

## *Effect of Acesulfame k on Liver Enzymes and Liver Tissue in Immature Male Rats*

Niloufar Parsapour<sup>1</sup>,

Ali Noori<sup>2</sup>,

Habiballa Nazem<sup>3</sup>

<sup>1</sup> MSc in Biochemistry, Faculty of Science, Payam Noor University of Isfahan, Isfahan, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

<sup>3</sup> Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Payam Noor University of Isfahan, Isfahan, Iran

(Received November 16, 2019 ; Accepted April 19, 2020)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Artificial sweeteners are increasingly used in food products, so, it is necessary to study the effects of these additives on liver.

**Materials and methods:** In this experimental study, 30 immature male rats were divided into five groups (n=6 per group) and acesulfame k at 50, 100, 200, and 400 mg/kg were injected intraperitoneally to all groups for 30 days. One and 30 days after the last injection, blood samples were taken from the rats' eye, and the levels of FBS, HDL, LDL, AST, ALT, ALP, triglyceride, and cholesterol were measured. A number of rats were dissected in each group and their livers were removed to prepare tissue sections. The slides were examined by optical microscopy and data were analyzed applying ANOVA.

**Results:** The study showed that acesulfame k for 30 days, at 200 and 400mg/kg caused a significant increase in glucose level ( $P<0.05$ ) and at 100, 200, and 400mg/kg significantly decreased LDL levels ( $P<0.001$ ). Also, tissue disorders such as congestion, sinusoid abnormalities, and hepatocytes lysis were observed in liver samples in a dose-dependent manner. However, no significant changes were seen in other factors.

**Conclusion:** It seems that acesulfame k even at doses greater than 50 mg/kg for 30 days does not cause serious toxicity to immature male rats, due to the lack of changes in most liver factors, and liver tissue disorders may be restored over time.

**Keywords:** acesulfame k, liver factors, liver tissue, artificial sweetener

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (185): 14-22 (Persian).

\* Corresponding Author: Ali Noori - Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran (E-mail: ali.noori55@gmail.com)

## بررسی اثر آسه سولفام پتاسیم بر آنزیم های کبدی و بافت کبد موش های صحرايي نرنابالغ

نیلوفر پارساپور<sup>۱</sup>

علی نوری<sup>۲</sup>

حبیب اله ناظم<sup>۳</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** با توجه به مصرف روزافزون شیرین کننده های مصنوعی، لازم است که اثرات این افزودنی ها بر سلامت کبد مطالعه شود.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی، ۳۰ سررت نرنابالغ به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند و غلظت های ۵۰ mg/kg، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ آسه سولفام پتاسیم به مدت ۳۰ روز به صورت درون صفاقی به هر گروه تزریق گردید. یک و ۳۰ روز بعد از آخرین تزریق، خونگیری از چشم رت ها صورت گرفت و میزان فاکتورهای کبدی (ALT، AST، LDL، HDL، FBS)، ALP، تری گلیسرید و کلسترول) اندازه گیری شد. تعدادی از رت ها در هر گروه تشریح و کبد آن ها جهت تهیه مقاطع بافتی خارج گردید. لام ها توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. داده ها توسط آزمون ANOVA مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که تزریق آسه سولفام پتاسیم به مدت ۳۰ روز، در غلظت های ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg باعث افزایش معنی دار گلوکز ( $P < 0/05$ ) و در غلظت های ۱۰۰ mg/kg و ۲۰۰ و ۴۰۰ باعث کاهش معنی دار سطح LDL گردید ( $P < 0/001$ ). همچنین اختلالات بافتی نظیر تجمع خون، بی نظمی سینوزوئیدها و لیز شدن هیاتوسیت ها به صورت وابسته به دوز در کبد مشاهده گردید. ولی تغییر معنی داری در میزان سایر فاکتورها ایجاد نشد.

**استنتاج:** به نظر می رسد حتی تزریق دوزهای بالاتر از ۵۰ mg/kg آسه سولفام پتاسیم به مدت ۳۰ روز به رت های نرنابالغ، با توجه به عدم تغییر اکثر فاکتورهای کبدی، سمیت جدی به همراه نداشته باشد و احتمالاً اختلالات بافتی کبد با گذشت زمان ترمیم گردد.

**واژه های کلیدی:** آسه سولفام پتاسیم، فاکتورهای کبدی، بافت کبد، شیرین کننده مصنوعی

### مقدمه

حال ثابت شده است که این نوع مواد غذایی برای حفظ و یا کاهش وزن، کمک در مدیریت دیابت، کمک به کنترل پوسیدگی دندان، افزایش قابلیت استفاده در داروها

در سال های اخیر در جهان، میزان تقاضای غذاهای کم کالری افزایش یافته است (۱). مصرف کنندگان می توانند مزه شیرین را بدون دریافت کالری حس کنند، در عین

E-mail: ali.noori55@gmail.com

**مؤلف مسئول:** علی نوری - اصفهان: فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی

۱. کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، پیام نور استان اصفهان، اصفهان، ایران

