

مطالعه هیستولوژی و هیستومتری دوازدهه موش‌های مصرف کننده اسپارتام

ریحانه هوشمندعباسی^۱ زهرا طوطیان^{۱*} محمدتقی شیبانی^۱ سیمین فاضلی پور^۲ حسین لیمویی^۱

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

(۲) گروه آناتومی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، تهران-ایران

(دریافت مقاله: ۳۰ آذر ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۴ اسفند ماه ۱۳۹۴)

چکیده

زمینه مطالعه: یکی از مهم ترین شیرین کننده‌های مصنوعی اسپارتام است که در مواد غذایی مختلف مورد مصرف زیادی دارد. هدف: این مطالعه به منظور ارزیابی تأثیر اسپارتام بر هیستولوژی و هیستومتری دوازدهه انجام گرفت. روش کار: ۴۰ سر موش سوری ماده نژاد Balb/C در سن ۲۱ روزگی انتخاب و وزن اولیه آنها تعیین گردیدند. موش‌های گروه‌های تیمار، اسپارتام را به میزان ۱۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg، ۴۰۰ mg/kg، ۸۰۰ mg/kg و ۱۶۰۰ mg/kg وزن بدن به مدت ۶ هفته و موش‌های گروه کنترل فقط آب مقطر دریافت نمودند. در پایان دوره آزمایش، موش‌ها مجدداً وزن گیری شدند. سپس از دوازدهه مقاطع بافتی تهیه و به روش H & E رنگ آمیزی گردید. پس از مطالعه بافت‌شناسی، داده‌های هیستومتریک به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به نرم افزار Axiovision جمع‌آوری گردید. نتایج: تغییرات وزن بدن در گروه‌های تیمار (۱۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg، ۴۰۰ mg/kg، ۸۰۰ mg/kg و ۱۶۰۰ mg/kg) به ترتیب ۵/۵۷ ± ۰/۸۹، ۴/۴۷ ± ۰/۸۹، ۵/۵۷ ± ۱/۱۸، ۵/۸۴ ± ۰/۵۷ و ۵/۸۴ ± ۰/۵۷ بود که در مقایسه با گروه کنترل (۹/۳۸ ± ۰/۸۱) کاهش معنی‌دار نشان داد ($p < 0/05$). مطالعه هیستولوژی نشان داد که در دوز ۲۰۰ mg/kg، میزان تخریب بافتی سلول‌ها و ساختارهای مخاط نسبت به دوزهای ۱۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg و وزن بدن بیش تر بوده است. در بررسی هیستومتریک، فراوانی کرک‌های دوازدهه، ارتفاع کرک‌های دوازدهه و ضخامت مخاط دوازدهه، تنها در گروهی که اسپارتام را به میزان ۲۰۰ mg/kg وزن بدن مصرف کرده بودند، در مقایسه با گروه کنترل، دارای افزایش معنی‌داری بود ($p < 0/05$). در حالی که پهنای کرک‌ها (عرض رأس، بخش میانی و قاعده) در همه گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). ضخامت عضلات دوازدهه در گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. نتیجه‌گیری نهایی: براساس این مطالعه می‌توان بیان کرد که اسپارتام می‌تواند موجب تغییرات هیستولوژیک و هیستومتریک دوازدهه گردد.

واژه‌های کلیدی: اسپارتام، دوازدهه، هیستومتری، موش

مقدمه

سال ۱۹۹۱ و هم‌چنین Trocho و همکاران در سال ۱۹۹۸ اعلام داشتند که متانول ماده‌ای است که در داخل آنتروسیست‌ها و سپس در کبد به فرم آلدئید اکسید می‌شود (۶، ۱۲، ۲۱). Bryan در سال ۱۹۷۴ و Ishi در سال ۱۹۸۱ اثرات کارسینوژنیک اسپارتام را نشان دادند (۱۱). هم‌چنین عوارض این ماده بر بعضی از ساختارهای بدن توسط Gulec و همکاران در سال ۲۰۰۶ مورد مطالعه قرار گرفته است (۸). مسائل ابهام برانگیزی در مورد سالم یا مضر بودن اسپارتام توسط Baudrimont و همکاران در سال ۲۰۰۱ و Magnuson و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطرح گردیده است (۳، ۱۴). با توجه به جذب روده‌ای اسپارتام، نشان دادن اثرات اسپارتام بر هیستولوژی و هیستومتریک دوازدهه ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش کار

