

اثر محافظتی ژل رویال بر روی سمیت کبدی ناشی از فنیل هیدرازین در موش سفید کوچک آزمایشگاهی

حجت عنبر، علی شالیزار جلالی*، رسول شهروز، مزدک رازی

گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۹

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۱۱/۲۹

چکیده:

زمینه و هدف: فنیل هیدرازین به عنوان یک ترکیب اکسیدانت شناخته شده می‌تواند عوارض جانبی متعددی نظیر اختلالات کبدی را موجب گردد. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثرات محافظتی احتمالی ژل رویال با خواص آنتی‌اکسیدانت و ضد التهابی بر روی سمیت کبدی ناشی از فنیل هیدرازین در موش بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش نر بالغ به چهار گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. دو گروه از موش‌ها، فنیل هیدرازین را به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت به مدت ۳۵ روز دریافت نمودند. ژل رویال به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی به یک گروه از گروه‌های فوق چهار ساعت قبل از تزریق فنیل هیدرازین تجویز گردید. گروه شاهد و گروهی که تنها ژل رویال را دریافت می‌نمود نیز در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، نمونه‌های سرم و کبد جمع‌آوری و به ترتیب جهت ارزیابی‌های بیوشیمیایی و هیستومورفومتریک مورد استفاده قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: فنیل هیدرازین به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) موجب افزایش مقادیر سرمی آسپاراتات ترنس آمیناز، آلانین ترنس آمیناز، آلکالین فسفاتاز، لاکتات دهیدروژناز و مالون دی‌آلدئید و نیز کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام، سوپراکسید دیسموتاز و آلپومین سرم گردید. به علاوه، فنیل هیدرازین افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) را در قطر و قطر هسته هیپاتوسیت‌ها و تعداد سلول‌های کوپفر سبب شد. تجویز ژل رویال به شکل قابل توجهی تغییرات مشاهده شده در فراسنجه‌های مذکور را بهبود بخشید.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ژل رویال به سبب دارا بودن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانت، قادر به کاهش آسیب‌های کبدی ناشی از فنیل هیدرازین در موش می‌باشد. با این وجود، آشکار شدن مکانیسم دقیق اثرات محافظتی ژل رویال نیازمند مطالعه‌های گسترده‌تری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ژل رویال، فنیل هیدرازین، کبد، موش

* نویسنده مسئول: علی شالیزار جلالی، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

Email: a.shalizar@urmia.ac.ir

مقدمه

تا به امروز اثرات محافظتی ترکیب‌های متعددی با قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد در برابر آسیب‌های کبدی در حیوانات آزمایشگاهی و انسان به تأیید رسیده است (۱۲). ژل رویال که محصول ترش‌حی غد سری زنبورهای کارگر و غنی از ویتامین‌های B، E، D، C و مواد معدنی به ویژه پتاسیم است، دارای ویژگی‌های دارویی بسیاری همچون فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانت، ضدآماسی، ضدتوموری، ضدآلرژی و آنتی‌بیوتیک و همچنین واجد اثرات حفاظتی بر روی دستگاه‌های ایمنی، تولید مثلی، عصبی و عروقی می‌باشد (۱۷-۱۳). علاوه بر این، مطالعه‌های پیشین نیز از کارایی ژل رویال در کاهش سمیت کبدی و تنش‌های اکسیداتیو ناشی از ترکیب‌هایی نظیر؛ فومونیسین، پاراستامول و سیسپلاتین حکایت دارند (۲۰-۱۸).

بر این اساس، هدف مطالعه حاضر ارزیابی کارایی محافظتی احتمالی ژل رویال در برابر آسیب‌های کبدی ناشی از فنیل‌هیدرازین به عنوان ترکیبی همولیتیک در موش می‌باشد که متعاقب پی‌ریزی مطالعه‌های گسترده‌تر و اطمینان خاطر از اثرات ناخواسته، می‌تواند نقش به‌سزایی در بهبود عوارض کبدی ناشی از ترکیب‌های شیمیایی در انسان ایفاء کند.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۳۲ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ با وزن ۲۵-۲۰ گرم

