Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

The Protective Effects of N-Carbamylglutamate on Changes in the Testicular Tissue Structure of Newborn Mice Induced by Monosodium Glutamate

Gh. Akbari (DVSc)[1], D. Kianifard (PhD)[1], Y. Panahi (DVSc)[1], M. Babaei (PhD)[*2], M. Doudkani Fard (PhD)[3]

1.Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, I.R.Iran.
2.Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University, Hamadan, I.R.Iran.
3.Department of Cardiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I.R.Iran.

***Corresponding Author: M. Babaei (PhD)**
Address: Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University, Hamadan, I.R.Iran.
Tel: +98 (81) 34227350. **E-mail:** mohammad.babaei@basu.ac.ir

Article Type
Research Paper

Received:
Dec 14th 2023
Revised:
Jan 28th 2024
Accepted:
Feb 28th 2024

ABSTRACT

Background and Objective: Monosodium glutamate (MSG) is widely used in convenience food and oxidative damage caused by the consumption of this compound has been proven. On the other hand, N-carbamylglutamate (NCG) plays a key role in protecting cells against thermal and oxidative stress. The aim of this study was to investigate the protective effects of NCG on the changes in the testicular tissue structure of baby mice caused by MSG consumption.

Methods: In this experimental study, 24 pregnant mice were randomly divided into four equal groups of six. The first group received 60 mg/kg MSG intraperitoneally, the second group received 500 mg/kg NCG by gavage, the third group received 500 mg/kg MSG and 60 mg/kg NCG simultaneously, and the fourth group received the same volume of normal saline as the other groups from the first day of pregnancy until delivery. On the 21st day of pregnancy and after the birth of the babies, the weight, head-to-tail length, and abdominal circumference of the newborns were examined, and then slides were prepared from the testicular tissue of the male babies and examined and compared under a light microscope.

Findings: The use of NCG increased the cephalo-caudal index (39.26±1.99) compared to the MSG group (34.05±0.67) (p=0.038). The use of MSG increased the mean thickness of the testicular capsule (13.35±0.75), which was statistically significant compared to the NCG group (11.85±0.9) (p=0.043). The use of NCG also significantly increased the diameter of the seminiferous tubules (56.57±5.17) compared to the MSG group (52.25±4.79) (p=0.031). The mean number of spermatogonial stem cells in the NCG group (25.13±3.29) was significantly higher compared to the MSG group (32.15±2.36) (p=0.021).

Conclusion: From the results of this study, it can be concluded that the use of NCG can reduce the negative effects of MSG on testicular tissue.

Keywords: *Monosodium Glutamate, N-Carbamylglutamate, Testis, Mouse.*

Cite this article: Akbari Gh, Kianifard D, Panahi Y, Babaei M, Doudkani Fard M. The Protective Effects of N-Carbamylglutamate on Changes in the Testicular Tissue Structure of Newborn Mice Induced by Monosodium Glutamate. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2025; 27: e16.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

Copyright © 2024 Babol University of Medical Sciences. Published by Babol University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

اثرات محافظتی N–کاربامیل گلوتامات بر تغییرات ساختار بافت بیضه نوزادان موش سوری ناشی از مونوسدیم گلوتامات

قاسم اکبری (DVSc)[1]، داوود کیانی فرد (PhD)[1]، یوسف پناهی (DVSc)[1]، محمد بابائی (PhD)[2*]، مینا دودکانی فرد (PhD)[3]

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۳. گروه قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

نوع مقاله
مقاله پژوهشی

دریافت:
۱۴۰۲/۹/۲۳
اصلاح:
۱۴۰۲/۱۱/۸
پذیرش:
۱۴۰۲/۱۲/۹

چکیده

سابقه و هدف: مونوسدیم گلوتامات (MSG) به میزان فراوان در فرآورده‌های غذایی آماده استفاده می‌شود و آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از مصرف این ترکیب به اثبات رسیده است. از طرفی ان–کربامیل گلوتامات (NCG) در محافظت از سلول‌ها در مقابل استرس حرارتی و اکسیداتیو نقش دارد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات محافظتی NCG بر تغییرات ساختار بافت بیضه نوزادان موش سوری ناشی از مصرف MSG می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۴ موش سوری آبستن به صورت کاملاً تصادفی، به چهار گروه مساوی شش تایی تقسیم شدند. در گروه اول MSG ۶۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی، در گروه دوم NCG ۵۰۰ mg/kg به صورت گاواژ، در گروه سوم همزمان MSG ۵۰۰ mg/kg و NCG ۶۰ mg/kg و در گروه چهارم هم حجم با سایر گروه‌ها نرمال سالین از روز اول آبستنی تا زمان زایمان دریافت کردند. در روز ۲۱ آبستنی و بعد از تولد نوزادان، وزن، فاصله سر تا دم و اندازه دور شکم نوزادان متولد شده بررسی و سپس از بافت بیضه نوزادان نر لام تهیه و زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها: استفاده از NCG موجب افزایش شاخص سری- دمی (۱/۹۹±۳۹/۲۶) در مقایسه با گروه MSG (۰/۶۷±۳۴/۰۵) گردید (p=۰/۰۳۸). مصرف MSG باعث افزایش میانگین ضخامت کپسول بیضه (۰/۷۵±۱۳/۳۵) شد که از نظر آماری در مقایسه با گروه NCG (۰/۹±۱۱/۸۵) معنی‌دار بود (p=۰/۰۴۳). همچنین استفاده از NCG باعث افزایش معنی‌دار قطر لوله‌های اسپرم‌ساز (۵/۱۷±۵۶/۵۷) در مقایسه با گروه MSG (۴/۷۹±۲۵/۵۲) شد (p=۰/۰۳۱). میانگین جمعیت سلولی اسپرماتوگونی در گروه دریافت کننده NCG (۳/۲۹±۲۵/۱۳) در مقایسه با گروه MSG (۲/۳۶±۱۵/۳۲) به طور معنی‌داری بالاتر بود (p=۰/۰۲۱).