۲. استادیار، گروه زیست شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳. استاد، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، پیام نور استان اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۲۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۸/۸/۲۶ تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۱/۳۱

نوشیدنی های گاز دار، محصولات پخته، غذاهای یخ زده و غذای کودک مورد تایید قرار گرفته است (۱۰). آسه سولفام پتاسیم در ۱۰۰ کشور و در بیش از ۵۰۰۰ محصول استفاده می شود. میزان مصرف روزانه آسه سولفام پتاسیم  $15 \text{ mg/kg (ADI)}$  (۱) وزن بدن تعیین شده است. آسه سولفام پتاسیم توسط بدن انسان متابولیزه نمی شود و پس از عبور از بدن از طریق کلیه ها بدون تغییر دفع می شود (۱۱). تا همین اواخر اعتقاد کلی بر این بود که شیرین کننده های غیر مغذی جایگزین های سالمی برای شکر هستند زیرا آن ها طعم شیرین را بدون کالری یا اثرات گلیسمی ایجاد می کنند. با این حال داده های چندین مطالعه اپیدمیولوژیک نشان دادند که مصرف شیرین کننده های غیر مغذی در رژیم غذایی با افزایش خطر ابتلا به چاقی (۱۲) و ایجاد سندروم متابولیک همراه است. در این جا منظور از سندرم متابولیک، مجموعه فاکتورهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، کلینیکی و متابولیکی است که در افزایش خطر ابتلا به بیماری های قلبی عروقی و دیابت نوع ۲ نقش دارند (۱۳). شواهد اخیر نشان داد که برخی از شیرین کننده های مصنوعی تاثیرات فیزیولوژیکی در بدن ایجاد می کنند. داده های مربوط به حداقل پنج نوع از پستانداران مختلف (موش ها، سگ ها، خوک ها، گاوها، انسان ها) نشان داد که شیرین کننده های غیرمغذی می توانند از نظر متابولیکی فعال باشند (۱۴). به عنوان بخشی از رژیم غذایی، مصرف شیرین کننده های غیرمغذی می تواند تعادل انرژی و عملکردهای متابولیکی را از طریق چندین مکانیسم محیطی و مرکزی تغییر دهد و این نشان می دهد تصور این که شیرین کننده های غیر مغذی که به طور متناوب بی اثر هستند، دیگر درست نیست (۱۵). در مطالعه حاضر، با توجه به حساسیت بالاتر کودکان به افزودنی های غذایی و مصرف بیش تر مواد غذایی شیرین توسط آن ها، اثر تزریق دوزهای مختلف آسه سولفام پتاسیم بر مهم ترین آنزیم های کبدی و ساختار بافت کبد موش های نابالغ مورد بررسی قرار گرفت.

و لوازم آرایشی و در استفاده مقرون به صرفه از منابع محدود کمک می کند (۲). به طور کلی شیرین کننده های مصنوعی به دو دسته مغذی و غیر مغذی طبقه بندی می شوند. از انواع مغذی می توان به قندهای الکلی مانند ایزومالت، زایلیتول، سوربیتول و مانیتول اشاره کرد. از انواع غیر مغذی می توان شیرین کننده های سنتز شده مانند: سوکرالوز، آسه سولفام پتاسیم، نئوتام و آسپارتام را نام برد که به دلیل مصرف خیلی کم یا به دلیل متابولیزه نشدن در بدن به شیرین کننده های غیرمغذی معروف هستند (۳). در مقاله یالامانچی و همکاران ذکر شده است، کارل کلاوس و هارولد جینسن در سال ۱۹۶۷ ترکیبی دارای مزه شیرین به نام 6-methyl-1,2,3-oxathiazin4(3H)-one2,2-dioxide را کشف کردند (۴) که در سال ۱۹۷۸ سازمان بهداشت جهانی نام عمومی این ترکیب را نمک آسه سولفام پتاسیم انتخاب کرد (۵). آسه سولفام پتاسیم تقریباً ۲۰۰ برابر شیرین تر از ساکارز ۳ درصد (استاندارد طلایی) است و به صورت پودر بلوری و سفید رنگ موجود می باشد. پراش اشعه ایکس نشان می دهد که سیستم حلقوی تقریباً مسطح دارد و وزن مخصوص آن  $1/83$  گرم بر سانتیمتر مکعب است. عمر مفید نگه داری آسه سولفام پتاسیم خالص جامد در دمای اتاق تقریباً نامحدود است (۶). آسه سولفام پتاسیم نقطه ذوب دقیقی را نشان نمی دهد (۷)، در دمای اتاق به راحتی در آب حل می شود و انحلال پذیری آن در ۲۰ درجه سانتی گراد در حدود ۲۷۰ گرم بر لیتر در آب است، با افزایش دما انحلال پذیری به شدت افزایش می یابد و مقدار آن به بیش از ۱۰۰۰ گرم در لیتر در ۱۰۰ درجه سانتی گراد می رسد (۸). طعم شیرین آسه سولفام پتاسیم به سرعت و بدون هیچ تاخیر ناخوشایندی حس می شود. در مقایسه با سایر شیرین کننده های قوی (آسپارتام و آلیتام) در آسه سولفام پتاسیم، شروع طعم شیرین سریع تر است (۹). این شیرین کننده برای استفاده در انواع محصولات غذایی شامل