فنیل‌هیدرازین یک ترکیب شیمیایی اکسیدانت واجد خواص همولیتیک می‌باشد که عمدتاً به عنوان واسطه شیمیایی در صنایع دارویی، کشاورزی و شیمیایی به شکل گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱). این ترکیب که در برخی از قارچ‌های خوراکی نیز یافت می‌شود، بیشتر جهت درمان تب و پلی‌سیتمی کاربرد داشته است که عوارض جانبی متعددی نظیر کم‌خونی همولیتیک، اختلالات عروقی، کبدی، کلیوی، تنفسی، دستگاه عصبی مرکزی و خود ایمن و بروز بدخیمی‌ها و ناهنجاری‌های ژنتیکی، کارآیی درمانی این ماده را به شدت کاهش داده است (۴-۱). به خوبی مشخص شده است که فنیل‌هیدرازین به واسطه افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و پی‌ریزی تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون چربی‌ها موجبات آسیب سلولی را فراهم می‌آورد (۵). همچنین، نشان داده شده است که فنیل‌هیدرازین از طریق اختلال در عملکرد سیتوکروم P-450 میکروزومی کبد و تغییرات ژنتیکی ناشی از کم‌خونی همولیتیک موجب آسیب‌های کبدی می‌گردد (۷ و ۶). از سوی دیگر، کم‌خونی همولیتیک ناشی از فنیل‌هیدرازین سبب افزایش فعالیت خون-سازی و ذخیره آهن در بافت‌ها می‌گردد که مقادیر بالای آهن بافتی، تشدید تولید گونه‌های فعال اکسیژن را در پی خواهد داشت (۹ و ۸). در همین راستا، مطالعه‌های متعددی بر نقش اختلالات خون‌رسانی کبد در بروز آسیب در سایر اندام‌ها نظیر؛ کلیه، ریه و قلب و افزایش میزان مرگ در بیماران صحه می‌گذارند (۱۱ و ۱۰).

خوراکی دریافت نمودند. مدت زمان این مطالعه نیز ۳۵ روز در نظر گرفته شد.

تمامی موش‌های موجود در چهار گروه ذکر شده، ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، آسان‌کشی شدند و نمونه‌های خون به وسیله سرنگ‌های استریل به صورت مستقیم از قلب جمع‌آوری گردیدند. جهت استحصال سرم، نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از کالبدگشایی، نمونه‌های بافتی کبد با رعایت اصول استریل برداشت و جهت ثبوت به محلول ثبوتی فرمالین ۱۰ درصد منتقل شدند. فعالیت‌های سرمی آسپارات ترنس آمیناز (AST)، آلانین ترنس آمیناز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و آلبومین با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی مورد سنجش قرار گرفت.

به منظور ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام سرم، روش FRAP^(۱) مورد استفاده قرار گرفت. در این روش در pH اسیدی ایجاد شده به وسیله بافر استات، رنگ آبی تولید شده به واسطه احیای یون‌های فریک (Fe^{+۳}) کمپلکس TPTZ-Fe^{+۳} و تبدیل آنها به یون‌های فرو (Fe^{+۲})، در طول موج ۵۹۳ نانومتر و به صورت اسپکتروفتومتریک مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد (۲۲).

جهت تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی، مقادیر تولید مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در نمونه‌های

از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. حیوانات قبل از شروع مطالعه به مدت دو هفته به شرایط محیطی عادت داده شدند و متعاقباً در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات در دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد و تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزاد به آب و غذای فشرده مخصوص حیوانات آزمایشگاهی در طول مطالعه نگهداری شدند. کلیه موارد اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر نحوه نگهداری و آسان‌کشی در حین انجام این مطالعه بر اساس دستورالعمل‌های مصوب کمیته اخلاق دانشکده صورت پذیرفت و حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه هشت‌تایی به شرح ذیل تقسیم شدند:

گروه شاهد، حیوانات این گروه روزانه ۰/۱ میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی سرم فیزیولوژی دریافت کردند. گروه فنیل‌هیدرازین: حیوانات این گروه فنیل‌هیدرازین را به میزان ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت که قادر به القاء کم‌خونی همولیتیک می‌باشد، دریافت کردند (۲۱). گروه فنیل‌هیدرازین+ ژل رویال، حیوانات این گروه علاوه بر فنیل‌هیدرازین، ژل رویال را نیز به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی چهار ساعت قبل از تجویز فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند (۱۷). گروه ژل رویال، حیوانات این گروه ژل رویال را به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت

1- Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

سرمی بر اساس واکنش با اسید تیوباربیتوریک و تولید محصولی رنگی با حداکثر جذب نوری در ۵۳۲ نانومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و بر اساس منحنی کالیبراسیون استاندارد MDA محاسبه گردید (۲۳).

نمونه‌های بافتی کبد پس از ثبوت، به همراه مشخصات درون ظروف مخصوص قرار گرفته و متعاقباً طی مراحل پاساژ بافتی، با استفاده از پارافین مذاب قالب‌گیری شدند. سپس، با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۷ میکرومتر از قالب‌های پارافینی تهیه گردید و در نهایت رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین جهت رنگ‌آمیزی نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. جهت مطالعه قطر هپاتوسیت‌ها، قطر هسته هپاتوسیت‌ها و نیز تعداد سلول‌های کوپفر در واحد سطح کبد، میکروسکوپ دیجیتال (Dino-Lite Digital Microscope, AnMo Dino-Lite Electronics Corporation, Taiwan) مورد استفاده قرار گرفت.

