تاثیر مصرف طولانی مدت آسپارتام بر کیفیت اسپرم، تستوسترون و پارامترهای اکسیدانی در موش های سفید کوچک آزمایشگاهی

محمدتقی شیبانی[1*]، حجت عنبرا[1]، حسن مروتی[1]، مزدک رازی[2]، جمیله سالار آملی[1]

۱) گروه علوم پایه، دانشکده دام پزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲) گروه علوم پایه، دانشکده دام پزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۱۳ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵**

چکیده

مقدمه: آسپارتام معروف ترین و پرمصرف ترین شیرین کننده مصنوعی می باشد که در مواد غذایی مختلف به طور گسترده ای استفاده می گردد. گزارش های بحث برانگیز زیادی در مورد سمیت آسپارتام بر روی بافت های مختلف بدن وجود دارد، با این حال در رابطه با عوارض آسپارتام بر روی دستگاه تولیدمثل اطلاعات زیادی در دسترس نیست. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات آسپارتام بر کیفیت اسپرم و پارامترهای اکسیدانی در موش صورت گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تعداد ۳۶ سر موش نر بالغ نژاد NMRI به صورت تصادفی به چهار گروه نه سری تقسیم شدند. سه گروه از گروه های فوق به ترتیب آسپارتام را به میزان ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی از طریق گاواژ به مدت ۹۰ روز دریافت نموده و هم چنین گروه کنترل نیز در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، نمونه های خونی از طریق قلب جمع آوری و پارامترهای کیفیت اسپرم شامل شمارش، تحرک، قابلیت زنده مانی، تراکم کروماتین، اشکال غیرطبیعی و آسیب DNA اسپرم مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته های پژوهش: نتایج نشان دهنده کاهش معنی دار ظرفیت آنتی اکسیدانی تام(TAC)، تستوسترون و نیز افزایش معنی دار سطح مالون دی آلدئید(MDA) در گروه های ۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل بود($P<0.01$). دریافت آسپارتام باعث کاهش تعداد، تحرک، زنده مانی و بلوغ اسپرم($P<0.001$) و هم چنین افزایش میزان اشکال غیرطبیعی و آسیب به DNA اسپرم در گروه های ۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل گردید($P<0.001$).

بحث و نتیجه گیری: یافته های مطالعه حاضر آشکار ساخت که مصرف آسپارتام در موش می تواند به کاهش کیفیت اسپرم و تغییرات منفی در پارامترهای اکسیدانی منجر شود.

واژه های کلیدی: آسپارتام، تستوسترون، اسپرم، موش

* نویسنده مسئول: گروه علوم پایه، دانشکده دام پزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

Email:tsheibani@yahoo.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

انواع مختلف مواد افزودنی که در خوراکی ها موجود می باشد معمولاً به عنـــوان غذا مورد استفاده قرار نمی گیرند بلکه درون غــذا و یا روی آن اســـتفاده می گردد تا باعث بهبود کیفیت، ظاهر، طعم و بافت آن شده و یا در تسهیل مراحل غذا نقش ایفا نمایند(۱). مواد افزودنی شامل مواد نگهدارنده، شیرین کننده ها، افزودنی های رنگی، طعم دهنده ها و غیره می باشند. بیش از ۳۰۰۰ افزودنی مورد تایید برای استفاده در سراسر جهان وجود دارد و شیرین کننده های مصنوعی یکی از مواد افزودنی مهم غذایی هستند(۲). آسپارتام یک شیرین کننده مصنوعی است که در فرآورده غذایی و دارویی از جمله در نوشیدنی های کم کالری و بدون قند، بستنی ها، آبنبات ها، کیک های بدون قند، نوشیدنی های رژیمی، شکلات های بدون قند و غیره مورد استفاده قرار می گیرد(۳). این ماده معروف ترین و پرمصرف ترین شیرین کننده مصنوعی می باشد که در میان افراد مبتلا به دیابت و اضافه وزن طرفداران بسیاری داشته و از این رو تمایل یا نیاز به ساخت غذاها و نوشیدنی ها بدون اضـــافه کـــردن کالری اضافی، آسپارتام را محبوب می سازد(۳). آسپارتام، دی پپتیدی حاصل از ترکیب دو اسیدآمینه اسیـــدآسپارتیک و فنیل آلانین، با فرمول شیمیایی L-آسپارتیل-L-فنیل-آلانین متیل استر می باشد که در مقادیر یکسان با ساکاروز، میزان کالری مشابهی(۴ کیلوکالری بر گرم) را تولید می کنند، با این حال، شدت شیرین کنندگی آن ۱۶۰ تا ۱۸۰ برابر ساکارز می باشد(۳). میزان مصرف توصیه شده آسپارتام ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم در اروپا و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در آمریکا می باشد هر چند مشاهدات اخیر نشان داده است که آسپارتام به آرامی راه خود را به محصولات روزانه، مخصوصاً برای افرادی دیابتی یا دارای رژیم غذایی باز کرده است. بنا بر این این طیف از افراد و به طور ضمنی و ناخودآگاه سایر افراد جامعه نیز از محصولات و مواد غذایی که حاوی آسپارتام هستند، استفاده می کنند و این چنین به راحتی از مرز میـــزان مـــصرف توصیه شده آسپارتام عبور می کنند(۴). در مطالعاتی که بر روی مصرف خـــوراکی آسپارتام و در پی آن جذب روده ای و متابولیسم آسپارتام در پستانداران صورت گرفته است، نشان داده شده که این ماده در داخل دستگاه معده ای-روده ای توسط استرازها و پپتیدازها به تقریباً ۵۰ درصد فنیل آلانین، ۴۰ درصد اسید آسپارتیک و ۱۰ درصد متانول هیدرولیز می گردد(۵،۴).

گزارش شده است که نه تنها متانول که برای اکثر بافت های بدن مخرب می باشد بلکه متابولیت های حاصل از آن یعنی فرم آلدئید و اسیدفرمیک که نتیجه متابولیسم اصلی متانول با وارد شدن به گردش سیاهـــرگی باب و سپس اکسیده شدن متانول در کبد می باشند موجب سمیت در اکثر سلول و بافت های بدن می گردند(۶،۵). مقدار نسبتاً کمی آسپارتام به طور قابل توجهی می تواند باعث افزایش سطح متانول در خون شود(۷). متابولیـــسم متانول به فرم آلدئید و اسیدفرمیک با تشکیل آنیون ســـوپراکسید و پراکسید هیدروژن همراه است(۷).

افزایش تولید رادیکال های آزاد یا کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول ها سبب عدم تعادل در وضعیت بازسازی سلـــول می شـــود که خـــود منجر به پراکسیدلسیون لیپیدی غـــشای پلاسمایی، القای شکستگی در DNA و غیر فعال شدن پروتئـــین ها می شود(۸). قرار گرفتن در معرض متانول به عنوان یک محصول جانبی آسپارتام، باعث آسیب به غشای میتوکندریایی شده و منجر به بیش تولید گونه های فعال اکسیژن(ROS) و ایجاد استرس اکســـیداتیو می گردد(۸).