2. Acceptable Daily Intake

1. Gold standard

## مواد و روش ها

نگه‌داری و پرورش حیوانات: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۰ سررت نر نابالغ با میانگین وزنی ۶۰ گرم از دانشگاه آزاد فلاورجان استان اصفهان خریداری شدند. حیوانات از ابتدای تولد تا پایان آزمایش در لانه حیوانات در دمای  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در قفس‌های مخصوص نگاه‌داری شدند و در طول آزمایش دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

روش آزمایش: رت‌ها به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه اول سرم فیزیولوژیک و ۴ گروه بعدی (گروه‌های تیمار) به ترتیب غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آسه سولفام پتاسیم (با فرمول شیمیایی 6-methyl-1,2,3-oxathiazin4(3H)-one 2,2-dioxide و خلوص ۹۷/۸ درصد ساخت کشور آلمان تهیه شده از شرکت کامور اصفهان) (۱۷،۱۶) را به صورت درون صفاقی روزانه به مدت ۳۰ روز دریافت کردند. حیوانات در طول آزمایش تا رسیدن به سن بلوغ چندین بار وزن شدند.

خونگیری و اندازه‌گیری فاکتورهای خون: یک روز پس از آخرین تزریق، خونگیری از گوشه چشم رت‌ها انجام شد و میزان فاکتورهای FBS، HDL، LDL، AST، ALT، ALP، تری‌گلیسیرید و کلسترول با دستگاه اتوآنالایز (Awareness Technology inc-Stat Fax-2100, Japan) در سرم خون اندازه‌گیری شد. ۳۰ روز بعد از آخرین تزریق، مجدداً خونگیری از چشم صورت گرفت و فاکتورهای مذکور دوباره مورد سنجش قرار گرفتند.

بررسی‌های بافت‌شناسی: پس از خونگیری مرحله دوم، ۳ سررت از هر گروه به‌طور کاملاً تصادفی انتخاب و با کتامین بیهوش و سپس تشریح شدند و کبد آن‌ها جهت مطالعات بافت‌شناسی جدا و در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از مراحل پردازش، مقاطع بافتی به ضخامت ۴ تا ۵ میکرومتر تهیه و به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی گردید. لام‌ها توسط میکروسکوپ نوری (Canon EOS 80D, Japan) مجهز به دوربین

مطالعه و از هر لام ۱۰ میدان دید عکسبرداری شد. سپس اختلالات بافت کبد در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز آماری: میانگین مقادیر فاکتورهای مختلف به روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و تست دانکن (Duncan) با نرم‌افزار SPSS, 22 بین گروه‌های مختلف مورد مقایسه قرار گرفت. برای استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و برای تعیین نرمال بودن داده‌ها، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. در آزمون‌های انجام شده مقادیر  $P < 0.05$  سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

### تغییر آنزیم‌های کبدی

نتایج نشان داد که تزریق درون صفاقی آسه سولفام پتاسیم در غلظت ۱۰۰ mg/kg به رت‌های نابالغ در خونگیری مرحله اول سبب افزایش معنی‌دار مقدار HDL گردید ( $P < 0.05$ ) و مقدار LDL در گروه‌های تیمار ۱۰۰ mg/kg و ۲۰۰ و ۴۰۰ نسبت به سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) کاهش یافت. همچنین مقدار قند خون (FBS) در گروه‌های تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg نسبت به گروه‌های دیگر به‌طور معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) افزایش یافت. تغییرات وزن معنی‌دار، در طول دوره آزمایش در گروه‌های تیمار مشاهده نشد (نتایج نشان داده نشده است) (جدول شماره ۱).

با گذشت ۳۰ روز از آخرین تزریق آسه سولفام پتاسیم (سن بلوغ رت‌ها) نتایج مربوط به مرحله دوم خونگیری شبیه نتایج مرحله اول کاهش معنی‌دار LDL ( $P < 0.001$ ) و افزایش معنی‌دار FBS ( $P < 0.05$ ) را در همان گروه‌های قبلی نشان داد، در حالی که میزان HDL اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف نشان نداد و در گروه تیمار ۱۰۰ mg/kg نیز به میزان عادی بازگشت (جدول شماره ۲).

لازم به ذکر است که میزان فعالیت آنزیم های AST و ALT، ALP و میانگین مقادیر کلسترول و تری گلیسرید در دو مرحله خونگیری هیچ تفاوت معنی داری را بین گروه های مختلف نشان نداد. همچنین تزریق آسه سولفام پتاسیم در تمام غلظت ها، هیچ گونه تغییرات وزنی را در طول دوره آزمایش در گروه های تیمار به همراه نداشت (نتایج نشان داده نشده است).

