Effect of sodium benzoate in levels of some biochemical parameters in mature albino male rats

تأثير بنزوات الصوديوم في مستويات بعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذان الألبينو البالغة

*م. أسيل نجاح صبر- كلية التربية - جامعة القادسية
أ. د. احسان ريسان ابراهيم – كلية الصيدلة – جامعة القادسية
*البحث مستل من اطروحة الدكتوراه للباحث الأول
المراسلات الى م. أسيل نجاح صبر

الخلاصة

أجريت الدراسة في البيت الحيواني التابع لكلية التربية-جامعة القادسية خلال شهر تشرين الأول لغرض دراسة تأثير بنزوات الصوديوم على مستويات بعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذان الألبينو البالغة بعمر ثلاثة أشهر ، و أن معاملة ذكور الجرذان الألبينو البالغة فموياً بثلاث تراكيز من بنزوات الصوديوم (50 و 100 و 200) ملغم/كغم ولثلاث مدد تجريع هي أسبوع و أسبوعان و ثلاث اسابيع قد أدت إلى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستويات أنزيمي ALT وAST في مجاميع التجريع الثلاثة 50 ملغم/كغم(G1) و 100 ملغم/كغم(G2) و 200 ملغم/كغم(G3) خلال كل مدة من مدد التجربة بالمقارنة مع مجاميع السيطرة. وبالمقارنة بين المدد لكل معاملة فقد أظهر مستوى أنزيم ALT ارتفاعا معنوياً ($P<0.05$) خلال المدتين أسبوعين وثلاثة أسابيع للمعاملة مقارنة بمدة أسبوع في المجاميع G1 ،G2 وG3. كما أظهر مستوى أنزيم AST ارتفاعا معنوياً ($P<0.05$)خلال المدة ثلاثة أسابيع للمعاملة في G1 وكذلك خلال المدتين أسبوعين وثلاثة أسابيع في كل من G2 وG3 . كما أظهرت النتائج حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي في G1 خلال مدة أسبوع للمعاملة وكذلك في المجاميع G1 ،G2 وG3 خلال المدتين أسبوعين وثلاثة أسابيع للمعاملة .وبالمقارنة بين المدد لكل معاملة فقد أظهر مستوى البيليروبين الكلي ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) خلال مدة ثلاثة أسابيع للمعاملة في G1 وخلال المدتين أسبوعين وثلاثة أسابيع في كل من G2 وG3.

Abstract

The study was conducted in the animal house of Education college, University of Al-Qadisiyah during the month of October in order to study the effect of sodium benzoate on the levels of certain biochemical parameters in adult albino male rats with three months old, The orally treatment of mature albino male rats with three different concentrations of sodium benzoate (50, 100, 200) mg/kg for three different durations(one, two and three)week were lead to a significant increase ($P<0.05$) in the levels of ALT and AST enzymes in the 50 mg/kg (G1), 100mg/kg(G2) and 200mg/kg(G3) groups during each period of experiment in comparison with control groups. The comparison between durations for each treatment was showed that the level of ALT was significantly increased ($P<0.05$) during two and three weeks of treatment in comparison with on week in the G1,G2 and G3 groups, the level of AST was also increased significantly ($P<0.05$) during three weeks of treatment in G1and during two and three weeks of treatment in both G2 and G3.The results was also showed a significant increase ($P<0.05$) in the level of total bilirubin in G1group during one week of treatment and in the G1,G2 and G3 groups during two and three weeks of treatment in comparison with control groups. The comparison between durations was showed that the level of total bilirubin was significantly increased ($P<0.05$) during three weeks of treatment in G1and during two and three weeks of treatment in both G2 and G3.

