



GIDA AZO BOYALARININ ERKEK REPRODÜKTİF TOKSİSİTESİ YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF FOOD AZO DYES IN TERMS OF MALE REPRODUCTIVE TOXICITY

Büşra KORKUT ÇELİKATEŞ^{1*} , Merve BAYSAL¹ 

¹Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 26470, Eskişehir, Türkiye

ÖZ

Amaç: Sentetik gıda boyaları, endüstriyel ve ticari ürünlerin görünümünü iyileştiren ve lezzetini artıran önemli bileşenlerden biridir. Ancak, çoğunlukla azo fonksiyonel gruplar ve aromatik halkalar içeren kimyasal yapılarından dolayı, bu maddelerin insan sağlığına potansiyel olarak zararlı olabileceği konusunda endişeler bulunmaktadır. Birçok çalışma, azo grubuna dahil olan boyaların aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olabilen nitro türevleri olduğunu, bağırsak mikroflorası tarafından oluşan metabolitlerin mutajenez ve karsinojenez çalışmalarının odak noktasında yer aldığını belirtmiştir. Çeşitli çalışmalar, azo boyaların erkek reproduktif sistemi üzerinde, özellikle de sperm parametrelerinde olumsuz etkileri olduğunu göstermiştir. Bu etkilere serum testosteron konsantrasyonundaki azalma da eşlik etmiştir.

Sonuç ve Tartışma: Gıda azo boylarıyla ilgili çalışmalara olan ilginin artarak devam etmesi olası toksisite mekanizmalarını aydınlatma ihtiyacını beraberinde getirmiştir. Bu derlemede yaygın kullanılan gıda azo boylarıyla ilgili genel bilgiler sunulmuş ve erkek reproduktif sistem üzerindeki olumsuz etkilerine dair yapılan in vivo çalışmalar sonuçlarıyla değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Erkek reproduktif sistem, gıda azo boyları, toksisite

ABSTRACT

Objective: Synthetic food dyes are one of the important ingredients that enhance the appearance and taste of industrial and commercial products. However, concerns exist about their potential harm to human health due to their chemical structures, which often contain azo functional groups and aromatic rings. Many studies have stated that dyes belonging to the azo group are nitro derivatives that can cause hypersensitivity reactions, and that the metabolites produced by intestinal microflora are the focus of mutagenesis and carcinogenesis studies. Various studies have shown that azo dyes have negative effects on the male reproductive system, especially on sperm parameters. These effects were accompanied by a decrease in serum testosterone concentration.

Result and Discussion: The increasing interest in studies on food azo dyes has brought about the need to elucidate possible toxicity mechanisms. In this review, general information about commonly used food azo dyes is presented and the results of in vivo studies on their negative effects on the male reproductive system are evaluated.

Keywords: Food azo dyes, male reproductive system, toxicity

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Büşra Korkut ÇelİKates
e-posta / e-mail: busrakorkutcelikates@anadolu.edu.tr, Tel. / Phone: +902223350580/3753

Gönderilme / Submitted : 10.05.2024

Kabul / Accepted : 03.08.2024

Yayınlanma / Published : 10.09.2024









GİRİŞ

Renk, gıdaların lezzet algısını oluşturan ve kabul edilebilirliğini etkileyen önemli bir faktördür [1,2]. Bu nedenle gıda endüstrisi, işlenmiş gıdaların görsel çekiciliği artırmak ve teknolojik farklılıkları maskeleyerek için doğal veya sentetik boyalar kullanmaktadır [3,4]. 19.yy ortalarından önce renklendirici özelliklere sahip maddeler doğal kaynaklardan elde edilmiştir. Ancak doğal kaynaklardan elde edilen boyaların çoğunun stabil olmaması ve gıdanın işlenmesi sırasında kolaylıkla bozulması sebebiyle 20. yy başlarında doğal kaynakların yerini neredeyse tamamen sentetik boyalar almıştır [5]. Sentetik boyalar, stabiliteyi, düşük maliyetleri, geniş renk yelpazeleri, kolay sentez edilebilirlikleri gibi avantajları nedeniyle de yaygın olarak kullanılmaktadır [6,7]. Gıda endüstrisinde kullanılan sentetik boyalar arasında pazarın %60'tan fazlasını oluşturan azo boyaların önemlerinin gelecekte daha da artacağı düşünülmektedir [8,9]. Azo boya endüstrisinin yıllık küresel üretimi 1 milyon tondan, değeri ise 15 milyar dolardan fazladır. 100.000'den fazla sentezlenen farklı azo boyanın 1000'den fazlası kullanılmaktadır [10].

Gıda Azo Boyalarının Kimyasal Yapıları

Azo boyalar düşük molekül ağırlıklı ve suda çözünürlüğü yüksek sentetik organik bileşiklerdir [11]. Azo grubu, aromatik halkaları birbirine bağlayan, genellikle amino (-NH₂) veya sülfonat (-SO₃-) grupları gibi diğer fonksiyonel gruplarla birlikte N atomları (N=N) arasında bir çift bağ ile karakterize edilir [12]. Mene, 1861 yılında birincil aromatik aminin diazotizasyonunu ve birleştirmeyi kullanarak ilk azo boyasını sentezlemiştir [13]. Sentezlenen azo bileşikler güçlü canlı renkler sunar ve gıdaların yanı sıra tekstil boyaları, dövme pigmentleri ve ilaçlar gibi çok çeşitli sentetik kimyasallarda da bulunur [14]. En yaygın kullanılan gıda azo boyaları Tablo 1'de gösterilmiştir [15].

Tablo 1. Gıda endüstrisinde yaygın kullanılan azo boyaları

Azo Boyası	ADI (mg/kg/gün)	Renk	Azo Boyası	ADI (mg/kg/gün)	Renk
TRZ (E102) ¹ (C.I. 19140) ² (FD&C Yellow 5) ³ C ₁₆ H ₉ N ₄ Na ₃ O ₉ S ₂	7.5		Ponzo 4R (E124) ¹ (C.I. 16255) ² C ₂₂ H ₁₆ N ₄ O ₁₃ S ₄	0.7	
GS (E110) ¹ (C.I. 15985) ² (FD&C Yellow 6) ³ C ₁₆ H ₁₀ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂	1		AK (E129) ¹ (C.I. 16035) ² (FD&C Red 40) ³ C ₁₈ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ S ₂	7	
KAR (E122) ¹ (C.I.14720) ² (FD&C Red 10) ³ C ₂₀ H ₁₂ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂	4		PM (E133) ¹ (C.I. 42090) ² , (FD&C Blue 1) ³ C ₃₇ H ₃₄ N ₂ Na ₂ O ₉ S ₃	6	
AMA (E123) ¹ (C.I.16185) ² (FD&C Red 2) ³ C ₂₀ H ₁₁ N ₂ Na ₃ O ₁₀ S ₃	0.15		ÇK (E155) ¹ (C.I. 20285) ² C ₂₇ H ₁₈ N ₄ Na ₂ O ₉ S ₂	1.5	

* TRZ: Tartrazin, GS: Günbatımı sarısı; KAR: Karmosin; AMA: Amaran; AK: Allura kırmızısı; PM: Parlak mavi; ÇK: Çikolata kahverengi; ADI: Günlük kabul edilebilir alım miktarı; ¹ Avrupa numaralandırma sistemi; ² Uluslararası renk indeksi; ³ Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi onaylı terminoloji

Gıda Azo Boyaları ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Sentetik gıda boyalarının insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri konusunda giderek artan bir endişe vardır. Modern yaşamdaki büyük önemlerine rağmen, azo bileşiklerinin genel olarak karsinojenitesi, genotoksitesitesi ve metabolizmasına ilişkin bilgi eksikliği devam etmektedir [16]. Çoğu durumda azo bileşiklerinin metabolitleri, boyaların kendisinden daha fazla toksikolojik öneme sahiptir;

ancak bu metabolitlerin toksisitesi düzenleyici kurumlar tarafından sistematik olarak ele alınmamıştır [17].