یافته های قبلی ثابت کرده است که آسپارتام سبب ایجاد سمیت در بافت های مختلف می شود(۹،۸). به تازگی، بسیاری از مطالعات تجربی تایید کرده اند که آسپارتام حتی بسیار کمتر از میزان مصرف توصیه شده روزانه یک ماده بالقوه سرطان زا می باشد و باعث افزایش خطر ابتلا به لنفوم، لوسمی، تومورهای دستگاه تناسلی و ادراری، تومورهای دستگاه عصبی مرکزی و آسیب به ساختار عصب سیاتیک می گردد(۹،۵،۸). علاوه بر این، مطالعات گسترده‌ای ارتباط بین مصرف آسپارتام و خطر ابتلا به دیابت نوع ۲، زایمـان زودرس،

سمیت کلیوی، آسیب به قشر مغز و مخچه، سمیت کبدی و ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در غدد بزاقی پاروتید را به اثبات رسانده است(۵،۸،۹).

از آن جایی که سایر شیرین کننده های مصنوعی همانند ساخارین و سیکلامات توانسته اند با افزایش رادیکال های آزاد موجب تغییراتی در دستگاه تناسلی شوند، پیش بینی می شود آسپارتام نیز بتواند موجب تغییرات اسپرمی، هورمونی و اکسیدانی در دستگاه تناسلی نر شود. لذا هدف از این مطالعه، بررسی اثرات آسپارتام برروی پارامترهای کیفیت اسپرم، تغییرات هورمون تستوسترون و هم چنین پارامترهای اکسیدانی مانند ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و میزان مالون دی آلدئید در موش های سوری تیمار شده طی یک دوره ۹۰ روزه بود.

مواد و روش ها

برای انجام این پژوهش که به صورت یک کارآزمایی تجربی تصادفی شده شاهددار طرح ریزی شده بود، ۳۶ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ از نژاد NMRI با وزن ۲۵-۲۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای ۲±۲۵ سانتی گراد و رطوبت نسبی ۱۰±۵۰ درصد در قفس های پلی اتیلنی مخصوص نگهداری موش با دسترسی آزاد به آب آشامیدنی نگهداری شدند. تمامی حیوانات به صورت برابر از پیلت های مخصوص موش تغذیه می کردند. کلیه ضوابط و شرایط نگهداری و انجام آزمایش ها روی حیوانات در این مطالعه طبق دستورالعمل های مصوب کمیته اخلاق دانشکده دام پزشکی دانشگاه تهران با کد اخلاق ۷۵۰۶۰۲۵/۶/۲۴ صورت پذیرفت.

قبل از شروع دوره تیمار، به منظور سازگاری با شرایط جدید محیط، حیوانات به مدت دو هفته نگهداری شدند و بعد از نشاندار کردن، موش های نر به طور تصادفی به ۴ گروه ۹ تایی به ترتیب زیر تقسیم شدند و به مدت ۹۰ روز متوالی آسپارتام(Sigma Aldrich, Cas No: 22839-47-0) را به صورت خوراکی از طریق گاواژ دریافت کردند:

۱-گروه اول کنترل(Control): حیوانات این گروه به مقدار ۰/۳ میلی لیتر سرم فیزیولوژی از طریق گاواژ دریافت کردند.

۲-گروه دوم آسپارتام ۴۰ یا دوز پایین آسپارتام (Low Dose Aspartam=LD ASP): این گروه آسپارتام را به میزان ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی از طریق گاواژ دریافت کردند(۱۰).

۳-گروه سوم آسپارتام ۸۰ یا دوز متوسط آسپارتام (Medium Dose Aspartam= MD ASP): این گروه آسپارتام را به میزان ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی از طریق گاواژ دریافت نمودند.

۴-گروه چهارم آسپارتام ۱۶۰ یا دوز بالا آسپارتام (High Dose Aspartam= HD ASP): حیوانات این گروه آسپارتام را به میزان ۱۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی از طریق گاواژ دریافت کردند.

یک روز پس از پایان دوره تیمار ۹۰ روزه، کلیه حیوانات موجود در چهار گروه ذکر شده با مخلوط کتامین و زایلازین بی هوش شدند. سپس نمونه های خون با وارد کردن سرنگ های استریل از خلف زایده مانوبریوم جناغ و از قسمت بطن راست قلب جمع آوری و در انتها حیوانات توسط گاز CO2 آسان کشی شدند. سپس نمونه های خونی با میانگین ۰/۵ سی سی از هر موش، در میکروتیوب های ۲ سی سی ریخته شده و پس از لخته شدن خون، جهت استحصال سرم، نمونه ها در ۳۰۰۰ دور به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند. نمونه های سرم جدا شده تا زمان انجام آزمایش های سرمی در دمای ۲۰- نگهداری شدند. سرم ها تا زمان سنجش هورمونی به دمای ۲۰- درجه سانتی گراد انتقال یافتند. برای سنجش تستوسترون، روش الایزا و رادیوایمنومتری با استفاده از کیت اختصاصی(Diaplus Inc. USA) مورد ارزیابی قرار گرفته و گروه ها با هم مقایسه شدند.

به منظور ارزیابی پارامترهای کیفیت اسپرم، به دنبال کالبدگشایی، ابتدا اپی دیدیم زیر لوپ با