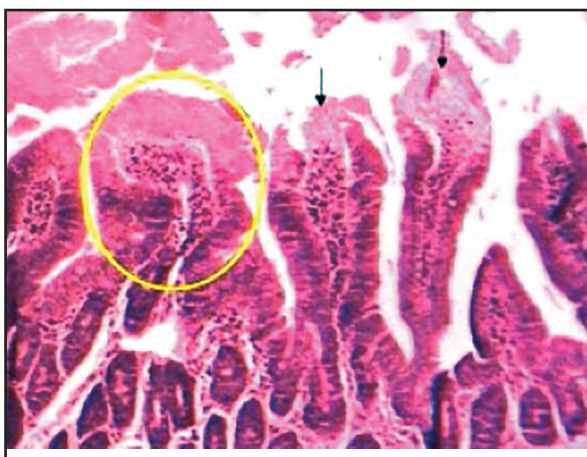
جهت انجام این مطالعه، تعداد ۴۰ سر موش سوری ماده نژاد Balb/C در سن سه‌هفتگی از موسسه سرم‌سازی حصارک کرج خریداری و پس از فراهم نمودن شرایط زیستی مناسب چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲۲-۲۴°C، رطوبت نسبی ۴۰-۶۰٪ و آب و غذا به‌طور نامحدود به منظور سازگاری با محیط به مدت یک هفته نگهداری شدند. پس از تطابق موش‌ها با محیط، به طور تصادفی به چهار گروه (۳ گروه تیمار و ۱ گروه کنترل) ۱۰ تایی تقسیم گردیدند. پس از تعیین وزن موش‌ها، گروه‌های

اسپارتام به طور گسترده‌ای در فرآورده‌های دارویی و غذایی به ویژه در غذاهای بدون قند و کم کالری وجود داشته و توسط اکثریت افراد جامعه مصرف می‌شود. Shigeta و همکاران در سال ۱۹۸۵ بیان داشتند که اسپارتام از لحاظ ارزش کالری همانند قند بوده ولی میزان شیرینی آن تقریباً ۱۶۰-۱۸۰ برابر قند است و مقدار کمی از این ماده برای شیرین کردن مواد غذایی کافی است (۱۹). Oyama و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که اسپارتام در دستگاه معده‌ای-روده‌ای به اسیداسپارتیک، فنیل آلانین و متانول هیدرولیز می‌شود (۱۶). هم‌چنین Iman در سال ۲۰۱۱ مشخص کرد که متانول در بدن به فرم آلدئید و اسیدفرمیک تبدیل شده که همواره به عنوان یک ماده توکسیک شناخته شده است (۱۰). با توجه به مصرف خوراکی این ماده، جذب روده‌ای و متابولیسم اسپارتام توسط Abhilash و همکاران در سال ۲۰۱۱ مورد مطالعه قرار گرفته است (۱). مطالعاتی که توسط Rajasekar و همکاران در سال ۲۰۰۴ و هم‌چنین Opermann و Ranny در سال ۱۹۷۹ انجام شده است، حاکی از آن است که احتمال این که این ماده قبل از هیدرولیز، جذب سلول‌های مخاطی روده گشته و داخل این سلول‌ها متابولیزه گردد وجود دارد (۱۷، ۱۸). به علاوه Davoli و همکاران در سال ۱۹۸۶ و Heikki و Leisivouri

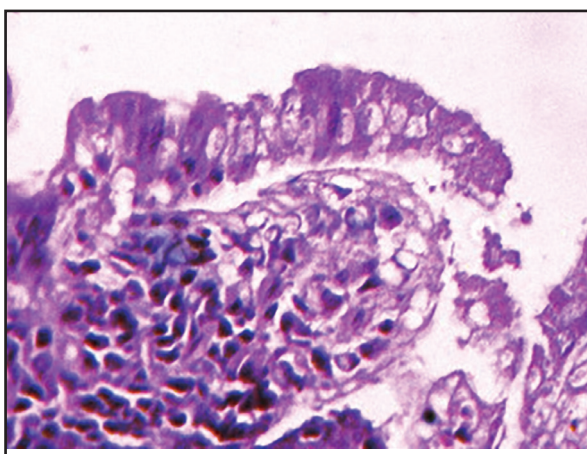




تصویر ۱. مقطع بافتی دوازده موش سوری در گروه مصرف کننده آسپارتام به میزان ۱۰۰ mg/kg وزن بدن (H & E × ۱۰۰). تحلیل و تخریب اپیتلیوم رأسی کرکها (پیکانها).



