DOI: 10.22055/IVJ.2021.269014.2346
DOR: 20.1001.1.17356873.1402.19.2.16.3

بررسی تأثیر ژل سلطنتی بر تغییرات هیستوپاتولوژیک و بیوشیمیایی در کبد موش صحرایی نر نژاد ویستار ناشی از دوز درمانی داروی تری اکساید آرسنیک در بیماران مبتلا به لوسمی پرومیلوسیتیک حاد

بابک محمدیان[1*]، زهرا امیرخانی‌دهکردی[2]، حسین نجف‌زاده‌ورزی[3] و علی شهریاری[4]

[1] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[2] دانشجوی دکترای تخصصی پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[3] استاد گروه فارماکولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه بابل، بابل، ایران
[4] دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۲ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۲

چکیده

داروی آرسنیک تری اکساید برای درمان لوسمی پرومیلوسیتیک حاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. سمیت کبدی یکی از عوارض شایع استفاده از این دارو می‌باشد. در مطالعات مختلف دوزهای متفاوتی از این دارو مورد استفاده قرار گرفته است. بر اساس پروتکل درمانی ATO در بیماران APL(۰/۱۵mg/day) و فرمول تبدیل دوز بین انسان و حیوان آزمایشگاهی که توسط FDA معرفی شده، دوز ۱mg/kg انتخاب گردید. ژل سلطنتی از جمله موادی است که به دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی بالا اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر ژل سلطنتی بر تغییرات هیستوپاتولوژیک و بیوشیمیایی در کبد بر اساس ایجاد سمیت کبدی ناشی از داروی تری‌اکساید آرسنیک می‌باشد. در این مطالعه ۸ گروه ۵ تایی از موش صحرایی انتخاب گردید. در گروه‌های یک، دو و سه به ترتیب نرمال سالین، ژل سلطنتی و تری اکساید آرسنیک در گروه‌های چهارم، پنجم و ششم تری اکساید آرسنیک به همراه ژل سلطنتی با دوزهای مختلف؛ در گروه‌های هفتم تری اکساید آرسنیک به همراه ویتامین E ؛ در گروه هشتم علاوه بر تری اکساید آرسنیک، ویتامین E و ژل سلطنتی به مدت ۳۰ روز به صورت خوراکی داده شد. نتایج نشان داد که بافت کبد در گروه نرمال سالین و گروه دریافت کننده ژل سلطنتی طبیعی می‌باشد و در دیگر گروه‌ها تغییر بافت به صورت تورم سلولی و پرخونی که شامل ضایعات برگشت‌پذیر می‌باشند. مشاهده گردید که میزان این آسیب‌ها در گروه‌های دریافت کننده ژل سلطنتی کاهش یافته است. در تمامی گروه‌ها تغییرات معنی‌دار در میزان آنزیم‌های کبدی مشاهده نگردید.

کلمات کلیدی: آرسنیک تری اکسید ، کبد، ژل سلطنتی، هیستوپاتولوژیک، موش صحرایی

مقدمه

آرسنیک عنصر ۳۳ جدول تناوبی عناصر شیمیایی است هر چند به طور رسمی به عنوان فلز سنگین طبقه‌بندی می‌شود، اما برخی خواص فلزی و غیرفلزی را دارد. آرسنیک در طبیعت به سه شکل آلوتروپیک، α (زرد)، β (سیاه)، γ (خاکستری) از حالت فلزی و در تعدادی از اشکال یونی وجود دارد. بیشترین تعداد اکسیداسیون آرسنیک +۵ ، +۳

*نویسنده مسئول : بابک محمدیان، دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
E-mail: mohammadb@scu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

و -۳ است. این عنصر قادر به تشکیل ترکیبات معدنی و آلی هم در محیط و هم در بدن انسان است. در ترکیب با عناصر دیگر مانند اکسیژن، گوگرد و کلر، به این عنصر آرسنیک معدنی گفته می‌شود و به عنوان آرسنیک آلی با هیدروژن و کربن ترکیب می‌شود. از آن جا که اکثر ترکیبات آرسنیک فاقد رنگ و بو هستند، فوراً وجود آرسنیک در مواد غذایی، آب یا هوا آشکار نیست، بنابراین با توجه به ماهیت سمی این عنصر یک خطر جدی برای سلامتی انسان ایجاد می‌کند. از نظر فراوانی بیست و یکمین عنصر در پوسته زمین و چهاردهمین عنصر در آب و دوازدهمین عنصر در بدن انسان است (Jomova et al, 2011).

مسمومیت با آرسنیک یک مشکل بهداشتی جهانی است که میلیون‌ها انسان و حیوان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. آرسنیک یک متالوئید طبیعی است که در خاک و پوشش گیاهی در همه جا وجود دارد. این عنصر دومین فلز سنگین در مسمومیت حیوانات و یک عامل سمی محیطی و سرطان‌زا می‌باشد (Madhuri and Tanju, 2013) مسمومیت با آرسنیک موجب نگرانی به ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. انسان‌ها به طور دائم در معرض آرسنیک از طریق غذا، آب، خاک و هوا هستند (Chowdhury et al, 2016). بلع مسیر اصلی قرار گرفتن در معرض آرسنیک است (آب و غذا) و استنشاق به عنوان یک مسیر جزیی در نظر گرفته شده است و جذب پوستی ناچیز می‌باشد.

آرسنیک به راحتی از دستگاه گوارش جذب می‌شود (Obinaju, 2009). بزرگترین منبع آرسنیک و سایر فلزات معمولاً مواد غذایی است که از اصلی‌ترین شکل‌های غذایی آن‌ها غذاهای دریایی، برنج، قارچ و مرغ است (Jomova, 2011).

آب عامل اصلی حمل و نقل آرسنیک در محیط اطراف است (Yousofvand and Fahim, 2015) ذرات آرسنیک می‌توانند محلول در آب باشند و از این طریق از پوست جذب شوند (Jomova, 2011).