داده‌های این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. جهت مقایسه بین گروه‌ها آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن تست تعقیبی دانکن مورد استفاده قرار گرفت و مقدار ($p < 0.05$) برای تعیین سطح معنی‌دار بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مطالعه نتایج ارزیابی‌های هیستومورفومتريک کبد آشکار ساخت که تجویز فنیل‌هیدرازین سبب افزایش معنی‌داری در قطر هپاتوسیت‌ها، قطر هسته هپاتوسیت‌ها و تعداد سلول‌های کوپفر در یک میلی‌متر مربع بافت کبد نسبت به گروه شاهد گردید ($p < 0.05$). قطر هسته هپاتوسیت‌ها و تعداد سلول‌های کوپفر در گروه دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین به همراه ژل رویال کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین نشان داد ($p < 0.05$)، ولی کاهش قطر هپاتوسیت‌ها در این گروه در مقایسه با گروه دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین معنی‌دار نبود (جدول ۱).

در مقایسه با گروه شاهد، تجویز فنیل‌هیدرازین به شکل معنی‌داری موجب افزایش سطوح سرمی AST، ALT، ALP، LDH و کاهش مقادیر سرمی آلبومین در موش‌ها گردید ($p < 0.05$). تجویز ژل رویال همراه با فنیل‌هیدرازین سطوح شاخص‌های سرمی به استثنای آلبومین را به صورت معنی‌داری ($p < 0.05$) به سمت مقادیر مشاهده شده در گروه شاهد سوق داد (جدول ۲).

بررسی‌های بیوشیمیایی سرمی صورت گرفته در گروه‌های مختلف آزمایشی همچنین مشخص نمود که متعاقب تجویز فنیل‌هیدرازین، میزان MDA (نمودار ۱) افزایش و میزان SOD (نمودار ۲) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام (نمودار ۳) کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) را در مقایسه با گروه شاهد نشان

داد. تجویز ژل رویال همراه با فنیل هیدرازین کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) در میزان MDA (نمودار ۱) و در عین حال افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) در میزان SOD (نمودار ۲) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام (نمودار ۳) را در مقایسه با گروهی که تنها فنیل هیدرازین را دریافت کرده بودند، موجب گردید.

جدول ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار فراسنجه‌های مورفومتریک بافت کبد بین گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین و ژل رویال

گروه‌ها	قطر هپاتوسیت‌ها (میکرومتر)	تعداد سلول‌های کوپفر (یک میلی‌متر مربع)
شاهد	۱/۰۱±۱۲/۹۴	۶/۱۳±۱/۵۴
فنیل‌هیدرازین	۱۶/۸۶±۱/۳۷ ^a	۱۴/۶۹±۳/۱۱ ^a
فنیل‌هیدرازین + ژل رویال	۱۴/۶۵±۱/۱۶	۹/۵۳±۱/۵۸ ^{ab}
ژل رویال	۱۳/۲۱±۱/۳۱ ^b	۶/۰۱±۱/۳۲ ^b

a: وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه شاهد ($p < 0.05$)

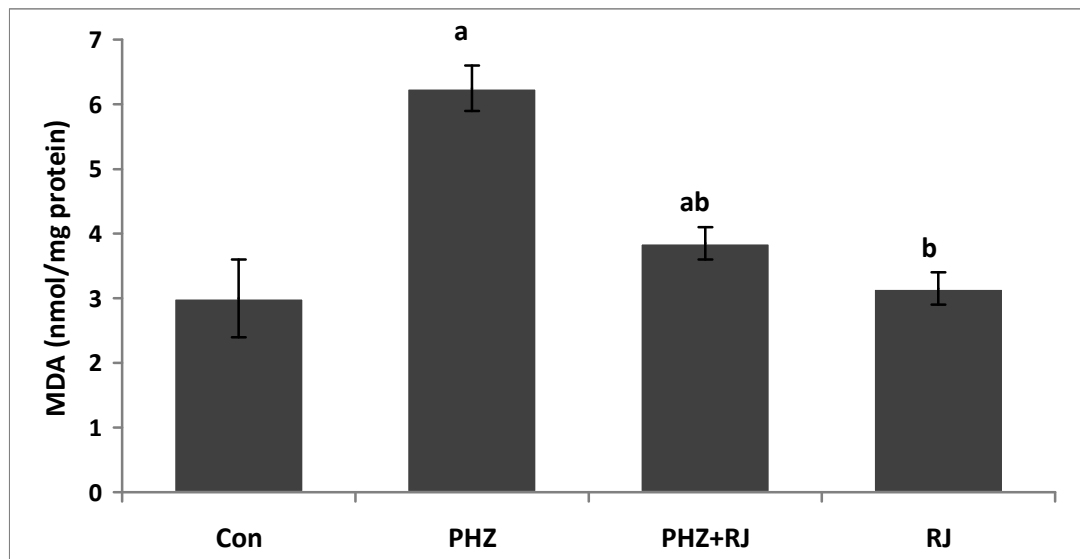
b: وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین ($p < 0.05$)