بزرگ نمایی ۲۰ برابر از بافت بیضه جدا شـــده و بافت های اطراف آن تمیز گردید. سپس دم اپیدیدیم درون پتری دیش های حاوی یک میلی لیتر محیط کشت HTF که امروزه به عنوان محیط کشت مناسب برای اسپرم‌ها در نظر گرفته شده است، قرارگرفت. برای جلوگیری از ایجاد شوک حرارتی و آسیب به اسپرم ها، تمام وسایل مورد استفاده و محیط کشت قبل از مصرف در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شدند. سپس دم اپیدیدم در داخل محیط کشت به قطعات کوچک تقسیم شده و به مدت ۲۰ دقیقه در درون محیط کشت در انکوباتور باقی ماند تا امکان خروج اسپرم ها از اپیدیدیم فراهم آید. در نهایت سوسپانسیون حاوی اسپرم با استفاده از محیط کشت به نسبت ۱به ۲۰ رقیق گردید(۱۱). جهت ارزیابی میزان تحرک اسپرم ها، یک قطره از محلول رقیق شده فوق بر روی لام میکروسکوپی قرار داده شد و ۱۰ عدد میدان دید میکروسکوپی با درشت نمایی ۴۰۰ برابر مورد بررسی قرار گرفت. سپس میانگین کل اسپرم های متحرک در این ۱۰ میدان دید به عنوان درصد تحرک ثبت گردید(۱۱). به منظور ارزیابی تعداد اسپرم ها از هموسیتومتر استفاده شد. ۱۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده اسپرم بر روی هموسیتومتر قرار گرفته و به مدت ۵ دقیقه بدون حرکت گذاشته شد تا تحرک اسپرم ها کاهش یابد. تعداد اسپرم ها در هر میلی لیتر با استفاده از فرمول n×۵۰۰۰۰×d و توسط میکروسکوپ نوری با درشت نمایی ۴۰۰ برابر محاسبه گردید که n، تعداد اسپرم های شمارش شده در پنج مربع هموسیتومتر، d عکس رقت سوسپانسیون حاوی اسپرم می باشد(۱۱). هم چنین برای ارزیابی درصد اسپرم های زنده و نیز اسپرم های غیرطبیعی از لحاظ مورفولوژی رنگ آمیزی ائوزین-نگروزین مورد استفاده قرار گرفت. مبنای تشخیص اسپرم های زنـــده از اسپرم های مرده در این روش رنگ آمیزی بر این اصل استوار است که در اثر آسیب به غشاء پلاسمـــایی، اسپرم ها در برابر رنگ مذکور نفوذ پذیر می گردند. بنا بر این آن دسته از اسپرم هایی که هر یک از قطعات سر، گردن و یا دم آن ها رنگ گرفته بود به عنوان اسپرم های مرده در نظر گرفته شدند. در همین راستا اسپرم هایی که دارای بقایای سیتوپلاسمی و نیز سایر اختلالات مورفولوژیک بودند، به عنوان اسپرم های غیرطبیعی در نظر گرفته می شدند. تعداد ۲۰۰ اسپرم برای هر نمونه با درشت نمایی ۴۰۰ برابر مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل در قالب درصد بیان شدند(۱۱). برای ارزیابی هر گونه شکستگی در دو رشته DNA مربوط به اسپرم موش ها، رنگ آمیزی آکریدین اورنج(Acridine Orange) انجام گرفت. در صورتی که DNA اسپرم دچار شکستگی شده باشد متعاقب رنگ آمیزی، DNA در طیفی از رنگ زرد تا قرمز فلوئورسنت بستگی به میزان آسیب، نمایان می شود. DNA سالم به رنگ سبز دیده می شود. در این روش پس از سه بار شستشوی نمونه اسپرم با بافر(PBS) Phosphate buffer solution و حذف مایع رویی، رسوب حاصل به کمک بافر PBS به غلظت نهایی رسانده شد. اسمیرهای مورد نظر از محیط کشت حاوی اسپرم تهیه شد و پس از خشک شدن آن در محیط آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه در داخل ظرف حاوی استون- اتانول به نسبت یک به یک قرار گرفت. پس از خشک شدن لام ها در مجاورت هوا، لام های فوق به مدت هفت دقیقه در ظرف حاوی محلول رنگ آکریدین اورنج قرار گرفت و پس از خشک شدن نهایی توسط میکرروسکوپ فلوئورسنت و عدسی×100 با فیلتر ۴۶۰ نانومتر بررسی شد و نتایج حاصل به صورت درصد بیان گردید(۱۱). برای ارزیابی بلوغ هسته اسپرم از رنگ آمیزی آنیلین بلو(Aniline Blue) استفاده شد. اساس این آنالیز بر این نکته استوار است که در طی مرحله اسپرمیوژنز، پروتامین بجای هیستون در کروماتین هسته قرار می گیرد که این جایگزینی در تراکم و پایداری اسپرم بسیار با اهمـــیت اســـت. در این رنگ آمیزی، اسپرم های نابالغ به دلیل هیستون زیاد به رنگ آبی درآمده و اسپرم های بالغ از رنگ پذیری کمتری برخوردار هستند. همانند روش اشاره شده در بالا، پس از تثبیت لام ها در محلول استون-اتانول و خشک شدن لام ها در مجاورت هوا، لام ها به مدت هفت دقیقه در محلول حاوی رنگ آنیلین بلو قرار گرفته و پس از خشـــک شـــدن در مجـــاورت هوا با میکروسکوپ نوری و درشت نمایی(×۱۰۰) بررسی شدند(۱۱).

سپس نمونه های سرمی جهت تعیین ظـــرفیت آنتی اکسیدانت تام سرم(TAC)، با استفاده از روش FRAP (Ferric reducing ability of plasma) مورد اندازه گیری قرار گرفت. در این روش در pH اسیدی ایجاد شده توسط بافر استات، رنـــگ آبی تولید شده به واسطه احیای یون های فریک(Fe^{+3}) کمپلکس Fe^{+3}-TPTZ و تبدیل آن ها به یون های فرو(Fe^{+2})، در طول موج ۵۹۳ نانومتر و به صورت اسپکتروفتومتریک مورد سنجش قرار می گیرد(۲۸). به منظور تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی، سطح تولید مالون دی آلدئید(MDA) به عنوان شاخص ارزیابی این فرآیند در نمونه های سرمی بر اساس واکنش با اسید تیوباربیتوریک و تولید محصولی رنگی با حداکثر جذب نوری در ۵۳۲ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت و بر اساس منحنی کالیبراسیون استاندارد MDA محاسبه و به صورت نانومول در هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد(۱۲).

با توجه به کمی و پیـــوسته بودن داده ها، تعداد گروه های مستقل مورد ارزیابی و نیز متعاقب اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون کلموگروف–اسمیرنوف، ارزیابی آماری داده های این مطالعه با استفاده از بسته نرم افزاری SPSS نسخه ۱۹ انجام پذیرفت و تمامی نتایج بر اساس میانگین±انحراف معیار بیان شدند. جهت مقایسه بین گروه ها آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تســـت های مقایسه ای چندگانه توکی مورد استفاده قرار گرفت. مقدار $P<0.05$ برای تعیـــین سطح معنی داری بین گروه ها در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

بررسی تعداد اسپرم: نتایـــج حاصل از شمارش اسپرم ها و مقایسه آن ها بین گروه های مختلف آزمایشی و گروه کنترل نشان داد که دریافت آسپارتام در گروه های دوز متوسط و دوز بالای آسپارتام موجب کاهش معنی دار($P<0.001$) در تعداد اسپرم ها با گروه کنترل گردید. هم چنین در گروه دوز پایین آسپارتام تعداد اسپرم ها نسبت به گروه کنترل کـــاهـــش معنی داری($P<0.01$) داشت(نمودار شماره ۱).

