

## اثرات هیستومورفومتريک سدیم متابی سولفیت بر بافت و هورمون‌های تیروئیدی در موش‌های صحرایی نر بالغ

کیامرث خلیلی<sup>۱</sup>، سیدابراهیم حسینی<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۶/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش ۱۳۹۶/۱۲/۲۵

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** سدیم متابی سولفیت در جهت نگهداری از مواد غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرد و ممکن است دارای اثرات جانبی بر اندام‌های مختلف بدن باشد. با توجه به اهمیت هورمون‌های تیروئیدی در تنظیم متابولیسم و عملکرد بافت‌های بدن این مطالعه باهدف بررسی اثر سدیم متابی سولفیت بر ساختار بافتی و عملکرد تیروئید در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام گردید.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه تجربی از ۷۰ سر موش صحرایی نر بالغ استفاده گردید که به گروه‌های کنترل (فاقد تیمار)، شاهد (تیمار با سرم فیزیولوژیک) و ۵ دسته تجربی دریافت‌کننده سدیم متابی سولفیت با دوزهای ۵۰، ۲۵، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg تقسیم شدند. تجویزها برای ۲۸ روز و به‌صورت گاواژ انجام گردید. آنگاه پس از خون‌گیری از حیوانات جهت اندازه‌گیری هورمون‌های T3، T4 و TSH، تیروئید آن‌ها خارج و پس از تهیه مقاطع بافتی فولیکول‌ها شمارش و مقایسه گردیدند و نتایج با استفاده از آزمون‌های ANOVA و توکی آنالیز و معنی‌داری اختلاف داده‌ها در سطح  $P \leq 0/05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که سدیم متابی سولفیت در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg باعث کاهش معنی‌دار میزان T3 و T4 و تعداد فولیکول‌های فعال و افزایش معنی‌دار حجم فضای کولئید و تعداد فولیکول‌های غیرفعال در سطح  $P \leq 0/001$  و در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg به ترتیب باعث افزایش معنی‌داری در سطح  $P \leq 0/05$  و  $P \leq 0/001$  در میزان هورمون TSH نسبت به گروه کنترل می‌شود.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد سدیم متابی سولفیت با کاهش تعداد فولیکول‌های فعال باعث کاهش هورمون‌های تیروئیدی و با حذف اثر فیدبک منفی این هورمون‌ها باعث افزایش TSH می‌گردد.

**کلیدواژه‌ها:** هیستومورفومتري، تیروئید، T3، T4، TSH، موش صحرایی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و نهم، شماره دوم، ص ۱۴۲-۱۳۳، اردیبهشت ۱۳۹۷

آدرس مکاتبه: گروه آموزشی فیزیولوژی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران، تلفن ۰۹۱۷۱۱۸۳۹۱۷

Email: ebrahim.hossini@yahoo.com

### مقدمه

فاکتورهای گوناگونی در تنظیم میزان ترشح هورمون‌های تیروئیدی در خون مؤثر می‌باشند (۴ و ۳). مشخص شده است که هورمون‌های تیروئیدی در رشد و نمو نواحی مختلف مغز و به‌ویژه ناحیه هیپوکامپ، ساب‌نتریکولار و پیاز بویایی که همگی در حافظه فضایی و یادگیری دخیل هستند نقش مهمی دارند (۵ و ۶). میزان ترشح هورمون‌های تیروئیدی به‌وسیله هورمون تیروتروپین (TSH) که از غده هیپوفیز ترشح می‌شود تنظیم و میزان هورمون TSH نیز به‌وسیله هورمون محرک ترشح تیروتروپین (TRH) که توسط هیپوتالاموس ترشح می‌گردد تنظیم می‌گردد (۷). در اصل نوروئین‌های ترشح‌کننده TRH در هیپوتالاموس، نقش مهمی در

تیروئید یکی از غدد مهم بدن است که هورمون‌های ترشح‌شده از آن دارای نقش مهمی در تنظیم متابولیسم و عملکرد بسیاری از بافت‌های بدن می‌باشند (۱). هورمون‌های ترشح‌شده از غده تیروئید در تنظیم بسیاری از فعالیت‌های بدن از جمله متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، هدایت پیام عصبی، مصرف اکسیژن و تولیدمثل دخالت دارند، به‌طوری‌که هرگونه تغییر در میزان طبیعی آن‌ها موجب ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی به‌صورت هیپوتیروئیدیسم و هیپرتیروئیدیسم می‌شود (۲). هورمون‌های تیروئیدی دارای نقش کلیدی در تنظیم متابولیسم و رشد و نمو بدن می‌باشند و عوامل و

<sup>۱</sup> دانش آموخته گروه فیزیولوژی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه فیزیولوژی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران (نویسنده مسئول)