## تغییرات بافتی کبد

با توجه به بررسی تعداد زیادی مقاطع بافتی و میدان های دید متعدد، اختلافات گوناگونی با شدت های متفاوت در گروه های تیمار به صورت وابسته به دوز مشاهده گردید. در گروه تیمار ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم

وضعیت بافت از نظر التهاب و تجمع بازوفیل ها و نوتروفیل ها شبیه گروه شاهد بود. در گروه دریافت کننده آسه سولفام پتاسیم با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خون در سیاهرگ ها، اتساع و بی نظمی سینوزوئیدها و طناب های هیپاتوسیتی همراه با لیز شدن و رها شدن هسته ها مشاهده گردید. در گروه دریافت کننده آسه سولفام پتاسیم با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، علاوه بر اختلالات قبل با شدت بیش تر، تجمع قابل توجه سلول های التهابی در فضای پورت مشاهده شد. گروه دریافت کننده آسه سولفام پتاسیم با غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تمام ناهنجاری های بافتی مذکور را با شدت بیش تر نشان داد (تصاویر شماره ۱- A تا E).

جدول شماره ۱: میانگین مقادیر فاکتورهای مختلف در مرحله اول خونگیری پس از تزریق آسه سولفام پتاسیم

فاکتورها	گروه ها	آسه سولفام پتاسیم غلظت ۵۰ mg/kg	آسه سولفام پتاسیم غلظت ۱۰۰ mg/kg	آسه سولفام پتاسیم غلظت ۲۰۰ mg/kg	آسه سولفام پتاسیم غلظت ۴۰۰ mg/kg	سطح معنی داری
ALP(U/L)	۹۶۹/۰۰ ± ۱۵۰/۸۸	۸۲۰/۵۰ ± ۱۹۴/۵۰	۱۱۱۶/۶۶ ± ۱۶۳/۵۲	۹۸۵/۴۰ ± ۲۵۳/۹۲	۱۱۴۸/۲۰ ± ۳۵۳/۲۱	۰/۱۵
AST(U/L)	۱۴۹/۸۳ ± ۳۱/۵۳	۱۲۵/۱۶ ± ۱۴/۰۷	۱۳۱/۳۳ ± ۱۰/۳۶	۱۳۴/۶۰ ± ۱۶/۲۷	۱۲۱/۶۰ ± ۲/۸۸	۰/۱۲
ALT(U/L)	۴۹/۴۰ ± ۱۱/۲۶	۵۲/۶۰ ± ۹/۵۸	۴۹/۲۵ ± ۱۱/۳۸	۵۰/۹۴ ± ۴/۱۰	۴۵/۱۲ ± ۲۱/۹۸	۰/۹۰
LDL(mg/dl)	۱۵۰/۰۰ ± ۵/۵۸	۱۴۰/۰۰ ± ۲/۰۹	***۴۰/۱۶ ± ۱/۱۶	***۱۰/۸۰ ± ۱/۷۸	***۴/۰۰ ± ۱/۲۲	۰/۰۰
HDL(mg/dl)	۳۵/۳۳ ± ۴/۶۷	۳۷/۳۳ ± ۶/۴۷	*۴۵/۰۰ ± ۳/۷۴	۴۱/۲۰ ± ۴/۵۴	۴۱/۰۰ ± ۷/۵۱	۰/۰۵
TG(mg/dl)	۱۰۰/۳۳ ± ۴۳/۸۸	۱۲۶/۶۶ ± ۶۲/۰۴	۱۲۹/۰۰ ± ۲۳/۲۳	۱۱۹/۴۰ ± ۴۳/۳۲	۱۴۶/۰۰ ± ۳۳/۵۱	۰/۵۳
Cho(mg/dl)	۶۷/۱۶ ± ۶/۷۹	۸۱/۳۳ ± ۷/۳۳	۶۹/۱۶ ± ۱۰/۴۵	۷۳/۰۰ ± ۱۲/۱۶	۶۹/۲۰ ± ۱۲/۷۳	۰/۱۵
FBS(mg/dl)	۱۰۹/۰۰ ± ۱۵/۴۷	۱۰۷/۰۰ ± ۱۰/۶۲	۱۱۳/۸۳ ± ۱۳/۱۲	*۱۲۷/۶۰ ± ۷/۸۹	*۱۳۲/۸۰ ± ۱۷/۸۸	۰/۰۱

