Protective Effects of Royal Jelly on the Reproductive System of Male Mice Treated with Daunorubicin

Mansour Safaei Pourzamani[1], Shahrbanoo Oryan[2], Cyrus Jalili[3], Parichehr Yaghmaei[4], Ali Ghanbari[5]

1. PhD student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3477-3856.
2. Professor, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-1930-2343.
3. Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. ORCID ID: 0000-0002-5097-7974.
4. Assistant Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0001-5899-6777.
5. Associate professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. Tel: 083-34274620, Email: aligharak@yahoo.com. ORCID ID: 0000-0002-8080-2809.

ABSTRACT

Background and Aim: Daunorubicin is an effective antibiotic for the chemotherapy of various cancers. To prevent damage to healthy cells during chemotherapy, it is recommended to change this treatment or protect healthy cells from chemotherapeutic agents by protective compounds. The present study aimed to check the protective effect of royal jelly on male reproductive system against the side effects induced by daunorubicin injection in mice.

Materials and Methods: In this study, 77 adult BALB/c mice were randomly divided into seven groups including sham, control, royal jelly 1, royal jelly 2, daunorubicin, royal jelly 1+daunorubicin, and royal jelly 2+daunorubicin. Mice received saline (0.09%), and daunorubicin (2 mg/kg) intraperitoneally, and royal jelly (50 and 100 mg/kg) orally for 8weeks. The sperm parameters, testis weight, and oxidative stress parameters were evaluated. Using SPSS software (version 16), data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey test. $P<0.05$ was considered significant.

Results: Daunorubicin caused a significant improvement in sperm parameters, testicular weight, total antioxidant capacity ($p<0.01$), and a significant decrease in malondialdehyde levels ($p<0.05$), while in the treatment group these changes were compensated by royal jelly.

Conclusion: The results of this study showed that daunorubicin caused decrease in sperm parameters and increased oxidative stress, while royal jelly, as a rich source of antioxidants, moderated these changes.

Keywords: Royal Jelly, Daunorubicin, Antioxidants, Oxidative stress, Toxicity

Received: Sep 18, 2020 **Accepted:** April 4, 2021

How to cite the article: Mansour Safaei Pourzamani, Shahrbanoo Oryan, Cyrus Jalili, Parichehr Yaghmaei, Ali Ghanbari. Protective Effects of Royal Jelly on the Reproductive System of Male Mice Treated with Daunorubicin. SJKU 2022;27(1):28-38.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و هفت / فروردین و اردیبهشت ۱۴۰۱/۳۸-۲۸

اثرات حفاظتی ژل رویال بر سیستم تولید مثلی موش نر تیمار شده با دانوروبیسین

منصور صفایی پور زمانی[۱]، شهربانو عریان[۲]، سیروس جلیلی[۳]، پریچهر یغمایی[۴]، علی قنبری[۵]

۱. دانشجوی دکترا، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. کد ارکید: ۳۸۵۶-۳۴۷۷-۰۰۰۳-۰۰۰۰.

۲. استاد، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران. کد ارکید:۲۳۴۳-۱۹۳۰-۰۰۰۳-۰۰۰۰.

۳. استاد، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۷۹۷۴-۵۰۹۷-۰۰۰۲-۰۰۰۰.

۴. استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. کد ارکید: ۶۷۷۷-۵۸۹۹-۰۰۰۱-۰۰۰۰.

۵. علی قنبری: دانشیار، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۲۸۰۹-۸۰۸۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰.