تصویر ۲. مقطع بافتی دوازده موش سوری در گروه مصرف کننده آسپارتام به میزان ۲۰۰ mg/kg وزن بدن (H & E × ۱۰۰). تحلیل (پیکانها) و به هم چسبیدگی (دایره) مخاط نیمه بالایی کرکهای دوازده.



تصویر ۳. مقطع بافتی دوازده موش سوری در گروه مصرف کننده آسپارتام به میزان ۴۰۰ mg/kg وزن بدن (H & E × ۴۰۰). تحلیل رفتن بخش های رأسی برخی از کرکهای دوازده.

دریافت کرده بود کاهش کمتری را نشان داد.

از سوی دیگر نتایج هیستولوژیک نشان داد که با استفاده از دوز

تیمار، آسپارتام را با دوزهای ۴۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg، ۱۰۰ mg/kg وزن بدن و گروه کنترل آب مقطر را به صورت خوراکی به روش گاوژ به مدت ۶ هفته دریافت نمودند. در پایان دوره آزمایش، موشها مجدداً وزن گیری شده و از هر گروه، ۶ سرموش به صورت تصادفی انتخاب و توسط کلروفرم بیهوش شدند. پس از باز کردن محوطه شکمی، دوازده خارج و جهت فیکساسیون در بافر فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. پس از انجام مراحل آماده سازی بافتی، از هر نمونه برش های سریالی به ضخامت ۵ μm تهیه و به روش H & E رنگ آمیزی گردیدند. جهت انجام مطالعه هیستولوژی و هیستومتریک دوازده، از مقاطع رنگ آمیزی شده، ۸ مقطع به صورت تصادفی انتخاب و از هر مقطع، ۴ میدان دید توسط فتومیکروسکوپ مجهز به نرم افزار Axiovision مورد عکسبرداری قرار گرفت. پس از مطالعه هیستولوژیک، تغییرات ایجاد شده در ساختار بافتی دوازده در گروه های مواجهه یافته با آسپارتام نسبت به گروه کنترل مطالعه و نتایج ثبت گردید. جهت بیان دقیق تر تغییرات ایجاد شده، پارامترهای قابل توجه، مورد مطالعه هیستومتری قرار گرفت. برای این منظور ضخامت مخاط دوازده که شامل اپیتلیوم، آستر مخاط و عضله مخاطی است اندازه گیری گردید. جهت بررسی فراوانی کرک های موجود در مخاط از هر مقطع چهار میدان دید و در هر میدان دید، از کلیه کرک های موجود در ابعاد $10^4 \mu m^2 \times 6/25$ شمارش به عمل آمد و این روش در همه مقاطع اعمال گردید. برای اندازه گیری ارتفاع کرک ها، در هر میدان دید ۳ کرک از بلندترین کرک ها انتخاب و اندازه گیری شد و عرض قاعده، بخش میانی و رأس همین کرک ها اندازه گیری و سپس میانگین عرض کلی کرک از سه پارامتر تعیین و ثبت گردید. جهت تعیین ضخامت لایه عضلانی، در هر میدان دید، سه بخش از لایه ماهیچه ای اندازه گیری و میانگین آنها ثبت گردید. جهت تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه نتایج شاخص های کمی هیستومتریک دوازده در گروه های تیمار و کنترل، از نرم افزار آماری SPSS Version ۱۲ و براساس روش های آماری آزمون انحراف معیار و آنالیز واریانس یک طرفه (One Way Anova) بین گروه های تیمار و کنترل و در صورت وجود اختلاف معنی دار، آزمون تکمیلی توکی (Tukey HSD test) جهت مقایسه بین گروه های تیمار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج به صورت میانگین انحراف معیار ثبت گردید و سطح معنی داری ($p < 0/05$) در نظر گرفته شد. آسپارتام مورد استفاده به صورت پودر سفید رنگ با فرمول شیمیایی EC۱۴H۱۸N۲۰۵ بود.

نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تغییرات وزن بدن موش های هر سه گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری دارد ($p < 0/05$). ولی بین گروه های تیمار هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. در حالی که گروهی که آسپارتام را به میزان ۲۰۰ mg/kg وزن بدن



جدول ۱. مشخصه‌های هیستومتریکی دوازده موش‌های گروه شاهد و تیمار شده با آسپارتام ($n=6$). حروف غیریکسان در هر ردیف افقی، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح ($p<0.05$) است.

پارامتر	گروه کنترل (گاو از آب مقطر)	گروه تجربی ۱ (گاو از ۱۰۰Mg×kg آسپارتام)	گروه تجربی ۲ (گاو از ۲۰۰Mg×kg آسپارتام)	گروه تجربی ۳ (گاو از ۴۰۰Mg×kg آسپارتام)
اختلاف وزن اولیه و ثانویه	۹/۰۳۸±۰/۸۱ ^a	۵/۵۷±۱/۱۸ ^b	۴/۴۷±۰/۸۹ ^b	۵/۸۴±۰/۵۷ ^b
فراوانی کرک‌های دوازدهه ($10^2 \mu\text{m}^2$)	۱۹/۳±۴/۷۷ ^a	۲۰/۶±۹/۲۱ ^a	۳۲/۷۸±۹/۷۹ ^b	۱۳/۴۸±۱/۵۲ ^a
ارتفاع کرک‌های دوازدهه (μm)	۱۰۶۷/۶۵±۴۷/۶۷ ^a	۱۱۰۷/۳۵±۹۶/۲۹ ^a	۵۹۶/۲۸±۴۳/۷۳ ^b	۹۳۷/۱۵±۳۲/۸۷ ^{ab}
عرض کرک‌های دوازدهه (μm)	۱۶۷/۵۸±۳۲/۲۰ ^a	۹۸/۹۵±۳۴/۹۶ ^b	۹۴/۳±۲۲/۲۶ ^b	۱۰۲/۱۲±۱۰/۳۶ ^b
عرض رأس کرک‌های دوازدهه (μm)	۱۳۲/۶۹±۵۳/۳۳ ^a	۸۰/۱۸±۱۰/۶۱ ^b	۹۴/۶۹±۱۴/۷۶ ^b	۷۸/۴۳±۱۳/۱۰ ^b
عرض بخش میانی کرک‌های دوازدهه (μm)	۱۴۷/۷۵±۳۰/۶۱ ^a	۸۵/۵±۶/۱۷ ^b	۹۵/۷±۸/۱۸ ^b	۷۸/۳۷±۱۲/۹۷ ^b
عرض قاعده کرک‌های دوازدهه (μm)	۲۱۰/۳±۴۳/۶۳ ^a	۱۳۷/۱۸±۱۳/۰۳ ^b	۹۲/۵۴±۴/۸۴ ^c	۱۴۹/۵۶±۶/۷۷ ^b
ضخامت مخاط دوازدهه (μm)	۵۰۹/۰۸±۷۲/۲۵ ^a	۴۴۵/۹۶±۴۷/۱۷ ^{ab}	۲۱۳/۰۴±۵۳/۶۰ ^c	۳۴۰/۳۳±۷۲/۳۲ ^{ab}
ضخامت لایه عضلانی دوازدهه (μm)	۱۱۹/۲±۷۳۸ ^{ab}	۱۲۳/۷±۳۴/۸۴ ^{ac}	۴۴/۹±۱۶/۰۹ ^{bc}	۲۷۸/۵۵±۳۷/۲۰ ^a

(جدول ۱). در بررسی عرض قاعده کرک‌های دوازدهه هم هر سه گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل دارای کاهش معنی‌دار بود ($p<0.05$) (جدول ۱). این کاهش در گروهی که آسپارتام را به میزان ۲۰۰mg/kg وزن بدن دریافت کرده بودند، بیش تر بود. نتایج حاصل از بررسی ضخامت مخاط نشان داد که تنها گروهی که آسپارتام را به میزان ۲۰۰mg/kg وزن بدن دریافت کرده بود، در مقایسه با گروه کنترل دارای کاهش معنی‌داری بود ($p<0.05$) (جدول ۱). ضخامت عضلات دوازدهه در گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل دارای افزایش غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱).

