴ ± ۲.۳ ^a	۷۱.۵ ± ۴.۴۸ ^{ab}	۵.۷۸ ± ۱.۱۳ ^a	۲۴.۲۸ ± ۳.۱۹ ^a	کنترل
۱۴.۸ ± ۲.۷۷ ^a	۷۵.۲۸ ± ۳.۲۵ ^{ab}	۶.۵۳ ± ۰.۸۳ ^a	۲۴.۵۸ ± ۲.۱۲ ^a	ساخارین
۱۱.۴ ± ۱.۹۵ ^a	۶۱.۹۳ ± ۱۳.۶۴ ^a	۶.۴۴ ± ۱.۴۹ ^a	۲۶.۴۱ ± ۲.۷۵ ^a	استویا
۱۱.۶ ± ۲.۰۷ ^a	۷۶.۵۵ ± ۴.۰۸ ^b	۷.۰۱ ± ۰.۹۳ ^a	۲۵.۷۶ ± ۱.۶۴ ^a	ساخارین+استویا

نکروزه بافت پوششی لوله‌های کلیوی، اپیتلیوم لوله جمع‌کننده نزدیک، قطر لوله جمع‌کننده ادرار، قطر گلو مری و لوله پیچ‌خورده دور و نزدیک، اپیتلیوم لوله پیچ‌خورده دور بررسی شدند.

لوب‌های کبد همه حیوانات از نظر قطر سینوزوئیدهای مرکز لبولی، پرخونی، تعداد سلول‌های کوپفر، قطر سلول‌های کبدی و هسته آن‌ها، مورد ارزیابی قرار گرفتند. برش‌های بافتی کبد و کلیه در گروه‌های آزمایشی مختلف با فتومیکروسکوپ عکس برداری شد و سپس تصاویر بدست آمده به کمک میکروسکوپ کالیبره شده و نرم افزار Dino Capture مطالعه گردید.

آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴، SPSS، IL، Chicago، مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) بیان شد. جهت مقایسه بین گروه‌ها، آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one way) و به دنبال آن تست‌های تعقیبی چندگانه توکی (Tukey post hoc) استفاده شدند. سطوح معنی‌داری $P < 0.05$ در بین گروه‌های آزمایشی در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مورفومتری کبد

با توجه به جدول ۱، در مقایسه میانگین وزن کبد، قطر هسته هپاتوسیت‌ها و قطر سینوزوئیدها در بین گروه‌های مختلف آزمایشی تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). اما مقایسه قطر هپاتوسیت‌ها مابین گروه‌های مختلف آزمایشی نشان داد که، مصرف ساخارین به صورت معنی‌داری باعث افزایش قطر هپاتوسیت‌ها نسبت به گروه‌های کنترل و تجربی شده بود ($p < 0.05$).

خورده نزدیک مشخص کرد که میانگین این فراسنجه ها در گروه ساخارین کاهش معنی داری نسبت به سایر گروه ها داشت ($p < 0.05$).

جدول ۴- مقایسه میانگین قطر گلومرول، فضای ادراری، لوله های پیچ خورده نزدیک و اپیتلیوم لوله های پیچ خورده نزدیک در گروههای کنترل و تجربی

قطر گلومرول (میکرومتر)	فضای ادراری (میکرومتر)	قطر لوله های پیچ خورده نزدیک (میکرومتر)	اپی تلیوم لوله های پیچ خورده نزدیک (میکرومتر)	
۱۳۶.۹۸ ± ۳.۲۴ ^a	۲۰.۰۳ ± ۱.۹ ^a	۷۷.۰۱ ± ۱.۶۸ ^a	۲۰.۹۵ ± ۱.۶۵ ^a	کنترل
۱۱۱.۵۶ ± ۳.۱۹ ^b	۲۳.۶۱ ± ۲.۴۵ ^b	۵۵.۲۳ ± ۳.۹۷ ^b	۱۵.۶۸ ± ۲.۴۷ ^b	ساخارین
۱۳۹.۴۱ ± ۲.۰۳ ^a	۱۹.۸۵ ± ۰.۸۸ ^a	۷۷.۴۹ ± ۳.۵۶ ^a	۲۲.۵ ± ۲.۵۱ ^a	استویا
۱۲۵.۳۵ ± ۴.۰۲ ^c	۲۱.۴ ± ۱.۴۳ ^{ab}	۷۵.۹۳ ± ۲.۸۲ ^a	۲۲.۳۲ ± ۱.۸۹ ^a	ساخارین+استویا

