

## نقش محافظتی ژل رویال در برابر آسیب‌های بافتی ناشی از فنیل‌هیدرازین در روده کوچک موش: ارزیابی مورفومتریک

حجت عنبر<sup>۱</sup>، علی شالیزار جلالی<sup>۱\*</sup>، رسول شهروز<sup>۱</sup>، مزدک رازی<sup>۱</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** فنیل‌هیدرازین به‌عنوان یک ترکیب همولیتیک شناخته شده، موجب سمیت در سطوح مختلف در بافت‌های متعدد می‌گردد. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات محافظتی احتمالی ژل رویال در برابر آسیب‌های بافتی ناشی از فنیل‌هیدرازین در روده کوچک موش انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، موش‌های نر بالغ به‌صورت تصادفی به چهار گروه هشت سری تقسیم شدند. دو گروه از موش‌ها فنیل‌هیدرازین را (به میزان ۶۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت به مدت ۳۵ روز دریافت کردند. به یک گروه، ژل رویال (به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت خوراکی ۴ ساعت قبل از فنیل‌هیدرازین داده شد. گروه سوم تنها ژل رویال را دریافت کردند و گروه چهارم نیز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، قسمت‌های مختلف روده کوچک جدا گردید، سپس مقاطع بافتی تهیه و بررسی‌های کمی مورفومتریک انجام گرفت. جهت مقایسه بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست‌های مقایسه‌ای چندگانه توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری،  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** در این مطالعه فنیل‌هیدرازین باعث کاهش معنی‌داری در عمق کریپت‌های دوازدهه، میزان پراکندگی سلول‌های جامی شکل پرزهای ایلئوم، عرض پرزهای دوازدهه و ژژنوم و طول پرزهای هر سه قسمت روده کوچک شد. تجویز همزمان ژل رویال تا حدودی تغییرات مشاهده شده در فراسنجه‌های فوق را بهبود بخشید.

**نتیجه‌گیری:** باتوجه به نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد ژل رویال به‌عنوان یک مهارکننده رادیکال آزاد می‌تواند سمیت روده‌ای ناشی از فنیل‌هیدرازین را در موش کاهش دهد.

**کلید واژه‌ها:** ژل رویال؛ فنیل‌هیدرازین؛ روده؛ موش‌ها.

اگرچه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات:

علی شالیزار جلالی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:  
ali\_shalizar@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۹

تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۳۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Anbara H, Shalizar Jalali A, Shahrooz R, Razi M. Protective effect of royal jelly against phenylhydrazine-induced histological injuries of small intestine of mice: Morphometric analyses. Qom Univ Med Sci J 2016;9(11):12-21. [Full Text in Persian]

## مقدمه

فنیل‌هیدرازین یک ترکیب شیمیایی با ویژگی‌های اکسیدانت قابل توجه است که به شکل گسترده‌ای در صنایع شیمیایی، دارویی، کشاورزی و آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱). طیف وسیعی از عوارض جانبی نظیر کم‌خونی همولیتیک، هیپوکسی، واکنش‌های آماسی، اختلالات کبدی، کلیوی، دستگاه عصبی مرکزی و خودایمن، همچنین بدخیمی‌ها، کاربرد دارویی این ترکیب را به‌ویژه در درمان تب و پلی‌سیمی کاهش داده است (۲-۴). به‌خوبی مشخص شده است گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد ناشی از اتواکسیداسیون فنیل‌هیدرازین، موجبات تخریب گلبول‌های قرمز و بروز کم‌خونی را از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون چربی‌ها و اکسیداسیون پروتئین‌های غشای گلبول‌های قرمز فراهم می‌کنند (۵). از سوی دیگر، فنیل‌هیدرازین به‌واسطه ایجاد کم‌خونی همولیتیک شدید، افزایش فعالیت خون‌سازی و جذب آهن، موجب افزایش ذخیره آهن در بافت‌ها شده که مقادیر بالای آهن بافتی نیز تولید گونه‌های فعال اکسیژن را تشدید می‌کند (۶-۸). بر این اساس، فنیل‌هیدرازین عمدتاً جهت القای کم‌خونی و اختلالات عروقی تجربی و مطالعه مکانیسم برخی بیماری‌های قلبی - عروقی و نیز پاسخ‌های آماسی سیستمیک مانند شوک عفونی مدنظر قرار می‌گیرد (۹). همچنین مطالعات بالینی و تجربی بسیاری نشان داده است کاهش جریان خون موجب بروز آسیب در اندام‌های مختلف نظیر روده شده و می‌تواند در پیشرفت بیماری‌زایی عفونت‌ها، واکنش‌های آماسی سیستمیک و سندرم‌های اختلال عملکرد، نقش بارزی ایفا کند (۱۰-۱۲).

ژل رویال که محصول ترشحی غدد تحت حلقی و فکی زنبورهای کارگر و حاوی ترکیباتی نظیر اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، قندها، اسیدهای چرب، مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌باشد، واجد ویژگی‌های دارویی متعددی همچون فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانت، ضدآماسی، ضدتوموری و آنتی‌بیوتیک است (۱۳-۱۵). به‌علاوه، بررسی‌های اخیر نیز از کارآیی ژل رویال در کاهش آسیب‌های ناشی از مواد شیمیایی در روده کوچک حکایت دارند (۱۶). بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی مورفومتریک اثرات محافظتی احتمالی ژل رویال در برابر آسیب‌های بافتی ناشی از

فنیل‌هیدرازین در روده کوچک موش انجام شد.