نتیجه‌گیری: از نتایج این تحقیق می‌توان چنین استنباط کرد که استفاده از NCG می‌تواند باعث کاهش اثرات منفی MSG بر روی بافت بیضه شود.

واژه‌های کلیدی: مونوسدیم گلوتامات، ان–کربامیل گلوتامات، بیضه، موش.

استناد: قاسم اکبری، داوود کیانی فرد، یوسف پناهی، محمد بابائی، مینا دودکانی فرد. اثرات محافظتی N-کاربامیل گلوتامات بر تغییرات ساختار بافت بیضه نوزادان موش سوری ناشی از مونوسدیم گلوتامات. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۱۴۰۴؛ ۲۷: e۱۶.

▣ این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی به شماره ۳۷۰۰/۲۷-۷ دانشگاه تبریز می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر محمد بابائی
آدرس: همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه. تلفن: ۰۸۱-۳۴۲۲۷۳۵۰
رایانامه: mohammad.babaei@basu.ac.ir

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

مقدمه

مونوسدیم گلوتامات (MSG) یک آمینو اسید بسیار رایج در محیط طبیعی است. این ماده به عنوان یک نگهدارنده مواد غذایی، یا به شکل پروتئین هیدرولیز شده یا به عنوان نمک مونوسدیم تصفیه شده استفاده می‌شود. این ماده را می‌توان در مواد غذایی منجمد، تن ماهی، آبگوشت، مکمل‌های غذایی، شیر خشک نوزادان و چندین کالای غذایی دیگر شناسایی کرد (۵–۱). مطالعات متعددی اثرات سمیت بافتی این ترکیب را بر بافت‌های مختلف انسانی و حیوانی اثبات کرده‌اند. تحقیقات روی اثرات این ماده نشان داده که MSG با تولید ترکیباتی نظیر گونه‌های فعال اکسیژن و متعاقباً ایجاد فرآیند استرس اکسیداتیو موجب بروز تغییر در ساختار و عملکرد سلولی می‌شود (۱۰–۶). در مطالعات مختلف به اثرات MSG بر دستگاه تناسلی نر نظیر کاهش میزان باروری، کاهش میزان رشد، کاهش اندازه غدد جنسی، تغییر در سیستم عروق بافت بیضه و اختلال در فرآیند تولید اسپرماتوزوئید اشاره شده است. مطالعات نشان داد که قرار گرفتن در معرض این ماده در دوران بارداری باعث ایجاد عوارض نامطلوب در جنین از جمله ضایعات مغزی می‌شود (۱۴–۱۱).

ان–کرباميل گلوتامات (NCG) آنالوگ سنتتیک ان–استیل گلوتامات است. این ترکیب به عنوان محرک آنزیم کرباميل فسفات سنتاز–۱ (CPS-1) به شمار می‌آید. آنزیم مذکور در چرخه اوره و سنتز آرژینین درونزاد نقش مهمی ایفا می‌کند (۱۶و۱۵). این ترکیب امروزه به عنوان افزودنی غذایی موثر جهت تامین اسید آمینه آرژینین مورد استفاده قرار می‌گیرد. استفاده از ان–کرباميل گلوتامات در رژیم غذایی موجب رشد روده و بیان پروتئین شوک حرارتی ۷۰ می‌گردد (۱۸و۱۷). اثرات آنتی اکسیدانی این ترکیب در چندین تحقیق تایید شده است. رژیم غذایی مکمل با NCG به طور قابل توجهی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (T-AOC) و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) را در پلاسمای منی بهبود می‌بخشد. علاوه بر آن این ترکیب باعث افزایش میل جنسی و بهبود کیفیت پروتئین در پلاسمای منی می‌شود (۲۴–۱۹).

در مطالعات مختلف تاثیر اثرات آنتی اکسیدانی NCG بر روی بافت‌های مختلف بدن حیوان بالغ و عملکرد تولید مثلی جنس نر مورد بررسی قرار گرفته است، ولی تاکنون در مورد اثر این ماده بر روی شاخص‌های جنینی و بافت بیضه نوزادان متولد شده بررسی نشده است. از این رو این مطالعه با هدف بررسی نقش NCG در بهبود سمیت بیضه ناشی از MSG و کاهش استرس اکسیداتیو در بافت‌های بیضه انجام گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی از ۲۴ عدد موش سوری ماده با وزن ۳۰ الی ۳۵ گرم و سن ۸ تا ۱۰ هفته استفاده شد. برای آشنایی با محیط و کاهش استرس حیوانات به مدت دو هفته با شرایط استاندارد و دسترسی آزاد به غذا و آب در یک اتاق با دمای ۲۵–۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز نگهداری شدند. کد اخلاق مقاله FVMUT/2017/108 می‌باشد. بعد از دو هفته هر دو موش ماده با یک نر بالغ در یک قفس قرار گرفت. ملاک آبستن بودن موش‌ها مشاهده پلاک واژنی بعد از جفت گیری بود. موش‌های آبستن شده به صورت تصادفی به چهار گروه شش تایی تقسیم شدند. از روز اول آبستنی تا زمان زایمان در روز ۲۱ به ترتیب در گروه اول MSG (L-Glutamic acid monosodium salt hydrate, sigma-aldrich, St Louis, MO 63178, USA) به میزان ۶۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی (۶)، در گروه دوم NCG به میزان ۵۰۰ mg/kg به روش گاواژ دهانی (۱۶)، در گروه سوم همزمان NCG و MSG به ترتیب با دوزهای ۶۰ mg/kg و ۵۰۰ به صورت داخل صفاقی و گاواژ دهانی و در گروه چهارم به عنوان گروه کنترل هم حجم با سایر گروه‌ها نرمال سالین به صورت داخل صفاقی و گاواژ دهانی به صورت روزانه یک بار دریافت کردند.