بررسی ها طبق جدول ۵ مشخص نمود که، میانگین قطر لومن لوله پیچ خورده نزدیک و اپیتلیوم لوله پیچ خورده دور در گروه دریافت کننده ساخارین کاهش معنی داری را نسبت به سایر گروه ها نشان داد ($p < 0.05$). همچنین مقایسه میانگین قطر لوله های پیچ خورده دور نشان داد که، قطر این لوله ها در گروه ساخارین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت ($p < 0.05$)، علاوه بر این قطر لوله های پیچ خورده دور در گروه ساخارین نسبت به گروه های استویا و ساخارین+استویا کاهش نشان داد که این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود ($p > 0.05$). در بررسی قطر لومن لوله های پیچ خورده دور چنین نتیجه حاصل شد که گروه ساخارین کمترین مقدار را داشت، ولی معنی دار نبود ($p > 0.05$).

نتایج مورفومتری کلیه

طبق نتایج بدست آمده از جدول ۳، مقایسه میانگین فراسنجه های وزن، طول، عرض و ضخامت کلیه چپ مابین گروه های کنترل و تجربی تفاوت معنی داری را نشان نداد ($p > 0.05$).

جدول ۳- مقایسه میانگین وزن، طول، عرض و قطر کلیه سمت چپ در گروههای کنترل و تجربی

وزن کلیه چپ (گرم)	طول کلیه چپ (میلی متر)	عرض کلیه چپ (میلی متر)	قطر کلیه چپ (میلی متر)	
۰.۸۴ ± ۰.۱۱ ^a	۱۷.۷۲ ± ۱.۰۱ ^a	۹.۷۴ ± ۰.۶۴ ^a	۸.۱۹ ± ۰.۵۶ ^a	کنترل
۰.۸۸ ± ۰.۰۳ ^a	۱۷.۵۶ ± ۰.۵۵ ^a	۱۰.۷۳ ± ۱.۱ ^a	۸.۱۴ ± ۰.۴۴ ^a	ساخارین
۰.۷۸ ± ۰.۰۵ ^a	۱۶.۴۱ ± ۰.۸۷ ^a	۱۰.۵۶ ± ۰.۶۶ ^a	۸.۵۳ ± ۰.۴۲ ^a	استویا
۰.۹۶ ± ۰.۰۹ ^a	۱۷.۴۵ ± ۰.۷۹ ^a	۱۰.۰۸ ± ۰.۸۷ ^a	۸.۰۹ ± ۰.۲۷ ^a	ساخارین+استویا

با توجه به بررسی هایی که در جدول ۴ انجام شد، چنین مشخص گردید که قطر گلومرول در گروه دریافت کننده ساخارین به صورت معنی داری کمتر از گروه های کنترل و استویا و ساخارین+استویا بود ($p < 0.05$). همچنین قطر گلومرول در گروه ساخارین+استویا به صورت معنی داری کمتر از گروه های کنترل و استویا بوده و به صورت معنی داری بیشتر از گروه ساخارین بود ($p < 0.05$). مقایسه فراسنجه قطر فضای ادراری نشان داد که در گروه ساخارین، این فراسنجه به صورت معنی داری نسبت به گروه های کنترل و استویا افزایش پیدا کرده بود ($p < 0.05$) اما با گروه ساخارین+استویا تفاوت معنی داری نداشت. علاوه بر این، مقایسه قطر و اپیتلیوم لوله های پیچ

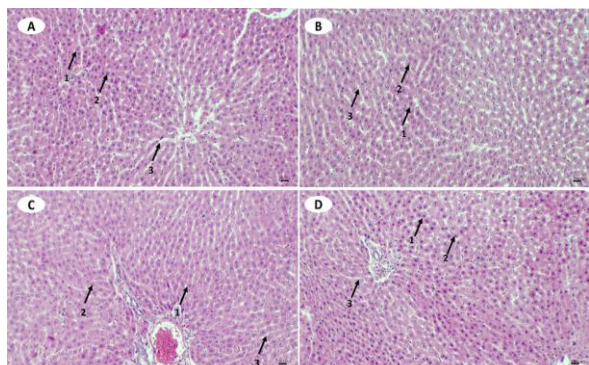
جدول ۵- مقایسه میانگین قطر لومن های پیچ خورده نزدیک و دور، قطر لوله ها و اپیتلیوم لوله های پیچ خورده دور در گروههای کنترل و تجربی