FAO (Food and Agriculture Organization/Gıda Tarım Örgütü) ve WHO (World Health Organisation/Dünya Sağlık Örgütü) bünyesinde 1956 yılında gıda katkı maddeleri konusunda ortak bir otorite olarak JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives/ FAO/WHO Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi) kurulmuştur. Bu komite gıda boyalarının küresel düzeyde güvenlik değerlendirmesi standartlarını belirlemiştir. Katkı maddeleri üzerinde yürütülen çalışmaların ele alındığı periyodik toplantılarda ADI (Acceptable Daily Intakes/Günlük Kabul Edilebilir Alım Miktarı) değerleri belirlenmektedir. ADI, bir kişinin tüm yaşamı boyunca kayda değer bir sağlık riski olmaksızın günlük olarak tüketebileceği miktarı ifade etmektedir. Birimi günde miligram/kilogram (mg/kg) vücut ağırlığıdır [18,19]. Tüketicilere güvenli gıda ürünleri sunmak amacıyla da FDA (Food and Drug Administration/Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi), EFSA (The European Food Safety Authority/Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) ve JECFA kullanım izinlerini düzenlemektedir [19]. Riskin tanımlanmasını, kontrolünü ve azaltılmasını kolaylaştırmak amacıyla "E numaraları" adı verilen bir numaralandırma sistemi kurulmuştur. Örneğin gıda azo boyalarından tartrazin (TRZ) E102 koduyla, günbatımı sarısı (GS) E110 koduyla bilinmektedir. E kodu altında sınıflandırılan gıda renklendiricileri izin verilen miktarlarına göre kullanılmaktadır [18].

Gıda Azo Boyalarının Toksik Etkileri

Sentetik renklendiricilerin ADI değerlerinde alımı güvenli bulunsa da yüksek konsantrasyonlarda tüketilmesi, özellikle çocuklarda düşük vücut ağırlıklarından dolayı birçok rahatsızlığa neden olabilmektedir [20,21]. Gıda üreticilerinin ortalama %48'i izin verilen maksimum sınır olan 100 mg/kg'a uyarken, geri kalan %52'si belirlenen sınırın fazlasını kullanmaktadır. Bireysel yanıt yalnızca doz, yaş, cinsiyet, beslenme durumu ve genetik faktörlerle değil aynı zamanda düşük dozlara uzun süreli maruz kalmayla da ilişkilendirilmektedir [22].

Memelilerde, azo boyaların redüksiyonu başlıca alt gastrointestinal sistemin anaerobik ortamında bakteriyel azoredüktaz enzimleri tarafından kataliz edilen metabolizmaya bağlıdır [23,24]. Bu redüksiyonla, azo boyasına göre daha kolay absorbe edilen ve dışkıyla atılabilen sülfanilik asit ve aminopirazolon metabolitleri oluşur [25,26]. Değişmeden atılan azo boyalarının idrarla atılımı çok düşüktür veya ihmal edilebilir düzeydedir [15]. Azo boyaların metabolitleri, olumsuz hematolojik/biyokimyasal etkilerin yanı sıra reaktif oksijen türlerinin (ROT) neden olduğu oksidatif stres aracılığıyla karaciğer hasarına yol açabilir [24]. Sülfanilik asit, hücre bölünmesini etkileyebilir ve rejeneratif hiperplaziye neden olabilir, bu da potansiyel olarak karsinogeneze katkıda bulunabilir [27]. Ancak toksisite doza bağlıdır ve genel olarak "toksik olmayan" olarak kabul edilen bazı boyalar yüksek dozlarda toksik hale gelebilir [28]. ABD ve bazı Avrupa ülkelerinde bazı azo boyaları toksik, mutajenik ve karsinojenik etkileri nedeniyle gıda katkı maddesi olarak yasaklanmıştır [29]. Gıda azo boyaları burun akıntısından anafilaktik şoka kadar değişen alerjik reaksiyonlardan sorumlu tutulmuştur [30]. Ayrıca nörotoksisiteyi [31,32], hepatotoksisiteyi [22,33], nefrotoksisiteyi [34], genotoksisiteyi [35,36] ve reprotoksisiteyi indüklediğine dair çalışmalar mevcuttur [30,37].

Özellikle çocuklarda kontakt dermatit, ürtiker, gastrointestinal intolerans, bronkospazm, eozinofili, anjiyoödem ve hiperaktivite gibi etkilere sebep olabileceği ifade edilmiştir [38,39]. Yapılan *in vivo* çalışmalarda azo gıda boyalarının nefrotoksisiteye, hepatotoksisiteye, anemiye, lökopeniye neden olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca bu boyaların proteinlerle etkileşerek protein konfigürasyonunun bozulmasına yol açtığı belirtilmiştir. Literatür incelendiğinde sentetik gıda boyalarının neredeyse tamamının toksik ve karsinojen olan kömür katranından elde edildiği görülmüştür [35,40,41].

Erkek infertilitesi tüm dünyada devam eden ciddi sağlık sorunlarından biridir. Erkek reproduktif bozukluklarının görülme sıklığı gün geçtikçe artmaktadır. Genetik faktörler, yaşam tarzı, mesleki etkenler, ilaçlar gibi birçok faktör infertiliteyi etkilemektedir. Özellikle hazır gıda, abur cubur ve meşrubat tüketimi modern yaşam tarzının bir parçası haline gelmiştir [42]. Ayrıca çevresel faktörlerin de önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir [43-45].

Gıda Azo Boyalarının Erkek Reproduktif Sistem Üzerine Toksisitelerinin Değerlendirilmesi

Hayvanların vücut ağırlığının takibiyle elde edilen genel sağlık durumu bilgileri reproduktif

sağlığın yorumlanması için de önemli olabilir [37]. Farklı dozlarda TRZ uygulanan hayvanlarda görülen anlamlı vücut ağırlığı artışları, boyanın diyabeti indükleyebileceği ile ilişkilendirilmiştir [37,46,47]. Ancak TRZ uygulamasının vücut ağırlığındaki anlamlı azalışlara neden olduğu bildirilen çalışmalar da mevcuttur. Bu durum TRZ toksisitenin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir [30,42,48]. Benzer şekilde çikolata kahverengi (ÇK) uygulanan sığırcılarda vücut ağırlığında doza bağlı (200 mg/kg ve 400 mg/kg) bir azalış gözlenmiştir [49].