آرسنیک بر روی سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن اثر کرده و باعث تشکیل رادیکال‌های آزاد شده و واکنش‌های آنتی-اکسیدانی را در بدن تحریک می‌کند (Najafzade varzi et al, 2015).

ژل سلطنتی یکی از محصولات زنبور عسل است. ماده-ای سفید شیری با بوی شدید و طعم میوه‌ای است. این ژل حاوی تمام ویتامین‌های محلول در آب مانند تیامین، ریبولاوین و پیرودوکسین و همچنین نیاسین، بیوتین، اسید فولیک و مواد معدنی از جمله سدیم، پتاسیم، کروم، منیزیوم و نیکل می‌باشد (Shirazi et al, 2013).

بررسی‌های بسیاری کارایی ترکیبات دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی را در برابر آسیب‌های کبدی در حیوانات آزمایشگاهی و انسان به تأیید رسانده است (Anbara et al, 2016). در این رابطه اخیراً ژل سلطنتی مورد توجه ویژه قرار گرفته است چرا که گزارش‌ها عنوان کرده‌اند که این ماده یک آنتی‌اکسیدان بسیار فعال و دارای ظرفیت بالای مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Khodabande et al, 2018).

ژل سلطنتی از ترشحات غدد مندیبولار و هایپوفارنژیال زنبور است که زنبور کارگر آن را تولید می‌کند. رویال ژلی به عنوان غذای پر ارزش شناخته می‌شود که توسط زنبور ملکه مصرف می‌شود. ژل سلطنتی همچنین به لاروهای زنبور عسل خورانده می‌شود. این ماده تنها غذای دو روز اول لاروها می‌باشد و زنبور ملکه در تمامی مدت عمرش از این ماده مصرف می‌کند. رویال اکتین ماده اصلی ژل سلطنتی می‌باشد. رویال اکتین باعث تغییرات ریخت شناسی[1] لارو به زنبور عسل می‌شود. همچنین این غذا باعث افزایش طول عمر زنبور ملکه می‌شود (Kamakura, 2011).

1- Morphology

ژل سلطنتی ماده منحصر به فردی است که حاوی آب (۵۰-۶۰ درصد)، پروتئین (۱۸ درصد)، کربوهیدرات‌ها (۱۵ درصد)، لیپیدها (۳-۶ درصد)، نمک‌های معدنی (۱/۵ درصد) و ویتامین‌ها همراه با ترکیبات زیستی نادر نظیر ۱۰ هیدروکسیل۲ دکانئیک اسید و ترکیبات فنلی فراوان از خانواده گروه فلانوئیدها است (Asgari et al, 2017).

در این مطالعه به بررسی اثر محافظتی ژل سلطنتی در برابر آسیب ایجاد شده در کبد بر اثر سمیت تری اکسید آرسنیک پرداخته شده است.

مواد و روش کار

این مطالعه از تاریخ ۱۳۹۸/۸/۲۳ تا تاریخ ۱۳۹۸/۹/۲۲ (۳۰ روز) در دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گردید. در این مطالعه ۴۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۸۰-۲۲۰ گرم از حیوان‌خانه دانشگاه شهید چمران اهواز به طور تصادفی انتخاب شدند. موش‌ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در شرایط دمایی ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد با دسترسی آزاد به آب و غذا به مدت یک هفته برای سازگاری با شرایط محیط آزمایشگاه در قفس‌های مخصوص نگهداری و سپس به ۸ گروه ۵ تایی تقسیم شدند تقسیم‌بندی به صورت زیر می‌باشد:

گروه اول: نرمال سالین را به صورت خوراکی (گاواژ) به مدت ۳۰ روز دریافت کردند.

گروه دوم: ژل سلطنتی را به صورت خوراکی (گاواژ) با دوز ۱۵۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز دریافت کردند.

گروه سوم: آرسنیک تری اکساید را به صورت خوراکی (گاواژ) با دوز ۱ mg/kg به مدت ۳۰ روز دریافت کردند.

گروه چهارم: آرسنیک تری اکساید با دوز ۱mg/kg را به همراه ژل سلطنتی به صورت خوراکی (گاواژ) با دوز ۱۵۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز دریافت کردند.

گروه پنجم: آرسنیک تری اکساید با دوز ۱ mg/kg را به همراه ژل سلطنتی به صورت خوراکی (گاواژ) با دوز ۱۰۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز دریافت کردند.

گروه ششم: آرسنیک تری اکساید با دوز ۱mg/kg را به همراه ژل سلطنتی به صورت خوراکی (گاواژ) با دوز ۵۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز دریافت کردند.

گروه هفتم: آرسنیک تری اکساید با دوز ۱mg/kg را به همراه ویتامین E به صورت خوراکی (گاواژ) با دوز ۱۰۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز دریافت کردند.

گروه هشتم: آرسنیک تری اکساید با دوز ۱mg/kg را به همراه ویتامین E و ژله سلطنتی (هر دو) به صورت خوراکی (گاواژ) با دوز ۱۰۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز دریافت کردند.

جهت تبدیل دوز انسانی به موش صحرایی از فرمول زیر استفاده گردید:

HED(mg/kg)=Animal dose(mg/kg)×Animal Km /Human Km (Reagan-Shaw, 2008)

در روز ۱۴ انجام آزمایش یکی از موش‌های گروه هشتم توسط سایر موش‌های گروه کشته شده بود به همین دلیل این گروه از این تاریخ با چهار موش مورد بررسی قرار گرفت که جهت جلوگیری از تکرار حادثه موش‌های این گروه در دو قفس هر قفس دو موش قرار گرفتند. یک روز بعد از اتمام مدت ۳۰ روز با رعایت اخلاق کار با حیوانات ابتدا موش‌ها با زایلازین بیهوش شدند و خون‌گیری از قلب حیوانات برای انجام آزمایشات بیوشیمیایی ALP[1]، ALT[2]، AST[3] انجام شد. بافت کبد حیوانات بعد از استخراج در ظرف‌های مخصوص شماره‌گذاری شده حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد نگهداری شد تا مراحل انجام کارهای بافتی طبق دستورالعمل انجام گردد.

