



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية - كلية التربية

قسم علوم الحياة

تأثير بنزوات الصوديوم على بعض هورمونات التكاثر في

ذكور الجرذان البيض

Effect of Sodium Benzoate on Some of  
Reproduction Hormones in White Male Rats

بحث مقدم من قبل الطالبان

ايناس سعد جبار

ظاهر وصفي ظاهر

الى مجلس رئاسة كلية التربية - جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات

نيل درجة البكالوريوس في علوم الحياة

بإشراف

أ.م.د اسيل نجاح

1439هـ

2018م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ اللَّهُ وَلِيُّ الَّذِينَ آمَنُوا يُخْرِجُهُم مِّنَ الظُّلُمَاتِ إِلَى

النُّورِ ﴾

صدق الله العلي العظيم

البقرة آية: (257)



## الإهداء

الى سيد الكائنات رسولنا الكريم محمد (صلى الله عليه وآله وسلم)  
والى الذين ربباني على الايمان بالحق والصرامة .. وعلماني ان  
السعادة ليس في جاه يغتصب .. ولا مال ينهب .. وانما هي في  
طلب العلم ونفس راضية وضمير تقي .. وقلب طهور ..

الى امي وابي واخوتي الاعزاء

الى ارواح الشهداء اهدي هذا العطاء

والله ولي التوفيق



## الباحثان

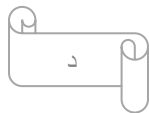
## شكر وعرفان

الحمد والشكر لله جل جلاله وعم نواله الذي علمنا ما لم نعلم وهدانا لهذا وما كنا  
لنهدتي لولا هداه . والصلاة والسلام على سيد المرسلين محمد وأله ((الطيبين  
الطاهرين))

يسرني وأنا في هذا المقام أن أرفع أسمى آيات الحب والامتنان  
والتقدير لكل من علمني حرفا لاساتذتي الاجلاء الذين أناروا لي سبيل  
العلم والمعرفة فجزاهم الله عني خير الجزاء .

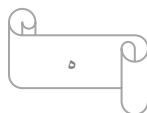
هذا وشكري الجزيل إلى استاذتي المشرفة على بحثي الاستاذة الدكتورة  
(اسيل نجاح) والى كل من قام بمساعدتي وحاول تقديم العون وتذليل  
الصعوبات التي تقف أمام الباحث متمنين للجميع الصحة والسعادة ...  
هذا ومن الله التوفيق

الباحثان



## الخلاصة

أجريت الدراسة لغرض تقييم تأثير مادة بنزوات الصوديوم الحافظة على مستويات بعض هرمونات التكاثر في ذكور الجرذان البيض البالغة ، وقد بينت النتائج أن معاملة ذكور الجرذان فموياً ببنزوات الصوديوم بتركيز 150 ملغم / كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوم قد أدت إلى حصول انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى كل من الهرمون اللوتيني وهرمون التيسستوستيرون مقارنة مع مجموعة السيطرة ، مما يشير إلى إمكانية تأثير سبير العملية التكاثرية سلبياً نتيجة المعاملة بهذه المادة .



## الفصل الأول

### المقدمة Introduction

تعتبر بنزوات الصوديوم التي تحمل الرقم E211 في نظام ترقيم المواد المضافة الخاص بالاتحاد الأوروبي من أشهر المواد الحافظة وهي الملح الصوديومي لحمض البنزويك و هو عبارة عن مسحوق ابيض ينتج عن طريق تفاعل هيدروكسيد الصوديوم مع حمض البنزويك ، له الصيغة الكيميائية  $NaC_7H_5O_2$  و الصورة الفعالة منه هي الحامض ولكنه يُضاف في صورة بنزوات الصوديوم لأنها أكثر قابلية للذوبان من الحمض ب 200 مرة ، وبعد إضافته للأغذية يتحول إلى الحامض و يؤثر على الميكروبات في صورته الحامضية (Stanojevic *et al.*, 2009) . ويتراوح الأس الهيدروجيني الأقصى لتثبيط الميكروبات بواسطة حامض البنزويك ما بين 2.5-4 لذلك يستخدم حامض البنزويك لحفظ الأغذية ذات الحامضية العالية (FDA,2011). يوجد حامض البنزويك طبيعياً في بعض النباتات مثل التوت البري ، الخوخ ، البرقوق ، القرفة ، القرنفل و التفاح ( Hazan *et al.*,2004) .