جدول ۲: مقایسه میانگین و انحراف معیار فراسنجه‌های سرمی بین گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین و ژل رویال

گروه‌ها	آسپاراتات ترنس آمیناز (واحد بین المللی بر لیتر)	آلانین ترنس آمیناز (واحد بین المللی بر لیتر)	آلکالین فسفاتاز (واحد بین المللی بر لیتر)	لاکتات دهیدروژناز (واحد بین المللی بر لیتر)	آلبومین (گرم بر دسی لیتر)
شاهد	۵۹/۵۲±۶/۶۸	۳۳/۴±۴/۰۹	۹۶/۲۷±۱۲/۳	۴۳۹/۰۱±۶۱/۲	۲/۲۵±۰/۳۱
فنیل‌هیدرازین	۱۳۱/۲۳±۸/۲۳ ^a	۸۲/۸۱±۶/۸۹ ^a	۱۱۶/۳۹±۱۷/۱۴ ^a	۸۹۱/۸۲±۷۳/۱۷ ^a	۱/۴۱±۰/۲۱ ^a
فنیل‌هیدرازین + ژل رویال	۹۱/۰۷±۵/۵۷ ^{ab}	۵۱/۶±۳/۱۳ ^{ab}	۱۲۳/۹۲±۱۴/۱۸ ^{ab}	۵۸۲/۴۴±۶۱/۴۹ ^{ab}	۱/۹۷±۰/۴
ژل رویال	۵۲/۹۱±۹/۱۷ ^b	۳۷/۱۷±۴/۹۶ ^b	۹۵/۱۷±۹/۷ ^b	۴۱۹/۲۲±۹۷/۱۷ ^b	۲/۳۹±۰/۳۲ ^b

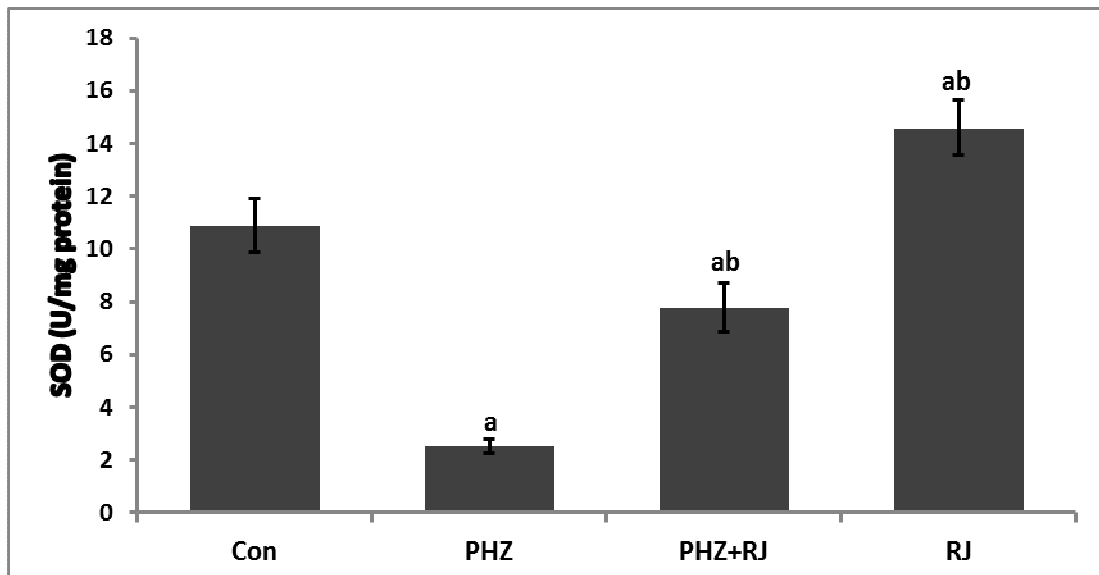
a: وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه شاهد ($P < 0.05$)

b: وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین ($P < 0.05$)