ارزیابی تحرک اسپرم: نتایج حاصل از مطالعه تحرک اسپرم نشان داد که تحرک اسپرم در گروه های دوز متوسط و دوز بالای آسپارتام به صورت معنی داری ($P<0.001$) نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده بود، این در حالی بود که گروه دوز پایین آسپارتام فاقد اختلاف معنی دار($P<0.05$) با گروه کنترل بود(نمودار شماره ۱).

بررسی میزان اسپرم های غیرطبیعی: در میانگین میزان اسپرم های غیرطبیعی در گروه های دوز متوسط آسپارتام و دوز بالای آسپارتام نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری($P<0.001$) مشاهده گردید. هم چنین گروه دوز پایین آسپارتام نیز نسبت به گروه کنترل فاقـــد افزایش معنی دار($P<0.05$) در میزان اسپرم های غیرطبیعی بود(نمودار شماره ۱).

قابلیت زنده مانی اسپرم: نتایج حاصل از بررسی درصد اسپرم های زنده بیانگر این است که میانگین درصد اسپرم زنده در گروه های دوز متوسط و دوز بالای آسپارتام به صورت معنی داری($P<0.001$) نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده بود. گروه دوز پایین آسپارتام فاقد اختلاف معنی دار($P<0.05$) با گروه کنترل بود(نمودار شماره ۲، شکل شماره ۱ قسمت A).

ارزیابی اسپرم های بالغ: ارزیابی میانگین تعداد اسپرم های با هسته بالغ نشان داد که اسپرماتوزوئیدها در گروه های دوز متوسط و دوز بالای آسپارتام به صورت معنی داری($P<0.001$) نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده بودند. تعداد اسپرم ها با هسته بالغ در گروه دوز پایین آسپارتام نیز فاقد اختلاف معنی دار ($P<0.05$) با گروه کنترل بود(نمودار شماره ۲، شکل شماره ۱ قسمت B).

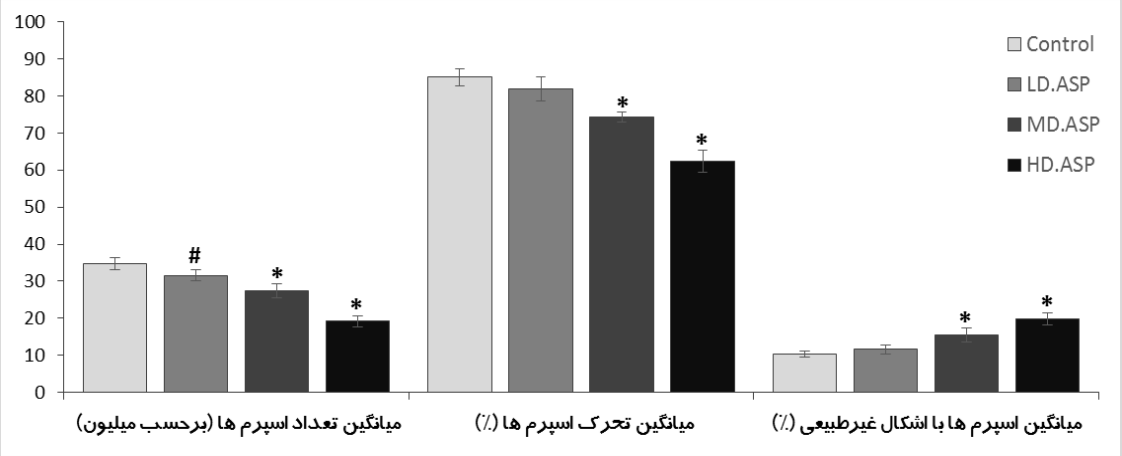
ارزیابی آسیب DNA اسپرم: بررسی های حاصل از رنگ آمیزی آکریدین اورنج نـــشان دادند که درصد اسپرم هایی که DNA دو رشته ای ناپیوسته(آسیب دیده) داشتند در گروه های دوز متوسط آسپارتام و دوز بالای آسپارتام نسبت به گـــروه کـــنترل به طور قابل توجهی افزایش یافته و با این گروه دارای اختلاف معنی دار($P<0.001$) بودند. آسیب DNA اسپرم در گروه دوز پایین آسپارتام نیز نسبت به گـــــروه کنترل

افزایش معنی دار نداشته و فاقد اختلاف معنی دار (P<0.05) با گروه کنترل بود(نمودار شماره ۲، شکل شماره ۱ قسمت C).

ارزیابی حاصل از سنجش هورمون تستوسترون: بررسی میزان هورمون تستوسترون در گروه های مختلف نشان داد که میزان این هورمون در گروه دوز بالای آسپارتام با گروه کنترل دارای کاهش معنی دار (P<0.001) بوده و گروه های دوز پایین و دوز متوسط آسپارتام نیز کاهش معنی داری(P<0.05) در سطح هورمون تستوسترون با گروه کنترل نداشتند(جدول شماره ۱).

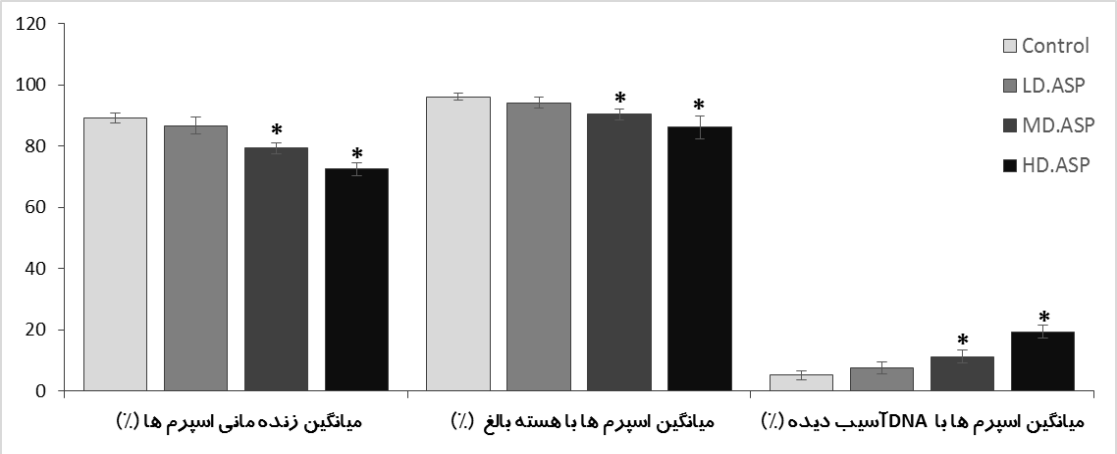
سنجش میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم TAC: سنجش میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم در گروه های مختلف نشان داد که سطح ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم در گروه دوز بالای آسپارتام با گروه کنترل دارای کاهش معنی دار(P<0.001) بود. در گروه دوز متوسط آسپارتام سطح ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری(P<0.01) داشت. ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم در گروه دوز پایین آسپارتام نسبت به گروه کنترل فاقد اختلاف معنی دار(P<0.05) بود(جدول شماره ۱).