در انتهای دوره بارداری و زایمان، نوزادان متولد شده از نظر ظاهری بررسی شده و پس از ثبت وزن بدن در بدو تولد و تعیین جنسیت، فاکتورهای جنین شناسی شامل طول سر تا دم (Crown-rump Length) و اندازه دور شکم (Abdominal Circumference) توسط کولیس دیجیتال (Guanglu, China) اندازه گیری شده و سپس از هر گروه ۶ نوزاد نر با قطع سر آسان کشی شده و نمونه‌های بافت بیضه جهت مطالعات هیستومورفومتریک در محلول فرمالین بافری ۱۰٪ جهت تثبیت قرار داده شد. نمونه‌ها، ۷۲ ساعت بعد از تثبیت، وارد مراحل پاساژ بافتی شده و پس از تهیه بلوک‌های پارافینی، برش‌های به ضخامت ۶ میکرومتر از نمونه‌ها تهیه شد. نهایتاً، برش‌های بافتی توسط روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ آمیزی شد و با استفاده از میکروسکوپ نوری (LABOMED CxL, Labo America, Inc.) با درشت نمایی‌های مختلف مطالعه شدند. تصاویر به دست آمده توسط دوربین دیجیتال (Dino-Lite) به کمک نرم افزار آنالیز تصاویر (DinoCapture, Ver. 2, A 1.5.28) جهت اندازه گیری شاخص‌های میکروسکوپی نظیر ضخامت کپسول بیضه (تصویر ۱، فلش سیاه) و قطر لوله‌های اسپرم ساز مورد استفاده قرار گرفت. نتایج مطالعات مورفومتری با درشت نمایی ۱۰۰ برابر و نتایج بررسی جمعیت سلول‌های دیواره لوله‌های اسپرم ساز با درشت نمایی ۴۰۰ برابر به دست آمد. در هر مقطع عرضی برش داده شده از بیضه، تعداد ۲۰ لوله اسپرم ساز مورد بررسی

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. داده‌های کمی پس از تایید فرض نرمال بودن با روش کولموگروف- اسمیرنوف، توسط آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Turkey's Post Hoc Test) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

میانگین وزن بدن و شاخص‌های جنین شناسی: نتایج اندازه گیری وزن بدن نشان داد که نوزادان متولد شده از موش‌های سوری دریافت کننده MSG در مقایسه با گروه کنترل از میانگین وزنی کمتری برخوردار بودند، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین، استفاده از NCG به تنهایی یا به همراه MSG موجب افزایش میانگین وزن تولد در مقایسه با گروه MSG گردید. میانگین شاخص طول سر تا دم در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. این کاهش فقط در گروه MSG در مقایسه با سایر گروه‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). همچنین، استفاده از NCG در کنار MSG منجر به افزایش میانگین شاخص مذکور گردید. شاخص اندازه دور شکم نیز در گروه‌های دریافت کننده MSG و NCG در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. این کاهش در گروه دریافت کننده MSG در مقایسه با گروه‌های دیگر معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$) (جدول ۱).

نتایج مطالعه هیستومورفومتری بافت بیضه: مصرف MSG موجب افزایش میانگین ضخامت کپسول همبندی بیضه در مقایسه با گروه کنترل شد. بیشترین میزان افزایش درگروه MSG به میزان ۰/۷۵±۱۳/۳۵ مشاهده شد که از نظر آماری در مقایسه با گروه کنترل و NCG معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در موش‌های آبستن دریافت کننده MSG+NCG استفاده از NCG موجب کاهش ضخامت کپسول همبندی (۰/۸۸±۱۲/۷۳) در مقایسه با گروه دریافت کننده MSG شده بود، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲). میانگین قطر لوله‌های اسپرم ساز در تمام گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. همچنین نتایج این شاخص نشان داد که استفاده همزمان NCG و MSG باعث افزایش معنی‌دار قطر لوله‌های اسپرم ساز در مقایسه با گروه MSG می‌شود ($p<۰/۰۵$). در این میان استفاده از MSG باعث کاهش معنی‌دار این شاخص در مقایسه با دیگر گروه‌ها گردید ($p<۰/۰۵$). استفاده از NCG به تنهایی تغییر معنی‌داری در میانگین قطر لوله‌های اسپرم ساز در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد. همچنین استفاده همزمان NCG و MSG موجب کاهش معنی‌دار شاخص مذکور در مقایسه با گروه کنترل شد ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲).

جدول ۱. میانگین وزن بدن، شاخص سری- دمی و شاخص دور شکم در نوزادان موش سوری در روز اول تولد

متغیر	گروه کنترل Mean±SD	MSG Mean±SD	NCG Mean±SD	MSG+NCG Mean±SD	p-value
وزن بدن نوزادان (گرم)	۴/۸۸±۰/۴۱^{a}	۳/۹۳±۰/۲۳^{a}	۴/۹۵±۰/۷۴^{a}	۴/۲۶±۰/۷۵^{a}	۰/۵۷۲
شاخص سری- دمی در نوزادان (میلی‌متر)	۴۰/۳۲±۰/۸۷^{a}	۳۴/۰۵±۰/۶۷^{b}	۳۹/۲۶±۱/۹۹^{a}	۳۸/۳۹±۲/۲۵^{a}	۰/۰۳۸
شاخص دور شکم در نوزادان (میلی‌متر)	۱۲/۲۷±۰/۹۲^{a}	۸/۸۴±۰/۴۵^{b}	۱۲/۶۹±۰/۹۸^{a}	۱۱/۰۳±۱/۳۰^{a}	۰/۰۲۴

a و b: نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به بقیه گروه‌ها است ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲. میانگین ضخامت کپسول بیضه و قطر لوله‌های اسپرم ساز نوزادان موش سوری

متغیر	گروه کنترل Mean±SD	MSG Mean±SD	NCG Mean±SD	MSG+NCG Mean±SD	p-value
ضخامت کپسول بیضه (میکرومتر)	۱۱/۶۲±۱/۵۳^{a}	۱۳/۳۵±۰/۷۵^{b}	۱۱/۸۵±۰/۹^{a}	۱۲/۷۳±۰/۸۸^{ab}	۰/۰۴۳
قطر لوله‌های اسپرم ساز (میکرومتر)	۶۰/۴۳±۴/۷۰^{b}	۲۵/۵۲±۴/۷۹^{a}	۵۶/۵۷±۵/۱۷^{bc}	۴۵/۵۱±۵/۶۴^{c}	۰/۰۳۱

a و b و c: حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به بقیه گروه‌ها است ($p<۰/۰۵$).