قطر لومن لوله های پیچ خورده نزدیک (میکرومتر)	قطر لوله های پیچ خورده دور (میکرومتر)	اپی تلیوم لوله های پیچ خورده دور (میکرومتر)	قطر لومن لوله های پیچ خورده دور (میکرومتر)
۳۱.۸۷ ± ۲.۵۹ ^a	۵۹.۲۶ ± ۴.۲۶ ^a	۱۹.۱۱ ± ۱.۱۸ ^a	۳۱.۱ ± ۲.۴۱ ^a
۲۲.۸۱ ± ۱.۳۳ ^b	۵۱.۵۲ ± ۳.۴۱ ^b	۱۲.۱۵ ± ۱.۸۸ ^b	۳۰.۵۵ ± ۲.۸۴ ^a
۳۲.۷۴ ± ۲.۳۹ ^a	۵۸.۲۸ ± ۴.۱۹ ^{ab}	۲۰.۰۷ ± ۲.۲۷ ^a	۳۲.۱۵ ± ۲.۵۸ ^a
۳۲.۲۲ ± ۲.۳ ^a	۵۷.۵۶ ± ۳.۶۹ ^{ab}	۱۹.۶۱ ± ۱.۰۸ ^a	۳۲.۲۲ ± ۳.۰۵ ^a

جدول ۶- مقایسه میانگین قطر و اپیتلیوم و قطر لومن بخش نازک لوله هنله و قطر بخش ضخیم لوله هنله در گروههای کنترل و تجربی

قطر بخش نازک (میکرومتر)	اپی تلیوم بخش نازک (میکرومتر)	قطر لومن بخش نازک (میکرومتر)	قطر بخش ضخیم (میکرومتر)
۳۱.۵ ± ۱.۸۹ ^a	۵.۷۸ ± ۰.۶۷ ^a	۲۱.۰۱ ± ۲.۹۵ ^a	۴۲.۱۲ ± ۲.۸۴ ^a
۳۲.۲ ± ۲.۴۵ ^a	۷.۰۴ ± ۱.۸۴ ^a	۲۰.۶۷ ± ۱.۷۷ ^a	۳۲.۲ ± ۴.۵۹ ^b
۳۲.۱ ± ۲.۹۲ ^a	۵.۹۸ ± ۰.۶۵ ^a	۲۱.۸۶ ± ۱.۷۶ ^a	۴۲.۸۹ ± ۲.۷۵ ^a
۳۲.۵۴ ± ۲.۴۱ ^a	۶.۸۹ ± ۱.۰۱ ^a	۲۱.۴۳ ± ۱.۶۴ ^a	۴۰.۴۰ ± ۱.۴۵ ^a

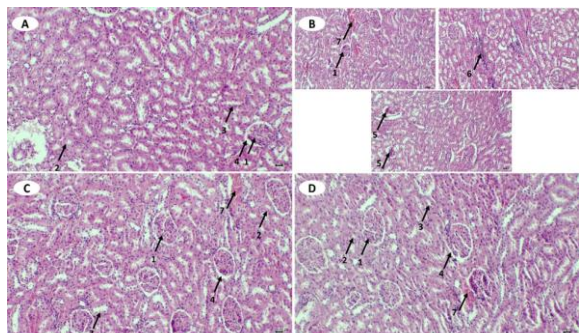
همچنین قطر لوله های جمع کننده به صورت معنی داری در گروه ساخارین+استویا نسبت به گروه ساخارین افزایش پیدا کرده بود ($p < 0.05$). علاوه بر این، اپیتلیوم و قطر لومن لوله های جمع کننده در گروه ساخارین به صورت معنی داری نسبت به گروه های کنترل و تجربی کاهش یافته بود ($p < 0.05$).



تصویرکبد: مقاطع بافت شناسی از کبد در گروه کنترل و گروه های تجربی، رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰× (A) گروه کنترل، (B) گروه ساخارین، (C) گروه استویا، (D) گروه ساخارین+استویا. (۱) سلول هپاتوسیت، (۲) هسته سلول هپاتوسیت، (۳) سینوزوئیدهای کبدی.