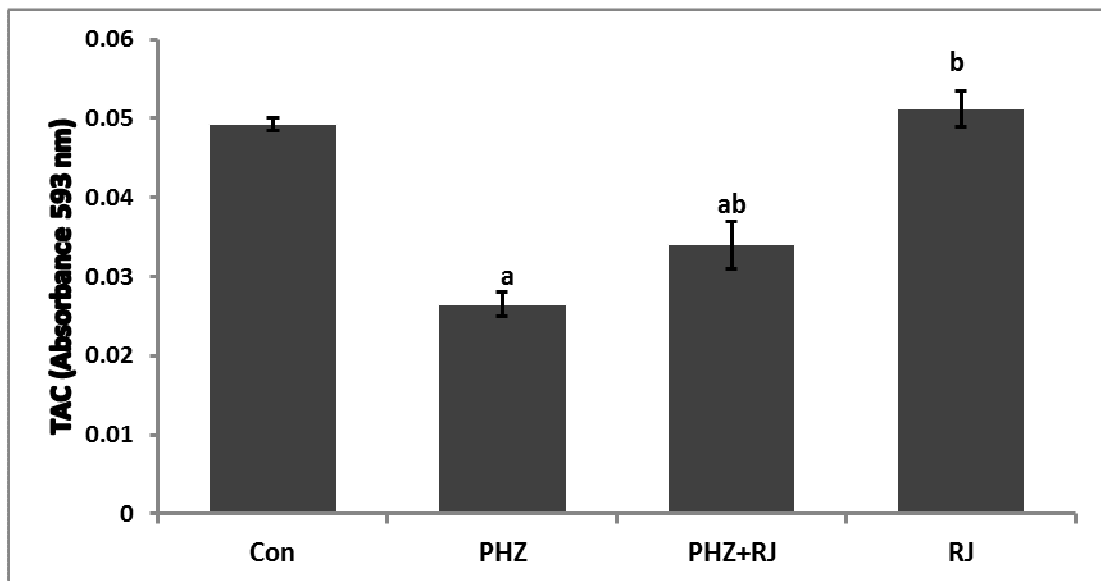
نمودار ۱: مقایسه میانگین میزان مالون‌دی‌آلدئید در سرم بین گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین و ژل رویال

PHZ: فنیل‌هیدرازین، RJ: ژل رویال، Con: شاهد
 MDA: مالون‌دی‌آلدئید، nmol/mg protein: نانومول بر میلی‌گرم پروتئین
 داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند.
 a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد ($P < 0.05$)
 b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین ($P < 0.05$)



نمودار ۲: مقایسه میانگین میزان سوپراکسید دیسموتاز در سرم بین گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین و ژل رویال

PHZ: فنیل‌هیدرازین، RJ: ژل رویال، Con: شاهد
 SOD: سوپراکسید دیسموتاز، U/mg protein: واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین
 داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند.
 a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد ($P < 0.05$)
 b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین ($P < 0.05$)



نمودار ۳: مقایسه میانگین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانت تام سرم بین گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین و ژل رویال

PHZ: فنیل هیدرازین، RJ: ژل رویال، Con: شاهد

TAC: ظرفیت آنتی اکسیدانت، Absorbance 593 nm: طول موج جذبی ۵۹۳ نانومتر

داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند.

a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد ($P < 0.05$)

b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین ($P < 0.05$)

بحث

آسیب‌های اکسیداتیو در هیپاتوسیت‌ها گردد (۶، ۷ و ۲۵). بر این اساس، همان‌گونه که در مطالعه حاضر نیز مشاهده گردید چنین به نظر می‌رسد که شکل‌گیری تنش اکسیداتیو و اختلال در متابولیسم آهن متعاقب تجویز فنیل‌هیدرازین موجب آسیب سلولی و بروز تغییرات ساختاری در هیپاتوسیت‌ها گردیده است.

به خوبی مشخص شده است که سنجش فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی شاخص مناسبی جهت ارزیابی میزان آسیب‌های کبدی به شمار می‌آید، چرا که آسیب وارد شده به هیپاتوسیت‌ها، نشت این آنزیم‌ها به داخل جریان خون و در نتیجه افزایش مقادیر سرمی آنها را در پی خواهد داشت (۲۶). به نظر

اهمیت ویژه کبد به عنوان یک اندام کلیدی که علاوه بر ذخیره‌سازی و تولید مواد مغذی در سم زدایی و متابولیسم ترکیب‌های سمی نیز نقش بارزی ایفاء می‌کند، ارزیابی شاخص‌های عملکردی و ساختارهای سلولی این اندام را به ویژه در مدل‌های حیوانی بسیار مورد توجه قرار داده است (۲۴). مطالعه‌های پیشین نشان داده است که فنیل‌هیدرازین به عنوان یک ترکیب اکسیدانت همولیتیک شناخته شده به واسطه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در جریان اکسیداسیون میکروزومی و نیز افزایش رسوب آهن ناشی از کم‌خونی همولیتیک در بافت کبد می‌تواند موجب

می‌رسد که اختلال در ساختار و عملکرد غشاء هیپاتوسیت‌ها در نتیجه هجوم گونه‌های فعال اکسیژن که به موجب تداخل ترکیب‌های حاصل از متابولیسم فنیل‌هیدرازین با دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانت بدن تولید می‌گردند، نشت آنزیم‌های کبدی به داخل جریان خون موش‌های تحت درمان با این ترکیب در مطالعه حاضر را سبب شده باشد.