## روش بررسی

در این مطالعه از فنیل‌هیدرازین (Sigma-Aldrich, USA) جهت القای کم‌خونی همولیتیک استفاده شد (۱۷)، ژل رویال مورد استفاده در این مطالعه در شهریورماه سال ۱۳۹۲ از کندوهای زنبورستان‌های شهرستان ارومیه استحصال گردید.

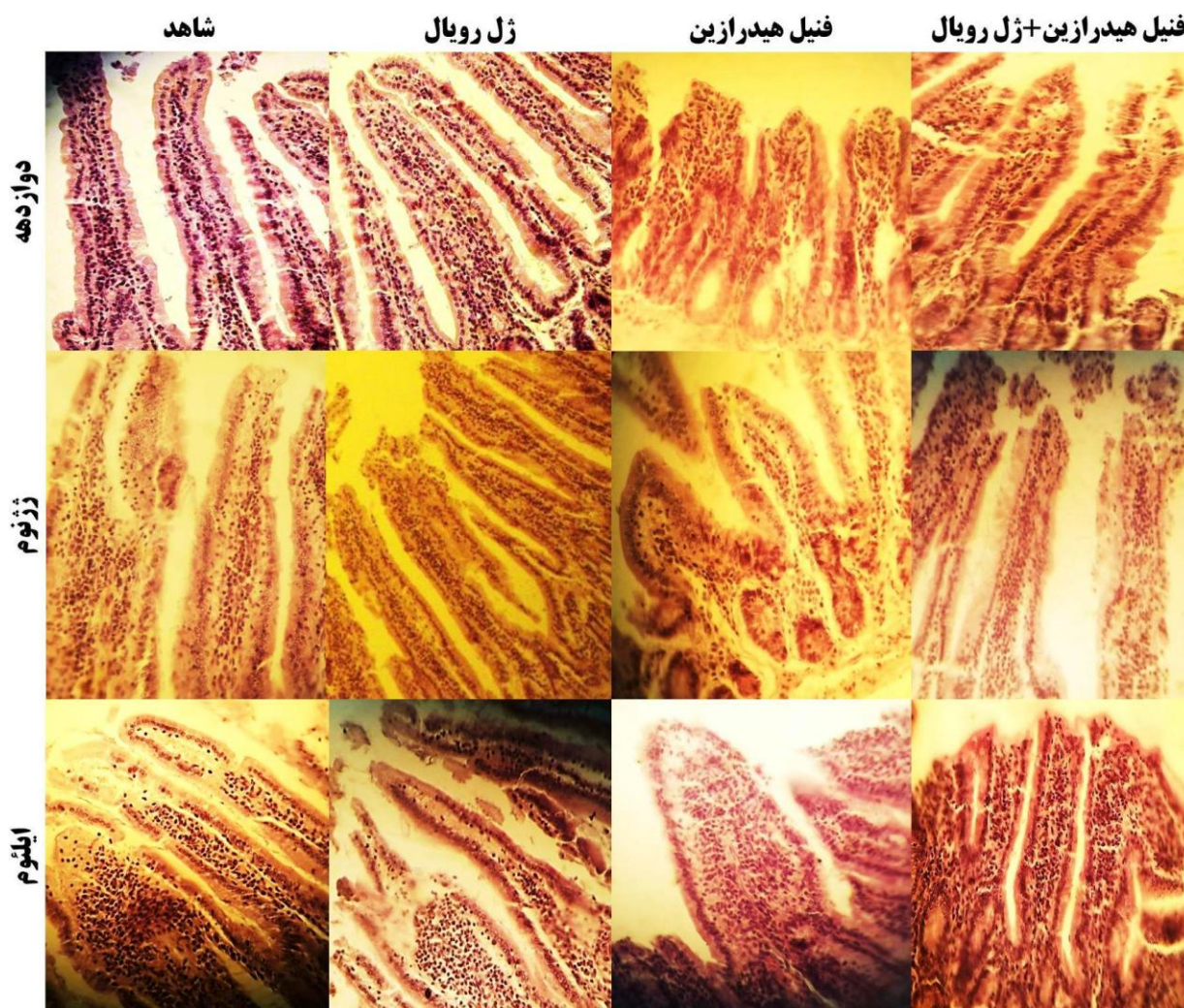
در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۲ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ (وزن ۲۵-۲۰ گرم) از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه تهیه گردید. حیوانات تحت شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی  $50 \pm 10$ ٪) در قفس‌هایی با پوشش خاک چوب نگهداری شدند. تمام حیوانات در شرایط تغذیه‌ای یکسان با ذرت، گندم، جو و پلت به نسبت‌های برابر تغذیه شده و امکان دسترسی آزاد به آب آشامیدنی نیز برای تمامی آنها وجود داشت. تمامی ضوابط، شرایط نگهداری و انجام آزمایش‌ها روی حیوانات نیز براساس دستورالعمل‌های مصوب کمیته اخلاق دانشکده صورت گرفت. متعاقب ۲ هفته سازگاری با شرایط محیط، حیوانات به‌صورت تصادفی به چهار گروه هشت سری به شکل زیر تقسیم شدند:

۱. گروه شاهد: در این گروه به حیوانات سرم فیزیولوژی روزانه (به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر) به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد.
۲. گروه فنیل‌هیدرازین: حیوانات این گروه فنیل‌هیدرازین را (به میزان ۶۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت به‌منظور ایجاد کم‌خونی همولیتیک دریافت کردند (۱۸).
۳. گروه فنیل‌هیدرازین + ژل رویال: به حیوانات این گروه علاوه بر فنیل‌هیدرازین، ژل رویال (به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت خوراکی، ۴ ساعت قبل از تجویز فنیل‌هیدرازین داده شد (۱۵).
۴. گروه ژل رویال: حیوانات این گروه ژل رویال را (به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت خوراکی دریافت کردند.