\*افزایش معنی دار HDL (P&lt;۰/۰۵) نسبت به سایر گروه ها

\*\*\*کاهش معنی دار LDL (P&lt;۰/۰۰۱) نسبت به سایر گروه ها

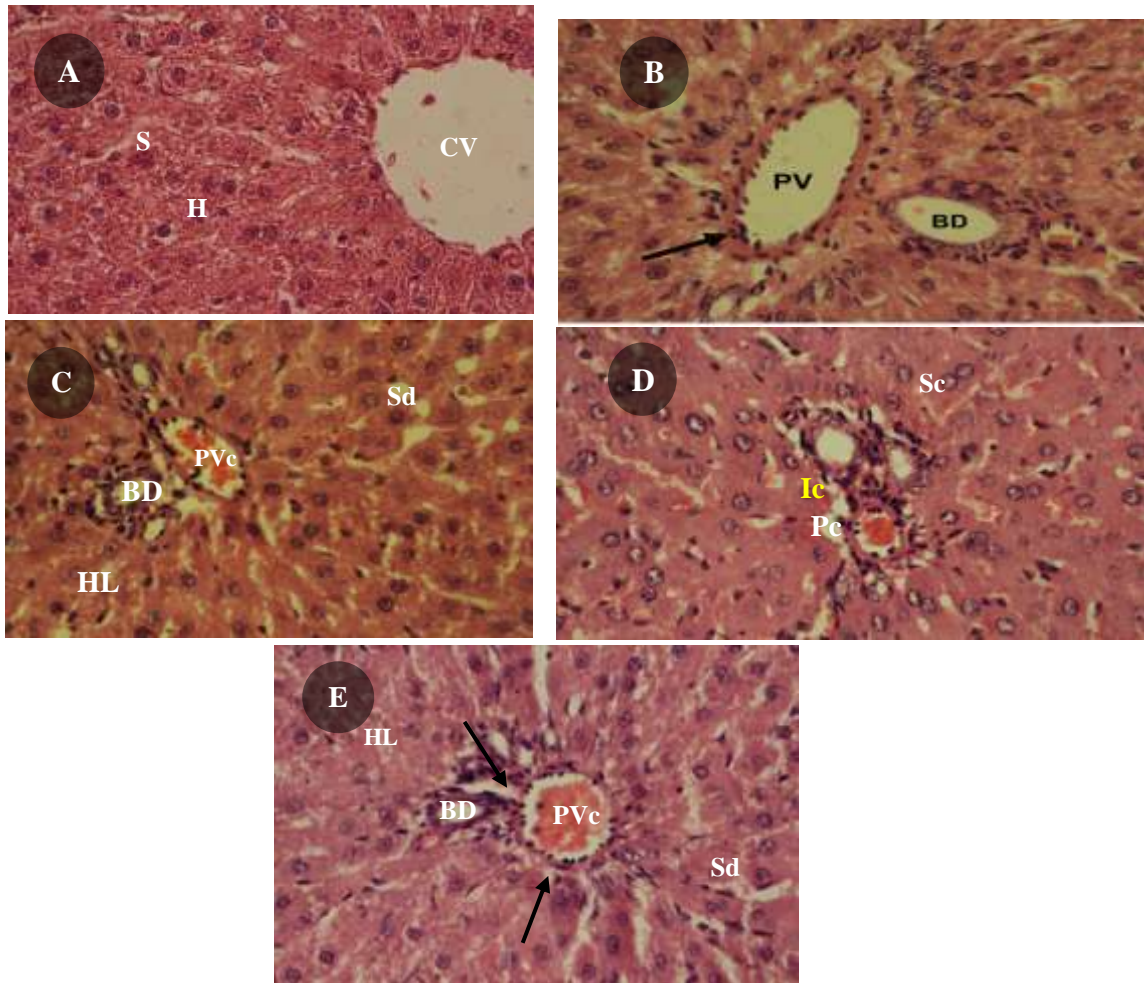
\*افزایش معنی دار FBS (P&lt;۰/۰۵) نسبت به سایر گروه ها

جدول شماره ۲: میانگین مقادیر فاکتورهای مختلف در مرحله دوم خونگیری پس از تزریق آسه سولفام پتاسیم