يبلغ الإنتاج السنوي لبنزوات الصوديوم حوالي 600 ألف طن و تُعد مثبّطاً بكتيرياً bacteriostatic و مثبّطاً فطرياً fungistatic في الظروف الحامضية وتُستخدم على نطاق واسع في الأطعمة الحامضية مثل المشروبات الغازية و المربى و عصير الفواكه والمخللات و التوابل (Zengin *et al.*,2011). كما أنها تستخدم كمادة حافظة في الأدوية ومستحضرات التجميل (Nishna *et al.*,2012)، و تتغير الحدود العليا المسموح بها للبنزوات في الغذاء حيث تبلغ في الولايات المتحدة الأمريكية 0.1 % بينما تتراوح لدول أخرى من العالم بين 0.15 – 0.25 % ، أما في دول الاتحاد الأوروبي فتتراوح الحدود المسموح بها بين 0.015 – 0.5 % (European Commission,1995) .

أشارت عديد من الدراسات إلى التأثيرات العكسية للبنزوات على اللبائن ،فمن أعراض التسمم الحاد بالجرعات العالية من بنزوات الصوديوم في الإنسان هي التهيج المعدي المعوي والتأثيرات على الجهاز العصبي المركزي، وأوضحت دراسات سابقة أن تناول 25 ملغم / كغم من وزن الجسم من بنزوات الصوديوم يومياً لمدة 20 يوماً يسبب التهيج Irritation و عدم الارتياح Discomfort والتوعك Malaise (SCF,1994). كما ذكر Fujitani (1993) أن معاملة الجرذان ببنزوات الصوديوم قد تسببت في الانخفاض المعنوي لكل من وزن الجسم وعدد الصفيحات الدموية وأوزان الكبد والرئتين بالإضافة إلى حدوث حالة التهيج وفقدان التحكم بالحركات Ataxia و الانطواء وحصول تغيرات نسجية مرضية في

الدماغ . وذكر Kaboglu وAktac (2002) حدوث انخفاض معنوي في وزن الجسم للفئران المعاملة فموياً بالتراكيز 3 % و4 % من بنزوات الصوديوم إضافةً إلى حدوث زيادة في وزن الكبد.

#### الهدف من الدراسة :

هدفت الدراسة إلى معرفة تأثير التجريع الفموي لمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 150 ملغم/كغم من وزن الجسم على ذكور الجرذان البيض لمدة 30 يوم من خلال قياس :

- 1- مستوى الهرمون اللوتيني Luteinizing hormone في مصل الدم .
- 2- مستوى هرمون التستوستيرون Testosterone hormone في مصل الدم .

## الفصل الثاني

### مواد وطرائق العمل Materials and Methods

أجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني التابع إلى قسم علوم الحياة – كلية التربية / جامعة القادسية ، وأُستعملت في هذه الدراسة ذكور الجرذان البيض *Rattus norvegicus* .

وضعت حيوانات التجربة في أقفاص بلاستيكية خاصة ، ذات أغطية معدنية مشبكة ومفروشة بنشارة الخشب وتمت العناية بنظافة الأقفاص وتعقيمها بالمطهرات ، فضلاً عن تنظيف قناني الإرواء وغرفة الإيواء. خضعت حيوانات التجربة إلى ظروف مختبرية مناسبة بدرجة حرارة 20 – 25 درجة مئوية وقد زودت الحيوانات خلال مدة التجربة وبصورة حرة *ad libitum* بالماء و العليقة.

بنزوات الصوديوم:

أُستعمل في هذه الدراسة مادة بنزوات الصوديوم بتركيز 150ملغم / كغم من وزن الجسم (Oyewole, 2012) et al. وتم تجريع الحيوانات بواقع 0.5 مل لكل حيوان عن طريق الفم باستخدام أنبوب التجريع .

تصميم التجربة

أُستخدم في هذه الدراسة (10) ذكور بالغة بعمر 10 أسابيع و بمعدل وزن 180-200غم ، حيث قسمت عشوائياً إلى مجموعتين (5 حيوانات للمجموعة ) هما :

**مجموعة السيطرة Control group C**: أعطيت الحيوانات في هذه المجموعة ماء الشرب العادي لمدة 30 يوم .

**مجموعة المعاملة الأولى T1** : جرعت الحيوانات في هذه المجموعة فموياً بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 150 ملغم / كغم من وزن الجسم بواقع (0.5) مل كل أربعة أيام لمدة شهر .