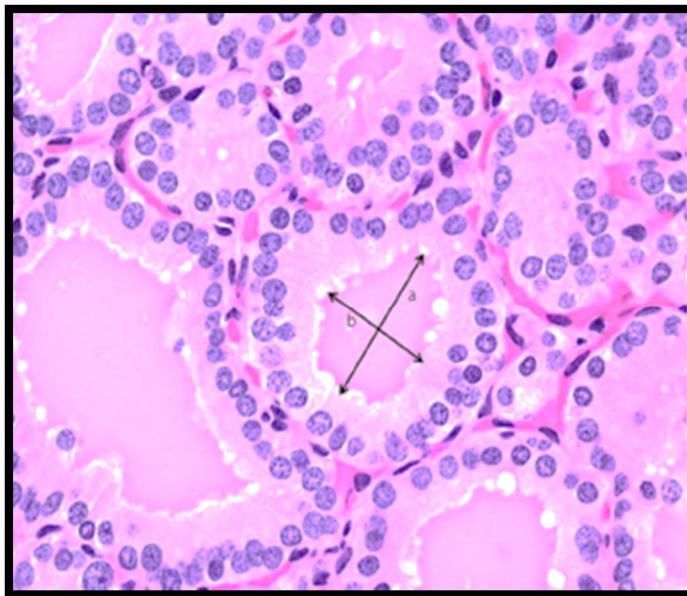
شیمیایی در جهت نگهداری از انواع زیادی از مواد غذایی و به‌عنوان یکی از ترکیبات موجود در برخی از داروها و مواد آرایشی، این مطالعه باهدف بررسی اثر سدیم متا بی سولفیت بر ویژگی‌های هیستومورفومتريک غده تیروئید و میزان سرمی هورمون‌های T3، T4 و TSH در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام گردید.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه‌ی تجربی است که در سال ۱۳۹۵ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز انجام شد. در این مطالعه از ۷۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۱۰ گرم و سن ۱۰۰ روزه که از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شده بودند استفاده گردید. در طول دوره آزمایش، همه حیوانات از آب و غذای فشرده ساخت شرکت خوراک دام پارس تهران و بدون محدودیت برخوردار بوده و در یک اتاق مخصوص در دمای  $20 \pm 2$  درجه سلسیوس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حمایت از حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه تحت شماره IR.Shiau139512432 به تصویب رسید. در این پژوهش حیوانات به ۷ گروه ۱۰ تایی شامل گروه‌های کنترل (فاقد تیمار)، شاهد (تحت تیمار با سرم فیزیولوژیک به‌عنوان حلال سدیم متابی سولفیت) و ۵ دسته تجربی دریافت‌کننده سدیم متابی سولفیت تهیه شده از شرکت سیگما آلدریج کشور آمریکا با دوزهای ۵۰، ۲۵، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (۲۱)، تقسیم شدند. کلیه تجویزها به‌صورت گلوژ و برای مدت ۳۰ روز انجام گردید. آنگاه در پایان دوره، ابتدا حیوانات به‌وسیله اتر بی‌هوش شدند و از قلب آن‌ها جهت اندازه‌گیری می‌زان سرمی هورمون‌های Thyroid- $T_3$ ، stimulating hormone (TSH) و Tetraiodothyronine ( $T_4$ )، توسط سرنگ ۵ میلی‌لیتری خون‌گیری به عمل آمد و سپس غده تیروئید حیوانات جدا و پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی با همتاکسولین-ئوزین، و شمارش تعداد فولیکول‌های تیروئیدی، جهت اندازه‌گیری حجم کولونید، با توجه به آن‌که در هر فولیکول از بافت تیروئید یک محور بزرگ (a) و یک محور کوچک (b) وجود دارد (شکل ۱) ابتدا به‌وسیله نرم‌افزار استرئولایت قطر کوچک و بزرگ فضای کولونید را در هر فولیکول اندازه‌گیری نموده به‌طوری‌که قطر بزرگ (a) عمود بر قطر کوچک (b) باشد، سپس جهت تبدیل این اندازه‌گیری‌های مستقیم و تبدیل آن به اقطار (d) یک دایره با مساحتی مشابه، از فرمول ذیل استفاده گردید:

$$d = \sqrt{a \times b}$$

تنظیم ترشح هورمون‌های تیروئیدی بر عهده دارند (۸). نشان داده شده است که هورمون‌های تیروئیدی باعث کاهش میزان کلسترول خون و همچنین هورمون TSH می‌شود (۹). اختلالات تیروئیدی از بیماری‌های نسبتاً شایع در سراسر جهان می‌باشند و موادی نظیر عصاره پنج‌انگشت که حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشند باعث افزایش هورمون‌های تیروئیدی و کاهش هورمون TSH می‌شوند (۱۰). در مطالعه‌ای نشان داده شد که احتمالاً مصرف ترکیبات آنتی‌اکسیدان باعث بهبود بیماران با اختلال هیپوتیروئیدیسم می‌شود (۱۱). نشان داده شده است که در شرایط پایه در سلول‌های اپی‌تلیالی غده تیروئید مقادیری از گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شود که برای تولید هورمون‌های تیروئیدی ضروری است و این مقدار به دلیل آن‌که بیش از توان آنتی‌اکسیدانی بدن نمی‌باشد نمی‌تواند برای غده تیروئید دارای اثرات مضر باشد (۱۲). سدیم متا بی سولفیت یکی از ترکیباتی است که به‌عنوان نگه‌دارنده در صنعت مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ممکن است دارای اثرات جانبی بر اندام‌های مختلف بدن از جمله کلیه باشد (۱۳). نمک‌های سولفیتی بیشتر از طریق مصرف مواد غذایی، استفاده از رنگ‌های مو، کرم‌های آرایشی، قطره‌های چشمی، داروهایی نظیر فنیل آفرین، آدرنالین، کورتیکوستروئیدها و بی‌حس‌کننده‌های موضعی وارد بدن ما می‌شوند (۱۴). پراکسیداسیون لیپیدها یکی از دلایل سمیت ترکیبات سولفیتی و نقش آن‌ها در آسیب‌های بافتی است (۱۵). نشان داده شده است که سدیم متابی سولفیت باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌های کبدی و کلیوی می‌گردد (۱۶). سدیم متا بی سولفیت با ایجاد استرس اکسیداتیو باعث افزایش میزان غلظت مالون دی‌آلدئید و همچنین کاهش غلظت آنزیم کاتالاز می‌گردد (۱۷). نشان داده شده است که رادیکال‌های آزاد دارای یک نقش کلیدی در ساختار بافتی و عملکردی تخمدان‌ها می‌باشند و سدیم متا بی سولفیت نیز از طریق افزایش میزان مالون دی‌آلدئید باعث ایجاد تغییرات ساختاری در تخمدان‌های موش‌های صحرایی می‌گردد (۱۸). در مطالعه‌ای که توسط کریم فر و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد مشخص گردید که سدیم متا بی سولفیت سبب کاهش حجم نواحی مختلف مغز و تخریب سلول‌های عصبی مغز می‌گردد (۱۸). مواد سولفور ه باعث ایجاد واکنش‌های آلرژیک در انسان‌ها می‌شوند و در حیوانات ضمن داشتن اثرات سمی به‌عنوان یک عامل کارسینوژن به حساب می‌آیند (۲۰). ۱۹ و ۱۴). با توجه به آن‌که استرس اکسیداتیو ناشی از مواد افزودنی نظیر سدیم متا بی سولفیت که به‌عنوان نگه‌دارنده مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، سبب آسیب‌رسانی به بعضی از سلول‌ها و بافت‌های بدن و همچنین باعث بروز عوارض گوناگونی بر اندام‌های مختلف بدن می‌شوند و با عنایت به استفاده روزافزون از این ترکیب