چکیده

زمینه و هدف: دانوروبیسین یک آنتی‌بیوتیک مؤثر در شیمی‌درمانی سرطان‌های مختلف است. برای جلوگیری از آسیب سلول‌های سالم طی شیمی‌درمانی، تغییر این شیوه درمانی و یا محافظت از سلول‌های سالم در برابر عوامل شیمی‌درمانی توسط ترکیبات محافظت‌کننده توصیه می‌شود. بنابراین، هدف مطالعه حاضر ارزیابی اثر ژل رویال بر عوارض جانبی سیستم تولیدمثلی نر ناشی از تزریق دانوروبیسین در موش بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۷۷ موش بالغ نژاد BALB/c به‌طور تصادفی به هفت گروه شامل شم، کنترل، ژل رویال ۱، ژل رویال ۲، دانوروبیسین، ژل رویال ۱ + دانوروبیسین و ژل رویال ۲ + دانوروبیسین تقسیم شدند. موش‌ها به مدت ۸ هفته سالین (۰/۰۹٪) و دانوروبیسین (۲ میلی‌گرم/کیلوگرم) بصورت داخل صفاقی و ژل رویال (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌شکل خوراکی دریافت نمودند. پارامترهای اسپرم، وزن بیضه و پارامترهای استرس اکسیداتیو ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی با نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) انجام شد. $p < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: دانوروبیسین سبب افزایش معنی‌دار پارامترهای اسپرم، وزن بیضه، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل ($p<۰/۰۱$) و نیز کاهش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید ($p<۰/۰۵$) شد، درحالی‌که در گروه درمان این تغییرات به خاطر ژل رویال جبران شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که دانوروبیسین باعث کاهش پارامترهای اسپرم و افزایش استرس اکسیداتیو شد درحالی‌که ژل رویال به‌عنوان منبع سرشاری از آنتی‌اکسیدانت این تغییرات را تعدیل نمود.

کلمات کلیدی: ژل رویال، دانوروبیسین، آنتی‌اکسیدان‌ها، استرس اکسیداتیو، سمیت

وصول مقاله:۹۹/۶/۷ اصلاحیه نهایی:۱۴۰۰/۱۰/۲۰ پذیرش:۱۴۰۰/۲/۷

مقدمه

دانوروبیسین یکی از داروهای ضدسرطان از گروه آنتراسایکلین است که به‌طور گسترده در درمان لوسمی حاد میلوسیتی و لوسمی حاد لنفوسیتی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱). این دارو، سرکوب‌گر تقسیم سلولی در سلول‌های سرطانی است. خاصیت ضد سرطانی دانوروبیسین بواسطه تشکیل کمپلکس‌هایی با DNA، مهار فعالیت‌های DNA پلیمراز و توپوایزومراز I و II، می‌باشد. متعاقباً این روند بر تنظیم بیان ژن، تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر، رادیکال‌های آزاد آسیب‌رسان به DNA و نیز القای مرگ سلولی تأثیر می‌گذارد(۲). با این حال، استفاده بالینی از دانوروبیسین بدلیل عوارض جانبی جدی آن، از جمله آسیب به بافت قلب، اختلال در گلبول‌سازی و بروز زخم‌های دهانی محدود شده است(۳).

امروزه بدلیل مشکلات مرتبط با استفاده از داروهای شیمیایی، دستیابی به حداکثر اثرات ضد سرطانی و در عین حال به حداقل رساندن عوارض جانبی نامطلوب ناشی از دوزهای بالای شیمی درمانی یک رویکرد جهانی در پزشکی تلقی می‌شود(۴). گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی، بواسطه خاصیت کاهندگی عوارض داروهای ضدسرطان و سایر عوامل خطرزای محیطی از یک سو و اینکه بسیاری از این ترکیبات به نوبه خود خاصیت ضد سرطانی دارند، امروزه مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند(۵)، بطوریکه از این ترکیبات طبیعی به‌عنوان داروی کمکی برای داروهای ضد سرطان، در تحقیقات و کارآزمایی بالینی مورد استفاده گسترده قرار گرفته و مستندات فراوانی در این زمینه موجود است(۶).

ژل رویال یکی از فرآورده‌های زنبور عسل می‌باشد که دارای اثرات ضد سرطان، ضد التهاب و فشار خون بالا، کاهش قند خون و آنتی‌اکسیدان است(۷). بسته به فعالیت رادیکال‌های آزاد، این ترکیب می‌تواند از طریق حذف اکسیدان‌ها، پراکسیداسیون لیپید را خنثی کند. این ویژگی‌ها اهمیت ژل رویال را در کاهش معیارهای ژنتیکی، بیوشیمیایی و بافت‌شناسی و نیز سمیت استرس اکسیداتیو در سیستم تولیدمثل، کلیه و کبد آشکار می‌سازد(۸). گزارش شده است که ژل رویال در تقویت باروری و افزایش توانایی تولیدمثل مدل‌های حیوانی مؤثر بوده است(۹-۱۲). نتایج مطالعات دیگر ارتباط بین ژل رویال و کیفیت بالای اسپرم، افزایش تحرک و غلظت اسپرم(۱۳) و نیز خاصیت حفاظتی در برابر آسیب اسپرم را نشان دادند(۱۴). علاوه بر این، مطالعات قبلی اثر محافظتی ژل رویال را در مقابل اثرات سمی داروهایی نظیر سیکلوفسفامید و سیس‌پلاتین گزارش نموده‌اند(۱۵, ۱۶). بر این اساس، به‌نظر می‌رسد که ترکیبات طبیعی مانند ژل رویال با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی می‌توانند در جلوگیری از عوارض جانبی ناشی از دانوروبیسین مفید باشند.