المقدمة

أهتم الناس بالحفاظ على الغذاء لاستهلاكه فيما بعد، وعلى مدى الوقت جربت العديد من طرق حفظ الغذاء منها التسخين و التجميد و التجفيف و التخمير وإضافة المواد الحافظة الكيميائية التي أزداد استخدامها في السنوات الأخيرة نتيجة التطورات في تسويق وتوزيع الغذاء الذي نستهلكه وكذلك بسبب التشكيلة الواسعة من الأغذية المعروضة للاستهلاك [1] . تستخدم المواد الحافظة

الكيميائية لمنع الفساد الكيميائي والحيوي للأغذية ويتضمن الفساد الكيميائي أكسدة وتلون الأغذية باللون البني أما الفساد الحيوي فيتضمن تحلل الأغذية بفعل الأحياء المجهرية الدقيقة ، ومن المواد الحافظة الكيميائية المواد الحافظة المضادة للميكروبات التي تثبط نمو البكتريا والخمائر و الأعفان والتي يمكن أن تنتج تأثيرات غير مرغوب بها في كل من مظهر وطعم الأغذية وكذلك قيمتها الغذائية ،كما يمكنها أن تنتج سموماً تشكل خطراً كبيراً على صحة الأنسان ومن أمثلة هذه المواد البنزوات Benzoates [2] حيث يعتبر حامض البنزويك وهو أحد الحوامض العضوية وكذلك ملحهُ بنزوات الصوديوم من المواد شائعة الاستخدام كمواد حافظة للكثير من المنتجات المستهلكة من قبل الأنسان[3] و تتغاير 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% [4] . أجريت عدة دراسات هدفت إلى التحقق من التأثيرات قصيرة وطويلة المدى لاستهلاك المنتجات المحفوظة بالبنزوات ، وأغلب هذه الدراسات تناولت تنظيم الأعضاء والمعايير السريرية لكل من الأنسان والحيوانات التجريبية ، بعض هذه الدراسات أشارت إلى وجود تأثيرات عكسية تعود إلى كل من الاستهلاك المزمن وتحت المزمن لبنزوات الصوديوم تضمنت تغيرات في معايير مصل الدم ، الزيادة النسبية في أوزان الكلى والكبد ، تغيرات نسجية مرضية في الكبد و اضطرابات تتعلق بالجهاز العصبي المركزي [5] [6] .ويعتبر الكبد العضو الرئيس لمختلف تفاعلات الأيض وأزالة السمية لذلك فقد هدفت الدراسة الحالية الى تحديد تأثير معاملة ذكور الجرذان الألبينو البالغة بثلاث تراكيز مختلفة من بنزوات الصوديوم ولثلاث مدد مختلفة على بعض المؤشرات الوظيفية للكبد وتشمل مستويات الأنزيمات الناقلة للأمين Alanine amino transferase ALT و Aspartate amino transferase AST و البيليروبين Bilirubin.

المواد و طرائق العمل

تم في هذه الدراسة تحضير ثلاث تراكيز من مادة بنزوات الصوديوم وهي (50 ،200،100) ملغم /كغم من وزن الجسم و تم تجريع الحيوانات بواقع (0.5) مل لكل حيوان عن طريق الفم باستخدام محقنة نبيذة خاصة .حيث أستعمل (60) حيوان من ذكور الجرذان البالغة بعمر(3) أشهر وبمعدل وزن (180-200)غم، وتضمنت هذه الدراسة ثلاث تجارب ثانوية اعتمادا على مدة الإعطاء على النحو الآتي :

- **التجربة الثانوية الأولى** : قسمت(20) من ذكور الجرذان البالغة في هذه التجربة الى أربعة مجاميع بصورة عشوائية وضمت كل مجموعة خمسة حيوانات على النحو الأتي :

1- **مجموعة السيطرة (C)** : جرعت حيوانات هذه المجموعة فموياً بالماء المقطر طيلة فترة التجربة .

2- **مجموعة المعاملة الأولى (G1):** وتم تجريعها فموياً بتركيز 50 ملغم / كغم من وزن الجسم من بنزوات الصوديوم يومياً ولمدة أسبوع واحد.

3- **مجموعة المعاملة الثانية (G2):** وتم تجريعها فموياً بتركيز 100 ملغم / كغم من وزن الجسم من بنزوات الصوديوم يومياً ولمدة أسبوع واحد.

4- **مجموعة المعاملة الثالثة (G3):** وتم تجريعها فموياَبتركيز 200 ملغم / كغم من وزن الجسم من بنزوات الصوديوم يومياَولمدة أسبوع واحد .