تصویر (۱): فتومیکروگراف نوری از بافت تیروئید و وجود محورهای بزرگ و کوچک a و b

داخلی در اطراف هر فولیکول به صورت دستی و توسط نرم افزار استرئولایت رسم گردید. (شکل ۲) در این حالت ناحیه سیتوپلاسمی ( $A_{nc}$ ) از تفریق این مساحت اشغال شده توسط این دو خط مرزی محاسبه و در ادامه مساحت اشغال شده توسط هر هسته به صورت دستی و با استفاده از نرم افزار فوق محاسبه شد (اگرچه تعداد هسته‌ها در هر فولیکول معمولاً بین ۲۴ تا ۶۸ عدد می‌باشد اما به طور متوسط مساحت ۴۴ هسته اندازه‌گیری گردید) و این نواحی هسته‌ای ( $A_n$ ) را باهم جمع نموده و از کل ناحیه اصلی ( $A_{nc}$ ) کم گردید تا مساحت ناحیه سیتوپلاسمی محاسبه شود ( $A_c$ ). همچنین نسبت هسته‌ای سیتوپلاسمی با استفاده از فرمول زیر تعیین گردید (۲۳):

$$N/C \text{ ratio} = \frac{A_n}{A_{nc} - A_n}$$

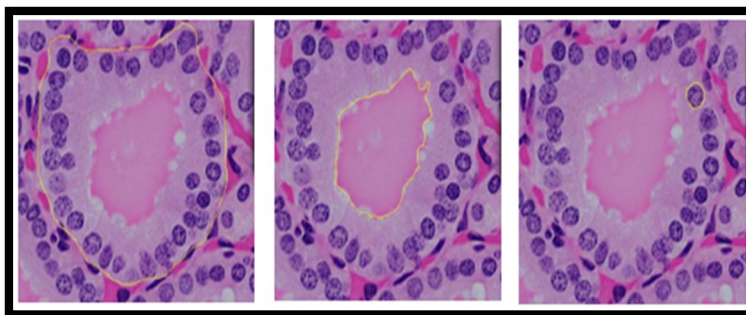
آنگاه جهت جبران اثرات برش بافت یک کره بر قطر اندازه‌گیری شده (d)، که کم‌تر از حد مورد انتظار بود، از روش Abercrombie استفاده شد تا قطری دقیق‌تر و نزدیک‌تر به مقدار واقعی محاسبه شود (۲۲). لذا میانگین قطر ( $\bar{D}$ ) با استفاده از فرمول زیر تخمین زده شد:

$$\bar{D} = d \times \frac{4}{\pi}$$

سپس اصلاح میانگین قطر ( $\bar{D}$ ) جهت بررسی حجم فضای کولوئید ( $V_{col}$ ) به فرض این‌که مقاطع عرضی معادل با یک دایره با فضای برابر است را محاسبه نموده و در نهایت حجم فضای کولوئید ( $V_{col}$ ) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۲۳):

$$V_{col} = \frac{\pi \times \bar{D}^3}{6}$$

همچنین جهت تعیین نسبت هسته‌ای سیتوپلاسمی ابتدا ۵۰ فولیکول در هر حیوان مشخص و سپس یک خط مرزی بیرونی و



تصویر (۲) فتومیکروگراف نوری از بافت تیروئید، خطوط داخلی و خارجی و همچنین مساحت اشغال شده توسط یک هسته را نشان می‌دهد.

**TSH** نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید (جدول ۱). به علاوه نتایج این بررسی نشان داد که تجویز سدیم متا بی سولفیت در دوزهای ۲۵ mg/kg و ۵۰ تأثیر معنی داری بر تعداد کل فولیکول‌ها، فولیکول‌های فعال و غیرفعال، ارتفاع اپیتلیوم فولیکول، نسبت هسته ای-سیتوپلاسمی سلول‌های فولیکولی و حجم فضای کولوئید نسبت به گروه کنترل ندارد اما در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg باعث کاهش معنی دار ارتفاع اپیتلیوم فولیکول، نسبت هسته ای-سیتوپلاسمی سلول‌های فولیکولی و تعداد کل فولیکول‌های فعال و افزایش معنی دار حجم فضای کولوئید و تعداد کل فولیکول‌های غیرفعال نسبت به حیوانات گروه کنترل در  $P \leq 0.001$  می‌شود. همچنین نتایج این بررسی نشان داد که در حیوانات تحت تیمار با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg سدیم متا بی سولفیت کاهش معنی داری در سطح  $P \leq 0.05$  و در حیوانات تحت تیمار با mg/kg ۴۰۰ سدیم متابی سولفیت کاهش معنی داری در سطح  $P \leq 0.01$  در تعداد کل فولیکول‌های تیروئیدی نسبت به حیوانات گروه کنترل مشاهده گردید (جدول ۲).