فاکتورها	گروه ها	آسه سولفام پتاسیم غلظت ۵۰ mg/kg	آسه سولفام پتاسیم غلظت ۱۰۰ mg/kg	آسه سولفام پتاسیم غلظت ۲۰۰ mg/kg	آسه سولفام پتاسیم غلظت ۴۰۰ mg/kg	سطح معنی داری
ALP(U/L)	۹۰۲/۶۶ ± ۳۴۲/۴۹	۸۴۳/۶۶ ± ۲۳۵/۵۴	۱۱۱۵/۰۰ ± ۱۸۶/۷۹	۱۰۰۵/۶۰ ± ۳۴۳/۳۳	۱۲۰/۶۰ ± ۱۷۷/۸۳	۰/۲۷
AST(U/L)	۱۴۷/۸۳ ± ۵/۹۸	۱۳۱/۵۰ ± ۱۰/۳۲	۱۴۲/۲۵ ± ۱۰/۳۷	۱۳۶/۸۰ ± ۱۵/۹۱	۱۴۴/۶۰ ± ۵/۳۶	۰/۰۹
ALT(U/L)	۵۴/۶۶ ± ۱۱/۶۰	۵۵/۱۶ ± ۴/۴۴	۴۴/۲۵ ± ۱۲/۲۸	۶۱/۰۰ ± ۶/۰۴	۱۶/۲۰ ± ۹/۸۵	۰/۰۸
LDL(mg/dl)	۱۴/۸۳ ± ۲/۳۱	۱۶/۸۳ ± ۱/۴۷	***۵/۳۲ ± ۱/۸۸	***۱۱/۰۰ ± ۱/۸۷	***۴/۰۰ ± ۰/۸۳	۰/۰۰
HDL(mg/dl)	۳۹/۰۰ ± ۷/۵۶	۴۹/۰۰ ± ۷/۲۹	۴۲/۰۰ ± ۶/۸۳	۴۳/۴۰ ± ۱/۱۴	۴۲/۲۰ ± ۵/۸۰	۰/۱۳
TG(mg/dl)	۸۷/۵۰ ± ۲۸/۶۱	۹۴/۸۳ ± ۳۹/۸۸	۱۳۴/۰۰ ± ۱۱/۵۷	۹۶/۰۰ ± ۳۸/۰۹	۱۱۷/۰۰ ± ۲۸/۴۰	۰/۱۹
Cho(mg/dl)	۶۸/۳۳ ± ۱۴/۹۲	۸۰/۱۶ ± ۹/۵۱	۷۳/۰۰ ± ۱۸/۶۷	۶۹/۰۰ ± ۴/۸۴	۶۶/۸۰ ± ۹/۸۵	۰/۳۸
FBS(mg/dl)	۹۸/۵۰ ± ۱۳/۰۳	۱۰۷/۸۳ ± ۱۱/۳۳	۱۰۷/۵۰ ± ۴/۷۹	*۱۱۶/۶۰ ± ۹/۰۴	*۱۱۷/۰۰ ± ۵/۹۵	۰/۰۳

\*افزایش معنی دار FBS (P&lt;۰/۰۵) نسبت به سایر گروه ها

\*\*\*کاهش معنی دار LDL (P&lt;۰/۰۰۱) نسبت به سایر گروه ها



تصویر شماره ۱: آسیب شناسی از مقاطع بافتی کبد با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین با ضریب بزرگنمایی ۴۰۰  
 تصویر A: مقاطع بافتی کبد در گروه کنترل. سیاهرگ مرکز لوبولی (CV)، هپاتوسیت ها (H)، سینوزوئیدها (S). وضعیت بافت کبد طبیعی است.  
 تصویر B: مقاطع بافتی کبد در گروه تیمار ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم آسه سولفام پتاسیم. ورید پورتال (PV)، مجرای صفراوی (BD) و تجمع سلول های التهابی (فلش) طبیعی است.  
 تصویر C: مقاطع بافتی کبد در گروه تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آسه سولفام پتاسیم. پرخونی ورید پورتال (PVc)، بی نظمی و اتساع سینوزوئیدها (Sd) و لیز شدن هپاتوسیت ها (HL).  
 تصویر D: مقاطع بافتی کبد در گروه تیمار ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آسه سولفام پتاسیم. پرخونی در سینوزوئیدها (Sc) و فضای پورت (Pc)، تجمع سلول های التهابی (IC).  
 تصویر E: مقاطع بافتی کبد در گروه تیمار ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آسه سولفام پتاسیم. تجمع خون در ورید پورتال (PVc)، تجمع سلول های التهابی (فلش ها)، اتساع و بی نظمی سینوزوئیدها (Sd)، لیز شدن هپاتوسیت ها (HL).

## بحث

سولفام پتاسیم در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg در هر دو مرحله خون گیری باعث افزایش گلوکز خون در رت ها گردید و مطالعات بافت شناسی نیز اختلالات قابل توجهی را در تمام بخش های کبد نشان داد. افزایش گلوکز خون در این دو گروه ممکن است به دلیل تخریب

با توجه به تولید روز افزون محصولات حاوی آسه سولفام پتاسیم و عدم وجود اطلاعات کافی از اثرات سوء مصرف آن بر سلامتی به ویژه قشر آسیب پذیری مثل کودکان، نتایج ما نشان داد که تزریق درون صفاقی آسه

پیروات و چرخه گلیکولیز، کاهش اسیدهای چرب، شیلمیکرون ها، VLDL و LDL را سبب می‌گردد (۲۵). در تحقیق حاضر، ممکن است تیمار با غلظت‌های بالای آسه سولفام پتاسیم ضمن افزایش مقدار انسولین، همزمان کاهش LDL و عدم تغییر کلسترول و تری‌گلیسرید را به دلیل فقدان استیل کوآنزیم A به همراه داشته است.