سنجش میزان مالون دی آلدئید MDA: بررسی میزان پراکسیداسیون چربی ها در حیوانات نشان داد که تجویز آسپارتام در گروه های دوز متوسط آسپارتام و دوز بالای آسپارتام باعث افزایش معنی داری(P<0.001) با گروه کنترل گشته و گروه دوز پایین آسپارتام فاقد افزایش معنی داری(P<0.05) در سطح مالون دی آلدئید خود در مقایسه با گروه کنترل بود(جدول شماره ۱).



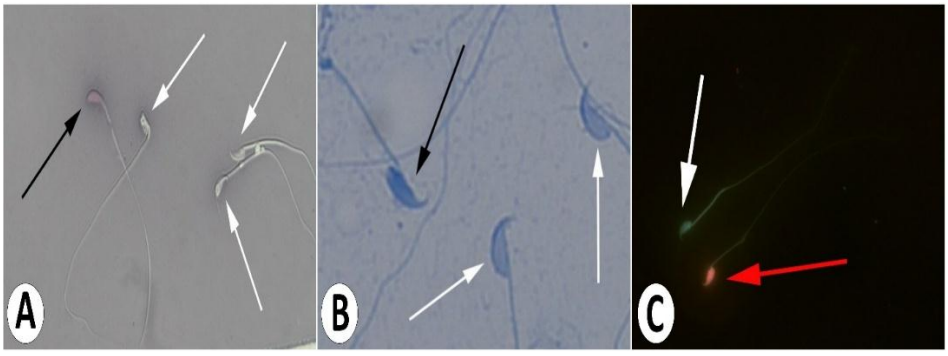
نمودار شماره ۱. مقایسه میانگین تعداد اسپرم ها، میانگین درصد تحرک اسپرم ها و میانگین درصد اسپرم ها با اشکال غیرطبیعی در گروه های مختلف آزمایشی

Control: کنترل، LD.ASP: آسپارتام را به میزان ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، MD.ASP: آسپارتام را به میزان ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، HD.ASP: آسپارتام را به میزان ۱۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن. داده ها بر اساس میانگین±انحراف معیار بیان شده اند. * نشان دهنده اختلاف معنی دار P<0.001 در مقایسه با گروه کنترل. # نشان دهنده اختلاف معنی دار P<0.01 در مقایسه با گروه کنترل.



نمودار شماره ۲. مقایسه میانگین قابلیت زنده مانی اسپرم ها(درصد اسپرم های زنده)، میانگین درصد اسپرم ها با هسته بالغ و میانگین درصد اسپرم ها با DNA آسیب دیده در گروه های مختلف آزمایشی

Control: کنترل، LD.ASP: آسپارتام را به میزان ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، MD.ASP: آسپارتام را به میزان ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، HD.ASP: آسپارتام را به میزان ۱۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن. دوز بالا آسپارتام. داده ها بر اساس میانگین±انحراف معیار بیان شده اند. * نشان دهنده اختلاف معنی دار P<0.001 در مقایسه با گروه کنترل.



شکل شماره ۱. قسمت(A): نمای ریزبینی اسپرم در رنگ آمیزی ائوزین-نگروزین، اسپرم های زنده با سر رنگ نگرفته(فلش های سفید رنگ) و اسپرم های مرده با سری رنگ شده(فلش سیاه رنگ) قابل رویت می باشند. قسمت(B): نمای ریزبینی اسپـــــرم در رنگ آمیزی آنلین بلو، اسپرم های با هسته بالغ با سری به رنگ آبی کم رنگ(فلش های سفید رنگ) و اسپرم های با هسته نابالغ با سری به رنگ آبی پررنگ(فلش سیاه رنگ). قسمت(C): نمای ریزبینی اسپرم در رنگ آمیزی آکریدین اورنج، اسپرم های با DNA سالم با سر سبز رنگ(فلش سفید رنگ) و اسپرم های با آسیب DNA با سر قرمز رنگ(فلش قرمز رنگ).

جدول شماره ۱. نتایج میانگین آزمایشات بیوشیمیایی تستوسترون، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم و مالون دی آلدئید در گروه های مختلف آزمایشی

گروه ها	تستوسترون(ng/ml)	TAC(nmol/mg)	MDA(nmol/mg)
Control	۶/۸۸±۰/۳۲	۰/۹۲۷±۰/۱۰۵	۱/۲۷±۰/۲۲
LD.ASP	۶/۴۴±۰/۳۰	۰/۸۸۱±۰/۰۴۸	۱/۵۶±۰/۳۰
	P=۰/۳۴۸	P=۰/۶۹۸	P=۰/۵۵۵
MD.ASP	۵/۲۲±۰/۵۳	۰/۷۵۴±۰/۰۶۷#	۲/۳۸±۰/۳۴#
	P=۰/۰۸۴	P=۰/۰۳۳	P=۰/۰۰۱
HD.ASP	۵/۱۰±۰/۵۷*	۰/۶۰۱±۰/۰۵۶*	۴/۱۳±۰/۲۲#
	P=۰/۰۰۱	P=۰/۰۰۱	P=۰/۰۰۱

ng/ml: نانوگرم بر میلی‌لیتر، nmol/mg: نانو مول بر میلی گرم، Control: کنترل، LD.ASP: آسپارتام را به میزان ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، MD.ASP: آسپارتام را به میزان ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، HD.ASP: آسپارتام را به میـــــزان ۱۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن. داده ها بر اساس میانگین±انحراف معیار بیان شده اند. * نشان دهنده اختلاف معنی دار P<0.001 در مقایسه با گروه کنترل. # نشان دهنده اختلاف معنی دار P<0.01 در مقایسه با گروه کنترل.