سپس خون درون لوله‌های گاما به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۲۵۰۰ قرار گرفتند. سرم جدا

1- Alkaline phosphatase (ALP)
2- Alanine amino transferase (ALT)
3- Aspartate amino transferase (AST)

گردید و درون لوله‌های کد گذاری شده برای هر موش ریخته شد.

سرم‌ها جهت خواندن فاکتورهای مورد نظر درون دستگاه Cobas C311 ساخت کارخانه Roche آلمان طبق دستور العمل کیت و دستگاه قرار گرفتند. میانگین فاکتورها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون واریانس یک طرفه و پس آزمون مناسب بین گروه‌ها مقایسه گردید و اختلاف میانگین‌ها با P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

۲۴ ساعت پس از نمونه‌برداری از بافت کبد فرمالین بافر نمونه‌ها تعویض شد. بعد از طی شدن زمان لازم برای فیکس شدن نمونه‌های بافتی، بافت‌ها برش زده و در سبدهای کوچک پلاستکی قرار داده شد. درون هر سبد شماره مخصوص هر گروه با مداد مشکی روی کاغذ نوشته شد. سپس نمونه‌ها درون ظرف به مدت ۲۴ ساعت زیر آب قرار گرفت. بعد از آن مراحل پاساژ بافت توسط دستگاه TISSUE PROCESSOR انجام گردید. بعد از این مرحله از هر بافت لام تهیه گردید و بافت‌ها با رنگ H&E رنگ‌آمیزی شدند. هر بافت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و آسیب‌های آن به دقت بررسی شد.

نتایج

در مقایسه AST(u/l) در گروه‌های آزمایشی، در هیچ کدام از گروه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (P<۰/۰۵) (Table 1). مقایسه میانگین و انحراف معیار در Figure 1 بررسی شده است.

Table 1: mean and standard deviation of variation of Aspartate amino transferase

Group 8 (Mn±Sd)	Group 7 (Mn±Sd)	Group 6 (Mn±Sd)	Group 5 (Mn±Sd)	Group 4 (Mn±Sd)	Group 3 (Mn±Sd)	Group 2 (Mn±Sd)	Group 1 (Mn±Sd)	group
±45.46 54/20	±22/76 56/60	±20/92 78/20	±14/35 60/00	±9/42 57/60	±11/73 50/80	±7/38 56/00	±6/10 52/60	AST

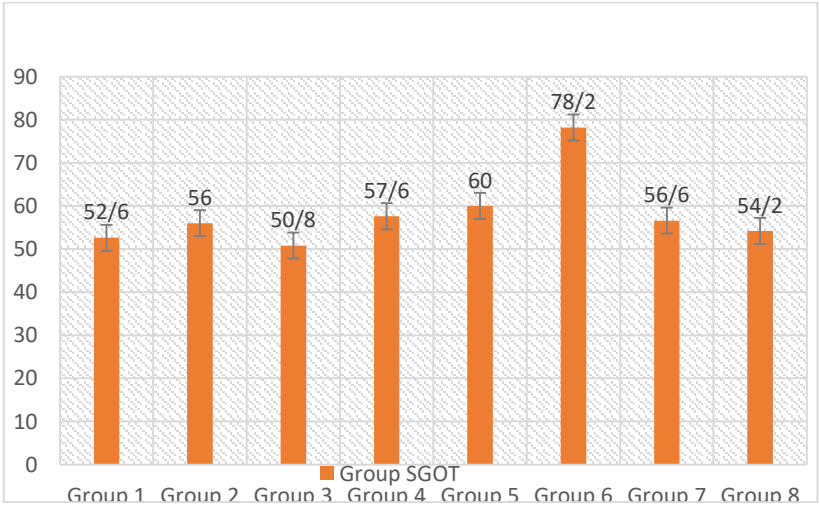

Figure 1: Comparison of mean and standard deviation of Aspartate amino transferase

در مقایسه ALT(u/l) در گروه‌های آزمایشی، در هیچ کدام از گروه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (P<۰/۰۵) (Table 2). مقایسه میانگین و انحراف معیار در Figure 2 بررسی شده است.

Table 2: mean and standard deviation of variation of Alanine amino transferase

Group 8 (Mn±Sd)	Group 7 (Mn±Sd)	Group 6 (Mn±Sd)	Group 5 (Mn±Sd)	Group 4 (Mn±Sd)	Group 3 (Mn±Sd)	Group 2 (Mn±Sd)	Group 1 (Mn±Sd)	group
±90/01 139/40	±21/16 140/00	±88/79 149/80	±109/72 237/60	±10/77 149/00	±23/89 131/40	±49/30 168/00	±50/45 167/20	ALT

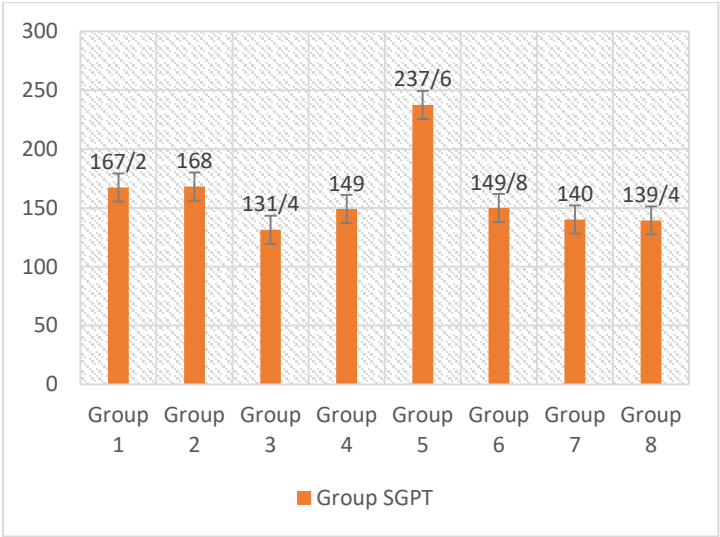

Figure 2: Comparison of mean and standard deviation of Alanine amino transferase

در مقایسه ALP(u/l) در گروه‌های آزمایشی، در هیچ کدام از گروه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (P<۰/۰۵) (Table 3). مقایسه میانگین و انحراف معیار در Figure 3 بررسی شده است.