- **التجربة الثانوية الثانية** : تضمنت نفس الإجراءات و التقسيمات المتبعة في التجربة الثانوية الأولى ماعدا مدة التجريع كانت اسبوعين بدلا من اسبوع واحد.
- **التجربة الثانوية الثالثة :** و كان تصميمها مشابها للتجربتين الثانويتين الأولى و الثانية واختلفت معهما في مدة التجريع حيث كانت ثلاث اسابيع.

بعد انتهاء مدة كل تجربة تم تخدير الحيوانات باستخدام الكلوروفورم Chloroform ثم سحب 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 بوساطة ماصة دقيقة ووضع في أنابيب بلاستيكية جديدة لغرض أجراء الاختبارات الكيموحيوية في مصل الدم وتم حفظ المصل بدرجة حرارة -20 درجة مئوية لحين الاستعمال .

تقدير فعالية الأنزيمات الناقلة للأمين AST و ALT

اتبعت الطريقة اللونية [7]لتقدير فعالية الإنزيمات الناقلة للأمين AST و ALT واستخدمت عدة التحاليل المجهزة من شركة Giesse الإيطالية.

تقدير مستوى البيليروبين في المصل

تم قياس تركيز البيليروبين في مصل الدم بأتباع الخطوات المرفقة مع عدة الفحص الخاصة لقياس تركيز البيليروبين اعتماداً على تفاعل البيليروبين مع Diazotized sulfanilic acid.

تم تحليل نتائج التجربة احصائيا بوصفها تجارب عاملية (3 x 4) و بخمس مكررات.

النتائج و المناقشة

التأثير على مستوى أنزيم ALT

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (1) إلى أن معاملة ذكور الجرذان البالغة في المجاميع G1،G2 وG3 ببنزوات الصوديوم بتراكيز 50 ،100و200 ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي لمدة أسبوع واحد قد أدت الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم ALT في مصل الدم للمجاميع أعلاه مقارنة بمجاميع السيطرة. كما بينت نتائج المقارنة بين المجاميع المعاملة بالتراكيز الثلاثة من بنزوات الصوديوم أن المجموعة G1 قد أظهرت اختلافاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى أنزيم ALT مع كل من المجموعتين G2 وG3 اللتين لم تلاحظ فروقاً معنوية بينهما ($P>0.05$) .

وبينت النتائج حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم ALT في مصل الدم لذكور الجرذان البالغة في كل من المجاميع G1،G2 وG3 المعاملة ببنزوات الصوديوم بتراكيز50 ،100و200 ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي لمدة أسبوعين مقارنة بمجموعة السيطرة. كما أوضحت النتائج وجود اختلافات معنوية ($P<0.05$) مستوى أنزيم ALT بين المجاميع المعاملة بالتراكيز الثلاثة من بنزوات الصوديوم عند المقارنة فيما بينها اذ أرتفع مستوى أنزيم ALT معنوياً ($P<0.05$) مع زيادة التركيز.(جدول 1)

كما أشارت النتائج الموضحة في الجدول (1) الى أن معاملة ذكور الجرذان البالغة في المجاميع G1،G2 وG3 ببنزوات الصوديوم بتراكيز 50 ،100و200 ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي لمدة ثلاثة أسابيع قد أدت إلى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم ALT في مصل الدم للمجاميع أعلاه مقارنة بمجموعة السيطرة . وبينت نتائج المقارنة بين المجاميع المعاملة بالتراكيز الثلاثة من بنزوات الصوديوم أن المجموعة G1 قد أظهرت انخفاضا معنوياً($P<0.05$) في مستوى أنزيم ALTمقارنة بكل من المجموعتين G2 وG3 اللتين لم تختلفا معنوياً($P>0.05$) فيما بينهما.

و أشارت نتائج التحليل الإحصائي الموضحة في الجدول (1) إلى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في مستوى أنزيم ALT في مصل الدم لذكور الجرذان البالغة في مجاميع السيطرة خلال المدد أسبوع ، أسبوعين وثلاثة أسابيع . في حين أظهرت كل من المجاميع G1،G2 وG3 ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى أنزيم ALT خلال مدتي المعاملة أسبوعين وثلاثة أسابيع مقارنة بمدة أسبوع واحد للمعاملة ، ولم تلاحظ فروقاً معنوية ($P>0.05$) بين نفس المدتين في مستوى أنزيم ALT لكل المجاميع.