بحث و نتیجه‌گیری

طبق نتایج این مطالعه آسپارتام سبب آسیب به پارامترهای کیفیت اسپرم در گروه های دوز متوسط و بالای آسپارتام می گردد به صورتی که باعث کاهش معنی دار در میـــزان تعـداد اسپرم، تحرک اسپرم، زنده مانی اسپرم و بلوغ اسپرم شده و نیز افـزایش معنی داری در اسپرم های غیر طبیعی و اسپرم های دارای DNA آسیب دیده می گردد. هم چنین مصرف آسپارتام در دوزهای متوسط و بالا موجب کاهش میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم و تستوسترون شده و افزایش میزان میزان مالون دی آلدئید را به دنبال خواهد داشت. در مورد دوز پایین آسپارتام به غیر از پارامتر تعداد اسپرم و میزان تستوسترون این گروه فاقد اختلاف معنی دار با گروه کنترل بود. در طی دهه های اخیر، نگرانی جوامع بشری در مورد افزایش ناباوری انسان که ریشه در ترکیبات سمی دارند رو به افزایش می باشد که در همین راستا افزودنی های مواد غذایی و تغذیه عامل مهم و تاثیرگذار در ورود این ترکیبات سمی به بدن و تاثیر آن بر روی توان باروری جنس نر می باشد(۱). می توان بیان نمود که نتایج فوق الذکر در مورد تاثیرات مصرف آسپـــارتام بر روی اکثریت پارامترهای کیفیت اسپرم و شـــاخص های استرس اکسیداتیو در این مطالعه که برای اولین بار بر روی موش و با هر سه دوز ذکر شده انجام شده است و تحقیق مشابهی با موارد یاد شده در موش وجود ندارد، می تواند پیامد متابولیت های حاصل از هیدرولیز آسپارتام طی فرآیند گوارش و جذب این متابولیت ها در بدن باشد(۵،۴). این مطالعات نشان داده اند که سمیت ناشی از مصرف خوراکـــی آسپارتام بیـــشتر به متابولیت های حاصل از گوارش و جذب روده ای این ماده مرتبط می باشد که طی متابولیسم آسپارتام در داخل دستگاه معده ای–روده ای توسط استرازها و پپتیدازها به تقریباً این ماده به فنیل آلانین، اسید آسپارتیک و متانول هیدرولیز می گردد(۵،۴). این گونه بیان شده است که نه تنها مـــتانول که برای اکثر بافت های بدن مخرب می باشد بلکه دیـــگر متابولیت های حاصل از متانول یعنی فرم آلدئید و اسیدفرمیک نیز موجب سمیت در اکـــثر سلول و بافت های بدن می گردند(۶،۵). متانول در داخل آنتروسیت ها متابولیزه نمی شود و خیلی سریع با ورود به گردش خون سیاهرگی باب وارد کبد شده و توسط آنزیم الکل دهیدروژناز به فرمآلدئید اکسید می شود که این ماده موجب سمیت در اکثر سلول و بافت های بدن می گردند(۶،۵). مطالـــعات فراوانی اثرات مخرب فرمآلدئید و اسید فرمیک حاصل از آن را بر روی سیستم تولیدمثلی نر به اثبات رسانده است(۱۳). گزارشات حاکی از آن است که مقدار کمی آسپارتام به طور قابل توجهی قادر است باعث افزایش سطح متانول در خون شود که گفته می شود متابولیسم متانول به فرمآلدئید و اسیدفرمیک، با تشکیل آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن همراه است(۷). فنیل‌آلانین و اسید آسپارتیک متابولیت های دیگری از متابولیسم آسپارتام هستند که در مورد اثرات آن ها اطلاعات چندانی در دسترس نیست هر چند گزارشات بیان نموده اند که فنیل آلانین موجب تخریب و مختل کردن فرآیند تنظیم نوروترانسمیترها در سیـــستم عصبی مرکزی می شود(۵). هم چنین بیان گردیده است که اسید آسپارتیک در غلظت های بالا در نقش یک ماده سمی عمل می نماید که موجب بالا رفتن تحریک بیش از اندازه نورون ها می گردد و نیز اسید آسپارتیک به عنوان پیش ساز اسیدآمینه گلوتامات می باشد که تحریک کننده سیستم عصبی بوده و در نهایت منجر به تحلیل و آپوپتوز آستروسیـــت ها و نـــورون ها می شود(۱۴). بیشتر گزارشات حاکی از آن است که بیشترین و مخرب ترین اثرات سمی آسپارتام احتمالاً مربوط به متانول و متعاقباً فرم آلدئید حاصل از متابولیسم آن می باشد که بیان شده است که آسپارتام و متابولیت های آن به طور بالقوه طیف گسترده ای از فرآیندهای بدن از جمله متابولیسم اسیدهای آمینه، ساختار و متابولیسم پروتئین ها، یکپارچگی ساختاری اسیدهای نوکلئیک، عملکرد سیستم های عصبی و نورون ها و تعادلات اندوکرینی را مختل می نمایند(۵). به وضوح مشخص شده است که دریافت آسپارتام و به دنبال آن افزایش سطح متانول و ایجاد فرم آلدئید و اسیدفرمیک، با تشکیل آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن باعث آسیب به غشای میتوکندریایی می شود،

که منجر به بیش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) شده و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می گردد(۱۵،۱۰). شواهد حاکی از آن است که استرس اکسیداتیو می تواند اختلالات اسپرمی را از طریق مکانیسم های مختلفی از قبیل پراکسیدلسیون لیپیدی غشای پلاسمایی اسپرم، اختلال در تحرک و مورفولوژی اسپرم و القای شکستگی در DNA اسپرم ایجاد نماید(۱۶،۱۰). هم چنین، مطالعات نشان می دهد که آسیب DNA اسپرم ناشی از استرس اکسیداتیو، باعث افزایش روند آپوپتوز سلول های جنسی نابالغ می شود که منجر به کاهش غلظت اسپرم می گردد(۱۷). در همین راستا، مطالعات ما نیز نشان داد که استفاده از آسپارتام باعث افزایش آسیب DNA اسپرم توسط مکانسیم های دخیل در استرس اکسیداتیو در دوزهای متوسط و بالای آسپارتام می شود. هم چنین نشان داده شده است که فرم آلدئید سبب افزایش آسیب به DNA اسپرم می گردد که با نتایج حاصل از دوزهای متوسط و بالای آسپارتام در این مطالعه هماهنگی دارد(۱۸).

پیشتر نشان داده شده است که استفاده از آسپارتام به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن سبب افزایش اسپرم های غیرطبیعی می شود که در مطالعه حاضر نیز مشخص گردید که دریافت آسپارتام در دوزهای متوسط و بالای سبب افزایش اسپرم های غیرطبیعی می شود(۱۹). در مطالعه دیگری اثبات گردیده است که دریافت آسپارتام باعث افزایش اسپرم های غیرطبیعی شده است که دارای هم خوانی با نتایج حاصل از در دوزهای متوسط و بالای آسپارتام بوده ولی با دوز پایین دریافت آسپارتام هم خوانی ندارد(۱۵). هم چنین در مطالعه دیگری اثبات گردیده است که دریافت آسپارتام به میزان ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن که در واقع مشابه با گروه دوز پایین این مطالعه می باشد باعث افزایش اسپرم های غیرطبیعی در رت گردیده است که با دوز پایین مطالعه حاضر مطابقت ندارد(۱۰).