Table 3: mean and standard deviation of variation of Alkaline phosphatase

Group 8 (Mn±Sd)	Group 7 (Mn±Sd)	Group 6 (Mn±Sd)	Group 5 (Mn±Sd)	Group 4 (Mn±Sd)	Group 3 (Mn±Sd)	Group 2 (Mn±Sd)	Group 1 (Mn±Sd)	group
±206/25 292/60	±42/19 384/20	±81/90 499/00	±183.73 485/60	±120/68 490.20	±91/33 435/20	±87/30 487/20	±123/31 432/20	ALP

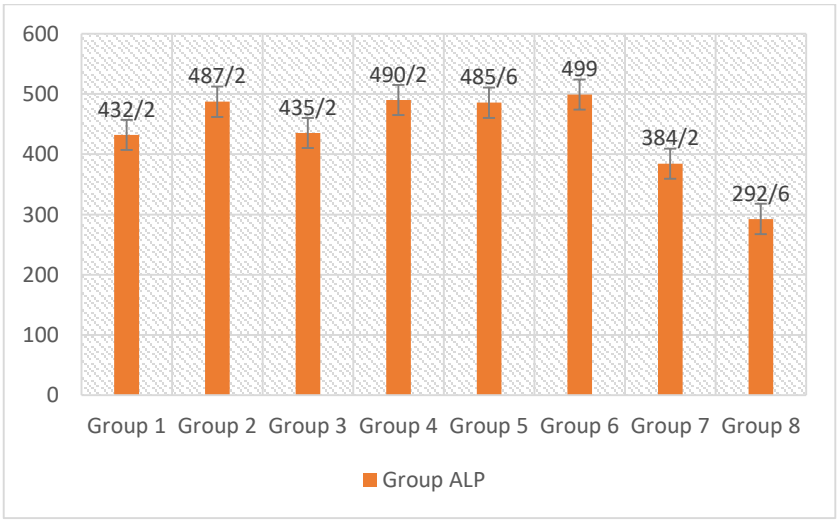

Figure 3: Comparison of mean and standard deviation of Alkalaine phosphatase

نتایج هیستوپاتولوژیک

در گروه اول که نرمال سالین دریافت کردند بافت کبد شکل نرمال داشت. سینوزوئیدها در کبد واضح بود و هپاتوسیت‌ها شکل طبیعی داشتند (Figure 4)

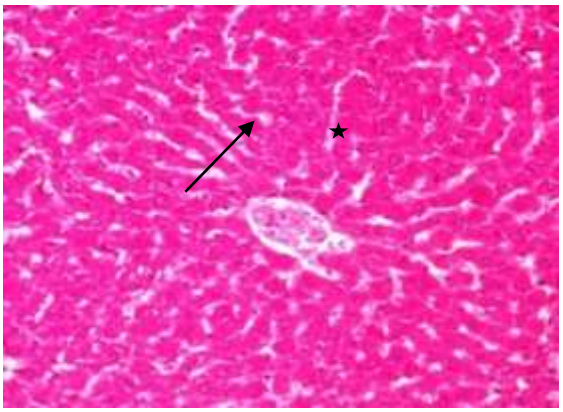

Figure 4: Normal Salin group. Tissue section of Liver showing Hepatocytes&(arrow) Cynosoid around(star) central vien. H&E.10X

در گروه دریافت کننده ژل سلطنتی نیز تغییر واضح بافتی مشاهده نگردید. بافت کبد شکل نرمال داشت. سینوزوئیدها و هپاتوسیت‌ها شکل طبیعی خود را حفظ کرده بودند (Figure 5).

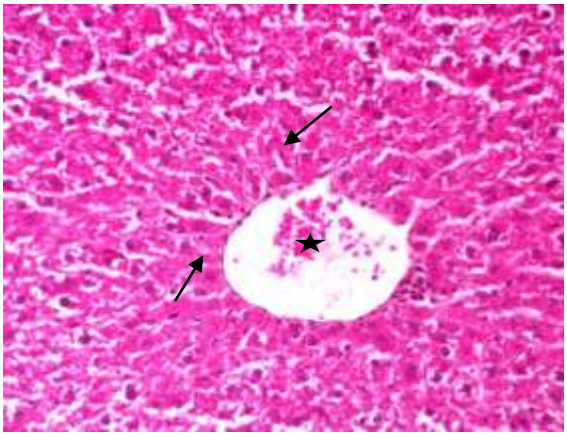

Figure 5: Royal Jelly group. Tissue section of Liver showing Hepatocytes (arrows) & Cynosoid around(star) central vien. H&E.20X

گروه سوم گروه دریافت کننده آرسنیک تری اکساید می‌باشد که در این گروه در بافت کبد تورم سلولی مشاهده گردید سلول‌های هپاتوسیت متورم بودند و سینوزوئیدها به سختی مشاهده می‌شوند (Figure 6).