طبق جدول ۶، در مقایسه فراسنجه های قطر بخش نازک لوله هنله، اپیتلیوم بخش نازک لوله هنله، قطر لومن بخش نازک لوله هنله مابین گروه های کنترل و تجربی تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). ولی قطر بخش ضخیم لوله هنله در گروه ساخارین نسبت به سایر گروه های آزمایشی کاهش یافته و این تفاوت از لحاظ اماری معنی دار بوده است ($p < 0.05$).

با توجه به جدول شماره ۷، میانگین اپیتلیوم بخش ضخیم لوله هنله در گروه استویا نسبت به گروه ساخارین به صورت معنی داری افزایش یافته بود ($p < 0.05$), اما در مقایسه بین سایر گروه ها تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). مقایسه قطر لومن بخش ضخیم لوله هنله در مابین گروه های کنترل و تجربی اختلاف معنی داری را مشخص نکرد ($p > 0.05$). در بررسی قطر لوله های جمع کننده مشخص شد که، گروه ساخارین به صورت معنی داری کمترین قطر را نسبت به سایر گروه ها و گروه استویا به صورت معنی داری بیشترین قطر را نسبت به سایر گروه ها دارند ($p < 0.05$).



تصویر کلیه: مقاطع بافت‌شناسی از کلیه در گروه کنترل و گروه‌های تجربی، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگنمایی $\times 100$ (A) گروه کنترل، (B) گروه ساخارین، (C) گروه استویا، (D) گروه ساخارین+استویا. ۱) جسمک کلیوی (گلومرول)، ۲) لوله پیچ خورده نزدیک، ۳) لوله پیچ خورده دور، ۴) فضای ادراری، ۵) کاهش اندازه جسمک کلیوی و افزایش فضای ادراری، ۶) سلول‌های التهابی تک هسته‌ای، ۷) پرخونی.

جدول ۸- مقایسه میانگین وزن بدن در گروه‌های کنترل و تجربی

وزن موش‌ها (گرم)	
210.8 ± 33.43^a	کنترل
241 ± 6.55^a	ساخارین
201.32 ± 32.05^a	استویا
222.33 ± 17.21^a	ساخارین+استویا

با توجه به جدول شماره ۸ چنین بیان می‌شود که در گروه ساخارین تفاوت افزایشی میانگین وزن موش‌ها نسبت به گروه کنترل و استویا و حتی با گروه ساخارین+استویا مشاهده گردید. که این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). همچنین میانگین وزن موش‌ها در گروه استویا نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است که این کاهش نیز از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$).

جدول ۷- مقایسه میانگین اپیتلیوم و قطر لومن بخش ضخیم لوله هنله و قطر لوله اپیتلیوم و قطر لومن لوله جمع‌کننده در گروه‌های کنترل و تجربی

اپیتلیوم بخش ضخیم لوله هنله (میکرومتر)	قطر لومن بخش ضخیم لوله هنله (میکرومتر)	قطر لوله جمع‌کننده (میکرومتر)	اپیتلیوم لوله جمع‌کننده (میکرومتر)	قطر لومن لوله جمع‌کننده (میکرومتر)	کنترل
11.21 ± 1.66	20.95 ± 1.74^a	61.88 ± 4.31^a	17.37 ± 1.77^a	39.66 ± 2.47^a	
9.9 ± 1.08^a	18.83 ± 1.54^a	50.61 ± 2.23^b	10.86 ± 1.55^b	30.05 ± 2.89^b	ساخارین
12.58 ± 1.15^b	21.62 ± 2.22^a	70.27 ± 1.64^c	18.5 ± 1.48^a	41.8 ± 2.64^a	استویا
11.45 ± 1.14^ab	22.14 ± 1.85^a	63.28 ± 3.46^a	17.46 ± 1.79^a	40.29 ± 2.24^a	ساخارین+استویا

بررسی‌های بافتی نشان داد که در گروه ساخارین قطر سینوزوئیدها تا حدودی افزایش پیدا کرده بود و درجاتی از کبد چرب و استئاتوز در بافت کبد قابل مشاهده بود. اما در سایر گروه ساختار بافتی کبد نرمال بود.