جمع العينات Samples collection

بعد انتهاء مدة التجربة تم تخدير الحيوانات باستخدام الكلوروفورم Chloroform وسُحب الدم من القلب مباشرةً Heart Puncture باستعمال محقنة طبية معقمة سعة 5 مل ، حيث وضع الدم في أنابيب اختبار نظيفة خالية من المادة المانعة للتخثر وتركت لمدة 15-20 دقيقة في درجة حرارة المختبر ثم وضعت العينات داخل جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة لغرض فصل



المصل ، عزل المصل بواسطة ماصة دقيقة ووضع في أنابيب بلاستيكية جديدة لغرض إجراء الاختبارات الهرمونية وتم حفظ المصل بدرجة حرارة -20 درجة مئوية لحين الاستعمال .

التحليل الأحصائي

حللت النتائج أحصائياً وقورنت باستخدام اختبار T عند مستوى احتمال 0.05 .

## الفصل الثالث

### النتائج والمناقشة Results and Discussion

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى حصول إنخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في تركيز كل من هرموني LH و التيستوستيرون في مصل الدم لذكور الجرذان البالغة في المجموعة T1 المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 150 ملغم/ كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوم وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة C. وكما هو موضح في جدول (1).

جدول (1) : تأثير بنزوات الصوديوم على مستويات الهرمون اللوتيني LH وهورمون التيستوستيرون T في ذكور الجرذان البيض :

المجاميع	LH(ng/L)	T(ng/L)
مجموعة السيطرة C	0.21±4.2	0.8±5.5
مجموعة المعاملة الاولى T <sub>1</sub>	*0.03 ±3.00	*0.10±3.5

الارقام تشير الى المعدل ± الخطأ القياسي

\* تشير الى فروق معنوية ( $P < 0.5$ ) بين المجموعتين في مستويات الهرمون .

إن الإنخفاض المعنوي في تراكيز الهرمون اللوتيني و التيستوستيرون يمكن أن يُعزى إلى ضرر الإجهاد التأكسدي الناتج من معاملة الجرذان ببنزوات الصوديوم ،حيث أكدت عديد من الدراسات إن الإجهاد التأكسدي يمكن أن يُثبط وظيفة تحت المهاد مما يؤدي إلى إنخفاض عملية إنتاج محرضات المناسل Gonadotropins من الغدة النخامية وبالتالي تثبيط إفراز هرمون التيستوستيرون (Kumar *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2008) إذ تعمل محرضات المناسل من خلال المستقبلات المرتبطة بروتين G (G-protein) على التحكم بعملية بناء الكوليسترول (الجزئية الأساسية في بناء الستيرويدات Steroidogenesis) بواسطة تنشيط أنزيمات عملية بناء الكوليسترول (Murugesan *et al.*, 2007; Rosati *et al.*, 2011). كما إن المصدر المفضل للكوليسترول في الخلايا المكونة للستيرويدات Steroidogenic cells هو أسترات الكوليسترول Cholestrol esters المشتقة من

البروتينات الدهنية واطئة الكثافة Low density lipoproteins (LDL) والبروتينات الدهنية عالية الكثافة High density lipoproteins (HDL) في الدم والتي يتم أخذها بواسطة مستقبلات LDL و HDL التي تقع على سطح الخلايا المكونة للستيرويدات (Brown and Goldstein, 1997; Cao *et al.*,1999; Barlow *et al.*, 2003) .  
وتُحفز محرضات المناسل التعبير الجيني لمستقبلات LDL و HDL وبالتالي فهي تتحكم في إكتساب وتداخل كل من LDL و HDL في الخلايا المكونة للستيرويدات (Bousfield *et al.* ,1994).

كما إن هرمون LH يمكن أن يُنشط أنزيم Cholestrol esters hydrolase في مسار معتمد على cyclic Adenosin MonoPhosphate cAMP وهذا يمكنه من التحكم بأخذ أسترات الكوليسترول خلال عملية بناء الستيرويدات (Faused, 1999). لذلك فإن إنخفاض إنتاج محرضات المناسل من النخامية يؤدي إلى تثبيط عملية بناء الكوليسترول وعملية نقل أسترات الكوليسترول إلى الأنسجة المكونة للستيرويدات وكذلك تحويل أسترات الكوليسترول إلى كوليسترول وكل هذا يتسبب في أنخفاض وفرة الكوليسترول للخلايا المكونة للستيرويدات مما يؤدي إلى انخفاض تركيز هرمون التيستوستيرون .