Erkek reproduktif sistemde testis ve epididimis ağırlık kaybı, sperm sayısında ve motilitesinde azalma ksenobiyotiklerin spermatogenez üzerindeki olumsuz etkilerini tespit etmek için önemli kabul edilen göstergelerdir [37]. Testis ve epididimis ağırlığı spermatojenik hücrelerin ağırlığıyla ilişkili olduğundan spermatogenezdeki hasar testis ağırlığında da azalmaya sebep olabilir [46]. Daha önceki çalışmalarda testis ağırlığı ile sperm üretimi arasındaki pozitif korelasyondan bahsedilmiştir [50,51]. TRZ ve GS ile yürütülen çalışmalarda deney gruplarının testis ve epididimis ağırlıklarında kontrol grubuna göre anlamlı azalmalar gözlenmiştir [37,42,46,48,50]. Bununla birlikte, TRZ'nin testis ve epididimis ağırlıklarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı da bildirilmiştir [30].

Sperm analizi erkeklerde reproduktif sağlığın değerlendirilmesinde birincil kriterdir [42]. Sperm farklılaşması sırasında maruz kalınan toksik etkinin neden olduğu morfolojik anomaliler, üreme hücreleri üzerindeki kimyasal toksisitenin bir başka göstergesidir [46]. Sperm sayısının azalması ve anormal sperm yüzdesinin artması, spermatogenezdeki aksama ve spermatozoa apoptozu ile ilişkilendirilmiştir [48,51,52]. Ayrıca spermdeki morfolojik anomalilerin sperme şeklini veren yapısal proteinlerdeki hasarla bağlantılı olabileceği ifade edilmiştir [46]. Boussada ve arkadaşları sperm morfolojik değerlendirmesinde hasarı daha çok sperm kuyruğunda gözlemlenmelerini TRZ'nin teorikte olgunlaşma veya spermatogenez süreci sırasında flagellum gelişiminde bozulmaya neden olabileme ihtimaline dayandırmıştır [30].

Testosteron (T) testis gelişimini, sperm olgunlaşmasını ve sperm apoptozunu kontrol ederek sağlıklı üreme aşamalarını sürdüren önemli bir faktördür; bu androjenin düşük konsantrasyonları genellikle Leydig hücrelerinin T üretimini düzenleyen hipotalamus-hipofiz-gonad ekseninin bozulmasıyla ilişkilidir [53]. Hipoandrojenik ortamın sebep olduğu epididimal fonksiyon bozuklukları spermatogenez ve steroidogenez başarısızlığıyla bağlantılıdır [42]. Testiste düşük T düzeyi, esas olarak aşırı sperm apoptozuna neden olur ve spermin hayatta kalmasını azaltır. Hipofiz tarafından salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinleştirici hormon (LH) ise sırasıyla spermatogenez ve steroidogenezin düzenlenmesinden sorumludur [54]. Hem androjenler hem de FSH, destekleyici somatik hücreler olan Sertoli hücrelerindeki reseptörler üzerinde etki göstererek optimal sperm üretimi için gereken fonksiyonları uyarır [53]. Deney hayvanlarına TRZ [30,42,48,55,56], GS [50,57], karmosin (KAR) [58], ÇK [49,59] ve parlak mavi (PM) [60] uygulamasıyla deney gruplarında T seviyelerinde anlamlı düşüşler görülmüştür. Bu düşüşler azo boya maruziyetinden etkilenen adenohipofizde GnRH seviyelerinde ve buna bağlı LH seviyelerindeki azalmanın, anormal sperm yüzdesindeki artışın ve yüksek ROT üretiminin neden olduğu oksidatif hasara bağlı Leydig hücre dejenerasyonunun bir sonucu olarak yorumlanmıştır [48,56].

Androjenlerin ana öncüsü olarak bilinen kolesterol seviyesindeki değişiklikler, T üretimini önemli ölçüde etkileyebilir. Yapılan bir çalışmada testiküler kolesterolde görülen azalma testisteki düşük T üretimiyle ilişkilendirilmiştir [30].

Herhangi bir antropojenik ajanın toksisitesi belirlenirken dokulardaki histolojik değişikliklerin de incelenmesi oldukça önemlidir [48,61]. Sığırcılara TRZ uygulamasıyla testis dokularında görülen histolojik değişikliklerin, Leydig ve Sertoli hücre fonksiyonlarındaki değişikliği ve spermatogenez sürecindeki aksamaları düşündürdüğü ifade edilmiştir [56].

Gıda azo boyalarının bağırsaktaki metabolizmasının ROT üretimini indüklediği gösterilmiştir [24,62,63]. ROT oluşumunun bir sonucu olarak oksidatif stres meydana gelmektedir [64]. Oksidatif stres, ROT üretimi ile antioksidan enzimlerin (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz (GR)) aktivitesi arasındaki dengesizlikten kaynaklanır. ROT miktarları aşırı olduğunda hücre hasarı meydana gelir. Bu artışın, sperm membran hasarı ile doğrudan ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [65,66]. Testis hücrelerindeki lipid makromoleküllerin hasarı, dokuda lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyinin artmasıyla da ortaya konmaktadır [49]. Literatürdeki çalışmalarda sığırcıların reproduktif sisteminde antioksidan enzimlerin

varlığı rapor edilmiştir. Bu enzimlerin aynı zamanda spermatogeneze de katılarak spermatozoayı korudukları öne sürülmektedir [67,68]. Farklı gıda azo boyaları ile yapılan çalışmalarda testis dokusunda antioksidan enzimlerin azaldığı ve lipid peroksidasyon sürecinin arttığı raporlar sunulmuştur [30,42,48,49,58,64]. Bu çalışmaların bazılarında görülen yüksek MDA konsantrasyonlarının nedeni olarak da gıda azo boyalarının metabolizma ürünleri olan aromatik aminlerin hücre zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitleri ile etkileşime giren *N*-hidroksi türevlerine oksitlenebilmesi gösterilmiştir [30,42,58]. Fare ve sıçanlarda gıda azo boyalarının erkek reproduktif sistem üzerindeki olası etkilerini değerlendiren araştırmaların sonuçları Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Deney hayvanlarında gıda azo boyalarının erkek reproduktif sistem üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar

Azo Boyası	Tür	Uygulanan Doz (Oral)	Maruziyet Süresi	Sonuçlar	Referans
TRZ	4 haftalık Swiss albino fare	0,2 g/kg/gün 0,4 g/kg/gün	30 gün	Vücut ağırlığı ↑ Testis ve epididimis ağırlığı ↓ Sperm sayısı ve motilitesi ↓ Sperm anomalileri ↑	[46]
TRZ	90 günlük Wistar albino sıçan	72 mg/kg/gün	60 gün	SOD ve KAT aktivitesi ↓ GR ve GPX aktivitesi ↓ Testiste Cu ve Zn içeriği ↓ Testiste Fe ve Mn içeriği ↑ Seminifer tübüllerde histolojik hasar	[64]
TRZ	4 haftalık Swiss albino fare	İçme suyunda %0,1; 1 ve 2,5 oranlarında	13 hafta	Sperm sayısı ↓ (%2,5) Sperm motilitesi ↓ (%1 ve 2,5)	[37]
TRZ	Seksüel açıdan uygun Wistar albino sıçan	300 mg/kg/gün	30 gün	Vücut ağırlığı ↓ Testis ve epididimis ağırlığı ↔ Sperm anomalileri ↑ T düzeyi ↓ Total ve testiküler kolesterol düzeyi ↓ LDH ve ASP düzeyi ↑ Total protein düzeyi ↓ MDA düzeyi ↑ GR ve KAT aktivitesi ↓	[30]
TRZ	Sıçan ¹	100 mg/kg/gün 300 mg/kg/gün 500 mg/kg/gün	60 gün	Testis ve epididimis ağırlığı ↓ Sperm sayısı ve motilitesi ↓ T düzeyi ↓ FSH ve LH düzeyi ↑ MDA düzeyi ↑ SOD, GR, GPX, KAT aktivitesi ↓	[42]
TRZ	5 haftalık Swiss albino fare	10 µg/g/gün	30 gün	Vücut ağırlığı ↓ Testis ağırlığı ↓ Sperm sayısı ↓ Sperm anomalileri ↑ T düzeyi ↓ Total antioksidan kapasite ↓ Seminifer tübüllerde histolojik hasar	[48]
TRZ	Sıçan ¹	2,5-20 g/kg/gün	30, 60, 90 gün	T düzeyi ↓ ² Seminifer tübüllerde histolojik hasar ²	[55]
TRZ	Wistar albino sıçan ¹	500 mg/kg/gün	60 gün	Sperm sayısı ve motilitesi ↓ Sperm anomalileri ↑ T ve LH düzeyi ↓ Seminifer tübüllerde histolojik hasar	[56]
TRZ	4 haftalık Swiss albino fare	100 mg/kg/gün	72 gün	Vücut ağırlığı ↑ Sperm sayısı ↓ Seminifer tübüllerde histolojik hasar	[47]
TRZ+ERT (1:1)	8 haftalık Wistar albino sıçan	2,5 mg/kg/gün 5 mg/kg/gün 10 mg/kg/gün 20 mg/kg/gün	23 gün	T, LH düzeyi ↑ FSH düzeyi ↑ (5 mg/kg) FSH düzeyi ↔ (10 mg/kg) FSH düzeyi ↓ (20 mg/kg) Seminifer tübüllerde histolojik hasar	[61]

Tablo 2 (devamı). Deney hayvanlarında gıda azo boyalarının erkek reproduktif sistem üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar

Azo Boyası	Tür	Uygulanan Doz (Oral)	Maruziyet Süresi	Sonuçlar	Referans
GS	Sıçan ¹	250 mg/kg/gün 1500 mg/kg/gün	90 gün	Sperm sayısı ↓ Seminifer tübüllerde histolojik hasar	[51]
GS	Sprague-Dawley sıçan ¹	157,5 mg/kg/gün 315 mg/kg/gün	6 hafta	Bcl-2 gen mRNA ekspresyon düzeyi ↓ Kaspaz-3 gen mRNA ekspresyon düzeyi ↑ GPX gen mRNA ekspresyon düzeyi ↓ TST1 gen mRNA ekspresyon düzeyi ↑	[72]
GS	Swiss albino fare ¹	30 mg/kg/gün	60 gün	Testis ağırlığı ↓ Sperm motilitesi ↓ Sperm anomalileri ↑ T düzeyi ↓ Seminifer tübüllerde histolojik hasar	[50]
GS	Wistar albino sıçan ¹	5xADI (5 mg/kg/gün)	60 gün	T düzeyi ↓	[57]
KAR	Sprague-Dawley sıçan ¹	ADI (4 mg/kg/gün) 5xADI (20 mg/kg/gün) 10xADI (40 mg/kg/gün)	15, 30, 45 gün	Sperm sayısı ↓ ² Seminifer tübüllerde histolojik hasar ² Testin gen mRNA ekspresyon düzeyi ↑ (15 gün) Testin gen mRNA ekspresyon düzeyi ↓ (30 gün, 45 gün) GDNF gen mRNA ekspresyon düzeyi ↑ (15 gün) GDNF gen mRNA ekspresyon düzeyi ↓ (45 gün) FSHR gen mRNA ekspresyon düzeyi ↓ ² PRKA3 gen mRNA ekspresyon düzeyi ↓ (30 gün, 45 gün) SPATA7 gen mRNA ekspresyon düzeyi ↓ (30, 45 gün) SSEA1 gen mRNA ekspresyon düzeyi ↑ (15 gün) SSEA1 gen mRNA ekspresyon düzeyi ↓ (30 gün, 45 gün) C-KIT gen mRNA ekspresyon düzeyi ↑ (15 gün) C-KIT gen ekspresyon düzeyi ↓ (30 gün, 45 gün)	[73]
KAR	12-14 haftalık sıçan ¹	250 mg/kg/gün	60 gün	T, FSH, LH, GnRH düzeyi ↓ MDA düzeyi ↑ SOD, GR, KAT aktivitesi ↓	[58]
ÇK	Sıçan ¹	200 mg/kg/gün 400 mg/kg/gün	8 hafta	T, FSH, LH, GnRH düzeyi ↓	[59]
ÇK	12-14 haftalık sıçan ¹	100 mg/kg/gün 200 mg/kg/gün 400 mg/kg/gün	30 gün	Vücut ağırlığı ↓ Gonadosomatik indeks ↓ (200 mg/kg, 400 mg/kg) Sperm sayısı ve motilitesi ↓ (200 mg/kg, 400 mg/kg) T, FSH, LH düzeyi ↓ MDA düzeyi ↑ SOD, GR, GPX, KAT aktivitesi ↓ Seminifer tübüllerde histolojik hasar	[49]
PM	Sıçan ¹	0,08 g/kg/gün 0,4 g/kg/gün	15, 30, 45 gün	T düzeyi ↓ ² ASP düzeyi ↓ ² Seminifer tübüllerde histolojik hasar ²	[60]

* TRZ: Tartrazin, ERT: Eritrosin; GS: Günbatımı sarısı; KAR: Karmosin; ÇK: Çikolata kahverengi; PM: Parlak mavi; ADI: Günlük kabul edilebilir alım miktarı; SOD: Süperoksit dismutaz; KAT: Katalaz; GR: Glutasyon redüktaz; GPX: Glutasyon peroksidaz; MDA: Malondialdehit; LDH: Laktat dehidrogenaz; ASP: Asit fosfataz; T: Testosteron; FSH: Folikül uyarıcı hormon; LH: Luteinleştirici hormon; GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon; Cu: Bakır; Zn: Çinko; Fe: Demir; Mn: Mangan; GDNF: Glial hücre dizisi kökenli nörotrofik faktör; FSHR: Folikül uyarıcı hormon reseptörü; PRKA3: Protein kinaz A-sabitleyici protein 3; SPATA7: Spermatogenez ile ilişkili protein 7; SSEA1: Seviye spesifik embriyonik antijen-1; C-KIT: Tirozin kinaz reseptörü; ↑: Artış; ↓: Azalış; ↔: Değişiklik gözlenmemiştir; ¹ Türe ait soy ve/veya yaş bilgisi verilmemiştir; ² Tüm maruziyet sürelerinde değişiklik gözlenmiştir