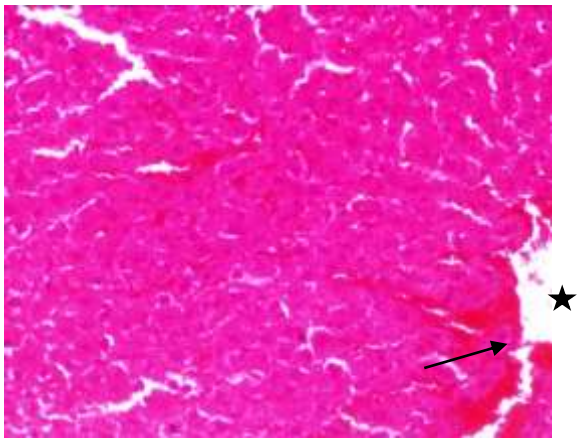

Figure 6: Arsenic Trioxide group. Tissue section of Liver showing congestion (arrow) & Cell swelling around(star) central vien. H&E.20 X

گروه چهارم گروه دریافت کننده آرسنیک با ۱۵۰mg/dl ژل سلطنتی می‌باشد که بافت کبد در این گروه نسبت به گروه سوم کمتر دچار پرخونی و تورم می‌باشند. سینوزوئیدها تقریباً واضح است (Figure 7).

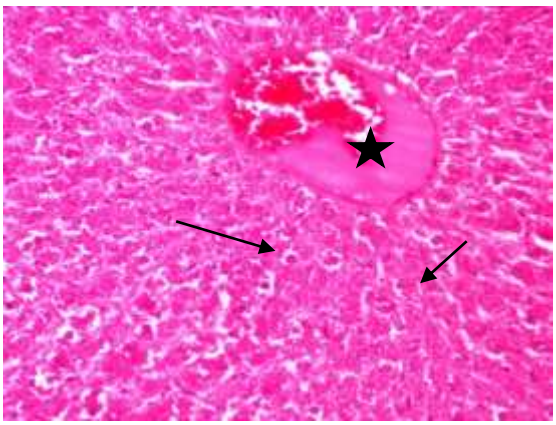

Figure 7: Arsenic Trioxide & royal jelly(150mg/dl) group. Tissue section of Liver showing congestion of(star); central vien & Cell swelling(arrows) H&E. 20X

در گروه پنجم که آرسنیک با ژل سلطنتی ۱۰۰ mg/dl که بافت کبد نرمال می‌باشد. در کبد سینوزوئیدها واضح می‌باشد در سنترال وین پرخونی مشاهده نمی‌گردد (Figure 8).

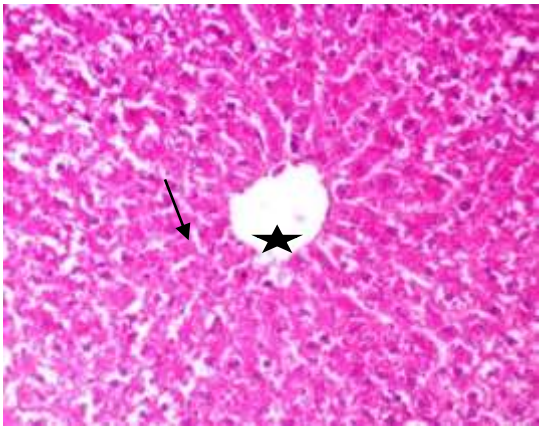

Figure 8: Arsenic Trioxide & royal jelly(100mg/dl) group. Tissue section of Liver showing Cynosoid(arrow) &Central vain(star) . H&E. 20X

در گروه شش که آرسنیک را با ژل سلطنتی ۵۰ mg/dl کبد با آسیب کمتر مشاهده گردید. در این گروه کبد هپاتوسیت‌های طبیعی دارد. در ورید مرکزی پرخونی مشاهده نمی‌گردد (Figure 9).

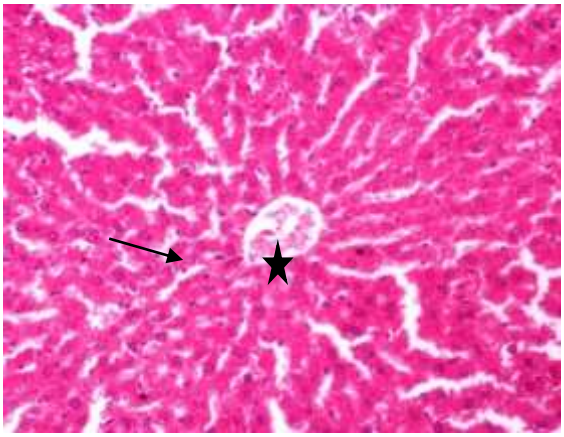

Figure 9: Arsenic Trioxide & royal jelly(50mg/dl) group. Tissue section of Liver showing Cynosoid(arrow) &Central vain(star). H&E20X

در گروه هفتم نیز که دریافت کننده آرسنیک و ویتامین E بودند در کبد تورم سلولی و پرخونی مشاهده نگردید. هپاتوسیت‌ها شکل طبیعی داشته و سینوزوئیدها مشخص می‌باشد. در ورید مرکزی پرخونی مشاهده نگردید (Figure 10).

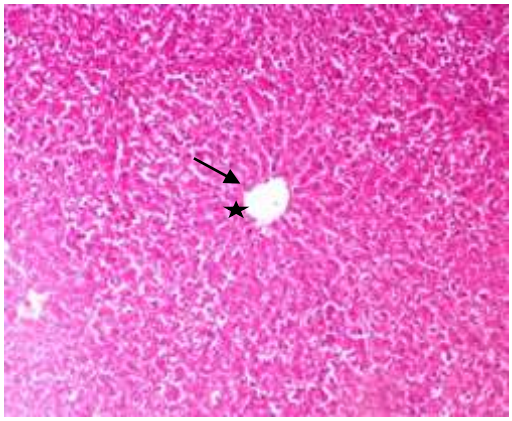

Figure 10: Arsenic Trioxide & V.E group. Tissue section of Liver showing Cynosoid(arrow) &Central vain(star). H&E.10X

در گروه هشتم که دریافت کننده آرسنیک و ویتامین E وژل سلطنتی بودند. در کبد ورید مرکزی و هپاتوسیت‌ها منظره طبیعی داشتند (Figure 11).