همچنین در این مطالعه، جهت اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی از کیت‌های ساخت شرکت کاوشیار ایران و از روش الایزا استفاده شد. داده‌های به دست آمده از اندازه‌گیری غلظت سرمی هورمون‌های T3، T4، TSH و نتایج حاصل از مطالعات بافتی توسط نرم‌افزار SPSS-18 و از طریق آزمون‌های تجزیه واریانس یک طرفه و توکی مورد تجزیه تحلیل قرار گرفتند و معنی داری اختلاف داده‌ها در سطح  $p \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز سدیم متا بی سولفیت در دوزهای ۲۵ و ۵۰ mg/kg تأثیر معنی داری بر میزان سرمی هورمون‌های T3، T4، TSH و نسبت به گروه کنترل ندارد اما در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg باعث کاهش معنی دار میزان سرمی هورمون‌های T3 و T4 نسبت به گروه کنترل در سطح  $P \leq 0.001$  می‌گردد و همچنین در حیوانات تحت تیمار با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg سدیم متا بی سولفیت به ترتیب افزایش معنی داری در سطح  $P \leq 0.05$  و  $P \leq 0.001$  در میزان سرمی هورمون

**جدول (۱):** مقایسه سطح سرمی هورمون‌های T3، T4، TSH و وزن بدن در گروه‌های تیمار شده با سدیم متا بی سولفیت نسبت به گروه کنترل (میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین)

وزن بدن Gr	T3 (ng/dl)	T4 (nmol/L)	TSH (IU/l)	هورمون گروه‌ها	
۲۰۲/۷۵ $\pm$ ۵/۴۹	۸۰/۰۱ $\pm$ ۰/۹۷	۲۱/۴۵ $\pm$ ۰/۴۳	۴/۷۶ $\pm$ ۰/۱۹	کنترل	
۲۷۳/۰۰ $\pm$ ۴/۸۶	۷۹/۴۲ $\pm$ ۱/۱۴	۲۰/۹۶ $\pm$ ۰/۴۷	۴/۹۶ $\pm$ ۰/۱۵	شاهد	
۲۵۵/۵۰ $\pm$ ۸/۱۶	۷۹/۷۸ $\pm$ ۰/۵۸	۲۰/۰۶ $\pm$ ۰/۴۹	۵/۰۷ $\pm$ ۰/۳۰	سدیم متابی سولفیت ۲۵mg/kg	
۲۴۳/۱۲ $\pm$ ۹/۳۵	۷۴/۰۶ $\pm$ ۲/۰۴	۱۹/۸۷ $\pm$ ۰/۲۸	۵/۱۸ $\pm$ ۰/۲۲	سدیم متابی سولفیت ۵۰ mg/kg	
۲۰۴/۸۵ $\pm$ ۷/۵۳ $\times\times$	۵۶/۷۲ $\pm$ ۲/۸۷ $\times\times$	۱۶/۱۰ $\pm$ ۰/۴۷ $\times\times$	۵/۷۰ $\pm$ ۰/۱۴	سدیم متابی سولفیت ۱۰۰ mg/kg	
۱۹۶/۷۵ $\pm$ ۷/۶۸ $\times\times$	۵۱/۶۲ $\pm$ ۲/۲۳ $\times\times$	۱۵/۷۵ $\pm$ ۰/۴۳ $\times\times$	۶/۳۸ $\pm$ ۰/۳۷ $\times$	سدیم متابی سولفیت ۲۰۰ mg/kg	
۱۷۳/۳۷ $\pm$ ۵/۲۸ $\times\times$	۵۱/۴۳ $\pm$ ۲/۷۲ $\times\times$	۱۲/۹۶ $\pm$ ۰/۳۴ $\times\times$	۷/۶۳ $\pm$ ۰/۲۶ $\times\times$	سدیم متابی سولفیت ۴۰۰ mg/kg	

$\times$  نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ( $P \leq 0.05$ ) نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

$\times\times$  نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ( $P \leq 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

**جدول (۲):** مقایسه تعداد فولیکول‌های تیروئیدی، ارتفاع اپیتلیوم فولیکول‌ها، نسبت هسته ای-سیتوپلاسمی سلول‌های فولیکولی و حجم فضای کولوئید فولیکول‌ها در گروه‌های تیمار شده با سدیم متابی سولفیت نسبت به گروه کنترل (میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین)