میانگین تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. این کاهش در میانگین تعداد سلول‌ها در گروه MSG در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). همچنین میانگین جمعیت سلولی در گروه دریافت کننده NCG و گروه دریافت کننده همزمان دو ترکیب مذکور در مقایسه با گروه MSG به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<۰/۰۵$)، که نشان دهنده تاثیر مثبت این ماده در مقابل اثرات منفی MSG است (جدول ۳). میانگین

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

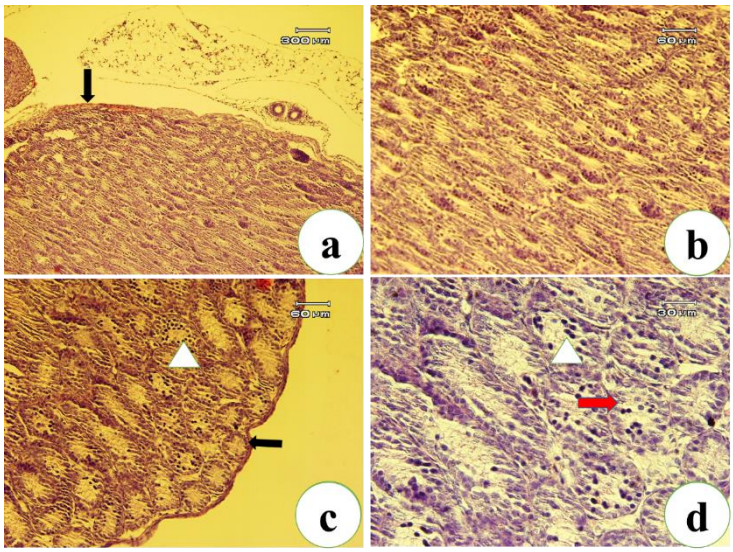
جمعیت سلول‌های گونوسیت اولیه در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. این کاهش جمعیت تنها در گروه دریافت کننده MSG به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). در این بین، میانگین تعداد سلول‌های گونوسیت اولیه در نوزادان متولد شده در گروه دریافت کننده NCG در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نداد. ولی استفاده از NCG به تنهایی یا در کنار MSG به طور معنی‌داری موجب بهبود معنی‌دار شاخص مذکور در مقایسه با گروه دریافت کننده MSG گردید (جدول ۳).

نتایج مطالعه بافت شناسی بیضه: نتایج مطالعات مقاطع بافتی از گنادها نشان داد بیضه توسط کپسول همبندی ظریفی احاطه شده و لوله‌های اسپرم ساز حاوی دو نوع سلول شامل سلول‌های سرتولی در قسمت محیطی لوله‌ها با ویژگی ساختاری شامل هسته کروی بزرگ و هستک برجسته و سلول‌های گونوسیت ابتدایی با هسته روشن با ویژگی‌های سلول‌های در حال تقسیم که بخش میانی لوله را اشغال کرده بودند (تصویر ۱، a و d). در برخی مقاطع لوله‌های اسپرمی گاهاً سلول‌های اسپرماتوگونی با هسته کروی و تیره مشاهده گردید. فضای بین لوله‌های اسپرم ساز توسط بافت همبند ظریف حاوی سلول‌هایی با ویژگی درون ریز و عروق خونی اشغال شده بود. ساختار هیستومورفولوژی گنادها در نوزادان متولد شده در گروه آزمایشی NCG مشابه گروه کنترل بود (تصویر c). نتایج مطالعات هیستومورفولوژیک در گروه دریافت کننده MSG نشان داد بافت بیضه در نوزادان این گروه در مقایسه با گروه‌های دیگر متحمل بعضی تغییرات شده است. بیشترین و بارزترین تغییرات شامل تغییر در جمعیت سلول‌های موجود در لوله‌های اسپرمی بود. در این میان جمعیت سلول‌های اسپرماتوگونی کاهش یافت (تصویر b). در گروه دریافت کننده همزمان NCG و MSG تغییرات ذکر شده کاهش یافته بود (تصویر d).

جدول ۳. میانگین جمعیت سلول‌های لوله‌های اسپرم ساز نوزادان موش سوری (تعداد سلول‌ها در ۲۰ لوله)

متغیر	گروه کنترل Mean±SD	MSG Mean±SD	NCG Mean±SD	MSG+NCG Mean±SD	p-value
تعداد سلول های سرتولی	۱۹/۵۲±۲/۴۸^{a}	۱۳/۰۶±۱/۸۵^{b}	۱۹/۰۳±۱/۹۷^{a}	۱۷/۹۸±۲/۳۷^{a}	۰/۰۳۷
جمعیت سلول‌های گونوسیت اولیه	۲۷/۴۴±۳/۵۹^{a}	۱۵/۳۲±۲/۳۶^{b}	۲۵/۱۳±۳/۲۹^{a}	۲۳/۷۰±۴/۷۵^{a}	۰/۰۲۱

a و b: نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به بقیه گروه‌ها است ($p<۰/۰۵$).



تصویر ۱. برش عرضی بافت بیضه گروه‌های تحت مطالعه. تصویر **a**: بافت بیضه موش سوری نر یک روزه. مقطع عرضی لوله‌های اسپرم ساز و گونوسیت‌های مقدماتی مشاهده می‌شوند. تصویر **b**: بافت بیضه موش سوری نر یک روزه متولد شده از ماده دریافت کننده مونوسدیم گلوتامات. مقطع عرضی لوله‌های اسپرم ساز با کاهش جمعیت سلولی قابل مشاهده است. تصویر **c**: برش عرضی از بافت بیضه گروه دریافت کننده NCG. از نظر ساختار شبیه گروه کنترل می باشد. تصویر **d**: گروه دریافت کننده همزمان ان-کربامیل گلوتامات و مونوسدیم گلوتامات. کاهش تغییرات ساختاری قابل مشاهده است. فلش سیاه= کپسول، فلش قرمز= سلول‌های سرتولی، مثلث سفید= گونوسیت‌های مقدماتی. رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، درشت نمایی ۴۰ برابر (تصویر **a**)، ۲۰۰ برابر (تصاویر **b, c**) و ۴۰۰ برابر (تصویر **d**).