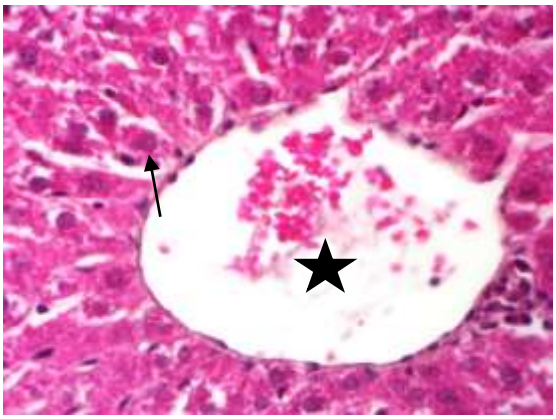

Figure 11: Arsenic Trioxide & V.E & royal jelly group. Tissue section of Liver showing Cynosoid(arrow) &Central vain(star). H&E.40X

بحث

آرسنیک تری اکساید در سال‌های اخیر جهت درمان بیماری APL از FDA تاییدیه گرفته است و در ایران نیز کاربرد گسترده‌ای یافته است. به نظر می‌رسد که ایجاد یک مدل حیوانی از سمیت کبدی ATO می‌تواند به بررسی و تحقیق در مورد ترکیبات کاهش دهنده این عارضه کمک نماید.

در این مطالعه دوز درمانی آرسنیک تری اکساید با محاسبات به دست آمده از مطالعه Reagan-Shaw و همکارانش در سال ۲۰۰۸ به دوز مورد نظر برای موش صحرایی تبدیل گردید.

در پایان دوره آزمایش مشخص گردید که بافت کبد در گروه تیمار شده با آرسنیک تری اکساید نسبت به گروه کنترل تنها دچار پرخونی و تورم سلولی گردیده است که این تغییرات در گروه‌های دریافت کننده ژل سلطنتی تقلیل یافته است که این با آنچه به عنوان پیش فرض مطالعه مورد نظر بود مطابقت داشت.

آسیب‌های کبدی یکی از مشکلات رایج جوامع امروزی به شمار می‌روند. آنزیم‌های کبدی و پروتئین‌ها بیومارکرهای بسیار مهم برای تشخیص و ارزیابی عملکرد طبیعی بافت‌ها و اندام‌های بدن هستند. با توجه به نقش ویژه کبد به عنوان یک اندام حیاتی که علاوه بر ذخیره‌سازی و تولید مواد مغذی در سم زدایی و متابولیسم ترکیبات سمی نیز نقش مهمی را دارد، به منظور آشکار نمودن نحوه عملکرد کبد در مواردی که آسیب‌ها غیر قابل بازگشت باشد سنجش فعالیت‌های سرمی آنزیم‌های کبدی برای ارزیابی میزان آسیب‌های وارد شده شاخص مناسبی است چرا که هرگونه آسیب به هپاتوسیت‌ها آزاد شدن این آنزیم‌ها به جریان خون و افزایش مقادیر سرمی آن‌ها را به دنبال خواهد داشت. تغییرات عمده یا جزیی در یکپارچگی غشای سلولی منجر به تغییرات قابل توجه در فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌شود (Anbara et al, 2016 and Nejati et al, 2016).

آرسنیک یک آلاینده زیست محیطی است که به دلیل کاربرد آن در صنایع شیمیایی مقدار آن در شهرهای بزرگ و صنعتی بیش از سایر مناطق است. این ترکیب از طریق مواد غذایی، هوا، آب آشامیدنی و خاک وارد بدن می‌شود و دارای اثر هیستوپاتولوژیک بر روی اندام‌های مختلف از جمله کبد است. مصرف حاد آرسنیک می‌تواند باعث ایجاد آسیب‌های کلیه، کبد، روده و مغز شود و حتی مصرف مزمن آن نیز می‌تواند باعث ایجاد اختلالات عملکردی در سیستم عصبی و کلیوی شود. همچنین آرسنیک می‌تواند بیماری‌های مزمن کلیوی ایجاد کند و باعث افزایش خطر سرطان‌های کلیه و کبد شود (Soleimani Mehrijani et al, 2007).

مشخص شده است که تجمع آرسنیک در حیوانات منجر به سمیت به ویژه در کبد می‌گردد. در مطالعه حاضر نتایج در گروه سوم که دریافت کننده آرسنیک بودند نشان داد که این ماده بر روی بافت کبد آسیب‌های برگشت‌پذیر ایجاد کرده علی‌رغم آن که بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی بدون تأثیر بود. هر چند این آسیب‌های ایجاد شده برگشت‌پذیر هستند اما در صورت تداوم در بلند مدت می‌تواند آسیب‌های جدی‌تری در بافت کبد ایجاد کنند. همچنین در دیگر گروه‌ها که علاوه بر آرسنیک ژل سلطنتی و ویتامین E دریافت کرده بودند هیچ گونه آسیب برگشت‌پذیر در بافت‌ها و یا تغییر در آنزیم‌های مورد مطالعه مشاهده نگردید که این با آنچه به عنوان پیش فرض مطالعه مورد نظر بود مطابقت داشت.

آنزیم‌های کبدی و پروتئین‌ها بیومارکرهای بسیار مهم برای تشخیص و ارزیابی عملکرد طبیعی بافت‌ها و اندام‌های بدن هستند. تغییرات عمده یا جزیی در یکپارچگی غشای سلولی منجر به تغییرات قابل توجه در فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌شود (Nejati et al, 2016).

در مطالعه حاضر تغییرات سطح سرمی ALT, ALP و AST در گروه دریافت کننده آرسنیک در مقایسه با گروه شاهد و گروه ژل سلطنتی معنی‌دار نبود هرچند بافت کبد در این گروه تورم سلولی و پرخونی را نشان داد.