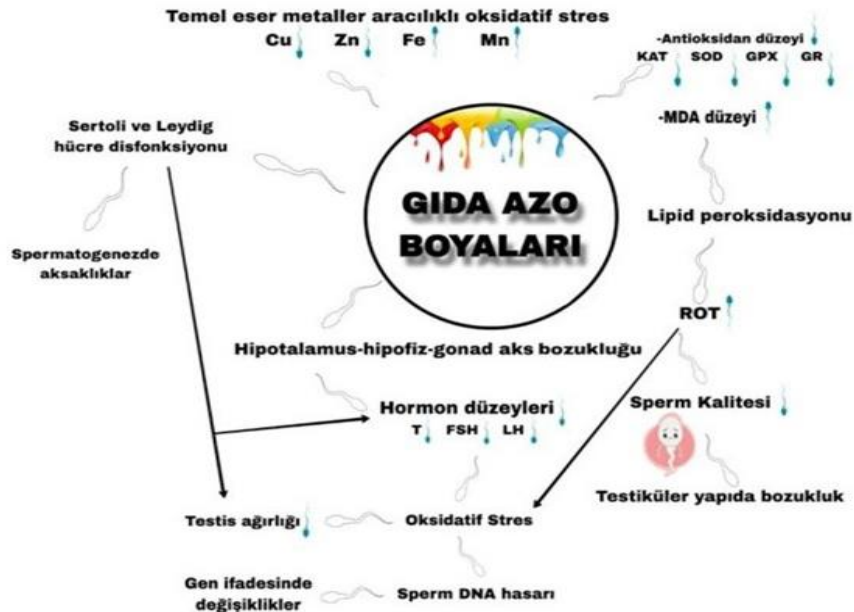
Enzimlerin katalitik ve antioksidan aktivitelerinde önemli rol oynayan bakır (Cu), demir (Fe), mangan (Mn) ve çinko (Zn) gibi eser metallerin konsantrasyonları infertilite ile ilişkilendirilmiştir. Hücre düzeyinde Zn'nin varlığı, gonadlarda hücre büyümesi ve bölünmesi için gereklidir [69]. TRZ maruziyetiyle sıçanlarda testiküler yapıdaki Cu ve Zn düzeylerinde görülen azalmalar seminifer tübüllerdeki hasar ve bozulmuş spermatogenezle ilişkilendirilmiştir. Fe düzeylerindeki artışın sebebi olarak da Cu ile arasındaki karşılıklı antagonizma gösterilmiştir. TRZ'nin testislerden başlattığı Zn mobilizasyonunun antioksidan enzim sisteminin depresyonuyla ve testiküler yapının bozulmasıyla sonuçlandığı ifade edilmiştir [64].

B-hücreli lenfoma-2 (Bcl-2), kaspaz aktivasyon blokağı ile hücre ölümünü önleyerek apoptoz ve nekrozu inhibe eden anahtar bir proteindir [70]. Testis spesifik taşıyıcı (TST1) ise gonad hücrelerinde seks steroidlerinin taşınması ve spermatogenezin düzenlenmesinde rol oynayan taşıyıcı bir sistemdir [71]. Sıçanlara GS'nin uygulanması testis dokusunda Bcl-2 ve GPX'in mRNA ekspresyonunda azalışa ve kaspaz-3 ve TST1 mRNA ekspresyonunda artışa sebep olmuştur. Gen ifadelerindeki bu değişikliklerin apoptozu tetiklediği ve hücre detoksifikasyon sistemini aksattığı ifade edilmiştir [72].

Spermatogenez kontrol eden genlerin ekspresyonuyla ilgili detaylı bulguların sunulduğu başka bir çalışmada KAR uygulanan sıçanlarda testin, glial hücre dizisi kökenli nörotrofik faktör (GDNF), folikül uyarıcı hormon reseptörü (FSHR), protein kinaz A-sabitleyici protein 3 (PRKA3), spermatogenez ile ilişkili protein 7 (SPATA7), tirozin kinaz reseptörü (C-KIT) ve seviye spesifik embriyonik antijen-1 (SSEA1) gen ifadelerinde doza (ADI, 5 x ADI, 10 x ADI) ve maruziyet zamanına (15, 30, 45 gün) göre değişkenlik gösteren, kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkların bulunduğu ifade edilmiştir [73].

Sertoli hücrelerinin lizozomlarında mevcut olduğu bilinen asit fosfataz (ASP) enzimi spermatogenez sürecinin normal işleyişini teşvik eder [74]. PM'nin farklı dozlarda ve farklı maruziyet zamanlarında sıçanlara verilmesiyle tüm deney gruplarında görülen anlamlı testiküler ASP ve T düzeyleri düşüşünü birbiriyle ilişkilendirmiştir [60]. Bu çalışmadaki azo boyanın ASP üzerindeki etkisinin aksine başka bir çalışmada ise 300 mg/kg TRZ uygulanan sıçanlarda 30 günlük maruziyet sonucu ASP düzeylerinde artış gözlenmiştir. Doku ve hücrelerdeki toksisite düzeyini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan laktat dehidrogenaz (LDH) artışının da eşlik ettiği bu durum prostat ve veziküler bezlerdeki TRZ toksisitesi ile bağdaştırılmıştır [30].

Bahsi geçen *in vivo* çalışmaların ışığında gıda azo boyalarının erkek reproduktif sistemi hangi mekanizmalarla etkileyebileceği Şekil 1'de görselleştirilmiştir.



Şekil 1. Gıda azo boya ile indüklenen erkek reproduktif sistem toksisitesinin olası mekanizmaları

SONUÇ VE TARTIŞMA

Gıda ve ilaç endüstrisinde kullanımı onaylanmış olmasına rağmen sentetik gıda azo boyaları sağlık açısından risk oluşturabilir. Son zamanlarda gıda azo boyalarının erkeklerde reproduktif fonksiyonlar açısından etkilerini inceleyen deneysel çalışmaların sayısında artış gözlenmiştir.

Yapılan çalışmalar, gıda azo boyaları uygulanan hayvanların sperm konsantrasyonunda ve motilitesinde belirgin bir azalmanın yanı sıra anormal sperm yüzdesinde bir artışın olduğunu ortaya koymuştur. Bu boyaların hayvanlarda erkek reproduktif fonksiyonları, oksidatif stres yoluyla testiküler dokuya zarar vererek, ön hipofizden salınan GnRH, FSH ve LH'nin plazma seviyesini azaltarak, Leydig hücrelerinden T salgılanmasını inhibe ederek baskıladığı görülmüştür. T seviyelerindeki azalmalar, gıda azo boyalarının erkek reproduktif sistemde bozulan işlevler için anahtar bir mekanizmayı temsil edebilir. Mevcut çalışmalardan, gıda azo boyalarının doza ve zamana bağlı olarak erkek reproduktif sistem üzerinde farklı düzeylerde toksik etkileri olduğu sonucuna varılabilir.