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که مصرف مونوسدیم گلوتامات در موش‌های ماده آبستن باعث تولد نوزادان نری می‌شود که وزن کمتری داشته و شاخص‌های طول سر تا دم و اندازه دور شکم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. در حالی که مصرف همزمان ان-کاربامیل گلوتامات به همراه مونوسدیم گلوتامات باعث بهبود شاخص‌های مذکور در نوزادان نر تازه به دنیا آمده، شده بود. همچنین استفاده از MSG در دوران بارداری باعث آسیب بافتی به بیضه نوزادان متولد شده مثل کاهش جمعیت سلول‌های گونوسیت و سلول‌های سرتولی، افزایش ضخامت کپسول بیضه و کاهش قطر لوله‌های اسپرم ساز در مقایسه با گروه کنترل شده بود. اما مصرف NCG در این دوران همزمان با MSG توانسته بود، اثرات تخریبی و نامطلوب MSG را بهبود بخشد.

طعم مطبوع MSG باعث استفاده آن در مواد خوراکی می‌شود، ولی استفاده زیاد از این ماده باعث انتقال آن به خون و افزایش گلوتامات مغز می‌شود و از آنجایی که MSG یک انتقال دهنده عصبی می‌باشد، باعث اختلال در عملکرد و آسیب به سایر اندام‌های بدن می‌شود و از طرف دیگر اختلال در عملکرد مغز می‌تواند محور هیپوتالاموس هیپوفیز گناد را تحت تاثیر قرار دهد (۲۵). در مطالعه حاضر نیز اثرات نامطلوب مشاهده شده در بافت بیضه گروه‌های مصرف کننده MSG ممکن است با تحت تاثیر قرار دادن این محور ایجاد شده باشد. مطالعات قبلی نشان می‌دهد مصرف خوراکی MSG به علت سد خونی مغزی باعث افزایش سطح گلوتامات مغز در جوندگان نمی‌شود (۲۵). از این رو از تزریق داخل صفاقی به جای مصرف خوراکی MSG در این تحقیق استفاده شد.

بافت بیضه موش صحرایی حاوی گیرنده‌های گلوتامات است (۲۶). در موش‌های صحرایی در حال رشد مصرف مونوسدیم گلوتامات منجر به بروز تغییرات ساختاری مانند تحلیل لوله‌های زایا، تورم سلول‌های اسپرماتید و اسپرماتوسیت، مشاهده سلول‌های زایگر نابالغ در حفره داخلی لوله‌ها، متراکم شدن کروماتین هسته و پرخونی شده است (۲۷). در این رابطه، نتایج یک مطالعه نشان داده است که استفاده کوتاه مدت از مونوسدیم گلوتامات موجب واکوئله شدن سیتوپلاسم سلول‌های اسپرماتوگونی و کاهش جمعیت سلول‌های اسپرماتید و ادم بافت همبند بین لوله‌ای شده است (۲۸). وجود گیرنده‌های گلوتامات در سلول‌های دیواره لوله‌های اسپرم ساز یکی از راه‌های احتمالی در بروز اختلالات ساختاری بافت بیضه در شرایط مصرف مونوسدیم گلوتامات می‌تواند مد نظر قرار گیرد. از دیگر مکانیسم‌های دخیل می‌توان به اثرات سمیت عصبی مونوسدیم گلوتامات بر فعالیت محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد اشاره کرد (۲۹). در این مطالعه نیز مصرف MSG ممکن است به صورت مستقیم بر روی گیرنده‌های خود در بافت بیضه اثر کرده و تاثیرات نامطلوب خود را بر جای بگذارد که با مصرف NCG این اثرات نامطلوب بهبود یافته است.

جفت مادری نقش مهمی در کنترل تبادلات مواد و ترکیبات خارجی با جنین ایفا می‌کند (۳۰). در تحقیق حاضر بافت بیضه نوزادان در گروه تیمار دارای ضخامت کپسولی بیشتری در مقایسه با گروه کنترل بود، که این امر می‌تواند ناشی از آتروفی لوله‌های اسپرم ساز باشد. ترکیبات با ماهیت سمیت سلولی نظیر مونوسدیم گلوتامات می‌توانند از طریق فرآیند استرس اکسیواتیو موجب بروز تغییراتی در ماده ژنتیکی سلول‌های دیواره لوله‌های اسپرم ساز شده و متعاقباً کاهش جمعیت این سلول‌ها شوند.

تستوسترون نقش مهمی در ساختار و عملکرد بافت بیضه دارد. هرچند در این مطالعه سطوح سرمی هورمون‌های محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد بررسی نگردید، با این حال با توجه به مطالعات گذشته که بر کاهش سطوح خونی هورمون‌هایی نظیر FSH، LH و تستوسترون متعاقب مصرف مونوسدیم گلوتامات تاکید دارند (۳۴-۳۱)، می‌توان چنین استنباط کرد که در شرایط مصرف مونوسدیم گلوتامات کاهش سطح هورمون‌های گنادوتروپینی و به ویژه تستوسترون نقش مهمی در کاهش فعالیت سلول‌های دیواره لوله‌های اسپرم ساز به ویژه سلول‌های سرتولی داشته، که در این تحقیق اثر آن به صورت کاهش جمعیت سلولی و آتروفی بافت بیضه قابل مشاهده بود.

مطالعات نشان داده است که مصرف داخل صفاقی MSG باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بافت بیضه می‌شود و در نتیجه باعث تخریب بافت بیضه در رت و موش سوری می‌شود (۳۶و۳۵). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که MSG با عبور از سد خونی مادری باعث ایجاد اثرات تخریبی در بافت بیضه نوزادان نر می‌شود.