از سوی دیگر، مطالعه‌های متعددی از نقش آسیب‌های کبدی در بروز تغییرات مورفولوژیک و مورفومتریکی در هیپاتوسیت‌ها نظیر هایپرتروفی و افزایش قطر هسته حکایت دارند که این امر با نتایج حاصل از ارزیابی‌های بافت‌شناسی مطالعه حاضر نیز هم‌خوانی دارد و می‌تواند بازتابی از افزایش فعالیت هیپاتوسیت‌ها در پاسخ به جراحات دژنراتیو باشد (۲۷-۲۹).

از سوی دیگر، سلول‌های کوپفر که به عنوان ماکروفاژهای ساکن کبد تقریباً ۱۵ درصد جمعیت سلولی کبد را شامل می‌شوند، در پاتوژنز بسیاری از اختلالات کبدی نقش بارزی ایفاء می‌کنند (۳۰). فعال شدن این سلول‌ها متعاقب آسیب‌های کبدی منجر به آزادسازی واسطه‌های آماسی و گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد که این امر موجبات تشدید جراحات کبدی را فراهم می‌آورد (۳۱). از این روی با توجه به یافته‌های بافت‌شناسی مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد که افزایش تزیاد و فعال شدن سلول‌های کوپفر نیز می‌تواند در آسیب‌های کبدی ناشی از فنیل‌هیدرازین نقش داشته باشد.

مطالعه حاضر نشان داد که ژل رویال واجد اثرات محافظتی قابل ملاحظه‌ای در برابر سمیت کبدی ناشی از فنیل‌هیدرازین می‌باشد. در همین راستا، نتایج به دست آمده از تحقیق‌های پیشین نیز کارآیی قابل توجه ترکیب‌های واجد خواص آنتی‌اکسیدانت و ضد آماسی را در کاهش سمیت ناشی از فنیل‌هیدرازین مورد تأیید قرار داده است (۳، ۵ و ۳۲). به نظر می‌رسد ژل رویال نیز به سبب دارا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانت چشمگیر، به واسطه تقویت فعالیت دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانت بدن و مهار پراکسیداسیون چربی‌ها (۲۳ و ۳۳) و نیز سرکوب واکنش‌های آماسی (۳۴) می‌تواند در بهبود عوارض ناشی از فنیل‌هیدرازین در کبد موش واجد کارآیی باشد. همچنان که مطالعه‌های صورت گرفته در گذشته نیز نشان داده‌اند که ژل رویال قادر به کاهش آسیب‌های کبدی ناشی از پاراستامول در موش (۱۹) و نیز تنش اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از سیسپلاتین در موش‌های صحرایی می‌باشد (۲۰) و می‌تواند موجب بهبود فعالیت‌های طبیعی هیپاتوسیت‌های موش صحرایی گردد (۳۵). در همین راستا، مطالعه‌های اخیر نیز نشان داده‌اند که ژل رویال از طریق کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها، محافظت قابل توجهی را در برابر آسیب‌های ناشی از آزاتیوپرین در بافت کبد موش صحرایی موجب می‌گردد (۳۶) و می‌تواند عوارض ناشی از سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تجربی را در بافت کبد این حیوان بهبود بخشد (۳۷).

نتیجه‌گیری

فنیل‌هیدرازین به واسطه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و پی‌ریزی تنش‌های اکسیداتیو موجبات آسیب‌های کبدی را فراهم می‌آورد. حال آنکه به نظر می‌رسد که ژل رویال به سبب دارا بودن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانت و ضد التهابی، قادر به بهبود اثرات نامطلوب فنیل‌هیدرازین در کبد موش می‌باشد. با وجود این، آشکار شدن مکانیسم دقیق اثرات محافظتی و نیز کارآیی درمانی ژل رویال به ویژه در بافت کبد مستلزم پی‌ریزی مطالعه‌های تجربی گسترده‌تر و کارآزمایی‌های بالینی می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد بافت‌شناسی می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه ارومیه صورت پذیرفت.