مدت زمان این مطالعه ۳۵ روز در نظر گرفته شد.

۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، متعاقب آسان‌کشی حیوانات و تحت شرایط استریل، محوطه شکمی باز و نمونه‌های بافتی مربوط به قسمت‌های مختلف روده کوچک به‌دقت جداسازی و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی، جهت تهیه مقاطع بافتی، داخل

فرمالین ۱۰٪ بافری قرار گرفت. پس از ثبوت بافت و انجام مراحل پاساژ بافتی و قالب‌گیری، برش‌های بافتی به ضخامت ۷ میکرومتر به‌وسیله دستگاه میکروتوم تهیه و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین انجام گرفت (شکل).



شکل: برش عرضی از بافت قسمت‌های مختلف روده کوچک در گروه‌های مورد مطالعه.

در موش‌هایی که تنها فنیل‌هیدرازین دریافت کرده بودند، کاهش بارزی در طول و نیز تخریب پرزهای روده‌ای در مقایسه با گروه شاهد و گروهی که تنها ژل رویال دریافت نکرده است، مشهود می‌باشد. با تجویز ژل رویال همراه با فنیل‌هیدرازین، جراحات بافتی روده کوچک موش‌ها در مقایسه با گروهی که تنها فنیل‌هیدرازین دریافت کرده‌اند، تا حدودی بهبود یافته است. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین (درشتنمایی ۴۰۰ برابر).

هر پرز روده، مورد ارزیابی قرار گرفت. در هر نمونه، تعداد ۲۵ پرز جهت بررسی فراسنجه‌های مورفومتریک بررسی و از میانگین داده‌ها جهت تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید (۱۹).

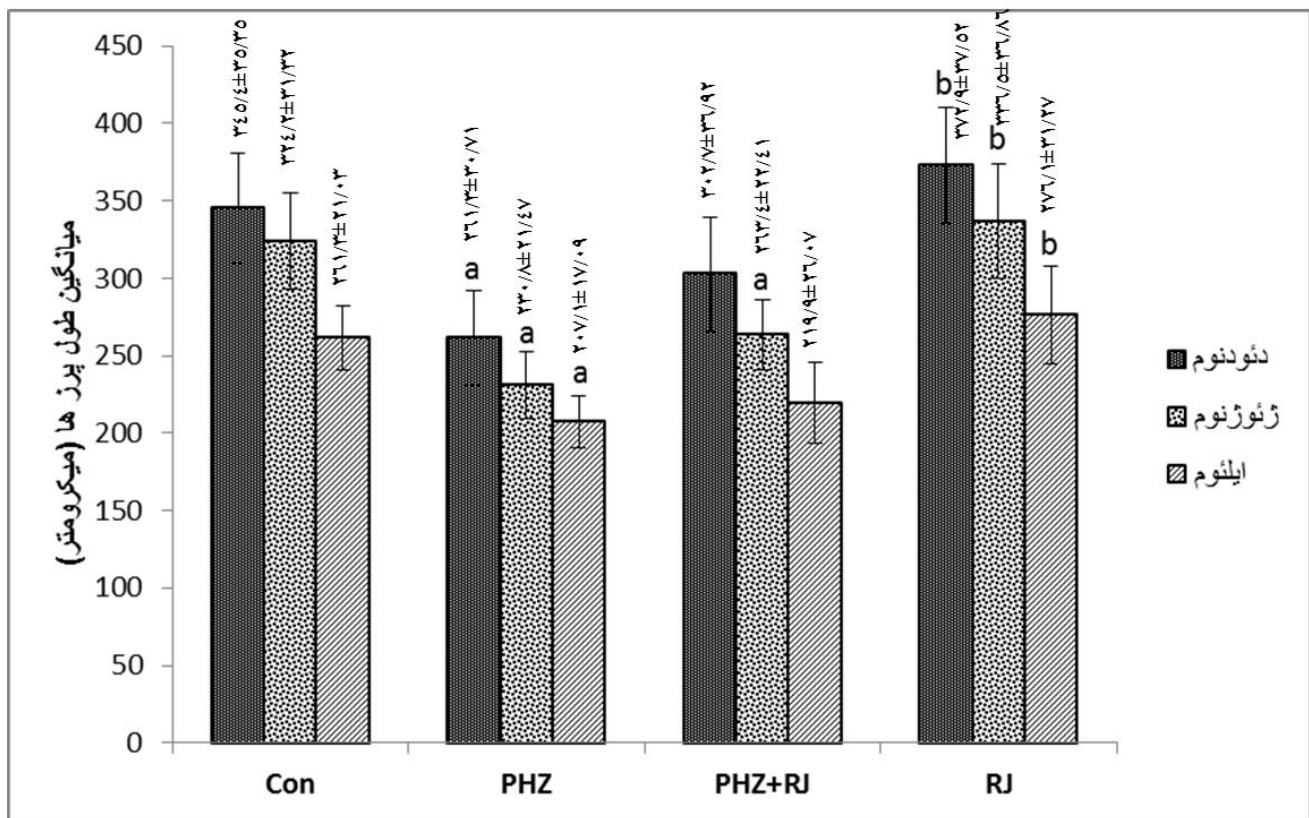
طول پرز (از رأس پرز تا قاعده آن)، عرض پرز و عمق کریپت روده (از قاعده پرز تا انتهای غدد)، با استفاده از عدسی چشمی مدرج اندازه‌گیری شد. تعداد سلول‌های غیرجامی‌شکل و جامی‌شکل، همچنین میزان پراکندگی سلول‌های جامی‌شکل در