Soltani و همکاران عنوان کردند MSG از طریق افزایش گلوتامات و کاهش GSH قادر به القای اوتیسم در فرزندان موش‌ها به روشی وابسته به دوز است و نباید از MSG در دوران بارداری استفاده کرد (۳۷). همچنین Shosha و همکاران عنوان کردند تجویز MSG در دوران بارداری باعث کاهش قابل توجهی در وزن جنین، طول سر تا دم و وزن جفت شده و روی رشد اسکلتی جنین تأثیر نامطلوبی دارد و باعث ایجاد چندین تغییر بیوشیمیایی و بافت شناسی در بافت‌های کبد و کلیه مادر و جنین می‌شود که اثرات سمی و تراتوژنیک MSG را نشان می‌دهد (۳۸). در این تحقیق نیز مصرف MSG در موش‌های باردار، باعث اثرات نامطلوب در بافت بیضه نوزادان شده و باعث کاهش وزن نوزاد، شاخص سر تا دم و اندازه دور شکم شده بود، که با مصرف NCG، این اثرات نامطلوب بهبود پیدا کرده بود. علاوه بر این، کاهش ثبت شده در وزن بدن و شاخص سری دمی در گروه MSG با یافته‌های George و همکارانش، Tawfeeq و همکاران، Abu Elnaga و همکاران، Gad EL-Hak و همکاران، Kondoh و همکاران و Tordoff و همکاران در جنین موش‌ها

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

مطابقت داشت (۴۴-۳۹). Husarova و همکاران گزارش کردند که MSG باعث کاهش سطح هورمون رشد غده هیپوفیز می‌شود که مستقیماً مسئول رشد جنین است (۲). همچنین Zanfirescu و همکاران پیشنهاد کردند که کاهش وزن بدن جنین ممکن است به دلیل افسردگی ناشی از MSG در فرآیند تمایز سلولی سلول‌های جنینی باشد (۴۵). همچنین، Al-Ghamdi پیشنهاد کرد که MSG ممکن است مستقیماً بر متابولیسم سلولی جنین تأثیر بگذارد، زیرا MSG می‌تواند به راحتی از غشاء عبور کند و بر رشد جنین تأثیر بگذارد (۴۶). چنین می‌توان بیان کرد که مصرف MSG باعث افزایش سطح گلوتامات در مغز شده و سبب اختلال در عملکرد آن می‌شود و از طرف دیگر با اثر روی هیپوفیز و کاهش هورمون رشد، محور هیپوتالاموس هیپوفیز گناد را مختل کرده و باعث اختلال در رشد جنین می‌شود، که با نتایج به دست آمده در این مطالعه همسو می‌باشد.

استفاده از ان-کربامیل گلوتامات موجب افزایش سنتز پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در سلول‌ها می‌گردد. این پروتئین موجب حفاظت سلول‌ها در برابر انواع مختلفی از استرس و فشارهای محیطی به ویژه استرس اکسیداتیو می‌گردد (۴۹-۴۷). Cao و همکاران عنوان کردند NCG می‌تواند تا حدی از کبد و پلاسما در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کند (۵۰). Zhang و همکاران عنوان کردند NCG می‌تواند از نوزادان در برابر آسیب اکسیداتیو کبدی ناشی از نارسایی خونی تجربی از طریق افزایش بیان آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو (شامل SOD، CAT و GSH-Px)، آنزیم‌های متابولیزه کننده فاز II و فعال کردن مسیر NO محافظت کنند (۵۱). در این مطالعه نیز NCG اثرات منفی MSG را بر روی بافت بیضه و شاخص‌های جنینی کاهش داد.

Ma و همکاران عنوان کردند مکمل غذایی NCG اثرات مثبتی بر صفات تولیدمثلی خروس‌ها داشت. مکمل NCG با تنظیم بیان ژن در بافت‌های بیضه، رشد صفات تولید مثلی خروس‌ها را بهبود بخشید و در نتیجه سنتز هورمون‌های تولیدمثلی را در داخل بدن بهبود بخشید (۵۲). همچنین تحقیق دیگری نشان داده مکمل NCG با تنظیم عملکرد رحم، عملکرد تولید و کیفیت تخم مرغ را در مرغ‌ها بهبود می‌بخشد (۲۲). Atiyah و همکاران عنوان کردند مکمل NCG در تغذیه معمول گاو نر می‌تواند کیفیت مایع منی را بهبود بخشد (۵۳). Cai و همکاران عنوان کردند مکمل NCG با سنتز آرژنین درون زا، غلظت پلاسمایی آرژنین، نیتریک اکساید و پروژسترون را افزایش می‌دهد که این عامل باعث بهبود محیط داخل رحمی و تامین مواد مغذی برای لانه گزینی جنین و حفظ بارداری در میش‌ها می‌شود، در نتیجه تعداد جنین‌های زنده در روز ۳۸ بارداری میش‌ها افزایش می‌یابد (۵۴). در این مطالعه نیز NCG باعث افزایش سلول‌های سرتولی و گونوموسیت مقدماتی در مقایسه با گروه MSG شده بود که نشان می‌دهد احتمالاً با مکانسیم ذکر شده باعث بهبود شرایط در بافت بیضه شده است.

با توجه به اینکه در مطالعه حاضر گروه‌های دریافت کننده NCG در مقایسه با گروه دریافت کننده MSG باعث بهبود شرایط در میانگین فاکتورهای بافت شناسی و جنین شناسی شده بود، بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که استفاده از NCG در مواد غذایی می‌تواند جهت کاهش اثرات منفی MSG مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه تبریز به جهت حمایت مالی از تحقیق، همچنین از جناب آقای دکتر حمید اکبری بابت راهنمایی در خصوص انجام کارهای آماری، قدردانی می‌گردد.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