بحث

در این مطالعه از آسپارتام به عنوان یک شیرین کننده مصنوعی استفاده شده است که Abhilash و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که هیدرولیز آن در لوله گوارش انجام می‌شود (۱). هم‌چنین Stegnik در سال ۱۹۸۷ امکان این که آسپارتام قبل از هیدرولیز، جذب سلول‌های مخاطی شود و در این سلول‌ها به اجزای سازنده‌اش تجزیه گردد را بیان نمود (۲۰). در مطالعه حاضر مشخص گردید که آسپارتام با دوزهای ۴۰۰mg/kg، ۲۰۰mg/kg و ۱۰۰mg/kg وزن بدن به مدت ۶ هفته، توانسته است کاهش معنی‌داری در وزن موش‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نماید. Beck و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داده‌اند که این ماده می‌تواند موجب کنترل چاقی گردد و آن به دلیل کاهش نوروپپتیدمغزی که نقش بسیار حیاتی در متابولیسم و سوخت و ساز بدن دارد، می‌باشد (۴). هم‌چنین در بررسی دیگری که توسط Leme و Azoubel در سال ۲۰۰۶ انجام شده است، مشخص گردید که مصرف خوراکی آسپارتام روزانه میزان ۱۴mg/kg وزن بدن باعث کاهش وزن بدن جنین و نیز کاهش وزن جفت می‌گردد (۱۳). در حالی که FeijóFde و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که ساکارین و آسپارتام موجود در ماست، موجب افزایش وزن بدن در مقایسه با ساکارز می‌باشد و این در حالی است که میزان کالری دریافت شده برابر بوده است (۷). در حالی که نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف این ماده بعد

۱۰۰mg/kg وزن بدن، ساختمان مخاطی دوازدهه دستخوش تغییرات کمی در سطح اپیتلیوم مخاط گردیده که شامل تخریب بافتی قسمت رأسی برخی از کرک‌ها بوده است (تصویر ۱). تغییرات ایجاد شده در دوازدهه با استفاده از دوز ۲۰۰mg/kg وزن بدن، شامل تخریب وسیع بخش‌های بالایی کرک‌های روده‌ای و به هم‌چسبیدگی مخاط نیمه بالایی کرک‌های دوازدهه بود (تصویر ۲). تغییرات ایجاد شده در دوازدهه با استفاده از دوز ۴۰۰mg/kg وزن بدن، محدود به تخریب سلول‌های اپیتلیوم سطح مخاط تحلیل رفتن بخش‌های رأسی برخی از کرک‌های دوازدهه بود (تصویر ۳). با توجه به تغییرات مشاهده شده، چنین به نظر می‌رسد که در دوز ۲۰۰mg/kg، میزان تخریب بافتی و از بین رفتن سلول‌ها و ساختارهای مخاط دوازدهه نسبت به دوزهای ۱۰۰mg/kg و ۴۰۰mg/kg وزن بدن بیش تر بوده باشد.

نتایج حاصل از مطالعات هیستومتریکی نیز نشان داد که فراوانی کرک‌های دوازدهه تنها در گروهی که آسپارتام را به میزان ۲۰۰mg/kg وزن بدن دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است ($p<0.05$) (جدول ۱). در حالی که در سایر گروه‌های تیمار اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد. در بررسی ارتفاع کرک‌ها نیز تنها گروهی که آسپارتام را به میزان ۲۰۰mg/kg وزن بدن دریافت کرده بود، کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل داشت ($p<0.05$) (جدول ۱). در مورد پهنای کرک‌ها، هر سه گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل دارای کاهش معنی‌داری بودند ($p<0.05$) (جدول ۱). ولی گروهی که آسپارتام را به میزان ۲۰۰mg/kg وزن بدن دریافت کرده بود کاهش بیش تری را نشان داد. در مطالعه عرض رأس کرک‌ها، مشخص گردید که گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری را دارند. به طوری که این کاهش در گروهی که آسپارتام را به میزان ۲۰۰mg/kg وزن بدن دریافت کرده بودند، بیش تر بود ($p<0.05$) (جدول ۱). نتایج حاصل از بررسی پهنای وسط کرک‌های دوازدهه نیز بیانگر کاهش معنی‌داری بین گروه‌های تیمار با گروه کنترل بود که این کاهش در گروهی که آسپارتام را به میزان ۲۰۰mg/kg وزن بدن دریافت کرده بودند بیش تر بود ($p<0.05$)



تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و کارشناس بخش آناتومی آقای مهندس کاظم چاوشی پور صمیمانه قدردانی می‌شود.

References

1. Abhilash, M., Sauganth Paul, M.V., Nair, R.H. (2011) Effect of long term intake of Aspartame on antioxidant defense status in liver. *J Food Chem Toxicol.* 3: 1-5.
2. Anthony, L.M. (2013) Junqueira's Basic Histology. (13th ed.) Indiana University School of Medicine. Bloomington, Indiana.
3. Baudrimont, I., Sostaric, B., Yenot, C., Betbeder, A.M. (2001) Aspartame prevents the karyomegalically induced by achrotoxin in rat kidney. *J Arch Toxicol.* 75:176-183.
4. Beck, B., Burlet, A., Max, J.P., Stricker-Krongard, A. (2002) Effects of long-term ingestion of Aspartame on hypothalamic neuropeptide Y, plasma leptin and body weight gain and composition. *J Physiol Behav.* 75: 41-47
5. Bianchi, R.G., Muir, E.T., Cook, D.L., Nutting, E.F. (1980) The biological properties of Aspartame. II. Actions involving the gastrointestinal system. *J Environ Pathol Toxicol.* 3: 355-362.
6. Davoli, E. (1986) Serum methanol concentration in rats and in men after a single dose of Aspartame. *J Food Chem Toxicol.* 24: 187-189.
7. FeijóFde, M., Ballard, C.R., Foletto, K.C., Batis-ta, B.A., Neves, A.M., Ribeiro, M.F., Bertoluci, M.C. (2013) Saccharin and Aspartame, compared with sucrose, induce greater weight gain in adult Wistar rats, at similar total caloric intake levels. *J Appetite.* 60: 203-207.
8. Gulec, M., Gurel, A., Armutcu, F. (2006) Vitamin E protect against oxidative damage caused by a formaldehyde in the liver and plasma of rats. *AJ Mol Cell Biochem.* 290: 61-67.
9. Hooper, N.M., Hesp, R.J., Tiekku, S. (1994) Metabolism of Aspartame by human and pig intestinal microvillar peptidases. *Biochem J.* 3: 635-