داده‌های این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ ارزیابی شدند. جهت مقایسه بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست‌های مقایسه‌ای چندگانه توکی استفاده گردید. سطح معنی‌داری،  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

طول پرزهای هر سه قسمت روده کوچک گروه فنیل‌هیدرازین در مقایسه با گروه شاهد، از نظر آماری دارای کاهش معنی‌داری بود ( $p < 0.05$ ).

طول پرزهای ژژنوم گروه دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین به همراه ژل رویال با گروه شاهد از نظر آماری، کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ )، درحالی‌که طول پرزهای دوازدهه و ایلئوم این گروه، فاقد اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد بود. طول پرزهای هر سه قسمت روده کوچک گروه دریافت‌کننده ژل رویال به تنهایی، در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین از نظر آماری دارای افزایش معنی‌داری بود ( $p < 0.05$ ). سایر گروه‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: مقایسه میانگین طول پرزها در گروه‌های مختلف آزمایشی

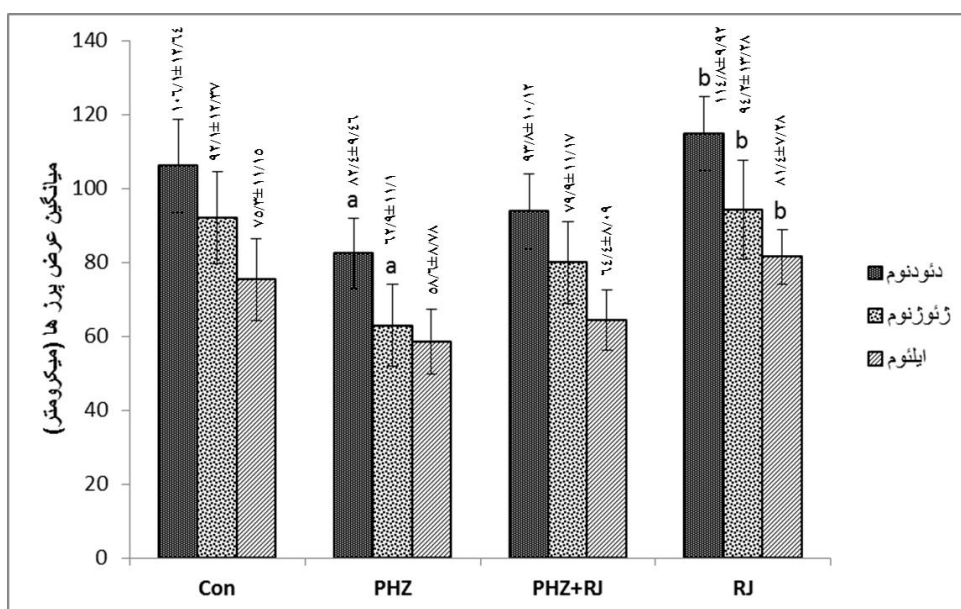
تمامی نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.

PHZ: فنیل‌هیدرازین، RJ: ژل رویال، Con: کنترل

حروف a، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و b، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه PHZ در سطح  $p < 0.05$  می‌باشد.

همچنین عرض پرزهای هر سه قسمت روده کوچک گروه دریافت‌کننده ژل رویال به تنهایی، با گروه فنیل‌هیدرازین افزایش معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). سایر گروه‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند (نمودار شماره ۲).

عرض پرزهای دو قسمت ابتدایی روده کوچک (دوازدهه و ژژنوم) در گروه فنیل‌هیدرازین در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری، دارای کاهش معنی‌داری بود ( $p < 0.05$ )، درحالی‌که عرض پرزهای ایلئوم این گروه، فاقد اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد بود.



نمودار شماره ۲: مقایسه میانگین عرض پرزها در گروه‌های مختلف آزمایشی

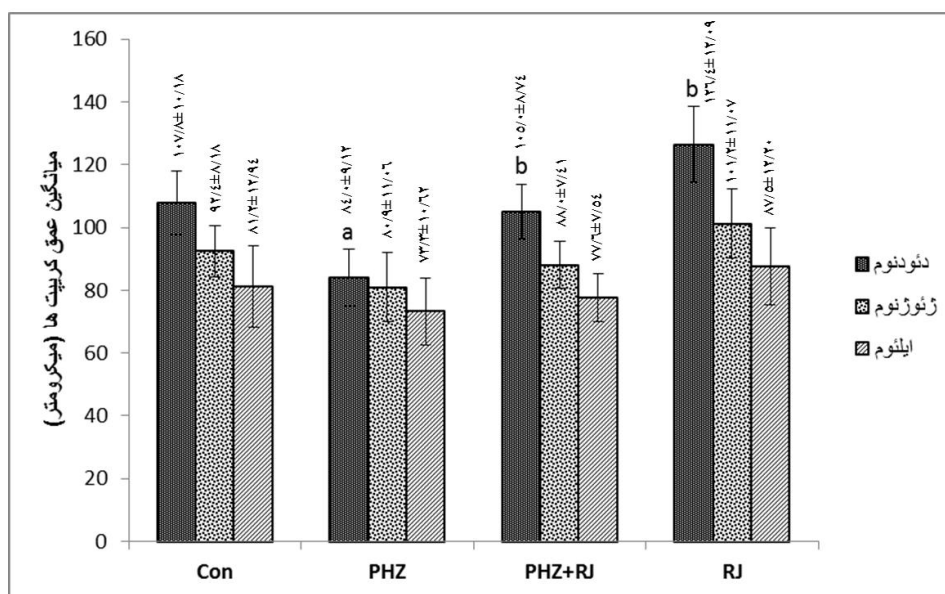
تمامی نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.