References

1.Walker R, Lupien JR. The safety evaluation of monosodium glutamate. J Nutr. 2000;130(4S Suppl):1049S-52S.
2.Husarova V, Ostatnikova D. Monosodium Glutamate Toxic Effects and Their Implications for Human Intake: A Review. JMED Research. 2013;2013:608765.
3.Kayode OT, Bello JA, Oguntola JA, Kayode AAA, Olukoya DK. The interplay between monosodium glutamate (MSG) consumption and metabolic disorders. Heliyon. 2023;9(9):e19675.
4.Kazmi Z, Fatima I, Perveen S, Malik SS. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. Int J Food Prop. 2017;20(Suppl 2):1807-15.
5.Henry-Unaeze HN. Update on food safety of monosodium l-glutamate (MSG). Pathophysiology. 2017;24(4):243-9.
6.Hamza RZ, Al-Harbi MS. Monosodium glutamate induced testicular toxicity and the possible ameliorative role of vitamin E or selenium in male rats. Toxicol Rep. 2014;1:1037-45.
7.Sharma A. Monosodium glutamate-induced oxidative kidney damage and possible mechanisms: a mini-review. J Biomed Sci. 2015;22:93.
8.Moldovan OL, Rusu A, Tanase C, Vari CE. Glutamate - A multifaceted molecule: Endogenous neurotransmitter, controversial food additive, design compound for anti-cancer drugs. A critical appraisal. Food Chem Toxicol. 2021;153:112290.
9.Hamza RZ, Diab AEA. Testicular protective and antioxidant effects of selenium nanoparticles on Monosodium glutamate-induced testicular structure alterations in male mice. Toxicol Rep. 2020;7:254-60.
10.Beas-Zárate C, Pérez-Vega M, González-Burgos I. Neonatal exposure to monosodium L-glutamate induces loss of neurons and cytoarchitectural alterations in hippocampal CA1 pyramidal neurons of adult rats. Brain Res. 2002;952(2):275-81.
11.Rahimi Anbarkeh F, Baradaran R, Ghandy N, Jalali M, Reza Nikravesh M, Soukhtanloo M. Effects of monosodium glutamate on apoptosis of germ cells in testicular tissue of adult rat: An experimental study. Int J Reprod Biomed. 2019;17(4):261-70.
12.Oforofuo IAO, Onakewhor JUE, Idaewor PE. The effect of chronic administration of MSG on the histology of the adult Wistar Rat testes. Biosci Res Commun. 1997;9(2):30-56.
13.Algahim MF, Yang PB, Wilcox VT, Burau KD, Swann AC, Dafny N. Prolonged methylphenidate treatment alters the behavioral diurnal activity pattern of adult male Sprague-Dawley rats. Pharmacol Biochem Behav. 2009;92(1):93-9.
14.Abdollahzadeh A, Kianifard D, Vafaei Saiah G. Study of the Long-Term and Dose Dependent Effects of Methylphenidate and Monosodium Glutamate on the Hormonal Alterations of the Pituitary-Testicular Axis and Sperm Analysis in Adolescence Rats. Bull Univ Agric Sci. 2017;74(1):75-81.
15.Burlina AB, Bachmann C, Wermuth B, Bordugo A, Ferrari V, Colombo JP, et al. Partial N-acetylglutamate synthetase deficiency: a new case with uncontrollable movement disorders. J Inherit Metab Dis. 1992;15(3):395-8.
16.Gebhardt B, Dittrich S, Parbel S, Vlaho S, Matsika O, Bohles H. N-carbamylglutamate protects patients with decompensated propionic aciduria from hyperammonaemia. J Inherit Metab Dis. 2005;28(2):241-4.
17.Gebhardt B, Vlaho S, Fischer D, Sewell A, Böhles H. N-carbamylglutamate enhances ammonia detoxification in a patient with decompensated methylmalonic aciduria. Mol Genet Metab. 2003;79(4):303-4.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

18.Daniotti M, la Marca G, Fiorini P, Filippi L. New developments in the treatment of hyperammonemia: emerging use of carglumic acid. Int J Gen Med. 2011;4:21-8.
19.Chacher B, Liu H, Wang D, Liu J. Potential role of N-carbamoyl glutamate in biosynthesis of arginine and its significance in production of ruminant animals. J Anim Sci Biotechnol. 2013;4(1):16.
20.Wu G, Bazer FW, Davis TA, Jaeger LA, Johnson GA, Kim SW, et al. Important roles for the arginine family of amino acids in swine nutrition and production. Livest Sci. 2007;112(1-2):8-22.
21.Hu N, Mao P, Xiong X, Ma Z, Xie Z, Gao M, et al. Effect of N-Carbamylglutamate Supplementation on Growth Performance, Jejunal Morphology, Amino Acid Transporters, and Antioxidant Ability of Weaned Pigs. Animals (Basel). 2023;13(20):3183.
22.Ma W, Lu Y, Wang C. Production performance, egg quality, and uterine gene expression for layers as affected by N-Carbamylglutamate supplementation. Front Vet Sci. 2023;10:1110801.
23.Zhang FD, Wang J, Zhang HJ, Wu SG, Lin J, Qi GH. Effect of Amniotic Injection of N-Carbamylglutamate on Meat Quality of Broilers. Animals (Basel). 2020;10(4):576.
24.Zhu Y, Zhu G, Li F, Zheng L, Gao Y, Meng L, Guo F, Ding L, Mi C, Zhang Y. Effects of N-carbamyl glutamate and taurine on semen quality, serum hormone parameters and antioxidant capacity of breeding boars. Chinese J Anim Nutr. 2015;27(10):3125-33.
25.Sugiyama Y, Shimura M, Ogawa-Tominaga M, Ebihara T, Kinouchi Y, Isozaki K, et al. Therapeutic effect of *N*-carbamylglutamate in CPS1 deficiency. Mol Genet Metab Rep. 2020;24:100622.
26.Takarada T, Hinoi E, Balcar VJ, Taniura H, Yoneda Y. Possible expression of functional glutamate transporters in the rat testis. J Endocrinol. 2004;181(2):233-44.
27.Ismail NH. Assessment of DNA damage in testes from young Wistar male rat treated with monosodium glutamate. Life Sci J. 2012;9(1):930-9.
28.Mohamed IK. The effects of oral dosage of monosodium glutamate applied for short-and long-terms on the histology and ultrastructure of testes of the adult rats. J Anim Vet Adv. 2012;11(1):134-43.
29.Giovambattista A, Suescun MO, Nessralla CC, França LR, Spinedi E, Calandra RS. Modulatory effects of leptin on leydig cell function of normal and hyperleptinemic rats. Neuroendocrinology. 2003;78(5):270-9.
30.Rehan VK, Liu J, Naeem E, Tian J, Sakurai R, Kwong K, et al. Perinatal nicotine exposure induces asthma in second generation offspring. BMC Med. 2012;10:129.
31.Badger TM, Millard WJ, Martin JB, Rosenblum PM, Levenson SE. Hypothalamic-pituitary function in adult rats treated neonatally with monosodium glutamate. Endocrinology. 1982;111(6):2031-38.
32.Igwebuike UM, Nwankwo IA, Ochiogu IS. Effects of oral administration of monosodium glutamate (MSG) on serum testosterone levels and muscle mass development in male rats. Anim Res Int. 2010;7(2):1212-7.
33.Iamsaard S, Sukhorum W, Samrid R, Yimdee J, Kanla P, Chaisiwamongkol K, et al. The sensitivity of male rat reproductive organs to monosodium glutamate. Acta Med Acad. 2014;43(1):3-9.
34.Redding TW, Schally AV, Arimura A, Wakabayashi I. Effect of monosodium glutamate on some endocrine functions. Neuroendocrinology. 1971;8(3):245-55.
35.Gong SL, Xia FQ, Wei J, Li XY, Sun TH, Lu Z, et al. Harmful effects of MSG on function of hypothalamus-pituitary-target gland system. Biomed Environ Sci. 1995;8(4):310-7.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