از شیرخوارگی تا زمان بلوغ نیز می‌تواند موجب کاهش وزن بدن در موش سوری گردد. یکی دیگر از اهداف این مطالعه اثر آسپارتام بر هیستولوژی و هیستومتری دوازدهه بود که در این رابطه آسپارتام به میزان 200mg/kg وزن بدن توانست کاهش معنی‌داری در ارتفاع کرک‌های دوازدهه و ضخامت آن به مدت شش هفته در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نماید. در مورد پهنای کرک‌ها، هر سه گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل دارای کاهش معنی‌داری بودند. در این رابطه Olaiibi در سال ۲۰۱۴ نیز بیان داشت که تجویز آسپرین در موش صحرایی نیز می‌تواند موجب کاهش ارتفاع کرک‌ها و ضخامت مخاط دوازدهه گردد (۱۵) که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد ولی آسپرین توانسته است موجب افزایش پهنای کرک‌های دوازدهه شود که با نتایج این تحقیق مغایرت دارد. این نتایج بیانگر شباهت تأثیر آسپارتام با مضرات آسپرین بر دئودنوم می‌باشد. نتایج هیستولوژی دوازدهه نشان داد که مصرف آسپارتام با دوز 200mg/kg وزن بدن، توانسته است باعث تخریب بخش‌های وسیعی در قسمت بالای کرک‌های روده‌ای و از بین رفتن سلول‌های استوانه‌ای و جامی اپی تلیوم سطح مخاط و کریپت‌ها همراه با بافت همبندی پارین نواحی مربوطه شود. به علاوه در برخی نواحی به هم‌چسبیدگی کرک‌های دوازدهه مشهود بود که این تغییرات با شدت کم‌تری در سایر دوزها ملاحظه گردید. با توجه به این که جذب اصلی در روده باریک، توسط ریز کرک‌های آن انجام می‌گیرد، می‌توان بیان نمود که کاهش عرض کرک‌ها و تغییرات به وجود آمده در آن در اثر مصرف آسپارتام که نتیجه آن کاهش ریز کرک‌ها می‌باشد، می‌تواند موجب کاهش جذب مواد غذایی و در نتیجه کاهش وزن بدن گردد. از طرف دیگر آنزیم‌های تجزیه‌کننده بعضی از قندها و پپتیدها، در ریز کرک‌ها قرار دارد که با توجه به این تغییرات، آنزیم‌های ایجادکننده مونومرها کاهش یافته و در نتیجه کاهش جذب آنها مشهود است و در نتیجه کاهش وزن بدن را در پی خواهد داشت (۲). در حالی که Bianchi و همکاران در سال ۱۹۸۰ نشان داده‌اند که اگر از آسپارتام به عنوان یک شیرین‌کننده مواد غذایی استفاده شود، نمی‌تواند عوارض جانبی نامطلوب بر دستگاه گوارش ایجاد نماید (۵). که با نتایج این تحقیق مغایرت دارد. Hooper و همکاران در سال ۱۹۹۴ در یک بررسی در رابطه با متابولیسم آسپارتام توسط پپتیدازهای ریز کرک‌های روده انسان و خوک در حضور چند پپتیدازمانع‌کننده، نشان دادند که در مورد آمینوپپتیداز A به عنوان یک بازدارنده، فقط بعضی از اجزای آن اثر بازدارنده از جذب آسپارتام را داشته است، ولی در مجموع اثر منفی بر روی جذب آسپارتام از غشای ریز کرک‌های روده را نداشته است (۹).

به طور کلی نتایج حاصل از بررسی اثر آسپارتام بر ساختار بافتی دوازدهه، نشان می‌دهد که با توجه به کاهش در ارتفاع و عرض کرک‌ها و متعاقب آن اختلال در تجزیه کامل مواد غذایی و همچنین اختلال در جذب مونومرها، می‌بایست از مصرف طولانی مدت آن تا حد امکان جلوگیری به عمل آورد.



- 639.
10. Iman, M.M. (2011) Effect of Aspartame on some oxidative stress parameters in liver and kidney of rats. *African J Pharmacy and Pharmacol.* 5: 678-682.
 11. Ishi, H. (1981) Incidence of Brain Tumors in Rats Fed Aspartame. *J Toxicol Left.* 7: 433-437.
 - Leisivouri, J., Heikki, S. (1991) Methanol and formic acid toxicity, biochemical mechanism. *J Pharmacol Toxicol.* 69: 91-102.
 12. Leisivouri, J., Heikki, S. (1991) Methanol and formic acid toxicity: biochemical mechanism. *J Pharmacol Toxicol.* 69: 157-163.
 13. Leme, L.F.A.G., Azoubel, R. (2006) Effects of Aspartame on exocrine pancreas of rat fetuses. *Int J Morphol.* 24: 679-684.
 14. Magnuson, B.A., Budrock, G.A., Kores, G.M., Marsh, G.M. (2007) Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations and toxicological and epidemiological studies. *J Crit Rev Toxicol.* 37: 629-727.
 15. Olaibi, O.K., Ijomone, O.M., Ajibade, A.J. (2014) Histomorphometric study of stomach and duodenum of aspirin treated Wistar rats. *J Exp-Clin Anat.* 13: 12-16.
 16. Oyama, Y., Sakai, H., Arata, T., Okano, Y., Akaike, N., Sakai, K., Noda, K. (2002) Cytotoxic effects of methanol, formaldehyde and formate on dissociated rat thymocytes: a possibility of Aspartame toxicity. *J Cell Biol Toxicol.* 18: 43-50.
 17. Rajasekar, P., Subramanian, P., Manivasagam, T. (2004) Circadian variations of biochemical variables in Aspartame trates rats. *J Pharm Biol.* 42: 1-7.
 18. Ranney, R.E., Oppermann, J.A. (1979) A review of the metabolism of the aspartyl moiety of Aspartame in experimental animals and man. *J Environ Pathol Toxicol.* 2: 979-985.
 19. Shigeta, H., Yoshida, T., Nakai, M., Mori, H., Kano, Y., Nishioka, H., Kajiyama, S., Kitagawa, Y., Kanatsuna, T., Kondo, M. (1985) Effects of Aspartame on diabetic rats and diabetic patients. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 31: 533-540.
 20. Stegnik, L.D. (1987) The Aspartame history: a model for the clinical testing of a food additive. *Am J Clin Nutr.* 46: 204-215.
 21. Trocho, C., Pardo, R., Rafecas, I., Virgili, J., Remesar, X., Fernandez Lopez, J.A., Alemany, M. (1998) Formaldehyde derived from dietary Aspartame binds to tissue components in vivo. *J Life Sci.* 65: 337-379.