PHZ: فنیل‌هیدرازین، RJ: ژل رویال، Con: کنترل

حروف a، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و b، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه PHZ در سطح  $p < 0.05$  می‌باشد.

همچنین عمق کریپت‌های دوازدهه هر دو گروه دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین به همراه ژل رویال و گروه دریافت‌کننده ژل رویال به تنهایی در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین، افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.05$ ). سایر گروه‌ها از نظر آماری فاقد اختلاف آماری با یکدیگر بودند (نمودار شماره ۳).

در بررسی میانگین عمق کریپت‌ها، تنها تفاوت معنی‌دار در قسمت ابتدایی یا همان دوازدهه مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). سایر قسمت‌های روده کوچک، اختلاف معنی‌داری از نظر آماری نشان نداد، اما در مورد مقایسه میانگین عمق کریپت‌های دوازدهه گروه‌های مورد بررسی، تنها گروه فنیل‌هیدرازین در مقایسه با گروه شاهد، دارای کاهش معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).



نمودار شماره ۳: مقایسه میانگین عمق کریپت‌ها در گروه‌های مختلف آزمایشی

تمامی نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شدند.

PHZ: فنیل‌هیدرازین، RJ: ژل رویال، Con: کنترل

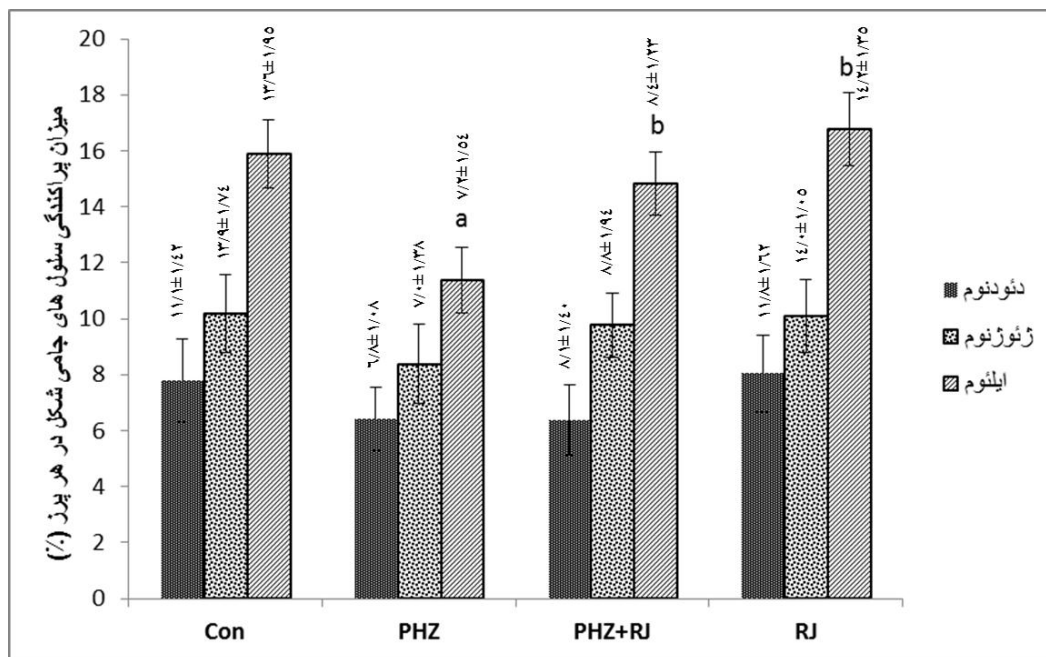
حروف a، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و b، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه PHZ در سطح  $p < 0.05$  می‌باشد.

میزان پراکندگی سلول‌های جامی شکل در هر پرز



گروه‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار با ایلئوم گروه شاهد بود. درصد سلول‌های جامی‌شکل در پرزهای ایلئوم هر دو گروه دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین به همراه ژل رویال و گروه دریافت‌کننده ژل رویال به تنهایی دارای افزایش معنی‌داری نسبت به گروه فنیل‌هیدرازین بود ( $p < 0.05$ ). سایر گروه‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند (نمودار شماره ۴).

در بررسی میانگین درصد پراکندگی سلول‌های جامی‌شکل در پرزهای هر سه قسمت روده کوچک، قسمت دوازده و ژژنوم در هیچ‌کدام از گروه‌ها از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند و تنها تفاوت معنی‌دار در قسمت ایلئوم قابل مشاهده بود؛ بدین معنی که تنها گروه دارای کاهش معنی‌دار با گروه شاهد، گروه فنیل‌هیدرازین بود ( $p < 0.05$ ). همچنین ایلئوم سایر



نمودار شماره ۴: مقایسه درصد پراکندگی سلول‌های جامی در هر پرز در گروه‌های مختلف آزمایشی

تمامی نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.