فولیکول‌ها گروه‌ها	تعداد کل فولیکول‌ها	تعداد کل فولیکول‌های فعال	تعداد کل فولیکول‌های غیرفعال	نسبت هسته‌ای-		
				ارتفاع اپیتلیوم فولیکول ( $\mu\text{m}$ )	سیتوپلاسمی سلول‌های فولیکولی	
حجم فضای کولوئید ( $\text{mm}^3$ )						
کنترل	۲۵/۴۲ $\pm$ ۱/۵۷	۲۲/۹۷ $\pm$ ۱/۴۲	۲/۴۵ $\pm$ ۰/۳۵	۱۱/۳۷ $\pm$ ۰/۵۴	۰/۵۸ $\pm$ ۰/۰۲	۱۵۱/۵۰ $\pm$ ۷/۶۲
شاهد	۲۵/۳۲ $\pm$ ۰/۹۰	۲۲/۹۷ $\pm$ ۰/۷۲	۲/۳۵ $\pm$ ۰/۳۰	۱۱/۲۰ $\pm$ ۰/۵۴	۰/۵۹ $\pm$ ۰/۰۳	۲۱۹/۲۹ $\pm$ ۲۷/۰۲
سدیم متابی سولفیت ۲۵mg/kg	۲۴/۵۰ $\pm$ ۱/۰۴	۲۱/۴۵ $\pm$ ۰/۷۱	۳/۰۵ $\pm$ ۰/۳۹	۱۰/۸۰ $\pm$ ۰/۳۳	۰/۵۶ $\pm$ ۰/۰۲	۲۰۶/۰۸ $\pm$ ۲۱/۴۵
سدیم متابی سولفیت ۵۰mg/kg	۲۴/۲۰ $\pm$ ۱/۵۹	۲۰/۸۷ $\pm$ ۱/۴۱	۳/۳۲ $\pm$ ۰/۵۳	۹/۹۰ $\pm$ ۰/۴۶	۰/۵۳ $\pm$ ۰/۰۲	۲۵۳/۲۳ $\pm$ ۳۹/۵۸
سدیم متابی سولفیت ۱۰۰mg/kg	۱۹/۶۵ $\pm$ ۱/۰۹ $\times$	۱۳/۶۰ $\pm$ ۰/۸۸ $\times\times\times$	۶/۰۵ $\pm$ ۰/۴۳ $\times\times\times$	۱۰/۲۱ $\pm$ ۰/۳۶	۰/۴۲ $\pm$ ۰/۰۲ $\times$	۴۲۴/۴۹ $\pm$ ۴۰/۷۷ $\times\times\times$
سدیم متابی سولفیت ۲۰۰mg/kg	۱۹/۶۲ $\pm$ ۱/۰۰ $\times$	۱۳/۴۵ $\pm$ ۰/۵۵ $\times\times\times$	۶/۱۷ $\pm$ ۰/۵۳ $\times\times\times$	۶/۶۵ $\pm$ ۰/۴۳ $\times\times\times$	۰/۳۳ $\pm$ ۰/۰۳ $\times\times$	۴۴۲/۴۹ $\pm$ ۳۱/۰۶ $\times\times\times$
سدیم متابی سولفیت ۴۰۰mg/kg	۱۶/۸۵ $\pm$ ۰/۹۳ $\times\times$	۱۰/۱۰ $\pm$ ۰/۸۸ $\times\times\times$	۶/۷۵ $\pm$ ۰/۳۹ $\times\times\times$	۶/۴۲ $\pm$ ۰/۳۲ $\times\times\times$	۰/۳۱ $\pm$ ۰/۰۳ $\times\times$	۵۱۱/۱۸ $\pm$ ۲۸/۰۶ $\times\times\times$

$\times$  نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ( $P \leq 0/05$ ) نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

$\times\times$  نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ( $P \leq 0/01$ ) نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سدیم متابی سولفیت در دوزهای بالا باعث کاهش هورمون‌های تیروئیدی و افزایش هورمون TSH و کاهش تعداد کل فولیکول‌ها، ارتفاع اپیتلیوم فولیکول، نسبت هسته ای-سیتوپلاسمی سلول‌های فولیکولی و تعداد کل فولیکول‌های فعال و افزایش حجم فضای کولوئید و تعداد کل فولیکول‌های غیرفعال می‌شود. وجود فولیکول‌هایی با سلول‌های اپیتلیومی سنگفرشی و حجم زیاد فضای کولوئید در غده تیروئید نشان‌دهنده فولیکول‌های غیرفعال و وجود فولیکول‌هایی با سلول‌های اپیتلیومی مکعبی و حجم کم فضای کولوئید نشان‌دهنده فولیکول‌های فعال می‌باشد بنابر این بزرگ‌تر بودن و به دنبال آن کاهش تعداد فولیکول‌های فعال و افزایش تعداد فولیکول‌های غیرفعال نشان‌دهنده فعالیت کم‌تر غده تیروئید و کاهش هورمون‌های T3 و T4 می‌باشد (۲۴). هم سو با نتایج این بررسی در مطالعات دیگر نشان داده شده

است که ترکیبات سولفیتی دارای اثرات سمی بر اندام‌هایی نظیر بیضه‌ها، کبد و کلیه می‌باشند (۲۵ و ۲۶). هم‌چنین نشان داده شده است که در موش‌های صحرایی تحت تیمار با سدیم متابی سولفیت، میزان مالون دی آلدئید به‌عنوان یکی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو، افزایش می‌یابد (۱۸). لذا احتمالاً در پژوهش حاضر نیز سدیم متابی سولفیت از طریق افزایش میزان مالون دی آلدئید و ایجاد استرس اکسیداتیو باعث کاهش تعداد فولیکول‌های فعال و افزایش فولیکول‌های غیرفعال و از این طریق نیز منجر به کاهش میزان سرمی هورمون‌های تیروئیدی شده است. نشان داده شده است ترکیباتی نظیر عصاره گیاه مریم گلی به خاطر داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان در حفاظت از سلول‌ها و بهبود شرایط ناهنجار ناشی از اثر مصرف ترکیبات اکسیدان بر میزان هورمون‌های تیروئیدی مؤثر است (۲۷). نشان داده شده است که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز با عث حفاظت از یکپارچگی سلول‌ها در