در گروه دریافت کننده ژل سلطنتی سلول‌های کبدی دچار آسیب نشدند و در گروه‌های دیگری که ژل سلطنتی به همراه آرسنیک تری اکساید مورد استفاده قرار گرفت شدت ضایعات قابل بازگشت را کاهش داد این موضوع نشان می‌دهد که ژل سلطنتی قادر است تغییرات هیستوپاتولوژیک را کاهش دهد. این نتیجه مطابق با پیش فرض مطالعه می‌باشد.

در مطالعه Islam و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داده شد که قرار گرفتن در معرض آرسنیک باعث ایجاد آسیب

کبدی می‌شود. مشخص گردید که گروهایی که در معرض میزان زیاد آرسنیک قرار گرفتند نسبت به گروه‌هایی که در معرض میزان کمتری آرسنیک بودند افزایش معنی‌داری در فعالیت ALT, ALP و AST داشته‌اند. همچنین مشخص گردید که رابطه بین دوز آرسنیک و تغییر در فعالیت آنزیم-های کبدی وجود دارد.

در مطالعه Singh و همکاران در سال ۲۰۱۴مشخص گردید که قرار گرفتن در معرض آرسنیک روزانه به میزان ۳ mg/kg وزن بدن به مدت ۳۰ روز در موش سوری باعث تغییر قابل توجهی در میزان ALT, ALP و AST نسبت به گروه شاهد می‌گردد. در این موش‌ها تجویز همزمان عصاره میوه آملا باعث کاهش قابل توجه در میزان آنزیم‌های کبدی گردیده است.

نتایج این مطالعه در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تفاوت در دوز آرسنیک استفاده شده در دو مطالعه می‌تواند عامل ایجاد تفاوت در جواب آنزیم‌های کبدی باشد. همچنین استفاده از عصاره میوه آملا که خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته است مشابه نتایج به دست آمده در این مطالعه در خصوص استفاده از ژل سلطنتی می‌باشد.

در مطالعه Noman و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی اثر سمی آرسنیک (آرسنیت سدیم) در ارگان‌های موش سوری با دوز ۱۰ mg/kg به مدت ۸ هفته بر چند ارگان ازجمله کبد، کلیه مغز و عروق دستگاه تنفس پرداخته شد. در گروه دریافت کننده آرسنیک تغییرات دژنراتیودر ارگان-های ذکر شده مشاهده گردید.

در مطالعه حاضر به علت استفاده فرم دارویی آرسینک (ارسنیک تری اکساید) در مدت زمان ۳۰ روز آزمایش و تفاوت در دوز تغییرات ایجاد شده در بافت کبد شامل تورم سلولی و پرخونی بوده است.

در سال ۲۰۲۰، Zubair و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی سمیت آرسنیت سدیم بر شاخص‌های خون‌شناسی و پارامترهای تولید مثل در بز و بهبود آنها با ویتامین C پرداختند. در این مطالعه که به مدت ۱۲ هفته انجام شده است حیوانات به ۴ گروه طبقه‌بندی شدند. گروه اول گروه شاهد. گروه دوم: ۵ mg/kg وزن بدن آرسنیک خوراکی، گروه سوم: ۵ mg/kg وزن بدن آرسنیک و ۲۰۰mg/kg ویتامین C و گروه چهارم فقط ۲۰۰mg/kg وزن بدن ویتامین C به صورت خوراکی دریافت کردند.

بعد از پایان آزمایش مشخص گردید که هورمون‌های تولید مثل تستسترون و محرک فولیکول و لوتئین‌ساز به میزان قابل توجهی در گروه دوم کاهش و کورتیزول افزایش یافته است. در بافت بیضه گروه دوم (آرسنیت سدیم) ضایعات شامل از بین رفتن اپیتلیوم پوششی لوله‌های منی-ساز و آتروفی سلول‌های لیدیگ بود. اما در گروه سوم که همراه با ارسنیک مصرف ویتامین C به صورت خوراکی بهبودی لوله‌های منی‌ساز بیضه مشاهده گردید.

نتایج مطالعه حاضر در مورد فاکتورهای خونی احتمالاً به دو دلیل با مطالعه Zubair و همکاران مطابقت نداشته است. اولین دلیل دوز مصرفی در تحقیق مذکور پنج برابر دوز مصرفی در مطالعه حاضر می‌باشد و دیگری مدت زمان استفاده از آرسنیت سدیم که در مطالعه Zubair به مدت ۱۲ هفته انجام شده است در صورتی که در این تحقیق شکل دارویی آرسنیک (آرسنیک تری اکساید) آن هم به مدت ۳۰ روز مورد استفاده قرار گرفت. به همین دلیل ضایعات ایجاد شده از نوع بازگشت‌پذیر بوده و تغییرات معنی‌داری در فاکتورهای خونی مشاهده نشد ولی در گروهی که آرسنیک به همراه ژل سلطنتی استفاده گردید مانع از ایجاد ضایعات بازگشت‌پذیر شد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و همچنین بخش پاتولوژی دانشکده دامپزشکی خانم بهداروند و آقای بهداروند و آقای شریفی برای همکاری در انجام این پژوهش کمال تشکرو امتنان را داریم.

تعارض منافع

بین نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

منابع مالی

معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز حمایت مالی این تحقیق را به عهده داشتند.

منابع

Anbara, H., Shahrooz, R., Malekinejad, H. & Saadati, S. (2016). nvestigating the Antioxidant Properties of Royal Jelly and Vitamin C on Enzymes, Histomorphometric and Liver Cells Apoptosis in Mice Suffering Hemolytic Anemia. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, *6*(2).

Asgari, M., Asle- Rusta, M. & Sofi-Abadi, M. (2016). Effect of royal jelly on blood glucose and lipids in in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences, 20(*5): 48-56.