36.Hamza RZ, Al-Salmi FA, Laban H, El-Shenawy NS. Ameliorative Role of Green Tea and Zinc Oxide Nanoparticles Complex Against Monosodium Glutamate-Induced Testicular Toxicity in Male Rats. Curr Pharm Biotechnol. 2020;21(6):488-501.

37.Soltani Z, Shariatpanahi M, Aghsami M, Owliaey H, Kheradmand A. Investigating the effect of exposure to monosodium glutamate during pregnancy on development of autism in male rat offspring. Food Chem Toxicol. 2024;185:114464.

38.Shosha HM, Ebaid HM, Toraih EA, Abdelrazek HMA, Elrayess RA. Effect of monosodium glutamate on fetal development and progesterone level in pregnant Wistar Albino rats. Environ Sci Pollut Res Int. 2023;30(17):49779-97.

39.George KR, Shibija NG, Malini NA. Monosodium Glutamate (MSG) Induced Developmental Dysfunction in Female Albino Rats (*Rattus Norvegicus*). Bioscan. 2013;8(1):73-6.

40.Tawfeeq FK, Jarjees EH. The effect of monosodium glutamate to pregnant female rats and embryos. Al-Anbar J Vet Sci. 2013;6(2):100-7.

41.Abu Elnaga NA, Sarhan M, Mansour H. Teratogenicity of Monosodium Glutamate on the Pregnant Rats and Their Fetuses. Egypt J Hosp Med. 2019;74(8):1737-47.

42.Gad El-Hak HN, Abdelrazek HMA, Zeidan DW, Almallah AA, Khaled HE. Assessment of changes in the liver of pregnant female rats and their fetuses following monosodium glutamate administration. Environ Sci Pollut Res Int. 2021;28(32):44432-41.

43.Kondoh T, Torii K. MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague-Dawley rats. Physiol Behav. 2008;95(1-2):135-44.

44.Tordoff MG, Aleman TR, Murphy MC. No effects of monosodium glutamate consumption on the body weight or composition of adult rats and mice. Physiol Behav. 2012;107(3):338-45.

45.Zanfirescu A, Ungurianu A, Tsatsakis AM, Niţulescu GM, Kouretas D, Veskoukis A, et al. A review of the alleged health hazards of monosodium glutamate. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2019;18(4):1111-34.

46.Al-Ghamdi F. Toxicity of Monosodium Glutamate on the liver of chick embryos and the effectiveness of pomegranate peel extract in reducing this toxicity (to show scientific miracles in the Quran and Sunnah). Life Sci J. 2017;14(9):37-60.

47.Tavaria M, Gabriele T, Kola I, Anderson RL. A hitchhiker's guide to the human Hsp70 family. Cell Stress Chaperones. 1996;1(1):23-8.

48.Wu X, Ruan Z, Gao Y, Yin Y, Zhou X, Wang L, et al. Dietary supplementation with L-arginine or N-carbamylglutamate enhances intestinal growth and heat shock protein-70 expression in weanling pigs fed a corn- and soybean meal-based diet. Amino Acids. 2010;39(3):831-9.

49.Wu X, Wan D, Xie C, Li T, Huang R, Shu X, et al. Acute and sub-acute oral toxicological evaluations and mutagenicity of N-carbamylglutamate (NCG). Regul Toxicol Pharmacol. 2015;73(1):296-302.

50.Cao W, Xiao L, Liu G, Fang T, Wu X, Jia G, et al. Dietary arginine and N-carbamylglutamate supplementation enhances the antioxidant statuses of the liver and plasma against oxidative stress in rats. Food Funct. 2016;7(5):2303-11.

51.Zhang H, Jin Y, Wang M, Loor JJ, Wang H. *N*-Carbamylglutamate and l-arginine supplementation improve hepatic antioxidant status in intrauterine growth-retarded suckling lambs. RSC Adv. 2020;10(19):11173-81.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]

52.Ma W, Dang X, Zhang J, Wang C, Li D. Effects of dietary supplementation of N-carbamylglutamate on the haematology parameters, secondary sexual characteristics and testicular gene expression in roosters. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2023;107(2):621-30.

53.Atiyah AJ, Al-Shanoon H, Al-Badry KI, Ibrahim FF, Mahmoud SH. Effect of using n-carbamoyl glutamate (NCG) as feed additive on the semen quality of bull. Plant Arch. 2020;20(2):6485-91.

54.Cai Y, Luo YZ, Zang RX, Li CY, Zhaxi YP. Effect of N-carbamylglutamate supplementation during early pregnancy on early embryonic survival and blood indexes in ewes. Acta Prataculturae Sinica. 2021;30(6):170-9.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.16]