(۳۴ و ۳۵). نشان داده شده است که عصاره گیاه مریم گلی که توان آنتی‌اکسیدانی بدن را افزایش می‌دهد و با عث تحریک غده تیروئید و افزایش میزان سرمی هورمون‌های تیروئیدی می‌شود (۳۶ و ۳۷). نشان داده شده است که در محیط کشت سلولی سدیم بی سولفات باعث کاهش ارتباطات پروتئینی بین سلولی و کاهش شکل‌گیری کلنی‌های سلولی، و هم‌چنین کاهش حجم و تعداد سلول‌های تشکیل دهنده کلنی می‌شود (۳۸). به‌علاوه در یک بررسی دیگر مشخص گردید که ترکیبات سولفیتی از طریق اکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک دارای اثرات سمی در بدن می‌باشند (۱۵) بنابر این در پژوهش حاضر نیز احتمالاً سدیم متابی سولفیت از طریق اکسیداسیون اسیدهای نوکلئیک باعث کاهش نسبت هسته‌ای به سیتوپلاسمی در سلول‌های فولیکولی شده است و از این راه و هم‌چنین از مسیر افزایش اکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها باعث کاهش سلول‌های فولیکولی فعال و در نتیجه افزایش حجم فضای کولونید و کاهش میزان هورمون‌های تیروئیدی و افزایش TSH شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف سدیم متابی سولفیت احتمالاً به دلیل افزایش فعالیت اکسیدانی و از طریق کاهش تعداد فولیکول‌های فعال و افزایش تعداد فولیکول‌های غیرفعال باعث کاهش هورمون‌های تیروئیدی و احتمالاً به دلیل حذف اثر فیدبک منفی هورمون‌های مذکور بر ترشح هورمون TSH باعث افزایش میزان سرمی این هورمون می‌گردد. بنابر این با توجه به اهمیت هورمون‌های تیروئیدی در حفظ سلامت اندام‌های مختلف بدن پیشنهاد می‌گردد تا با تعریف کارآزمایی بالینی و انجام تحقیقات تکمیلی در انسان نسبت به تعیین تأثیر سدیم متابی سولفیت بر ساختار بافتی و عملکرد فیزیولوژیک غده تیروئید اقدام نمود. هم‌چنین با توجه به نتایج این بررسی توصیه می‌شود در مصرف سدیم متابی سولفیت به‌ویژه در دوزهای بالا در صنایع غذایی احتیاط نمود.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز که امکانات این مطالعه را فراهم نمودند کمال تقدیر و تشکر به عمل می‌آورند.

### References

- 1- Boelaert K, Franklyn JA. Thyroid hormone in health and disease. *J Endocrinol* 2005;187(1): 1-15.

مقابل اثرات مخرب ترکیبات بر ساختار لیپیدی غشاء در سلول‌های مختلف می‌شود (۲۸) و از آن‌جا که سدیم متا بی سولفیت با ایجاد استرس اکسیداتیو باعث افزایش میزان غلظت مالون دی‌آلدئید و هم‌چنین کاهش غلظت آنزیم کاتالاز می‌گردد (۱۷) لذا احتمالاً با تخریب سلول‌های فولیکولی و با کاهش تعداد فولیکول‌های فعال و افزایش تعداد فولیکول‌های غیرفعال باعث کاهش میزان سرمی هورمون‌های هورمون‌های T3 و T4 شده است و با کاهش هورمون‌های مذکور و حذف اثر فیدبکی منفی آن‌ها بر ترشح هورمون TSH باعث افزایش این هورمون شده است. به‌علاوه در یک مطالعه دیگر نشان داده شده است که در موش‌های صحرایی دریافت کننده ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی نظیر ویتامین‌های E و C میزان سرمی هورمون‌های تیروئیدی افزایش می‌یابد (۲۹). لذا با عنایت به اثرات آکسیدانی سدیم متابی سولفیت در دوزهای بالا منجر به کاهش میزان سرمی هورمون‌های تیروئیدی شده است. نشان داده شده است که استرس‌های اکسیداتیو باعث ایجاد شرایط هیپو تیروئیدیسم و آسیب بافتی در غده تیروئید می‌شوند (۳۰). هم‌چنین مشخص شده است که مالون دی‌آلدئید و گلووتاتیون هر دو از طریق آسیب بافتی در غده تیروئید باعث کاهش هورمون‌های تیروئیدی می‌شوند (۳۱). به‌علاوه در یک مطالعه دیگر نیز نشان داده شده است که در بیماران با اختلال هیپوتیروئیدیسم میزان درون بافتی و سرمی مالون دی‌آلدئید نسبت به افراد سالم افزایش نسبتاً زیاد می‌یابد (۱۱). در یک بررسی نشان داده شده است که در موش‌های صحرایی با اختلال هیپوتیروئیدیسم فعالیت آنزیم کاتالاز و مالون دی‌آلدئید افزایش یافته است (۳۲) لذا با عنایت به آن‌که سدیم متابی سولفیت باعث افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید و کاهش کاتالاز می‌شود (۱۷) لذا سدیم متابی سولفیت در پژوهش حاضر نیز احتمالاً از طریق استرس اکسیداتیو باعث کاهش میزان سرمی هورمون‌های تیروئیدی شده است. نتایج یک بررسی نشان داده است که افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن از دلایل اصلی بیماری هیپوتیروئیدیسم به حساب می‌آیند (۳۳). در یک مطالعه نشان داده شد که استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان برای درمان اختلال هیپوتیروئیدیسم مفید است (۱۱). در مطالعات نشان داده شده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر عصاره زردچوبه، ویتامین‌های C و E باعث افزایش میزان سرمی هورمون‌های تیروئیدی در افراد با اختلال هیپوتیروئیدیسم می‌شود