در نتایج حاضر، تغییرات هیستوپاتولوژیک معنی داری در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ mg/kg آسه سولفام پتاسیم در بافت کبد مشاهده گردید که با یافته‌های ریوزل و همکاران مطابقت داشت (۲۶) و یکی از دلایل مهم چنین تغییرات بافتی ممکن است افزایش گلوکز و تغییر فعالیت‌های کبد در رابطه با متابولیسم قندها و لیپیدها باشد (۲۷). برخلاف نتایج حاضر، برخی محققین افزایش اشتها و وزن را در اثر مصرف برخی شیرین کننده‌های مصنوعی بسیار قوی گزارش کردند (۲۸)، هرچند که برخی تحقیقات دیگر مشابه با یافته‌های حاضر، عدم تغییرات وزن را نشان دادند (۱۰-۱۶). در نتیجه انجام مطالعات بیش تر و تکمیلی در رابطه با تاثیر آسه سولفام پتاسیم بر اشتها و وزن، در بازه‌های زمانی طولانی تر و هم‌چنین بررسی آن در بروز دیابت در رت‌ها حائز اهمیت است. به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تزریق دوزهای بالاتر از ۵۰ mg/kg آسه سولفام پتاسیم به رت‌های نابالغ، هرچند که افزایش گلوکز و تغییرات لیپیدی محدودی را (طبق جدول شماره ۱ و ۲) همراه با اختلالات بافتی کبد سبب گردید، اما با توجه به عدم تغییر معنی‌دار در میزان اکثر فاکتورهای کبدی به ویژه آنزیم‌ها و وزن حیوانات، به نظر می‌رسد مصرف مقادیر اندک این شیرین کننده (با توجه به دارا بودن قدرت شیرین کنندگی قوی) فاقد اثرات جدی و خطرناک بر فعالیت‌های متابولیکی کبد رت‌ها باشد. به طور کلی به نظر می‌رسد مصرف این شیرین کننده در غلظت‌های پایین سمیت قابل توجهی نداشته باشد. از طرفی ناهنجاری بافتی کبد به احتمال زیاد با گذشت زمان ترمیم شده و به حالت نرمال باز گردد.

سلول‌های کبدی باشد که در فرآیند گلیکولیز نقش مهمی دارند (۱۸). از دلایل احتمالی دیگر افزایش قندخون در غلظت‌های بالای آسه سولفام پتاسیم احتمالاً ترشح زیاد انسولین و لپتین و در نتیجه جذب بالای گلوکز غذای حیوانات بود که از طریق فعال کردن گیرنده‌های طعم شیرین در انتروسیت افزایش یافت (۱۹،۱۰) و باعث ایجاد تداخل با واکنش‌های کنترل کننده جذب گلوکز گردید (۲۰). در این زمینه برخی مطالعات در مدل‌های موش (in vivo و in vitro) و سلول‌های L دوازده روده انسان نشان دادند که T1R3 یک گیرنده طعم شیرین همراه با alpha-gustducin protein G حداقل یکی از عناصر حساس به طعم شیرین در روده است (۲۱،۲۲) که باعث آزاد شدن GIP می‌شود (GIP هورمون روده‌ای هستند که پس از آزاد شدن در جریان خون سلول‌های بتای پانکراس را تحریک کرده تا انسولین ترشح کنند) (۲۰). بنابراین فعال شدن چنین گیرنده‌هایی در سلول‌های انترواندوکرین و سلول‌های بتای پانکراس می‌تواند جذب گلوکز و در نتیجه ترشح انسولین بیش تری را به همراه داشته باشد (۲۳). بر اساس نتایج مطالعه حاضر با توجه به مقایسه داده‌های جداول شماره ۱ و ۲، میزان LDL در هر دو مرحله خون‌گیری در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار یافت و میزان HDL در خون‌گیری مرحله اول افزایش معنی‌دار را فقط در غلظت ۱۰۰ mg/kg نشان داد، ارتباط بین متابولیسم گلوکز و چربی بسیار پیچیده است و با توجه به این که لیپیدها و گلوکز نقش مهمی در تولید انرژی دارند و متابولیسم هر دو توسط کبد تنظیم می‌شود، بنابراین تغییرات لیپیدی و اختلال در متابولیسم گلوکز کاملاً بر یکدیگر موثر هستند (۲۴). در تحقیق کبیر و همکاران بر روی بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس تیپ دو، مشخص گردید که پس از تزریق انسولین، میزان VLDL و HDL افزایش و میزان LDL کاهش یافت، در حالی که میزان کلسترول و تری‌گلیسرید خون این بیماران تغییر معنی‌داری نشان نداد، بنابراین میزان بالای انسولین از طریق مهار سنتز

## سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان کمال تشکر و قدردانی را دارند.

نتایج این مقاله بخشی از پایان نامه دانشجویی خانم نیلوفر پارساپور در دوره کارشناسی ارشد بوده است.