بررسی‌های بافتی کلیه در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه ساخارین اندازه قطر جسمک‌های کلیوی کاهش یافته و اندازه فضای ادراری زیاد شده بود. همچنین در گروه ساخارین پرخونی بافت بینابینی مشاهده گردید، که البته این پرخونی در گروه‌های استویا و ساخارین+استویا نیز به صورت محدود قابل مشاهده بود. در گروه کنترل ساختار بافتی نرمال بود.

بحث

زنگنه و همکاران در سال ۲۰۱۸ در مطالعه ایی که بر روی رت های دیابتی شده انجام دادند مشاهده نمودند که سطح گلوکز خون در گروه های تیمار شده با استویا نسبت به موش های دیابتی درمان نشده به طور معنی داری کاهش داشت. وزن و حجم کلیه ها، کورتکس، مدولا، لوله های پروگزیمال و دیستال، مجاری جمع کننده، حلقه هنله، بافت های بینابینی، عروق و طول لوله های کلیوی پس از تیمار با استویا به طور معنی داری کاهش یافته بود. تعداد و حجم گلومرول ها با دوزهای بالای استویا به سطح نرمال برگشته بود (۱۰).

در مطالعه ای که توسط عادل امین و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی موشهای رت انجام گرفت، مصرف دوزهای مختلف ساخارین به مدت ۳۰ روز، باعث افزایش آنزیمهای کبدی وسطوح پروتئین کل و آلبومین و عملکرد کلیه مانند سطوح اوره و کراتینین شده (۱۱).

در مطالعه ای که توسط پیلار زافریلا و همکارانش در سال ۲۰۲۱ انجام گرفت اثر آنتی اکسیدانی و التهابی استویا، سوکرالوز و ساکارز مورد بررسی قرار گرفت که به صورت یک آزمایش بالینی با ۱۳۸ نفر از افراد چاق انجام شد. نتیجه اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی استویا نسبت به دیگر شیرین کننده ها که از نوع شیرین کننده های مصنوعی بودند نشان داده شد که نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر با توجه به جداول شماره ۴ و ۵ و ۷ مطابقت داشت (۱۲).

در مطالعه ای که رافت و همکارانش در سال ۲۰۲۱ در ارتباط با اثرات عصاره گیاه استویا بر روی موشهای رت دیابتی و تاثیر آن بر داروی ضد دیابتی ساکساگلیپتین انجام دادند، شاهد کاهش معنی دار قند خون و بهبود اثر بخشی داروی ساکساگلیپتین در حضور عصاره استویا شدند که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت داشت (۱۳). همانطور که از نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشاهده میگردد تغییر شاخص های هیستولوژیک و مورفومتریک

بررسی مطالعات و تحقیقات مختلف نشان می دهند که مصرف ساخارین اثرات سوئی را در بسیاری از بافتها از جمله بیضه ها، کبد، کلیه، قلب، آدرنال، پانکراس، تیموس در انسان و حیوانات داشته است. این اثرات با تغییرات در میزان آنزیم های کبدی، افزایش وزن، افزایش میزان تریگلیسیریدها، کلسترول، اوره و تغییرات پس رونده در بافت کبد و کلیه مشخص می گردند.

در مطالعه انجام شده توسط هلال و همکاران در سال ۲۰۱۹، مصرف ساخارین با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی به مدت ۳۰ روز در موشهای رت، با کاهش وزن بدن و کاهش سطح گلوکز خون همراه بود که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مغایرت داشت در حالیکه باعث افزایش سطح آنزیمهای کبدی اسپاراتات امینو ترانسفراز والانین امینو ترانسفراز گردید که با مطالعه ما مطابقت داشت (۱).

در مطالعه انجام شده توسط آندرژیک و همکاران در سال ۲۰۱۳، مصرف ساخارین با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی به مدت ۶ هفته در موشهای رت بالغ باعث افزایش میانگین وزن و افزایش سطوح قند خون (گلوکز) در گروه درمانی نسبت به گروه کنترل و همچنین باعث افزایش سطوح AST به طور قابل توجهی در گروه درمانی گردید (۷-۱۰).