مطالعات پیشین نشان داده است که آسپارتام باعث کاهش میزان زنده مانی و تحرک اسپرم در رت گردیده است که با نتایج این تحقیق در مورد کاهش میزان زنده مانی و تحرک اسپرم در دوزهای متوسط و بالای آسپارتام هم سو می باشد ولی با دوز پایین این تحقیق مطابقت ندارد(۱۵). هم چنین در مطالعه دیگری نیز آسپارتام به میزان ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش میزان زنده مانی و تحرک اسپرم گردیده بود که با نتایج حاصل از دوز پایین آسپارتام در تحقیق حاضر همسو نمی باشد(۱۰). در مطالعه حاضر، دریافت آسپارتام باعث کاهش تعداد اسپرم در هر سه گروه دریافت کننده آسپارتام گردیده است که با نتایج مطالعات پیشین در مورد تاثیر آسپارتام در کاهش دادن تعداد اسپرم در رت های دریافت کننده این دارو کاملاً مطابقت دارد(۱۵،۱۰). در مورد بلوغ اسپرم اثبات گردیده است که اکسیدانتی باعث کاهش بلوغ اسپرم در موش گردیده است که این مطالعات با نتایج حاصل از مطالعه کنونی هم راستا می باشد(۱۶). مطالعات پیشین اثبات نموده اند که قرار گرفتن در معرض آسپارتام و متابولیت های حاصل از آن باعث کاهش میزان تستوسترون می شود(۲۱،۲۰). تستوسترون به عنوان مهم ترین هورمون آندروژن، در تکامل و تکثیر سلول های زایا و تمایز اسپرماتیدهای گرد به اسپرماتیدهای کشیده نقش اساسی ایفا می کند و هم چنین عملکرد جنسی را حمایت می کند(۲۲). در واقع سلامت سلول های زایا و توانایی آن ها برای انجام تقسیمات میتوزی در لوله های منی ساز، به ترشح هورمون تستوسترون توسط سلول های لیدیگ وابسته می باشد(۲۳). بنا بر این اختلال در بیوسنتز تستوسترون در سلول های لیدیگ می تواند اثرات مضر روی باروری جنس نر داشته باشد(۲۴) مکانیسم عمل آسپارتام هم چنین ممکن است به دلیل اثر آن روی سلول های لیدیگ باشد که منجر به کاهش سطح تستوسترون می شود(۲۱،۲۰). با دژنراسیون و آتروفی سلول های لیدیگ تحت تاثیر فرم آلدئید حاصل از آسپارتام، میزان سنتز و ترشح تستوسترون کاهش می یابد(۱۸) که با یافته های حاصل از این مطالعه که کاهش معنی دار سطح سرمی تستوسترون در گروه دوز بالای آسپارتام را نشان می دهد، کاملاً مطابقت دارد. در این مطالعه آسپارتام میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم را کاهش و میزان مالون دی آلدئید را در

گروه های دوز متوسط و دوز بالا افزایش داده بود. همان طور که قبلا نیز بیان شد دریافت آسپارتام و به دنبال آن افزایش سطح متانول و ایجاد فرم آلدئید موجب شکل گیری آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می شود که این گونه های فعال اکسیژن باعث آسیب به غشای میتوکندریایی می شود و با ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی موجبات آسیب غشاء های سلولی را فراهم می آورند(۱۰). گزارشات پیشین کاهش میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم و افزایش میزان مالون دی آلدئید را در موش های دریافت کننده آسپارتام به میزان ۲۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن را نشان داده است(۲۵،۱۸) که با نتایج حاصل از گروه های دوز متوسط و بالای آسپارتام در این مطالعه هم سو می باشد ولی با گروه دوز پایین هم سو نمی باشد. هم چنین دریافت آسپارتام به میزان ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۹۰ روز در موش صحرایی باعث افزایش میزان مالون دی آلدئید شده بود که با نتایج حاصل از گروه دوز پایین مطالعه حاضر هم سو نمی باشد(۲۶،۱۰).

با جمع بندی یافته های مطالعه حاضر چنین بر می آید که آسپارتام به واسطه افزایش تولید رادیکال های آزاد، پی ریزی تنش های اکسیداتیو و نیز تضعیف دستگاه دفاع آنتی اکسیدانی بدن، موجبات اختلالات مربوط به پارامترهای سرمی و کیفیت اسپرم را در موش های گروه دوز متوسط و دوز بالا را فراهم می آورد. در حالی که نتایج گروه دوز پایین آسپارتام تفاوت قابل توجهی با نتایج گروه کنترل نداشته و آسیب های مشاهده شده در دو گروه مذکور دیگر را از خود نشان نداد. با این وجود، تایید مضررات و سمی بودن آسپارتام در دستگاه تولیدمثلی نر، نیازمند طرح ریزی مطالعات تجربی گسترده تر و نیز کارآزمایی های بالینی می باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله بر خود لازم می دانند مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران به سبب حمایت هایشان از این مطالعه و آقایان کیوان سهرابی فرد و علی شمسی کارشناسان بخش بافت شناسی و جنین شناسی دانشکده دام پزشکی دانشگاه تهران اعلام دارند. هم چنین در راستای انجام این مطالعه، کلیه ضوابط و شرایط نگهداری و انجام آزمایش ها روی حیوانات مطابق دستورالعمل های مصوب کمیته اخلاق دانشکده دام پزشکی دانشگاه تهران با کد اخلاق ۷۵۰۶۰۲۵/۶/۲۴ صورت پذیرفت.

References

1. Yuetwan K, Chung WY, Benzie IF, Woo J. Colour additives in snack foods consumed by primary school children in Hong Kong. Food Add Cont Surve 2010; 3:148-55. doi:10.1080/19393210.2010.509815

2. Whitehouse CR, BoullWata J, McCauley LA. The potential toxicity of artificial sweeteners. Aaohn J 2008; 56:251-9.

3. Morovvati H, Anbara H, Sheibani M, Koohi M, Hasanzadeh A. [The effect of long term exposure to aspartame on histomorphometric and histochemical adrenal gland in adult NMRI Mice]. Armaghane Danesh 2019; 24:150-69. (Persian)

4. Humphries P, Pretorius E, Naude H. Direct and indirect cellular effects of aspartame on the brain. Eur J Clin Nutr 2008; 62:451-62. doi:10.1038/sj.ejcn.1602866

5. Soffritti M, Belpoggi F, Padovani M, Lauriola M, Degli Esposti D, Minardi F. Life time carcinogenicity bioassay of toluene given by stomach tube to Sprague Dawley Rats. Eur J Oncol 2004; 9:91-102.

6. Oyama Y, Sakai H, Arata T, Okano Y, Akaike N, Sakai K, et al. Cytotoxic effects of methanol, formaldehyde, and formate on dissociated rat thymocytes a possibility of aspartame toxicity. Cell Biol Toxicol 2002; 18:43-50.