REFERENCES

1. Berger J. Phenylhydrazine haematotoxicity. *J Appl Biomed* 2007; 5: 125-30.
2. Pesquero J, Alfaro V, Palacios L. Acid-base analysis during experimental anemia in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2000; 78(10): 774-80.
3. Luangaram S, Kukongviriyapan U, Pakdeechote P, Kukongviriyapan V, Pannangpetch P. Protective effects of quercetin against phenylhydrazine-induced vascular dysfunction and oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol* 2007; 45: 448-55.
4. Shukla P, Yadav NK, Singh P, Bansode FW, Singh RK. Phenylhydrazine induced toxicity: a review on its haematotoxicity. *Int J Basic Appl Med Sci* 2012; 2(2): 86-91.
5. Claro LM, Leonart MS, Comar SR, do Nascimento AJ. Effect of vitamins C and E on oxidative processes in human erythrocytes. *Cell Biochem Funct* 2006; 24(6): 531-5.
6. Jonen HG, Werringloer J, Prough RA, Estabrook RW. The reaction of phenylhydrazine with microsomal cytochrome P-450. Catalysis of heme modification. *J Biol Chem* 1982; 257(8): 4404-11.
7. Rokushima M, Omi K, Araki A, Kyokawa Y, Furukawa N, Itoh F, et al. A toxicogenomic approach revealed hepatic gene expression changes mechanistically linked to drug-induced hemolytic anemia. *Toxicol Sci* 2007; 95(2): 474-84.
8. Latunde-Dada GO, Vulpe CD, Anderson GJ, Simpson RJ, McKie AT. Tissue-specific changes in iron metabolism genes in mice following phenylhydrazine-induced haemolysis. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1690(2): 169-76.
9. Poggiali E, Cassinerio E, Zanaboni L, Cappellini MD. An update on iron chelation therapy. *Blood Transfus* 2012; 10(4): 411-22.
10. Glantzounis GK, Salacinski HJ, Yang W, Davidson BR, Seifalian AM. The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: a review. *Liver Transpl* 2005; 11(9): 1031-47.
11. Seifi B, Kadkhodae M, Delavari F, Mikaeili S, Shams S, Ostad SN. Pretreatment with pentoxifylline and N-acetylcysteine in liver ischemia reperfusion-induced renal injury. *Ren Fail* 2012; 34(5): 610-5.
12. Duenschede F, Erbes K, Kircher A, Westermann S, Schad A, Riegler N, et al. Protection from hepatic ischemia/reperfusion injury and improvement of liver regeneration by alpha-lipoic acid. *Shock* 2007; 27(6): 644-51.
13. Tokunaga KH, Yoshida C, Suzuki KM, Maruyama H, Futamura Y, Araki Y, et al. Antihypertensive effect of peptides from royal jelly in spontaneously hypertensive rats. *Biol Pharm Bull* 2004; 27(2): 189-92.
14. Hashimoto M, Kanda M, Ikeno K, Hayashi Y, Nakamura T, Ogawa Y, et al. Oral administration of royal jelly facilitates mRNA expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and neurofilament H in the hippocampus of the adult mouse brain. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; 69(4): 800-5.
15. Saritas N, Yildiz K, Büyükipekci Coskun B. Effect of different levels of royal jelly on biochemical parameters of swimmers. *Afr J Biotechnol* 2011; 10(52):10718-23.
16. Sugiyama T, Takahashi K, Mori H. Royal jelly acid, 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid, as a modulator of the innate immune responses. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2012; 12(4): 368-76.
17. Shalizar Jalali A, Najafi G, Hosseini M, Sedighnia A. Royal jelly alleviates sperm toxicity and improves in vitro fertilization outcome in Stanazolol-treated mice. *Iran J Reprod Med* 2015; 13(1): 15-22.
18. El-Nekeety AA, El-Kholy W, Abbas NF, Ebaid A, Amra HA, Abdel-Wahhab MA. Efficacy of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats. *Toxicon* 2007; 50(2): 256-69.
19. Kanbur M, Eraslan G, Beyaz L, Silici S, Liman BC, Altinordulu S, et al. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Exp Toxicol Pathol* 2009; 61(2):123-32.
20. Karadeniz A, Simsek N, Karakus E, Yildirim S, Kara A, Can I, et al. Royal jelly modulates oxidative stress and apoptosis in liver and kidneys of rats treated with cisplatin. *Oxid Med Cell Longev* 2011; 2011: 981793.