Chowdhury, S., Islam, S., Akter, R., Khaleda, L., Rahman, Z. & Al-Fforkan, M. (2016). A study on the effect of arsenic on tissue histology and its deposition pattern in various organs of wistar albino rat. *European journal of pharmaceutical and medical research*, *3*(5): 580-587.

Islam, K., Haque, A., Karim, R., Fajol, A., Hossain, E., Abdus S.K. & … (2011). Dose- response relationship between arsenic exposure and the serum enzymes for liver function tests in the individuals exposed to arsenic: *a cross sectional study in bangladesh. Environ Health*, 10: 64.

Jomova, K., Jenisova, Z., feszterova, M., Baros, S., Liska, J., Hudecova, D., & . . . (2011). Arsenic : toxicity oxidative stress and human disease. *Journal of applied toxicology, 31,* 95-107.

Singh, K., Manish, D., Shailendra, S., Yadav, S., Sharma, P. & Khattri, S. (2014). Arcenic- induced hepatic toxicity and its attenuation by fruit extract of emblica officinalis (Amla) in mice. *India journal clinical biochemists, 29*(1): 29-37.

Kamakura, M. (2011). Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature, vol. 473*, no. 7348, pp. 478–483.

Khodabande, Zh., Negati, V., Nagafi, Gh., Shalizar Jalali, A. & Rahmani, F. (2018). Protective Effect of Royal Jelly on Liver Tissue in Nicotine-treated Adult Female Rats. *Journal of Neyshabur University of Medical Sciences, 5*(4): 22-31.

Njafzadeh Varzi, H., Khaksar Mahabadi, M. & Haji, A. (2015). Comparative Study of the Effects of Sodium Arsenite and Nanoparticles of Sodium Arsenite on the Apparent and Skeletal Malformations in Rat Embryos. *Journal of Babol University of Medical Sciences, 17* (10) :60-66 .

Nejati, V., Zahmatkesh, E. & Babaei, M. (2016). Protective effects of royal jelly on oxymetholone-induced liver injury in mice. *Iranian biomedical journal*, *20*(4): 229-234.

Noman, A.S.M., Dilruba, S., Mohanto, N.C., Rahman, L., Khatun, Z., Riad, W. & … (2015). Arsenic indced histological alteration in various organs of mice. *Journal of cytology histology*, 6: 3-323.

Obinaju, E.B. (2009). Mechnisms of arsenic toxicity and carcinogenesis. *Africa jurnal of biochemistry research*, *3*(5): 232-237.

Reagan-Shaw, S., Nihal, M. & Ahmad, N. (2008). Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB Journal*, *22*(3): 659-661.

Shirazi, M., Kordyazdi, R., Shahinfard, N. & Nikokar, M. (2013). Dose royal jelly affect tumor cells. *Jouarnl of herbmed pharmacology*, *2*(2): 45-48.

Soleimani Mehranjani, M., Shariat-zadeh, M.A., Maleki, P. & Mahmoodi, M. (2007). Quantitative study of the histopathological effects of sodium arsenite on kidney stracture in rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, *10(*4): 1-17.

Tanju, S. & Madhuri, D. (2013). Arsenic induced oxidative stress, hemato-biochemical and histological changes in liver and protective effect of moringa leaf powder and ascorbic acid in broiler chicken. *Jornal of chemical and pharmaceutical research*, *5*(2): 112-116.

Yousofvand, N. & Fahim, M. (2015). Effects of chronic exposure to sodium arsenate on kidney of rats. *Iranian Journal of Toxicolog*, *9*(30): 1402-1406.

Zubair, M., Ahmad, M., Kashif Saleemi, M., Tehseen Gul, S., Jozeph Martyinuk, Ch., Ullah, Q. & Umer, S. (2020). Sodium arsenite toxicity on hematology indices and reproductive parameters in Teddy goat bucks and their amelioration with vitamin C. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*: 15223-15232.

Received: 31.01.2021
Accepted: 12.06.2021

Vol. 19, No. 2, Summer, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2021.269014.2346
DOR: 20.1001.1.17356873.1402.19.2.16.3

Evaluation of the effect of royal jelly on hepatotoxicity (histopathological and biochemical changes) induced by arsenic trioxide in male rats according to the treatment dose of acute promyelocytic leukemia

Babak Mohammadian[1*], Zahra Amirkhani Dehkordi[2], Hosain Najafzade Varzi[3] and Ali Shahryari[4]

[1] Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2] Student of Pathology Course, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[3] Professor, Department of Pharmacology, Faculty of Medical Sciences, Babol University, Babol, Iran
[4] Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 31.01.2021 Accepted: 12.06.2021

Abstract

Arsenic trioxide (ATO) is used in treatment of acute promyelocytic leukemia (APL). One of the major side effects of this drug is liver toxicity. Different doses of this drug have been used in different studies. Based on the ATO treatment protocol in APL patients (0.15 mg / kg) and the dose conversion formula between humans and laboratory animals introduced by the FDA, a dose of 1 mg / kg was selected. Royal jelly has attracted increasing attention in recent years given its high antioxidants capacity. This study aimed to evaluate the effect of royal jelly on histopathologic and biochemical changes of liver based on arsenic trioxide-induced hepatotoxicity in 8 groups of 5 rats. In groups one, two and three respectively, normal saline, royal jelly and arsenic trioxide; in groups four, five and six, different doses of royal jelly along with fixed dose of arsenic trioxide; in group seven arsenic trioxide along with vitamin E; in group eight arsenic trioxide alonge with vitamin E and royal jelly were given orally for 30 days. According to the results, the liver was normal in the normal salin group and royal jelly receiving groups, while it had pathological changes as hyperemia and cellular swelling (reversible changes) in other groups. The severity of these changes was reduced in royal jelly receiving groups. There was no significant change in the liver enzymes activity in all study groups.

Key words: Arsenic trioxide, Liver, Royal jelly, Histopathological, Rat

[*] **Corresponding Author**: Babak Mohammadian, Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
E-mail: mohammadb@scu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).