در مطالعه ای که توسط ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام گرفت اثرات عصاره هیدروالکلی برگ استویا ربادیانا بر تونی بر روی کلیه و کبد موش سوری بررسی گردید و گزارش نمودند که این عصاره هیچگونه تاثیر نامطلوبی بر روی کبد و کلیه و فاکتورهای بیوشیمیایی خون از قبیل گلوکز، پروتئین کل، آلبومین، کلسترول موش ندارد که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت داشت (۲).

- toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2017 Jun 1;86:253-9.
4. Sclafani A, Bahrani M, Zukerman S, Ackroff K. Stevia and saccharin preferences in rats and mice. *Chemical Senses*. 2010 Jun 1;35(5):433-43.
 5. Chatsudthipong V, Muanprasat C. Stevioside and related compounds: therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacology & therapeutics*. 2009 Jan 1;121(1):41-54.
 6. Gregersen S, Jeppesen PB, Holst JJ, Hermansen K. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 2004 Jan 1;53(1):73-6.
 7. Ruiz-Ruiz JC, Moguel-Ordoñez YB, Matus-Basto AJ, Segura-Campos MR. Antidiabetic and antioxidant activity of Stevia rebaudiana extracts (Var. Morita) and their incorporation into a potential functional bread. *Journal of food science and technology*. 2015 Dec;52:7894-903.
 8. Alkafafy ME, Ibrahim ZS, Ahmed MM, El-Shazly SA. Impact of aspartame and saccharin on the rat liver: Biochemical, molecular, and histological approach. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2015 Jun;28(2):247-55.
 9. Azeez OH, Alkass SY, Persike DS. Long-term saccharin consumption and increased risk of obesity, diabetes, hepatic dysfunction, and renal impairment in rats. *Medicina*. 2019 Oct 9;55(10):681.
 10. Bian X, Tu P, Chi L, Gao B, Ru H, Lu K. Saccharin induced liver inflammation in mice by altering the gut microbiota and its metabolic functions. *Food and Chemical Toxicology*. 2017 Sep 1;107:530-9.
 11. Zangeneh MM, Goodarzi N, Zangeneh A, Najafi F, Tahvilian R. Hypoglycemic and nephroprotective effects of aqueous extract of Stevia rebaudiana (sweet fraction) in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2018;17(4):437-46.
 12. Farid A, Hesham M, El-Dewak M, Amin A. The hidden hazardous effects of stevia and sucralose consumption in male and female albino mice in comparison to sucrose. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2020 Oct 1;28(10):1290-300.

وبیوشیمیایی در کبد و کلیه موشهای تحت درمان با ساخارین و عصاره هیدروالکلی استویا و همچنین مصرف همزمان این دو ماده با توجه به جداول واشکال ارائه شده و همچنین نتایج مطالعات مختلف پیشین، آثار سوء مصرف شیرین کننده های مصنوعی مانند ساخارین، به سلامت اندامهای حیاتی بدن و در مجموع سلامتی حیوانات وانسانها بسیار مشهود هست و همچنین جایگزین نمودن شیرین کننده های طبیعی مانند استویا و مشتقاتش در محصولات مختلف مانند نوشابه ها، محصولات پخته شده، مربا، آدامس، میوه های کنسرو شده، آب نبات، دسر و سس سالاد، و همچنین محصولات آرایشی و بهداشتی (مانند خمیر دندان، دهان شویه و براق کننده لب و ...)، ویتامین ها و داروها و ... می تواند علاوه بر تامین طعم شیرینی و برآورده نمودن نیازهای مورد نظر ما، به عنوان یک انتی اکسیدان که اثرات بسیار مفیدی فراتر از بحث شیرینی مانند عامل ضد قند خون، ضد فشار خون، ضد التهاب و ضد تومور و غیره را برای ما فراهم آورد.

فهرست منابع

1. Andrejić BM, Mijatović VM, Samojlik IN, Horvat OJ, Čalasan JD, Đolai MA. The influence of chronic intake of saccharin on rat hepatic and pancreatic function and morphology: gender differences. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 2013 May;13(2):94.
2. Helal EG, Al-Shamrani A, Abdelaziz MA, El-Gamal MS. Comparison between the effect of sucralose and sodium saccharin on some physiological parameters in male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2019 Jan 1;74(7):1552-8.
3. Zhang Q, Yang H, Li Y, Liu H, Jia X. Toxicological evaluation of ethanolic extract from Stevia rebaudiana Bertoni leaves: Genotoxicity and subchronic oral