## References المصادر

- Barlow, N. J. ; Phillips, S. I. ; Wallace, D. C. ; Gaido, W. K. and Foster, P. M. D. (2003).** Quantitative changes in gene expression in fetal rat testis following exposure to di(n-butyl) phthalate. *Toxicol. Sci.* 73(2): 431–451.
- Bousfield, G. R. ; Perry, W. M. and Ward, D. N. (1994).** Gonadotrophins: Chemistry and Biosynthesis. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.), *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York, USA. pp. 1749–1792.
- Brown, M. S. and Goldstein, J. L. ( 1997).** The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of membrane bound transcription factor. *Cell*,89(3): 331–340.
- Cao, G. ; Zhao, L. ; Strangle, H. ; Hasegawa, T. ; Richardson, J. A. ; Parker, K. L. and Hobbs, H. H. ( 1999).** Developmental and hormonal regulation of murine scavenger receptor, class B, type 1. *Mol. Endocrinol.* 13(9): 1460–1473
- European Commission.(1995).** European Union Directive 95/2/CE from 20.02.1995 on food additives, colourants and sweeteners. European Commission.
- Fausser, B. C. J. M.( 1999).** *Molecular Biology in the Reproductive Medicine*. Parthenon Publishing, New York, USA. pp. 234–251.
- FDA(Food and Drug Administration).(2011).** Requirements for specific standardized margarine-preservatives Benzoic acid ,sodium benzoate, potassium and calcium benzoate.
- Fujitani,T .(1993).** Short term effect of sodium benzoate in F344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicol. Lett.* 69(2): 171-179.
- Hazan, R. ; Levine, A. and Abeliovich, H.(2004).** Benzoic acid, a weak organic acid food preservative, exerts specific effects on intracellular membrane trafficking pathways in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(8): 4449–4457.
- Kaboglu, A. and Aktac, T. A.(2002).** Study of the effects of the sodium benzoate on the mouse liver. *Biology Bratislava.* 57 (3): 375 – 380 .

**Kumar, V. ; Chakraborty, A. ; Kural, M. R. and Roy, P. (2009).** Alteration of testicular steroidogenesis and histopathology of reproductive system in male rats treated with triclosan. *Reprod.Toxicol.*27(2): 177–185.

**Li, Y. ; Sheng, J. ; Sha, J. and Han, X. D.(2008).** The toxic effects of microcystin-LR on the reproductive system of male rats in vivo and in vitro. *Reprod. Toxicol.* 26(3-4): 239–245.

**Murugesan, P. ; Muthusamy, T. ; Balasubramanian, K. and Arunakaran, J. (2007).** Effects of vitamins C and E on steroidogenic enzymes mRNA expression in polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) exposed adult rat Leydig cells. *Toxicology* ,232(3): 170–182.

**Nishna, K. P. ; Robin, P. C. ; Harikumar, R. and Jayachandran, V.P.(2012).** A study on the presence of sodium benzoate in commercially available samples of Dasamoolarista – an ayurvedic preparation. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Science* ,1(4): 1387-1389.

**Oyewole , O. ; Dere, F. and Okoro, O. (2012).** Sodium benzoate mediated hepatorenal toxicity in wistar rat: modulatory effects of *Azadirachta indica* (neem) leaf. *Eur. J. Med .Plants* . 2(1): 11-18.

**Rosati, F. ; Sturli, N. ; Cungi, M. C. ; Morello, M. ; Villanelli, F. ; Bartolucci, G. ; Finocchi, C. ; Peri, A. ; Serio, M. and Danza, G.(2011).** Gonadotropin-releasing hormone modulates cholesterol synthesis and steroidogenesis in SH-SY5Y cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 124(3-5): 77-83.

**SCF(Scientific Committee for Food) (1994).** Opinion on Benzoic acid and its salts.. 35th Series.

**Stanojevic, D. ; Comic, L. ; Stefanovic, O. and Solujic-sukdolac, S. I.(2009).** Antimicrobial effects of sodium benzoate , sodium nitrate and potassium sorbate and their synergistic action *in vitro*. *Bulgarian Journal of Agricultural Science.* 15 (4): 307-311.

**Zengin, N ; Yuzbaşıoğlu, D. ; Unal, F. ; Yilmaz, S. and Aksoy, H.(2011).** The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food Chem. Toxicol.* 49(4): 763-769.