- 2- Hoermann R, Eckl W, Hoermann C, Larisch R. Complex relationship between free thyroxine and

- TSH in the regulation of thyroid function. *Eur J Endocrinol* 2010;162(6): 1123-9.
- 3- Hemachandra LP, Madhubhani P, Chandrasena R, Esala P, Chen SN, Main M, et al. Hops (*Humulus lupulus*) Inhibits Oxidative Estrogen Metabolism and Estrogen-Induced Malignant Transformation in Human Mammary Epithelial cells (MCF-10A). *Cancer Prev Res (Phila)* 2012;5(1): 73-81.
- 4- Rodondi N, Aujesky D, Vittinghoff E, Cornuz J, Bauer DC. Subclinical hypothyroidism and the risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Am J Med* 2006;119(7): 541-51.
- 5- Bruel-Jungerman E, Davis S, Laroche S. Brain plasticity mechanisms and memory: a party of four. *Neuroscientist* 2007;13(5): 492-505.
- 6- Zhang L, Blomgren K, Kuhn HG. Effects of postnatal thyroid hormone deficiency on neurogenesis in the juvenile and adult rat. *Neurobiol Dis* 2009;34(2): 366-74.
- 7- Iglesias P, Díez J J. Thyroid dysfunction and kidney disease. *Eur J Endocrinol* 2009;160(4): 503-15.
- 8- Chiamolera MI, Wondisford FE. Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism. *Endocrinology* 2009;150(3): 1091-6.
- 9- Changizi Ashtiyani S, Zarei A, Taheri S, Ramazani M. Effect of alcoholic extract of *Portulaca Oleracea* on serum level of thyroid hormones in hypercholesterolemic Rats. *J Gorgan Uni Med Sci* 2015; 17 (2): 52-8.
- 10- Hashempour Z, Hosseini E. The Effect of Hydroalcoholic Vac Extract on Pituitary-Thyroid Axis Function in Adult Male Rats. *JBUMS* 2016; 18 (7): 41-7.
- 11- Widad J H, Ragaa KH, Alfallooji S. The Correlation between Oxidative Stress and Thyroid Hormones in Serum and Tissue Homogenized of Hypothyroidism Patients. *Med J Babylon* 2012;9(4): 843-9.
- 12- Sawant BUP, Nadkarni G D, Thakare U R, Joseph L J, Rajan M G. Changes in lipid peroxidation and free radical scavengers in kidney of hypothyroid and hyperthyroid rats. *Indian J Exp Biol* 2003;41(11): 1334-7.
- 13- Peyravi A, Firouzi Z, Meshkibaf M H. The Protective Effects of Vitamins C and E on The Oxidative Stress Induced by Sodium Metabisulfite on The Kidney Tissue in Adult Rats. *J Fasa Univ Med Sci* 2016; 6 (2): 146-54.
- 14- Vally H, Misso NL. Adverse reactions to the sulphite additives. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2012;5(1): 16-23.
- 15- Ozturk N, Derin N, Akpinar D, Agar A, Aslan M. Dose-dependent effect of nutritional sulfite intake on visual evoked potentials and lipid peroxidation. *Neurotoxicol Teratol* 2011;33(2): 244-54.
- 16- El Kad FZ, Bénali AI, Bénali M, Belbraouet S. Effect of sodium metabisulfite on blood metabolic status of wistar rats. *Food and Nutrition. Sciences* 2014;5(5): 1529-37.
- 17- Rezaee N, Nematollahi Z, Shekarfroush S, Hoseini E. Effect of Sodium Metabisulfite on Rat Ovary and Lipid Peroxidation. *Iranian Journal of Toxicology* 2016;10(2): 23-28.
- 18- Karimfar MH, Noorafshan A, Rashidani-Rashidabadi A, Poostpasand A, Asadi-Golshan R, Abdollahifar MA, et al. Curcumin prevents the structural changes induced in the rats' deep cerebellar nuclei by sodium metabisulfite, a preservative agent. *Asian Pac J Trop Med* 2014;7S1: S301-305.