21. Gorustovich AA, Steimetz T, Giglio MJ, Guglielmotti MB. A histomorphometric study of alveolar bone modeling and remodeling under experimental anaemia and polycythaemia in rats. Arch Oral Biol 2006; 51(3): 246-51.
22. Jalali AS, Hasanzadeh S, Malekinejad H. *Achillea millefolium* inflorescence aqueous extract ameliorates cyclophosphamide-induced toxicity in rat testis: stereological evidences. Chin J Nat Med 2012; 10(4): 247-54.
23. Najafi G, Nejati V, Jalali AS, Zahmatkesh E. Protective role of royal jelly in oxymetholone-induced oxidative injury in mouse testis. Iran J Toxicol 2014; 8(25): 1073-80.
24. Baratta JL, Ngo A, Lopez B, Kasabwalla N, Longmuir KJ, Robertson RT. Cellular organization of normal mouse liver: a histological, quantitative immunocytochemical, and fine structural analysis. Histochem Cell Biol 2009; 131(6): 713-26.
25. Ferrali M, Signorini C, Sugherini L, Pompella A, Lodovici M, Caciotti B, et al. Release of free, redox-active iron in the liver and DNA oxidative damage following phenylhydrazine intoxication. Biochem Pharmacol 1997; 53(11): 1743-51.
26. Oboh G. Hepatoprotective property of ethanolic and aqueous extracts of fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis*) leaves against garlic-induced oxidative stress. J Med Food 2005; 8(4): 560-3.
27. Kostka G, Palut D, Kopeć-Szlezak J, Ludwicki JK. Early hepatic changes in rats induced by permethrin in comparison with DDT. Toxicology 2000; 142(2): 135-43.
28. Vento S, Cainelli F. Does hepatitis C virus cause severe liver disease only in people who drink alcohol?. Lancet Infect Dis 2002; 2(5): 303-9.
29. Miyaoka Y, Ebato K, Kato H, Arakawa S, Shimizu S, Miyajima A. Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration. Curr Biol 2012; 22(13): 1166-75.
30. Kolios G, Valatas V, Kouroumalis E. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease. World J Gastroenterol 2006; 12(46): 7413-20.
31. Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. Liver Int 2006; 26(10): 1175-86.
32. Karbownik M, Reiter RJ, Garcia JJ, Tan D. Melatonin reduces phenylhydrazine-induced oxidative damage to cellular membranes: evidence for the involvement of iron. Int J Biochem Cell Biol 2000; 32(10): 1045-54.
33. Guo H, Ekusa A, Iwai K, Yonekura M, Takahata Y, Morimatsu F. Royal jelly peptides inhibit lipid peroxidation in vitro and in vivo. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 2008; 54(3): 191-5.
34. Kohno K, Okamoto I, Sano O, Arai N, Iwaki K, Ikeda M, et al. Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. Biosci Biotechnol Biochem 2004; 68(1): 138-45.
35. Kamakura M. Signal transduction mechanism leading to enhanced proliferation of primary cultured adult rat hepatocytes treated with royal jelly 57-kDa protein. J Biochem 2002; 132(6): 911-9.
36. Ahmed WM, Khalaf AA, Moselhy WA, Safwat GM. Royal jelly attenuates azathioprine induced toxicity in rats. Environ Toxicol Pharmacol 2014; 37(1): 431-7.
37. Gholipour Z, Nejati V, Najafi G, Karimpour Z, Khaneshi F. The protective effect of royal jelly on liver tissue of adult female rats with experimental polycystic ovarian syndrome. Qom Univ Med Sci J 2014; 8(1): 35-41.

Protective Effect of Royal Jelly following Phenylhydrazine-induced Hepatotoxicity in Mice

Anbara H, Shalizar Jalali A*, Shahrooz R, Razi M

Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 18 Feb 2015

Accepted: 10 Aug 2015

Abstract:

Background & aim: Phenylhydrazine (PHZ), a recognized oxidant agent, can cause a variety of side effects including hepatic disorders. The present study aimed to explore the possible hepatoprotective effects of royal jelly (RJ) with antioxidant and anti-inflammatory activities on PHZ-induced hepatotoxicity in mice.

Methods: In the present randomized controlled experimental study, thirty-two adult male mice were categorized into four groups of eight mice each. Two groups of mice received PHZ at a dose of 60 mg/kg per 48 hours intraperitoneally for 35 days. RJ was administered to one of these groups at a dose of 100 mg/kg per day orally four hours before PHZ injection. A vehicle-treated control group and a RJ-only treated group were also included. Serum and hepatic samples were collected 24 hours after the last treatment and subjected to biochemical and histomorphometric examinations, respectively. The data were analyzed by one-way ANOVA followed by Duncan test for post-hoc comparisons.

Results: PHZ treatment caused a significant elevation ($P < 0.05$) in serum concentrations of aspartate transaminase, alanine transaminase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase and malondealdehyde and decreased serum level of total antioxidant capacity, superoxide dismutase and albumin. Moreover, PHZ significantly increased diameters of hepatocytes and their nuclei as well as number of Kupffer cells. Notably, RJ pretreatment improved all changes in the above-mentioned parameters.

Conclusion: RJ by virtue of its antioxidant properties may reduce PHZ-induced hepatic damages in mice. However, the exact mechanism by which RJ cause these effects merits further studies.

Key words: Royal jelly, Phenylhydrazine, Liver, Mouse

Corresponding author: Shalizar Jalali A, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Email: a.shalizar@urmia.ac.ir

Please cite this article as follows:

Anbara H, Shalizar Jalali A, Shahrooz R, Razi M. Protective Effect of Royal Jelly following Phenylhydrazine-induced Hepatotoxicity in Mice. Armaghane-danesh 2015; 20 (7): 611-622.