PHZ: فنیل‌هیدرازین، RJ: ژل رویال، Con: کنترل

حروف a، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و b، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه PHZ در سطح  $p < 0.05$  می‌باشد.

## بحث

همان‌گونه که در مطالعه حاضر نیز مشاهده گردید به نظر می‌رسد شکل‌گیری تنش اکسیداتیو و اختلال در متابولیسم آهن، متعاقب تجویز فنیل‌هیدرازین، موجب آسیب سلولی و کاهش اکثر فراسنجه‌های مورفومتریک روده شده است. تحقیقات صورت گرفته در این راستا نشان می‌دهد تجویز فنیل‌هیدرازین با افزایش جذب آهن و بیان ژن‌های دخیل در انتقال آن در دوازدهه موش همراه است (۲۳، ۷). مطالعات تجربی بر روی حیوانات نیز مشخص کرده است اختلال در فرآیند خون‌رسانی، به‌واسطه مختل کردن عملکرد طبیعی سلول‌های پوششی، زمینه پیشرفت استقرار باکتری‌ها و افزایش چشمگیر نفوذپذیری سلول‌های روده را فراهم می‌آورد که احتمالاً این اختلال ناشی از اکسیدانت‌های تولیدشده به‌واسطه فعال‌شدن دستگاه گزانتین اکسیداز است (۲۴-۲۶).

کم‌خونی، به‌عنوان یک اختلال خونی شایع در مهره‌داران توسط عوامل متعددی ایجاد می‌شود که مسمومیت‌های دارویی یکی از آنها می‌باشد (۲۰). به‌خوبی مشخص شده است عملکرد همولیتیک داروهای اکسیدانته مانند فنیل‌هیدرازین، ناشی از شکل‌گیری تنش اکسیداتیو در گلبول‌های قرمز بوده که با پراکسیداسیون چربی‌ها، آسیب پروتئین‌های ساختاری و ناهنجاری‌های غشایی همراه است (۲۱). از سوی دیگر، کم‌خونی همولیتیک و لیز گلبول‌های قرمز موجب کاهش ظرفیت انتقال اکسیژن و افزایش ذخیره آهن در بافت‌ها می‌شود که این امر تشدید تولید گونه‌های فعال اکسیژن، آسیب‌های سلولی و تغییر فراسنجه‌های مورفومتریک را در پی خواهد داشت (۲۲).

بر این اساس، با توجه به اینکه سلول‌های پوششی روده حاوی مقادیر بالایی گزانتین دهیدروژناز/اکسیداز هستند، روده یکی از اندام‌های حساس به آسیب‌های بافتی ناشی از کم‌خونی می‌باشد (۲۷). به‌علاوه، ثابت شده است کم‌خونی ناشی از فنیل‌هیدرازین موجب برانگیختن پاسخ‌های ایمنی شده که خود می‌تواند در اختلال عملکرد سلول‌های روده نقش ایفا کند (۲۸). مطالعات متعددی بررسی فراسنجه‌های کمی مورفومتریک بافت روده کوچک را شاخص مناسبی جهت ارزیابی میزان آسیب‌های این اندام معرفی کرده‌اند (۲۹، ۳۰). تحقیقات پیشین نشان داده است کاهش خون‌رسانی در روده کوچک موجب تشدید شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد می‌شود که این امر به دلیل حساسیت بالای پرزهای روده نسبت به پیامدهای کاهش جریان خون؛ زمینه‌ساز آسیب‌های سلولی و بافتی روده خواهد شد که با نتایج حاصل از ارزیابی‌های مورفومتریک مطالعه حاضر نیز همخوانی دارد (۳۱، ۳۲).

از سوی دیگر، از آنجایی که موسین ترشح‌شده به‌وسیله سلول‌های جامی‌شکل، پوششی محافظ را برای سلول‌های استوانه‌ای جاذب روده فراهم می‌آورد (۱۹)، لذا کاهش میزان پراکندگی این سلول‌ها در پرزهای روده متعاقب تجویز فنیل‌هیدرازین به‌واسطه محروم ساختن سلول‌های اپی‌تلیال از پوشش موسینی، این سلول‌ها را نسبت به باکتری‌ها و سایر محرک‌ها آسیب‌پذیر کرده که این یافته بافتی می‌تواند پیشرفت استقرار باکتری‌ها و افزایش نفوذپذیری سلول‌های روده را متعاقب کاهش جریان خون توجیه کند (۲۴). علاوه بر این، آسیب بافتی مشاهده‌شده در مخاط روده موش‌های تحت درمان با فنیل‌هیدرازین می‌تواند ناشی از تهاجم رادیکال‌های آزاد به‌واسطه تجمع نوتروفیل‌ها متعاقب پیشرفت استقرار باکتری‌ها در اثر تخریب پوشش موسینی محافظ باشد (۳۳). در مطالعه حاضر، تجویز همزمان ژل رویال باعث بهبود محسوسی در فراسنجه‌های مورفومتریک مورد ارزیابی در بافت روده کوچک موش شد.