- 19- Adebayo OL, Adenuga GA. Oxidative damage on the testes of adult rats by sodium metabisulfite (MBS). *Int J Biol Chem Sci* 2012;6(2): 738-44.
- 20- Feng C, Tollin G, Enemark JH. Sulfite oxidizing enzymes. *Biochim Biophys Acta* 2007;1774(5): 527-39.
- 21- Erbas M, Sekerci H, Arsalan S. Effect of sodium meta bisulfite addition and baking temperature on maillard in reaction in bread. *J Food Qual* 2012;35(2): 144-51.
- 22- Abercrombie M, Johnson ML. Quantitative histology of Wallerian degeneration: I. Nuclear population in rabbit sciatic nerve. *J Anat* 1946;80: 37-50.
- 23- Kot BC, Lau TY, Cheng SC. Stereology of the Thyroid Gland in Indo-Pacific Bottlenose Dolphin (*Tursiops aduncus*) in Comparison with Human (*Homo sapiens*): Quantitative and Functional Implications. *J Plos One* 2013;8 (5): 1-7.
- 24- Bahar A, Akha O, Kashi Z, Vesgari Z. Hyperprolactinemia in association with subclinical hypothyroidism. *Caspian Caspian J Intern Med* 2011; 2(2): 229-33.
- 25- Brewe MS. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Application. *Comprehensive review in food. Sci Food Safety* 2011;10(4): 221-247.
- 26- Houshmand F, Zahedi asl S. The role of oxytocin on cardiac ischemia-reperfusion-induced oxidative stress in rats. *Iranian J Endocrinol Metab* 2011; 12(6): 633-40. (Persian)
- 27- Adebayo OL, Adenuga GA. Oxidative damage on the testes of adult rats by sodium metabisulfite (MBS). *Int J Biol Chem Sci* 2012;6(2): 738-44.
- 28- Elmas O, Aslan M, Caglar S, Derin N, Agar A, Aliciguzel Y, et al. The prooxidant effect of sodium metabisulfite in rat liver and kidney. *Regul Toxicol Pharmacol* 2005;42(1): 77-82.
- 29- Peepre K, Deshpandey U, Choudhary PS. Role Of Antioxidants on Thyroid Hormones In Wister Rats. *IJSR* 2014;3(1): 34-8.
- 30- Mancini A, Di Segni C, Raimondo S, Olivieri G, Silvestrini A, Meucci E, et al. Thyroid Hormones, Oxidative Stress, and Inflammation. *Mediators Inflamm* 2016;2016:6757154.
- 31- Hamid WJ. Oxidative Stress Induced Histological Changes in Thyroid of Hyperthyroidism Patients. *IJESIT* 2013;2(1): 324-30.
- 32- Lingfa K, Quanwei WEI, Jaafar Sulieman F, Fangxiong SHI, Kentaro N, Gen W. Effects of thyroid hormones on the antioxidative status in the uterus of young adult rats. *J Reprod Dev* 2015; 61(3): 219-27.
- 33- Mogulkoc R, Baltaci AK, Oztekin E, Ozturk A, Sivrikaya A. Short-term thyroxine administration leads to lipid peroxidation in renal and testicular tissues of rats with hypothyroidism. *Acta Biol Hung* 2005;56(3-4): 225-32.
- 34- Petrulea MS, Duncea I, Hazz G, Dragotoiu G, Muresan A. Oxidative stress in experimental hypothyroidism: effect of vitamine supplementation. *Clujul Med* 2010; (333): 245-9.
- 35- Deshpanda UR, Joseph LJ, Patwadhan UN, Samuel AM. Effect of antioxidants (vitamin C, E and turmeric extract) on methimazole induced hypothyroidism in rats. *Indian J Exp Biol* 2002;40(6): 735-8.
- 36- Mirazi N, Abdolmaleki N, Mahmoodi M. Study of *Salvia Officinalis* Hydroethanolic Extract on Serum Thyroid Hormone Levels in Hypothyroid Male Rat. *Sci J Hamadan Univ Med Sci* 2013; 19 (4): 27-35.



- 37- Lima CF, Andrade PB, Seabra RM, Ferreira FM, Pereira WC. Water and methanolic extracts of *salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chem Biol Interact* 2007; 167(2): 107-15.
- 38- Stamatii A, Zanetti C, Pizzoferrato L, Quattrucci E, Tranquilli GB. In vitro model for the evaluation of toxicity and antinutritional effects of sulphites. *Food Addit Contam* 1992;9(5):551-60.

## HISTOMORPHOMETRICAL EFFECTS OF SODIUM META-BISULFITE ON TISSUE AND THYROID HORMONES IN ADULT MALE RATS

Kiamars Khalily<sup>1</sup>, Seyed Ebrahim Hosseini<sup>2\*</sup>

Received: 6 Jan, 2018; Accepted: 16 Mar, 2018

### Abstract

**Background & Aims:** Sodium meta-bisulfite is an inorganic compound that is used for food storage and may have side-effects on different body organs. Given the importance of thyroid hormones in regulating metabolism and tissues function, this study aimed to investigate the effect of sodium meta-bisulfite on histological structure and thyroid function in adult male rats was performed.

**Materials & Methods:** In this experimental study, 70 adult male rats divided as control (no treatment), sham (physiological saline treatment) and 5 experimental groups receiving sodium meta-bisulfite doses at 25, 50, 100, 200 and 400 mg/kg, were used respectively. Prescribed by gavage for 28 days was conducted. Then, after collecting blood samples for measuring the hormones T3, T4 and TSH, their thyroid removed and after preparing tissue sectioning, the follicle were counted and compared and the results using ANOVA and Tukey analyzed, so a significant difference of data at  $p \leq 0.05$  was considered.

**Results:** The results showed that sodium meta-bisulfite at doses 100, 200 and 400 mg/kg significantly reduced the amount of T3 and T4 and active follicles numbers and significantly increased the colloid space and inactive follicles at  $P \leq 0.001$  and so, in doses of 200 and 400 mg/kg, respectively, significantly increase at  $P \leq 0.05$  and  $P \leq 0.001$  in TSH hormones levels compared to the control group.

**Conclusion:** The results showed that sodium meta-bisulfite by reducing the active thyroid number of follicles, leads to decreased thyroid hormones and by removing the negative feedback of these hormones causes increased TSH.

**Keywords:** Histomorphometry, Thyroid, Rat, Hormones T3, T4, TSH

**Address:** Department of Physiology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

**Tel:** +989171183917

**Email:** ebrahim.hosseini@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2018; 29(2): 142 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> MSc. in Physiology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Physiology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran  
(Corresponding Author)