جدول(1): تأثير تراكيز مختلفة من بنزوات الصوديوم و بمدد مختلفة على تركيز انزيم ALT (U/L) في ذكور الجرذان الألبينو البالغة.

المدد / المجاميع	اسبوع	اسبوعان	ثلاثة اسابيع	$L.S.D_{0.05}$ أقل فرق معنوي بين المدد
C	A 0.406± 24.21 c	A 0.447± 24.02 d	A 0.545± 23.86 c	1.85
G1	B 0.632± 30.04 b	A 1.068± 33.21 c	A 0.735± 34.20 b	
G2	B 0.431± 33.38 a	A 0.583± 36.23 b	A 0.548± 38.04 a	
G3	B 0.316± 35.07 a	A 0.566± 39.22 a	A 0.707± 40.01 a	
$L.S.D_{0.05}$ أقل فرق معنوي بين التراكيز	2.13			

الأرقام تشير الى المعدل± الخطأ القياسي .

الحروف الكبيرة المختلفة افقيا تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المدد لكل تركيز.

الحروف الصغيرة المختلفة عموديا تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين التراكيز لكل مدة .

C تمثل مجموعة السيطرة

G1 تمثل المجموعة الأولى التي جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز 50 ملغم/ كغم

G2 تمثل المجموعة الثانية التي جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز100 ملغم/ كغم

G3 تمثل المجموعة الثالثة التي جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز200 ملغم/ كغم

التأثير على مستوى أنزيم AST

أوضحت النتائج وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم AST في مصل الدم لذكور الجرذان البالغة في المجاميع G1،G2 وG3 المعاملة ببنزوات الصوديوم بتراكيز50 ،100و200 ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي لمدة أسبوع واحد مقارنة بمجموعة السيطرة . كما أشارت النتائج الى أن المجموعة G1 قد أظهرت انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى أنزيم AST مقارنة بكل من المجموعتين G2 وG3 اللتين لم تختلفا معنوياً ($P>0.05$) فيما بينهما .(جدول 2)

و بينت نتائج التحليل الاحصائي الموضحة في الجدول (2) أن معاملة ذكور الجرذان البالغة في المجاميع G1،G2 و G3ببنزوات الصوديوم بتراكيز50 ،100و200 ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي لمدة أسبوعين قد أدت الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم AST في مصل الدم للمجاميع المذكورة مقارنة بمجموعة السيطرة . كما بينت النتائج وجود اختلافات معنوية ($P<0.05$) في مستوى أنزيم AST بين المجاميع المعاملة بالتراكيز الثلاثة من بنزوات الصوديوم ،أذ أرتفع مستوى أنزيم AST معنوياً ($P>0.05$) اعتمادا على زيادة التركيز.

كما أوضحت النتائج المبينة في الجدول (2) حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى أنزيم AST في مصل الدم لذكور الجرذان البالغة في المجاميع G1،G2 وG3 المعاملة ببنزوات الصوديوم بتراكيز50 ،100و200 ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي لمدة ثلاثة أسابيع مقارنة بمجموعة السيطرة . كما أوضحت النتائج وجود اختلافات معنوية ($P<0.05$) في مستوى أنزيم AST بين المجاميع المعاملة بالتراكيز الثلاثة من بنزوات الصوديوم إذ أزداد مستوى أنزيم AST معنوياً ($P<0.05$) اعتمادا على زيادة تركيز بنزوات الصوديوم .

و أشارت نتائج التحليل الاحصائي الى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في مستوى أنزيم AST في مصل الدم لذكور الجرذان البالغة في مجاميع السيطرة خلال مدد التجربة أسبوع ، أسبوعين وثلاثة أسابيع . أما المجموعة G1 فقد أظهرت ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى أنزيم AST خلال مدة ثلاثة أسابيع للمعاملة مقارنة بمدة أسبوع ، ولم تلاحظ فروقا معنوية ($P>0.05$) في مستوى أنزيم AST بين المدتين أسبوع وأسبوعين وكذلك بين المدتين أسبوعين وثلاثة أسابيع .كما أظهرت كل من المجموعتين G2 وG3 ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى أنزيم AST خلال المدتين أسبوعين وثلاثة أسابيع للمعاملة مقارنة بمدة أسبوع ولم تلاحظ فروقاً معنوية ($P>0.05$) بين نفس المدتين في مستـوى أنزيـم AST. (جدول 2)

جدول (2): تأثير تراكيز مختلفة من بنزوات الصوديوم و بمدد مختلفة على مستوى انزيم AST (U/L)في ذكور الجرذان الألبينو البالغة.