نتایج به‌دست‌آمده از تحقیقات متعدد نیز کارآیی قابل‌توجه ترکیبات واجد خواص آنتی‌اکسیدانت و ضدآماسی را در کاهش عوارض ناشی از فنیل‌هیدرازین مورد تأیید قرار داده است (۱، ۳۴، ۳۵). به‌نظر می‌رسد ژل رویال به‌سبب دارا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانت قابل‌توجه، به‌واسطه تقویت فعالیت دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانت بافتی و مهار پراکسیداسیون چربی‌ها (۱۳، ۱۴) و نیز سرکوب واکنش‌های آماسی (۳۶)، می‌تواند در بهبود نسبی عوارض بافتی ناشی از کاهش جریان خون در روده، واجد کارآیی باشد. مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند ژل رویال موجب افزایش تعداد و قطر گلبول‌های قرمز (۳۷)، همچنین بهبود کم‌خونی ناشی از آزاتیوپرین در موش‌های صحرایی می‌شود (۳۸). در همین راستا و در تأیید یافته‌های مطالعه حاضر، بررسی‌های اخیر نیز بر نقش کاهش خون‌رسانی در کاهش طول پرز و عمق کریپت‌های روده و از بین رفتن پوشش موسینی پرزهای روده (۳۹) و اثرات محافظتی ژل رویال در برابر آسیب‌های بافتی روده صحه می‌گذارند (۱۶).

### نتیجه‌گیری

در مجموع با توجه به نتایج مطالعه حاضر، می‌توان گفت کم‌خونی همولیتیک ناشی از فنیل‌هیدرازین، موجبات آسیب‌های بافتی روده کوچک را فراهم می‌آورد. همچنین ژل رویال به سبب دارا بودن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانت و ضدالتهابی، قادر به بهبود اثرات نامطلوب بافتی کم‌خونی همولیتیک در روده کوچک موش است. با این وجود، آشکار شدن کارآیی درمانی ژل رویال در موارد بالینی کم‌خونی، نیازمند مطالعات گسترده‌تری می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه ارومیه به سبب تأمین مالی این مطالعه (پایان نامه کارشناسی ارشد، شماره ۱۱۷-۲۲) اعلام می‌دارند.

## References:

1. 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(3):448-55.
2. Toth B. Toxicities of hydrazines: A review. *In Vivo* 1988;2(3-4): 09-42.
3. Nässberger L, Johansson AC, Björck S, Sjöholm AG. Antibodies to neutrophil granulocyte myeloperoxidase and elastase: Autoimmune responses in glomerulonephritis due to hydralazine treatment. *J Intern Med* 1991;229(3):261-65.
4. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002;110(7):1037-44.
5. Chakrabarti S, Sonaye B, Naik AA, Nadkarni PP. Erythrocyte membrane protein damage by oxidation products of phenylhydrazine. *Biochem Mol Biol Int* 1995;35(2):255-63.
6. Itano HA, Hirota K, Hosokawa K. Mechanism of induction of haemolytic anaemia by phenylhydrazine. *Nature* 1975;256:665-7.
7. 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.
8. Hershko CM, Link GM, Konijn AM, Cabantchik ZI. Iron chelation therapy. *Curr Hematol Rep* 2005;4:110-6.
9. Berger J. Phenylhydrazine haematotoxicity. *J Appl Biomed* 2007;5:125-30.
10. Deitch EA. Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg* 1992;216(2):117-34.
11. Hsieh YH, McCartney K, Moore TA, Thundyil J, Gelderblom M, Manzanero S, et al. Intestinal ischemia-reperfusion injury leads to inflammatory changes in the brain. *Shock* 2011;36(4):424-30.
12. Cho SS, Rudloff I, Berger PJ, Irwin MG, Nold MF, Cheng W, et al. Remifentanyl ameliorates intestinal ischemia-reperfusion injury. *BMC Gastroenterol* 2013;13:69.
13. 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.
14. 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.
15. Shalazar 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.
16. Kaynar L, Cetin A, Hacioglu SK, Eser B, Koçyigit İ, Canöz Ö, et al. Efficacy of royal jelly on methotrexate-induced systemic oxidative stress and damage to small intestine in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2012;9(3):412-7.
17. Vannucchi AM, Paoletti F, Linari S, Cellai C, Caporale R, Ferrini PR, et al. Identification and characterization of a bipotent (erythroid and megakaryocytic) cell precursor from the spleen of phenylhydrazine-treated mice. *Blood* 2000;95(8):2559-68.
18. 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.
19. Vaidya YP, Tarnekar AM, Shende MR, Hulke SM, John SP. Histomorphometric demonstration of the effect of chronic use of NSAID-ibuprofen on mucosa of small intestine of swiss albino mice. *Int J Exp Pharmacol* 2014;4:65-9.