7. Ashok I, Sheeladevi R. Biochemical responses and mitochondrial mediated activetion of apoptosis on long-term effect of aspartame in Rat brain. Red Biol 2014; 2:820-31. doi:10.1016/j.redox.2014.04.011

8. Ashok I, Sheeladevi R, Wankhar D. Long term effect of aspartame artificial sweetener on membrane homeostatic imbalance and histopathology in the Rat brain. Free Rad Ant 2013; 3:42-9. doi:10.1016/-j.fra.2013.09.003

9. Okasha EF. Effect of long term administration of aspartame on the ultrastructure of sciatic nerve. J Mic Ultra 2016; 4:175-83. doi:10.1016/j.jmau.2016.02.001
10. Ashok I, Poornima PS, Wankhar D, Ravindran R, Sheeladevi R. Oxidative stress evoked damages on rat sperm and attenuated antioxidant status on consumption of aspartame. Int J Imp Res 2017; 29:164-70. doi:10.1038/ijir.2017.17
11. Anbara H, Shahrooz R, Razi M, Malekinejad H, Najafi G, Touni SR. [The sperm and invitro fertilization of mice with phenylhydrazine induced hemolytic anemia ameliorating the effect of royal jelly and vitamin C]. J Isfahan Med Sch 2016; 33:2193-203. (Persian)
12. Anbara H, Morovvati H, Adib Moradi M, Shahrooz R. [Histological and biochemical analyses of the effects of royal jelly and vitamin C against phenylhydrazine induced cardiotoxicity in Mice]. J Arak Uni Med Sci 2017; 20:77-88. (Persian)
13. Razi M, Malekinejad H, Sayrafi R, Hosseinchi MR, Feyzi S, Moshtagion SM, et al. Adverse effects of long time exposure to formaldehyde vapour on testicular tissue and sperm parameters in Rats. Vet Res Forum 2013; 4:213-9.
14. Rycerz K, Jaworskaadamu JE. Effects of aspartame metabolites on astrocytes and neurons. Folia Neuropathol 2013; 51:10-7. doi: https://doi.org/10.5114/fn.2013.34191
15. Ikpeme EV, Udensi OU, Ekerette EE, Okon UH. Potential of ginger Zingiber officinale rhizome and watermelon Citrullus lanatus seeds in mitigating aspartame induced oxidative stress in rat model. Res J Med Plant 2016; 10:55-66. doi:10.3923/rjmp.2016.55.66
16. Anbara H, Shahrooz R, Razi M, Malekinejad H, Najafi G. The effect of vitamin C on mice hemolytic anemia induced by Phenylhydrazine an animal model study using histological changes in testis pre implantation embryo development and biochemical changes. Iran J Bas Med Sci 2018; 21:668-77. doi:10.22038/ijbms.2018.25819.6356
17. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. Fert Steril 2003; 79:829-843. doi:org/10.1016/S0015-0282(02)04948-8
18. Soleimanzadeh A, Pourebrahim M, Delirezh N, Kian M. Ginger ameliorates reproductive toxicity of formaldehyde in male Mice evidences for Bcl-2 and bax. J Herbmed Pharmacol 2018; 7:259-66. doi:10.15171/jhp.2018.39
19. Kamath S, Vijaynarayana K, Shetty DP, Shetty P. Evaluation of genotoxic potential of aspartame. Pharmacologyonline 2010; 1:753-69.
20. Soliman HAE, Hozayen WG, Desouky EM. Potential protective effects of rosemary extract against aspartame toxicity in male Rats. J Int Acad Res Mult 2014; 2:111-25.
21. Hozayen W G, Soliman HA, Abou Seif HS. Study of the chemopreventive effects of zingiber officinale roots against aspartame induced testicular toxicity in Rat model. J Phys Pharm Adv 2014; 4:360-7. doi:10.5455/jppa.20140410052106
22. Mclachlan RI, Odonnell L, Meachem SJ, Stanton PG, de Kretser DM, Pratis K, et al. Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in Rats monkeys and man. Rec Prog Horm Res 2002; 57:149-79.
23. Shan L, Hardy DO, Catterall JF, Hardy MP. Effects of luteinizing hormone LH and androgen on steady state levels of messenger ribonucleic acid for LH receptors androgen receptors and steroidogenic enzymes in Rat Leydig cell progenitors invivo. Endocrinology 1995; 136:1686-93. doi:10.1210/endo.136.4.7895679
24. Yang J, Zhang Y, Wang Y, Cui S. Toxic effects of zearalenone and alpha zearalenol on the regulation of steroidogenesis and testosterone production in mouse Leydig cells. Toxicol Invit 2007; 21:558-65. doi:10.1016/j.tiv.2006.10.013
25. Lebda MA, Tohamy HG, Elsayed YS. Long term soft drink and aspartame intake induces hepatic damage via dysregulation of adipocytokines and alteration of the lipid profile and antioxidant status. Nut Res 2017; 41:47-55. doi:10.1016/j.nutres.2017.04.002
26. Ashok I, Sheeladevi R. Oxidant stress evoked damage in Rat hepatocyte leading to triggered nitric oxide synthase (NOS) levels on long term consumption of aspartame. J Food Drug Anal 2015; 23:679-91. doi:10.1016/j.jfda.2014.07.011

Effect of Long Term-Administration of Aspartame on Sperm Quality, Testosterone and Oxidant Parameters in Mice

*Sheibani M[*1], Anbara H[1], Morovvati H[1], Razi M[2], Salaramoli J[1]*

(Received: November 4, 2018 Accepted: March 6, 2019)

Abstract

Introduction: Aspartame is the most famous and widely used artificial sweetener which is extensively used in food stuffs. Many controversial reports are presented on the toxisity of aspartame on different body tissues; nonetheles, little data is available about the the side effects of Aspartame on the reproductive system. The present study was conducted in order to evaluate the effects of aspartame on sperm quality and oxidant parameters in mice.

Materials & Methods: This study wsa carried out on 36 adult male NMRI which were randomly assigned into four groups of nine mice. The three experimental groups received Aspartam with the doses of 40, 80 and 160 mg/kg, by oral gavage for 90 days. The control group was considered as well. The blood samples were collected from the heart 24 hours after the last treatment and sperm quality parameters including, count, motility, viability, chromatin condensation, abnormality, and DNA damage were evaluated.

Findings: The results indicated a significant decrease in total antioxidant capacity (TAC) and testosterone, as well as a significant increase in malondialdehyde (MDA) in 80 and 160 mg/kg groups, compared to the control group ($P<0.01$). Aspartame reception decreased the number, motility, viability and maturation of the sperms ($P<0.001$) and increased abnormality and DNA damage to sperm in 80 and 160 mg/kg groups, compared to the control group ($P<0.001$). *Ethics code:* 7506025.6.24

Discussion & Conclusions: The findings of the present study revealed that aspartame consumption could lead to decreased sperm quality and negative changes in oxidant parameters.

Keywords: Aspartame, Testosterone, Sperm, Mice

1. Dept of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Dept of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
** Corresponding author Email:tsheibani@yahoo.com*