## References

1. Alsoufi MA, Aziz RA, Hussein ZG. Effect of some artificial sweeteners consumption in biochemical parameters of rats. *Curr Res Microbiol Biotechnol* 2017; 5(3): 1095-1099.
2. Kroger M, Meister K, Kava R. Low-calorie sweeteners and other sugar substitutes: a review of the safety issues. *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety* 2006; 5(2): 35-47.
3. Zoulias E, Piknis S, Oreopoulou V. Effect of sugar replacement by polyols and acesulfame-K on properties of low-fat cookies. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2000; 80(14): 2049-2056.
4. Yalamanchi S, Srinath R, Adrian SD. Acesulfame-K. *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier Inc 2015; 1-5.
5. Potkonjak V, Gardner M, Callaghan V, Mattila P, Guetl C, Petrović VM, et al. Virtual laboratories for education in science, technology, and engineering: A review. *Computers & Education* 2016; 95: 309-327.
6. von Rymon Lipinski GW, Hanger LY. *Food science and technology marcel dekeer*. New York: Acesulfame K; 2001; 13-30.
7. Sanyaolu A, Marinkovic A, Gosse J, Likaj L, Ayodele O, Okorie C, et al. Artificial sweeteners and their association with Diabetes: A review. *J Pub Health Catalog* 2018; 1(4): 86-88.
8. Liauchonak I, Qorri B, Dawoud F, Riat Y, Szewczuk MR. Non-Nutritive Sweeteners and Their Implications on the Development of Metabolic Syndrome. *Nutrients* 2019; 11(3): E644.
9. Ott D, Edwards C, Palmer SJ. Perceived Taste Intensity and Duration of Nutritive and Non-nutritive Sweeteners in Water using Time-intensity (T-I) Evaluations. *Journal of Food Science* 1991; 56(2): 535-542.
10. Cong WN, Wang R, Cai H, Daimon CM, Scheibye-Knudsen M, Bohr VA, et al. Long-term artificial sweetener acesulfame potassium treatment alters neurometabolic functions in C57BL/6J mice. *PLoS One* 2013; 8(8): e70257.
11. Cody MM, Gravani R, Edge MS, Dooher C, White C. International Food Information Council Foundation food and health survey, 2006-2010, food safety: a web-enabled survey. *Food Protection Trends* 2012; 32(6): 309-326.
12. Malik VS, Li Y, Pan A, De Koning L, Schernhammer E, Willett WC, Hu FB. Long-term consumption of sugar-sweetened and artificially sweetened beverages and risk of mortality in US adults. *Circulation* 2019; 139(18): 2113-2125.
13. Wilson T, Murray B, Price T, Atherton D, Hooks T. Non-Nutritive (Artificial) Sweetener Knowledge among University Students. *Nutrients* 2019; 11(9): 2201.
14. Pepino MY, Bourme C. Non-nutritive sweeteners, energy balance and glucose homeostasis. *Curr opin clin nutr metab care* 2011; 14(4): 391-395.



15. Ahmad Khan T, Ayoub-Charette S, Sievenpiper JL, Comelli EM. Non-Nutritive Sweeteners and their Effects on Human. Health and the Gut Microbiome 2020; 676-684.
16. Bian X, Chi L, Gao B, Tu P, Ru H, Lu K. The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body weight gain in CD-1 mice. PLoS One 2017; 12(6): e0178426.
17. Bandyopadhyay A, Ghoshal S, Mukherjee A. Genotoxicity testing of low-calorie sweeteners: aspartame, acesulfame-K, and saccharin. Drug chem toxicol 2008; 31(4): 447-457.
18. Gerin I, Veiga-da-Cunha M, Achouri Y, Collet J, Van Schaftingen E. Sequence of a putative glucose 6-phosphate translocase, mutated in glycogen storage disease type Ib 1. Febs Lett 1997; 419(2-3): 235-238.
19. Rahmani Kahnamoei J, Ranjbar A. Comparative study of the effect of sucralose and sugar on some serum biomarkers of rats. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences 2014; 4(1): 10-15.
20. Pepino M. Metabolic effects of non-nutritive sweeteners. Physiology & Behavior 2015; 152: 450-455.
21. Jang H, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim B, Zhou J, et al. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. Proc Nat Acad Sci Usa 2007; 104(38): 15069-15074.
22. Kokrashvili Z, Mosinger B, Margolskee RF. T1r3 and  $\alpha$ -Gustducin in Gut Regulate Secretion of Glucagon-like Peptide-1. Ann N Y Acad Sci 2009; 1170(1): 91-94.
23. Corkey BE. Banting lecture 2011: hyperinsulinemia: cause or consequence? Diabetes 2012; 61(1): 4-13.
24. Parhofer KG. Interaction between glucose and lipid metabolism: more than diabetic dyslipidemia. Diabetes Metab J 2015; 39(5): 353-362.
25. Kabir A, Abdullah A, Sadeka MM, Ahmed H, Kahhar MA. The impact of dengue on liver function as evaluated by aminotransferase levels. J Med 2008; 9(2): 60-68.
26. Reuzel P, van der Heijden C. Long-term oral toxicity study with acesulfame-K in beagles. New York: Acesulfame K, Dekker M; 1991.
27. Masjedi F, Gol A, Dabiri SH, Javadi A. Preventive effect of garlic on histopathology of liver and markers of hepatic injury in streptozotocin-induced diabetic rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2009; 11(4): 433-441.
28. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, Power SE, O'connor EM, Cusack S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. Nature 2012; 488(7410): 178-184.