20. Marta Roque M, D'Anna C, Gatti C, Veuthey T. Hematological and morphological analysis of the erythropoietic regenerative response in phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in mice. *Scand J Lab Anim Sci* 2008;35(3):181-90.
21. Mcmillan DC, Jensen CB, Jollow DJ. Role of lipid peroxidation in dapsone-induced hemolytic anemia. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;287(3):868-76.
22. Lesnfsky EJ. Tissue iron overload and mechanisms of iron-catalyzed oxidative injury. *Adv Exp Med Biol* 1994;366:129-46.
23. Raja KB, Simpson RJ, Peters TJ. Effect of exchange transfusion of reticulocytes on in vitro and in vivo intestinal iron (Fe<sup>3+</sup>) absorption in mice. *Br J Haematol* 1989;73(2):254-9.
24. Deitch EA, Bridges W, Berg R, Specian RD, Granger DN. Hemorrhagic shock-induced bacterial translocation: The role of neutrophils and hydroxyl radicals. *J Trauma* 1990;30(8):942-51.
25. Xu DZ, Lu Q, Kubicka R, Deitch EA. The effect of hypoxia/reoxygenation on the cellular function of intestinal epithelial cells. *J Trauma* 1999;46(2):280-5.
26. Baker RD, Baker SS, LaRosa K. Polarized Caco-2 cells. Effect of reactive oxygen metabolites on enterocyte barrier function. *Dig Dis Sci* 1995;40(3):510-8.
27. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988;255(6 Pt 2):H1269-75.
28. Naughton BA, Dornfest BS, Bush ME, Carlson CA, Lapin DM. Immune activation is associated with phenylhydrazine-induced anemia in the rat. *J Lab Clin Med* 1990;116(4):498-507.
29. Higa OH, Parra ER, Ab'Saber AM, Farhat C, Higa R, Capelozzi VL. Protective effects of ascorbic acid pretreatment in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion injury: A histomorphometric study. *Clinics* 2007;62(3):315-20.
30. Coura Oliveira T, Gouveia Pelúzio Mdo C, da Matta SL, da Silveira Mezêncio JM, Bressan J. Morphometric analysis of small intestine of BALB/c mice in models developed for food allergy study. *Nutr Hosp* 2013;28(3):839-48.
31. Nilsson UA, Schoenberg MH, Aneman A, Poch B, Magadum S, Beger HG, et al. Free radicals and pathogenesis during ischemia and reperfusion of the cat small intestine. *Gastroenterology* 1994;106(3):629-36.
32. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci* 2004;49(9):1359-77.
33. Tachecí I, Kopáková M, Rejchrt S, Bures J. Non-steroidal anti-inflammatory drug induced injury to the small intestine. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2010;53(1):3-11.
34. Ashour TH. Hematinic and anti-anemic effect of thymoquinone against phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in rats. *Res J Med Sci* 2014;8(2):67-72.
35. Paul S, Ghosh AK, Ghosh D, Dutta M, Mitra E, Dey M, et al. Aqueous bark extract of *Terminalia arjuna* protects against phenylhydrazine induced oxidative damage in goat red blood cell membrane protein, phospholipid asymmetry and structural morphology: A flow cytometric and biochemical analysis. *J Pharm Res* 2014;8(12):1790-804.
36. Kohno K, Okamoto I, Sano O, Arai N, Iwaki K, Ikeda M, et al. Royal jelly inhibits the production of pro-inflammatory cytokines by activated macrophages. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004;68(1):138-45.
37. Şimşek N, Karadeniz A, Bayraktaroğlu AG. Effects of Lcarnitine, royal jelly and pomegranate seed on peripheral blood cells in rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2009;15(1):63-9.
38. Ahmed WM, Khalaf AA, Moselhy WA, Safwat GM. Royal jelly attenuates azathioprine induced toxicity in rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 2014;37(1):431-7.
39. Kheirandish R, Azari O, Samadieh H, Rasa Z. Protective effect of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) seed extract on experimental intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Iran J Vet Surg* 2011;6(1-2):37-46.

## ***Protective Effect of Royal Jelly against Phenylhydrazine-induced Histological Injuries of Small Intestine of Mice: Morphometric Analyses***

***Hojat Anbara<sup>1</sup>, Ali Shalizar Jalali<sup>1\*</sup>, Rasoul Shahrooz<sup>1</sup>, Mazdak Razi<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>Department Basic Sciences,  
Faculty of Veterinary  
Medicine, Urmia University,  
Urmia, Iran.

**\*Corresponding Author:**  
**Ali Shalizar Jalali,**  
Department Basic Sciences,  
Faculty of Veterinary  
Medicine, Urmia University,  
Urmia, Iran.

Email:  
ali\_shalizar@yahoo.com

Received: 29 Apr, 2015

Accepted: 21 Jun, 2015

### **Abstract**

**Background and Objectives:** Phenylhydrazine (PHZ), as a known hemolytic agent, causes toxicity in different tissues at various levels. The aim of the current study was to examine the possible protective effects of royal jelly (RJ) against PHZ-induced histological injuries of small intestine in mice.

**Methods:** In this experimental study, adult male mice were randomly divided into four groups of 8 mice each. PHZ was administered intraperitoneally to two groups of mice (at a dose of 60mg/kg) every 48 hours for 35 days. One of the groups received RJ (100mg/kg) orally 4 hours before PHZ administration. The third group only received RJ, and the forth group was considered as control. Twenty-four hours after the last treatment, different segments of small intestine were dissected out, then histological sections were prepared and quantitative morphometric assessments were performed. To compare the groups, one-way ANOVA and multiple comparative Tukey tests were used. The significance level was considered to be  $p < 0.05$ .

**Results:** In this study, PHZ caused significant decreases in depth of duodenal crypts, distribution rate of the goblet cells in ileal villi, width of duodenal and jejunal villi, and height of villi in all three segments of small intestine. Co-administration of RJ partially improved the changes in the above parameters.

**Conclusion:** From results of this study, it seems that RJ as a free radical scavenger could reduce PHZ-induced intestinal toxicity in mouse.

**Keywords:** Royal Jelly; Phenylhydrazine; Intestine, Small; Mice.