Sağlıklı hayvanlarda az sayıda çalışma yapılması ve klinikteki çalışmaların uygulanabilirliğinin tartışmalı olması reproduktif patolojilerde boyaların rolünün net olarak anlaşılmasını mümkün kılmamaktadır. Bu nedenle azo boyaların neden olabileceği erkek reproduktif sistem toksisitesinde rol oynayan mekanizmaları belirlemek için daha fazla çalışmaya ve araştırmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca reproduktif çalışmaların daha çok TRZ üzerine odaklanması, literatürde diğer boyaların birçoğuna dair kısıtlı çalışmanın yer alması dikkat çekicidir.

Üretim ve kullanım kolaylığı açısından doğal gıda boyalarına göre avantajlarının bulunması nedeniyle gıda azo boyaları yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle reproduktif çağdaki erkekler üzerindeki olumsuz etkilerini araştırmanın, zararlı etkileri konusunda üretici/tüketici farkındalığını oluşturmanın, hükümet politikalarında yapılan düzenlemelerle gıdalara eklenen konsantrasyonlarını belirterek uygun şekilde etiket hazırlamanın konuya dikkat çekmek için yardımcı olacağı düşünülebilir.

YAZAR KATKILARI

Kavram: B.K.Ç.; Tasarım: B.K.Ç., M.B.; Denetim: M.B.; Kaynaklar: - ; Malzemeler: - ; Veri Toplama ve/veya İşleme: B.K.Ç.; Analiz ve/veya Yorumlama: B.K.Ç., M.B.; Literatür Taraması: B.K.Ç.; Makalenin Yazılması: B.K.Ç., M.B.; Kritik İnceleme: M.B.; Diğer: -

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

1. Burrows, J.D. (2009). Palette of our palates: A brief history of food coloring and its regulation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(4), 394-408. [\[CrossRef\]](#)
2. Zeece, M. (2020). Food colorants. In: M. Zeece (Ed.), *Introduction to the Chemistry of Food*, (pp. 313-344). Cambridge: Academic Press. [\[CrossRef\]](#)
3. Lehto, S., Buchweitz, M., Klimm, A., Straßburger, R., Bechtold, C., Ulberth, F. (2017). Comparison of food colour regulations in the EU and the US: A review of current provisions. *Food Additives & Contaminants*, 34(3), 335-355. [\[CrossRef\]](#)
4. Ramos-Souza, C., Bandoni, D.H., Bragotto, A.P.A., De Rosso, V.V. (2023). Risk assessment of azo dyes as food additives: Revision and discussion of data gaps toward their improvement. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(1), 380-407. [\[CrossRef\]](#)
5. Majcen-Le Marechal, A., Slokar, Y.M., Taufer, T. (1997). Decoloration of chlorotriazine reactive azo dyes with H₂O₂/UV. *Dyes and Pigments*, 33(4), 281-298. [\[CrossRef\]](#)
6. Chequer, F.M.D., Dorta, D.J., de Oliveira, D.P. (2011). Azo dyes and their metabolites: Does the discharge of the azo dye into water bodies represent human and ecological risks. *Advances in Treating Textile Effluent*, 48, 28-48. [\[CrossRef\]](#)
7. Yamjala, K., Nainar, M.S., Ramiseti, N.R. (2016). Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry-A review. *Food Chemistry*, 192, 813-824. [\[CrossRef\]](#)
8. König, J. (2015). Food colour additives of synthetic origin. In: M.J. Scotter (Ed.), *Colour Additives for*

- Foods and Beverages, (pp. 35-60). Woodhead Publishing. [\[CrossRef\]](#)
9. Cui, M.H., Liu, W.Z., Tang, Z.E., Cui, D. (2021). Recent advancements in azo dye decolorization in bio-electrochemical systems (BESs): Insights into decolorization mechanism and practical application. *Water Research*, 203, 117512. [\[CrossRef\]](#)
 10. Hashemi, S.H., Kaykhaii, M. (2022). Azo dyes: Sources, occurrence, toxicity, sampling, analysis, and their removal methods. In: T. Dalu and N.T. Tavengwa (Eds.), *Emerging Freshwater Pollutants*, (pp. 267-287). Amsterdam: Elsevier. [\[CrossRef\]](#)
 11. Kalia, A., Singh, S. (2020). Myco-decontamination of azo dyes: Nano-augmentation technologies. *3 Biotech*, 10(9), 384. [\[CrossRef\]](#)
 12. Mota, I.G.C., Neves, R.A.M.D., Nascimento, S.S.D.C., Maciel, B.L.L., Morais, A.H.D.A., Passos, T.S. (2023). Artificial dyes: Health risks and the need for revision of international regulations. *Food Reviews International*, 39(3), 1578-1593. [\[CrossRef\]](#)
 13. Chung K.T. (2016). Azo dyes and human health: A review. *Journal of Environmental Science and Health. Part C, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, 34(4), 233-261. [\[CrossRef\]](#)
 14. Bafana, A., Devi, S.S., Chakrabarti, T. (2011). Azo dyes: Past, present and the future. *Environmental Reviews*, 19(NA), 350-371. [\[CrossRef\]](#)
 15. Barciela, P., Perez-Vazquez, A., Prieto, M.A. (2023). Azo dyes in the food industry: Features, classification, toxicity, alternatives, and regulation. *Food and Chemical Toxicology*, 178, 113935. [\[CrossRef\]](#)
 16. Cox, J.A., White, P.A. (2019). The mutagenic activity of select azo compounds in MutaMouse target tissues *in vivo* and primary hepatocytes *in vitro*. *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 844, 25-34. [\[CrossRef\]](#)
 17. Josephy, P.D., Allen-Vercoe, E. (2023). Reductive metabolism of azo dyes and drugs: Toxicological implications. *Food and Chemical Toxicology*, 178, 113932. [\[CrossRef\]](#)
 18. Amchova, P., Kotolova, H., Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3), 914-922. [\[CrossRef\]](#)
 19. Fitch, S.E., Payne, L.E., van de Ligt, J.L.G., Doepker, C., Handu, D., Cohen, S.M., Anyangwe, N., Wikoff, D. (2021). Use of acceptable daily intake (ADI) as a health-based benchmark in nutrition research studies that consider the safety of low-calorie sweeteners (LCS): A systematic map. *BMC Public Health*, 21(1), 956. [\[CrossRef\]](#)
 20. Dixit, S., Purshottam, S.K., Gupta, S.K., Khanna, S.K., Das, M. (2010). Usage pattern and exposure assessment of food colours in different age groups of consumers in the State of Uttar Pradesh, India. *Food Additives & Contaminants*, 27(2), 181-189. [\[CrossRef\]](#)
 21. Mielech, A., Puścion-Jakubik, A., Socha, K. (2021). Assessment of the risk of contamination of food for infants and toddlers. *Nutrients*, 13(7), 2358. [\[CrossRef\]](#)
 22. Reza, M.S.A., Hasan, M.M., Kamruzzaman, M., Hossain, M.I., Zubair, M.A., Bari, L., Abedin, M.Z., Reza, M.A., Khalid-Bin-Ferdaus, K.M., Haque, K.M.F., Islam, K., Ahmed, M.U., Hossain, M.K. (2019). Study of a common azo food dye in mice model: Toxicity reports and its relation to carcinogenicity. *Food Science & Nutrition*, 7(2), 667-677. [\[CrossRef\]](#)
 23. Ameer, F.Z., Mehedi, N., Soler Rivas, C., Gonzalez, A., Kheroua, O., Saidi, D. (2019). Effect of tartrazine on digestive enzymatic activities: *In vivo* and *in vitro* studies. *Toxicological Research*, 36(2), 159-166.
 24. Elbanna, K., Sarhan, O.M., Khider, M., Elmogy, M., Abulreesh, H.H., Shaaban, M.R. (2017). Microbiological, histological, and biochemical evidence for the adverse effects of food azo dyes on rats. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(3), 667-680. [\[CrossRef\]](#)
 25. Atlı Şekeroğlu, Z., Güneş, B., Kondaş Yedier, S., Şekeroğlu, V., Aydın, B. (2017). Effects of tartrazine on proliferation and genetic damage in human lymphocytes. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27(5), 370-375. [\[CrossRef\]](#)
 26. Kızıltan, T., Baran, A., Kankaynar, M., Şenol, O., Sulukan, E., Yıldırım, S., Ceyhun, S.B. (2022). Effects of the food colorant carmoisine on zebrafish embryos at a wide range of concentrations. *Archives of Toxicology*, 96(4), 1089-1099. [\[CrossRef\]](#)
 27. Bezerra, M.D.S., Malaquias, G.D.S., Castro E Sousa, J.M.D., Peron, A.P. (2016). Cytotoxic and genotoxic potential of powdered juices. *Food Science and Technology*, 36, 49-55. [\[CrossRef\]](#)
 28. Pérez-Ibarbia, L., Majdanski, T., Schubert, S., Windhab, N., Schubert, U.S. (2016). Safety and regulatory review of dyes commonly used as excipients in pharmaceutical and nutraceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93, 264-273. [\[CrossRef\]](#)
 29. Alshehrei, F. (2020). Role of microorganisms in biodegradation of food additive dyes: A review. *African Journal of Biotechnology*, 19(11), 799-805. [\[CrossRef\]](#)
 30. Boussada, M., Lamine, J.A., Bini, I., Abidi, N., Lasrem, M., El-Fazaa, S., El-Golli, N. (2017). Assessment of a sub-chronic consumption of tartrazine (E102) on sperm and oxidative stress features in Wistar rat.