المدد / المجاميع	اسبوع	اسبوعان	ثلاث اسابيع	$L.S.D_{0.05}$ أقل فرق معنوي بين المدد
C	A 0.707± 35.04 c	A 0.509± 34.60 d	A 0.583± 34.22 d	1.40
G1	B 0.316± 37.07 b	AB 0.696± 37.94 c	A 0.613± 39.26 c	
G2	B 0.524± 39.11 a	A 0.917± 41.23 b	A 0.795± 41.92 b	
G3	B 0.927± 40.49 a	A 0.245± 43.62 a	A 0.548± 44.02 a	
$L.S.D_{0.05}$ أقل فرق معنوي بين التراكيز	1.62			

الأرقام تشير الى المعدل± الخطأ القياسي .

الحروف الكبيرة المختلفة افقيا تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المدد لكل تركيز.

الحروف الصغيرة المختلفة عموديا تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين التراكيز لكل مدة .

C تمثل مجموعة السيطرة

G1 تمثل المجموعة الأولى التي جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز 50 ملغم/ كغم

G2 تمثل المجموعة الثانية التي جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز100 ملغم/ كغم

G3 تمثل المجموعة الثالثة التي جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز200 ملغم/ كغم

تعد أنزيمات الكبد مهمة من الناحية السريرية إذ أن معدل فعاليتها يكون معتمداً على مدى الضرر الخلوي الذي يؤدي إلى تحررها إلى السوائل المحيطية ثم إلى الدم ومنها أنزيمات ALT و AST . إذ يتم إنتاج إنزيم ALT في سايتوبلازم الخلايا الكبدية بشكل رئيسي لذا يعد الأكثر تخصصا في الكشف عن امراض الكبد ويوجد كذلك في أنسجة أخرى ولكن بكميات ضئيلة مثل العضلات الهيكلية ، القلب ، الكلى ، البنكرياس ، الطحال ، الرئة ومصل الدم أما أنزيم AST فيعد من أنزيمات المايتوكوندريا بسبب وجوده فيها بشكل رئيس فضلاً عن وجوده في اعضاء اخرى مثل القلب ، العضلات الهيكلية ، الكلية ، الدماغ و كريات الدم الحمر. وعليه فان تركيزهما في الدم يعطي صورة عن مدى نشاطهما في تلك الأعضاء وخصوصا الكبد [8] وقد بينت نتائج الدراسة الحالية أن معاملة ذكور الجرذان البالغة بالتراكيز المتصاعدة من بنزوات الصوديوم قد أدى إلى أرتفاع معنوي في مستويات هذه الأنزيمات في مصل الدم في كل مدة من مدد الدراسة مقارنة بمجموعة السيطرة. أن نتائج الدراسة الحالية يمكن أن تعزى الى أن هذه الأنزيمات قد تسربت بكميات عالية من أنسجة الكبد إلى سوائل الجسم وخصوصا المصل وأن هذا التسرب العالي يعكس مدى الضرر الحاصل في أنسجة الجسم وخصوصا الكبد . إن هذه النتائج تعزز الدراسات السابقة والتي أشارت إلى التلف الذي تسببه بنزوات الصوديوم في نسيج الكبد والمتمثل بالفعل السمي المباشر على الخلايا الكبدية وتنكسها [9] [10] مما يؤدي إلى تسرب محتوياتها ومنها هذه الأنزيمات إلى الدورة الدموية ، حيث يعد الكبد من اكبر الأعضاء المتخصصة لأداء وظائف متنوعة في الجسم ومنها إزالة السموم مما يجعل منه عرضة للضرر بسبب هذه المواد وما ينتج من أيضها فيه [11] وتستخدم فعالية الأنزيمات الناقلة للأمين بوصفها مقياسا حساسا عن مدى التغيرات المرضية والفسلجية التي تتطلب نشاطا أضافياً في العمليات الأيضية من قبل الكبد [12].