Histological and histometrical study of duodenum in mice after ingestion of Aspartame

Hooshmand Abbasi, R.¹, Tootian, Z.^{1*}, Sheibani, M.T.¹, Fazelipour, S.², Limouei H.¹

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

²Department of Anatomy, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran-Iran

(Received 21 December 2015, Accepted 23 February 2016)

Abstract:

BACKGROUND: One of the most artificial sweeteners is Aspartame which is commonly used in a variety of foodstuffs. **OBJECTIVES:** This study has been carried out in order to evaluate the effects of Aspartame on histology and histometry of duodenum. **METHODS:** Forty female Balb/C mice, 21 days of age were selected and initial weight was determined. The treatment groups received 100, 200 and 400 mg/kg of Aspartame for 6 weeks, control group received only distilled water. At the end of experiment, the mice were reweighed. Then the duodenal tissue sections were prepared and stained with H&E. Besides the histological study, histometric data were collected by a light microscope equipped with Axiovision software. **RESULTS:** The body weights in treatment groups (100, 200 and 400 mg/kg) were 5.57 ± 1.18 , 4.47 ± 0.89 and 5.84 ± 0.57 respectively, which in comparison with the control group (9.38 ± 0.81) showed a significant difference ($p < 0.05$). The histological study showed that the rate of destruction in the cells and mucosal structures, at the dose of 200 mg/kg compared to the dose of 100 and 400 mg/kg has been increased. In histometric aspect, abundance of duodenal villi, height of the villi and thickness of duodenal mucosa, only in the experimental group of 200 mg/kg were significantly increased compared to the control group ($p < 0.05$). Whereas the width of villi (width of the apex, body and the base), in all of the experimental groups showed a significant decrease compared to the control group ($p < 0.05$). The thickness of musculature of duodenum in experimental groups had no significant differences with the control group. **CONCLUSIONS:** Based on this study, it can be concluded that Aspartame can cause some histological and histometrical changes in duodenum.

Keyword: aspartame, duodenum, histometry, mouse

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Duodenal tissue sections of mice in the group taking Aspartame at 100 milligrams per kilogram of body weight (H & E X100), Degeneration and destruction of apical epithelium of villi (arrows).

Figure 2. Duodenal tissue sections of mice in the group taking Aspartame at 200 milligrams per kilogram of body weight (H & E X100), Degeneration (arrows) and adhesion (circle) of the upper half of duodenal villi.

Figure 3. Duodenal tissue sections of mice in the group taking Aspartame at 400 milligrams per kilogram of body weight (H & E X100), Degeneration of apical parts of some of duodenal villi.

Table 1. Histometric features of duodenum in control and mice treated with Aspartame (n=6). Dissimilar letters in each row, Indicates a significant difference between the groups at $p < 0.05$.

*Corresponding author's email: ztotian@ut.ac.ir, Tel: 021-61117111, Fax: 021-66933222