- International Food Research Journal, 24(4), 1473-1481.
31. Mohamed Hosieny, N., Ibrahim, M.E.-D., Ahmed, S.M., Mohammad Hassan, M.Z. (2022). Potential protective role of curcumin on the toxic effect of food azo dye tartrazine on the brain of young albino rats. *Toxicology International (Formerly Indian Journal of Toxicology)*, 29(1), 15-32. [\[CrossRef\]](#)
 32. Biswas, P., Jain, J., Hasan, W., Bose, D., Yadav, R.S. (2023). Azo food dye neurotoxicity in rats: A neurobehavioral, biochemical, and histopathological study. *Food and Chemical Toxicology*, 181, 114067. [\[CrossRef\]](#)
 33. Saxena, B., Sharma, S. (2015). Food color induced hepatotoxicity in Swiss albino rats, *Rattus norvegicus*. *Toxicology International*, 22(1), 152-157. [\[CrossRef\]](#)
 34. Ibrahim, A.A., El-Sherbeny, A.S., Al-Shaikh, T.M. (2020). Prophylactic effect of vitamin E on carmoisine food dye induced kidney damage in male mice: Histological, physiological and immunological studies. *Applied Biological Research*, 22(1), 34-45. [\[CrossRef\]](#)
 35. Amin, K.A., Hameid, H.A. II, Elsttar, A.A. (2010). Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2994-2999. [\[CrossRef\]](#)
 36. Khayyat, L., Essawy, A., Sorour, J., Soffar, A. (2017). Tartrazine induces structural and functional aberrations and genotoxic effects *in vivo*. *PeerJ*, 5, e3041.
 37. Mehedi, N., Ainad-Tabet, S., Mokrane, N., Addou, S., Zaoui, C., Kheroua, O., Saidi, D. (2009). Reproductive toxicology of tartrazine (FD and C Yellow No. 5) in Swiss albino mice. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4(4), 130-135. [\[CrossRef\]](#)
 38. Chatterjee, P., Alvi, M.M. (2014). Excipients and active pharmaceutical ingredients. In: D. Bar-Shalom and R. Klaus (Eds.), *Pediatric Formulations: A Roadmap*, (pp. 347-361). New York: Springer.
 39. Gultekin, F., Doguc, D.K. (2013). Allergic and immunologic reactions to food additives. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 45(1), 6-29.
 40. Elekima, I., Nwachuku, O.E., Ukwukwu, D., Nwanjo, H.U., Nduka, N. (2019). Biochemical and histological changes associated with azo food dye (tartrazine) in male albino rats. *Asian Journal of Research in Biochemistry*, 5(1), 1-14. [\[CrossRef\]](#)
 41. Demirkol, O., Zhang, X., Ercal, N. (2012). Oxidative effects of tartrazine (cas no. 1934-21-0) and new coccin (cas no. 2611-82-7) azo dyes on CHO cells. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 7, 229-236.
 42. Meghapriya, A., Kishori, B. (2019). Tartrazine, a male reproductive suppressor in adult albino rats. *International Journal of Life Sciences Research*, 7(3), 1-10.
 43. Becker, S., Berhane, K. (1997). A meta-analysis of 61 sperm count studies revisited. *Fertility and Sterility*, 67(6), 1103-1108. [\[CrossRef\]](#)
 44. Hirsh A. (2003). Male subfertility. *British Medical Journal*, 327(7416), 669-672. [\[CrossRef\]](#)
 45. Brugh, V.M., Lipshultz, L.I. (2004). Male factor infertility: Evaluation and management. *The Medical Clinics of North America*, 88(2), 367-385. [\[CrossRef\]](#)
 46. Gautam, D., Sharma, G., Goyal, R. P. (2010). Evaluation of toxic impact of tartrazine on male Swiss albino mice. *Pharmacologyonline*, 1, 133-140.
 47. Meena, G., Meena, B. (2020). Evaluation of possible toxic effect of tartrazine food dye on wiss albino mice, and histology of testis. *International Journal For Innovative Research In Multidisciplinary Field*, 6(7), 100-105.
 48. Ara, C., Arshad, A., Faheem, M., Khan, M., Shakir, H. A. (2022). Protective potential of aqueous extract of *Allium cepa* against tartrazine induced reproductive toxicity. *Pakistan Veterinary Journal*, 42(3), 358-363.
 49. Khatun, A., Nath, P.P., Mondal, M., Pal, S., Paul, G. (2022). Suppression of male reproductive function by Brown HT in rat. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 15(5), 76-82. [\[CrossRef\]](#)
 50. Ismail, M.A. (2016). Molecular and cytochemical comparative assessment between the two food additives, sunset yellow and curcumin-induce testicular toxicity in mice. *Journal of Bioscience and Applied Research*, 2(7), 509-523. [\[CrossRef\]](#)
 51. Mathur, N., Chowdhary, V., Mehta, M., Krishnatrey, R. (2005). Effect of sunset yellow on testis in rats. *Journal of Ecophysiology and Occupational Health*, 5(1), 1-3.
 52. Ramm, S.A., Stockley, P. (2010). Sperm competition and sperm length influence the rate of mammalian spermatogenesis. *Biology Letters*, 6(2), 219-221. [\[CrossRef\]](#)
 53. O'Donnell, L., Stanton, P., de Kretser, D.M. (2015). Endocrinology of the male reproductive system and spermatogenesis. In: R. McLachlan (Ed.), *Endocrinology of the Male Reproductive System*, (pp 1-57). South Dartmouth: MA.
 54. Moutard, L., Goudin, C., Jaeger, C., Duparc, C., Louiset, E., Pereira, T., Fraissinet, F., Delessard, M.,