كما يمكن أن يعزى الأرتفاع في مستويات ALT وAST إلى تكوين الجذور الحرة التي تهاجم الأغشية البلازمية لخلايا الكبد مما يؤدي إلى تسرب هذه الأنزيمات حيث أن حالة الإجهاد ألتأكسدي الناتجة عن زيادة مجاميع الأوكسجين الفعالة تكون سبباً في تحطم الـDNA والبروتينات والدهون في الخلايا الكبدية مما يؤدي إلى تنكس هذه الخلايا وتحطمها ومن ثم نضوح محتوياتها إلى مجرى الدم ومنها أنزيمي ALT وAST [13].وفيما يتعلق بتأثيرمدة التجريع فقد بينت النتائج أنه كلما ازدادت مدة التجريع ببنزوات

الصوديوم أدى ذلك إلى الأرتفاع في مستويات هذه الأنزيمات وقد يعزى ذلك إلى كون البنزوات من المواد التي تظهر تأثيراتها بشكل تراكمي في الجسم ويزداد تأثيرها بزيادة التركيز المعطى ومدة التجريع .

التأثيرعلى مستوى البيليروبين الكلي

بينت النتائج أن معاملة ذكور الجرذان البالغة في المجموعتين G2،G1 ببنزوات الصوديوم لمدة أسبوع واحد لم تؤدي الى حدوث فرق معنوي ($P>0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .في حين أظهرت المجموعة G3 ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم مقارنة بمجموعة السيطرة. كما بينت نتائج المقارنة بين المجاميع المعاملة بالتراكيز الثلاثة من بنزوات الصوديوم أن المجموعة G3 قد أظهرت أرتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي بالمقارنة مع المجموعة G1 ولم تختلف معنوياً ($P>0.05$) مع المجموعة G2 ، كما لم تلاحظ فروقاً معنوية ($P>0.05$) بين المجموعتين G1 وG2. (جدول 3)

و أوضحت النتائج المبينة في الجدول (3) حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم لذكور الجرذان البالغة في المجاميع G2،G1 وG3 المعاملة ببنزوات الصوديوم بتراكيز50 ،100و200 ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي لمدة أسبوعين مقارنة بمجموعة السيطرة . كما أشارت النتائج الى أن المجموعة G3 قد أظهرت ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي مقارنة بالمجموعة G1 في حين كان الفرق غير معنوياً ($P<0.05$) مقارنة بالمجموعة G2 ولم تظهر المجموعتان G1 وG2 اختلافاً معنوياً ($P>0.05$) فيما بينهما في مستوى البيليروبين الكلي .

كما أن معاملة ذكور الجرذان البالغة في المجاميع G2،G1 وG3 ببنزوات الصوديوم بتراكيز50 ،100و200 ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي لمدة ثلاثة أسابيع قد أدت الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم للمجاميع أعلاه مقارنة بمجموعة السيطرة . وأوضحت النتائج أن مستوى البيليروبين الكلي قد أرتفع معنوياً ($P<0.05$) في المجموعة G3 مقارنة مع المجموعتين G1 وG2 اللتين لم تظهر بينهما أي فروقاً معنوية ($P>0.05$) . (جدول 3)

و قد أوضحت النتائج أن مجاميع السيطرة لم تظهر اختلافاً معنوياً ($P>0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي خلال المدد أسبوع ، أسبوعين و ثلاثة أسابيع للتجربة . أما المجموعة G1 فقد أظهرت ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي خلال مدة ثلاثة أسابيع للمعاملة مقارنة بمدة أسبوع ، ولم تلاحظ فروقاً معنوية ($P>0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي بين المدتين أسبوع وأسبوعين وكذلك بين المدتين أسبوعين وثلاثة أسابيع . كما أظهرت كل من المجموعتين G2 وG3 ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي خلال المدتين أسبوعين وثلاثة أسابيع للمعاملة مقارنة بمدة أسبوع واحد ولم تلاحظ فروقاً معنوية ($P>0.05$) بين نفس المدتين في مستوى البيليروبين الكلي . (جدول 3)

جدول(3): تأثير تراكيز مختلفة من بنزوات الصوديوم و بمدد مختلفة على مستوى البيليروبين الكلي(mg/dl)في ذكور الجرذان الألبينو البالغة.

المدد / المجاميع	اسبوع	اسبوعان	ثلاثة اسابيع	$L.S.D_{0.05}$ أقل فرق معنوي بين المدد
C	A 0.01± 0.11 b	A 0.007± 0.12 c	A 0.023± 0.15 c	0.208
G1	B 0.011± 0.18 b	AB 0.034± 0.37 b	A 0.031± 0.50 b	
G2	B 0.039± 0.22 ab	A 0.076± 0.51 ab	A 0.030± 0.55 b	
G3	B 0.067± 0.42 a	A 0.087± 0.65 a	A 0.047± 0.81 a	
$L.S.D_{0.05}$ أقل فرق معنوي بين التراكيز	0.240			

الأرقام تشير الى المعدل± الخطأ القياسي .
الحروف الكبيرة المختلفة افقيا تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المدد لكل تركيز.
الحروف الصغيرة المختلفة عموديا تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين التراكيز لكل مدة .
C تمثل مجموعة السيطرة
G1 تمثل المجموعة الأولى التي جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز 50 ملغم/ كغم
G2 تمثل المجموعة الثانية التي جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز100 ملغم/ كغم
G3 تمثل المجموعة الثالثة التي جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز200 ملغم/ كغم

بينت النتائج أن المعاملة ببنزوات الصوديوم قد تسببت بأرتفاع معنوي في مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم لذكور الجرذان البالغة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. يعد البيليروبين من أهم الأدلة التشخيصية لشدة التقرح في الكبد [14] ويمكن من خلال معرفة مستوى البيليروبين في مصل الدم تقويم وظيفة الكبد . حيث أن تراكم البيليروبين هو مقياس لقدرة الخلايا الكبدية على الارتباط ، الاقتران والإخراج [15] ويشير أرتفاع مستوى البيليروبين في المصل إلى وجود تلف في الكبد أو في القناة الصفراوية [16]ولكن هذا الارتفاع غير متخصص لأي من العوامل المرضية المسببة لأمراض الكبد ونادراً ما يساعد في تحديد سبب الاصفرار [17] . يسبب البيليروبين أصفرار الجلد في حالة ارتفاع مستواه في مصل الدم، وتعرف هذه الحالة باليرقان Jaundice ، وتتميز بظهور صبغة برتقالية بنية على الجلد وطبقة العين الألبينواء (القرنية) والأغشية المخاطية. أن حدوث اية اضطرابات أو عرقلة في أيض البيليروبين تؤدي إلى حدوث اليرقان الذي يتميز بزيادة البيليروبين في الدم [18]. لذلك فأن الزيادة في مستوى البيليروبين في مصل الدم يمكن أن تعزى إلى التأثيرات السمية التي يمكن أن تسببها المعاملة ببنزوات الصوديوم في الكبد مما يؤدي الى أضعاف قدرته على اقتران البيليروبين بحامض الكلوكورونيك وخزنه بشكل بيليروبين مقترن في كيس الصفراء [12]. كما أن أثر الإجهاد ألتأكسدي في تحطيم الكبد من خلال أكسدة الأحماض الدهنية في أغشية الخلايا الكبدية يعد من الأسباب الرئيسية لفقدان التوازن الأستتبابي في الكبد [19].

أن البيليروبين غير المقترن Unconjugated bilirubin يكون غير ذائب في الماء ويمكن أن يمر بسهولة خلال الأغشية الحيوية ليدخل الى الخلايا حيث يكون ذو سمية كبيرة , لذلك فأنه وبعد تحرره مباشرة من مواقع أنتاجه يرتبط ببروتين الألبومين، يكون هذا الأرتباط غير تساهمي ويمكن للمواد الأخرى أن تتنافس مع البيليروبين على هذا الارتباط . ولحامض البنزويك القدرة على إزاحة أو فصل البيليروبين من الألبومين مما يؤدي الى ارتفاع مستوى البيليروبين حيث تتنافس البنزوات على مواقع أرتباط البيليروبين على الألبومين .[20].