- Saulnier, J., Rives-Feraille, A., Delalande, C., Lefebvre, H., Rives, N., Dumont, L., Rondanino, C. (2023). Steroidogenesis and androgen/estrogen signaling pathways are altered in *in vitro* matured testicular tissues of prepubertal mice. *eLife*, 12, RP85562. [\[CrossRef\]](#)
55. Elekima, I., Nwachuku, O.E. (2019). Evaluation of acute and chronic toxicity of tartrazine (E102) on steroid reproductive hormones of albino rats. *Asian Journal of Research and Reports in Endocrinology*, 1-15. [\[CrossRef\]](#)
56. Elewa, Y.H.A., Mohamed, A A., Galal, A.A.A., El-Naseery, N.I., Ichii, O., Kon, Y. (2019). Food Yellow4 reprotoxicity in relation to localization of DMC1 and apoptosis in rat testes: Roles of royal jelly and cod liver oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169, 696-706. [\[CrossRef\]](#)
57. Khiralla, G., Salem, S., El-Malky, W. (2015). Effect of natural and synthetic food coloring agents on the balance of some hormones in rats. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 5(2), 88-95.
58. Alsudani, A.A., Alhamadawi, H.A. (2020). A physiological study of the effect of some food additives on the hypothalamic-pituitary-testis axis in male albino rats. In *Journal of Physics: Conference Series*, 1664(1), 012122. [\[CrossRef\]](#)
59. Abbas, J. R., AlHamadawi, H. A. (2019). Effect of chocolate brown HT E155 on some hormones in male albino rats. *EurAsian Journal of BioSciences*, 13(1), 485-489.
60. Mahmoud, N. H. (2006). Toxic effects of the synthetic food dye brilliant blue on liver, kidney and testes functions in rats. *Journal of the Egyptian Society of Toxicology*, 34(4), 77-84.
61. Wopara, I., Modo, E. U., Mobisson, S. K., Olusegun, G. A., Umoren, E. B., Orji, B. O., Mounmbegna, P. E., Ujunwa, S. O. (2021). Synthetic Food dyes cause testicular damage via up-regulation of pro-inflammatory cytokines and down-regulation of FSH-R and TESK-1 gene expression. *JBRA Assisted Reproduction*, 25(3), 341-348. [\[CrossRef\]](#)
62. Moutinho, I.L., Bertges, L.C., Assis, R.V. (2007). Prolonged use of the food dye tartrazine (FD&C yellow no 5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats. *Brazilian Journal of Biology*, 67(1), 141-145. [\[CrossRef\]](#)
63. Rehman, K., Ashraf, A., Azam, F., Akash, M.S.H. (2019). Effect of food azo-dye tartrazine on physiological functions of pancreas and glucose homeostasis. *Turkish Journal of Biochemistry*, 44(2), 197-206. [\[CrossRef\]](#)
64. Visweswaran, B., Krishnamoorthy, G. (2012). Oxidative stress by tartrazine in the testis of Wistar rats. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2(3), 44-49.
65. Fanaei, H., Khayat, S., Halvaei, I., Ramezani, V., Azizi, Y., Kasaeian, A., Mardaneh, J., Parvizi, M.R., Akrami, M. (2014). Effects of ascorbic acid on sperm motility, viability, acrosome reaction and DNA integrity in teratozoospermic samples. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 12(2), 103-110.
66. Giribabu, N., Kumar, K. E., Rekha, S. S., Muniandy, S., Salleh, N. (2014). Chlorophytum borivilianum (Safed Musli) root extract prevents impairment in characteristics and elevation of oxidative stress in sperm of streptozotocin-induced adult male diabetic Wistar rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 291.
67. Vernet, P., Fulton, N., Wallace, C., Aitken, R.J. (2001). Analysis of reactive oxygen species generating systems in rat epididymal spermatozoa. *Biology of Reproduction*, 65(4), 1102-1113. [\[CrossRef\]](#)
68. Ruiz-Valderrama, L., Posadas-Rodríguez, J., Bonilla-Jaime, H., Tarragó-Castellanos, M.D.R., González-Márquez, H., Arrieta-Cruz, I., González-Núñez, L., Salame-Méndez, A., Rodríguez-Tobón, A., Morales-Méndez, J.G., Arenas-Ríos, E. (2022). Sperm dysfunction in the testes and epididymides due to overweight and obesity is not caused by oxidative stress. *International Journal of Endocrinology*, 2022, 3734572. [\[CrossRef\]](#)
69. Maciejewski, R., Radzikowska-Büchner, E., Flieger, W., Kulczycka, K., Baj, J., Forma, A., Flieger, J. (2022). An overview of essential microelements and common metallic nanoparticles and their effects on male fertility. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(17), 11066. [\[CrossRef\]](#)
70. Chinnaiyan, A.M., Orth, K., O'Rourke, K., Duan, H., Poirier, G.G., Dixit, V.M. (1996). Molecular ordering of the cell death pathway. Bcl-2 and Bcl-xL function upstream of the CED-3-like apoptotic proteases. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(9), 4573-4576.
71. Suzuki, T., Onogawa, T., Asano, N., Mizutamari, H., Mikkaichi, T., Tanemoto, M., Abe, M., Satoh, F., Unno, M., Nunoki, K., Suzuki, M., Hishinuma, T., Goto, J., Shimosegawa, T., Matsuno, S., Ito, S., Abe, T. (2003). Identification and characterization of novel rat and human gonad-specific organic anion transporters. *Molecular Endocrinology*, 17(7), 1203-1215. [\[CrossRef\]](#)
72. Mahfouz, M.E., Moussa, E.A. (2015). The impact of curcumin administration on the food colouring Sunset Yellow-induced damage in testes and liver of male rat: gene expression and ultrastructural studies. *Egyptian*

- Journal of Expert Biology (Zoology), 11, 43-60.
73. Montaser, M., Abiya, R.A., Afifi, M., Saddick, S., Allogmani, A.S., Almaghrabi, O.A. (2018). Effect of natural and synthetic food colorants on spermatogenesis and the expression of its controlling genes. *Veterinary Medicine in-between Health & Economy (VMHE)*, 55.
 74. Niemi, M., Kormano, M. (1965). Cyclical changes and significance of lipids and acid phosphatase hydrolysis in the seminiferous tubules of the rat testis. *Anatomical Record*, 12, 131-150. [\[CrossRef\]](#)