المصادر

1- Wroblewska, B. (2009). Influence of food Additives and Contaminants (Nickel and Chromium) on Hypersensitivity and other adverse health reactions – A Review. Pol. J. Food Nutr. Sci., 59(4) : 287 – 294.

2- Kulkarni, C. ; Deshpande, A. and More, S. (2010). Assessment of microbial contamination in commercial herbal oral medicinal liquids. Int. J. Pharm. Res. Dev. , 2(9) : 191 – 193.

3- FDA (Food and Drug Administration). (2011). Requirements for specific standardized margarine-preservatives. Benzoic acid, sodium benzoate, potassium benzoate and calcium benzoate.

4- European Commission. (1995). European Union Directive 95/2/CE from 20.02.1995 on food additives, colourants and sweeteners.

5- Fujitani, T. (1993). Short term effect of sodium benzoate in F344 rats and B6C3F1 mice. Toxicol. Letters .**69(2):** 171-179.

6- Vogt, T. ; Landthaler, M. and Stolz, W. (1999). Sodium benzoate-induced acute leukocytoclastic vasculitis with unusual clinical appearance. Arch. Dermatol. 135: 726-727.

7- Reitman, S. and Frankel, S. (1957). Acolorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Amer. J. Clin. Path. 28: 56-63.

8- Dufour, D. R. ; Lott, J. A.; Nolte, F. S. ; Gretch, D. R. ; Koff, R. S. and Seeff, L. B. (2000). Diagnosis and monitoring of hepatic injury. Clin. Chem. 46 (12): 2027 – 2049.

9- Sinha, R. and D'Souza, D.(2010). Liver cell damage caused due to sodium benzoate toxicity in mice. International Journal of Biotechnology & Biochemistry. 6: 549-554.

10- Khidr, B. M. ; Makhlouf, M. M. and Ahmed, S. M. (2012). Histological and ultrastuctural study on the effect of sodium benzoate on the liver of adult male albino rats. Journal of Zoology.41 (1): 11-39.

11- Guyton, A.C. and Hall, J. F. (2011). Textbook of Medical Physiology.12th ed., W.B. Saunders Co. Philadelphia. p. 839

12- Ozer, J. ; Ratner, M. ; Shaw, M. ; Bailey, W. and Schomaker, S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. Toxicology, 245: 194-205.

13- Lu, J. ; Lin, P. H. ; Yao, Q. and Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. J. Cell Mod. Med. 14: 840-860.

14- Thapa, B. R. and Walia, A. (2007). Liver function tests and their interpretation. Indian J. Pediatr. 74: 663-671.

15- Dufour, D. R. ; Lott, J. A. ; Nolte, F. S. ; Gretch, D. R. and Koff, R. S. (2001). Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis and monitoring. Clin. Chem. 47: 1133-1135.

16- Navarro, V. J. and Senior, J. R. (2006). Drug-related hepatotoxicity. N. Engl. J. Med. 354: 731-739.

17- Wolkoff, A .W (2005). Bilirubin metabolism and hyperbilirubinaemia. In: Braunwald, E; Fauci, A.S; Kasper; Hauser, S; Longo, D and Jameson, J.L. Harrison's principles of internal medicine. 16th ed. McGraw-Hill, Newyork, USA, pp: 1817- 1821.

18- Bleibel, W. ; Kim, S. ; D'Silva, K. and Lemmer, E. R. (2007). Drug-induced liver injury: Review Article. Dig. Dis. Sci. 52: 2463-2471.

19- Sokol, R. ; Straka, M. ; Dahl, R. ; Devereaux, M. W. ; Verushalmi, B. ; Gumpricht, E. ; Elkins, N. and Everson, G. (2001). Role of oxidant stress in the permeability transition induced in rat hepatic mitochondria by hydrophobic bile acids. Pediatr. Res. 49: 519–531.

20- AMA (American Medical Association) .(1991). Drug Evaluations Annual. Chicago, IL: American Medical Association, pp. 2034