در بررسی های مختلف هیچ گزارشی در مورد بررسی اثر ژل رویال بر روی سیستم تولیدمثل موش نر تیمار شده با دانوروبیسین یافت نشد. از آنجا که داروی دانوروبیسن می‌تواند بر سیستم تولید مثل مذکر اثرات سوء داشته باشد و از طرفی ژل رویال ممکن است این تاثیرات مضر را مرتفع کند، لذا در مطالعه حاضر اثرات دانوروبیسین و ژل رویال بر سیستم تولید مثل مذکر مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور پارامترهای اسپرم، وزن بیضه، سطح مالون¬دی¬آلدئید بافت بیضه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام این بافت در موش کوچک آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

تعداد ۷۷ موش بالغ نژاد BALB/c با میانگین وزنی ۳۰-۲۸ گرم، به مدت یک هفته قبل از آزمایش در قفس‌های استاندارد تحت شرایط دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و دوره نور-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات طی این مدت آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. در تمامی

مراحل آزمایش، اصول اخلاقی کار با حیوانات بر اساس منشور اخلاقی دانشگاه با کد IR.KUMS.REC.1398.695 که مربوط به این تحقیق است رعایت شد. همه موش‌ها به‌طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شده و ۱۱ موش در هر گروه قرار گرفت.

گروه اول (گروه شم) (عدم دریافت دارو)، ۲- گروه کنترل (دریافت‌کننده سالین)، ۳ و ۴- گروه‌های ژل رویال (دریافت‌کننده ژل رویال با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، ۵- گروه دانوروبیسین (دریافت‌کننده دانوروبیسین با دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم)، ۶ و ۷- گروه‌های ژل رویال + دانوروبیسین (دریافت‌کننده همزمان ژل رویال با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم و دانوروبیسین با دوز ۲ میلی گرم/کیلوگرم). ژل رویال از شرکت سیگما (Sigma) خریداری شد و بمدت ۸ هفته با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌صورت خوراکی مورد استفاده قرار گرفت(۱۷). دانوروبیسین از شرکت سیگما تهیه و با دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم استفاده شد(۱۸). موش‌ها بمدت ۸ هفته سالین و دانوروبیسین را به‌صورت داخل وریدی دریافت نمودند. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، حیوانات بوسیله اتر بی‌هوش شدند. سپس بافت بیضه و اپیدیدیم آنها برداشته شد. اسپرم‌ها از اپیدیدیم استحصال شدند. علاوه بر این، بافت بیضه جهت توزین، بررسی‌های بافت‌شناسی، سنجش سطوح بافتی مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام خارج شده و در محلول فرمالین ۱۰ درصد ثابت شد. پس از مراحل آب‌گیری و قالب‌گیری از هر گروه مورد آزمایش، ۱۰ لام با برش‌های سریالی ۵ تا ۷ میکرومتری تهیه شده و توسط هماتوکسیلین- ائوزین، رنگ‌آمیزی شد.

برای بررسی پارامترهای مختلف اسپرم، بافت اپیدیدیم (ناحیه دم) جدا و در ظرف کشت سلول حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط DMEM/F12 حاوی ۱۰٪ FBS قرار گرفت. ظروف پتری سپس در CO2 ۵٪ در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بمدت ۲۰ دقیقه انکوبه شدند. برای شمارش اسپرم، نسبت مساوی محیط حاوی اسپرم و فرمالین (۱۰٪) تهیه شد و با قرار دادن بر روی اسلایدهای نئوبار، اسپرم‌ها شمارش شدند(۱۹). تحرک اسپرم توسط میکروسکوپ نوری در ۱۰ زمینه به طور تصادفی انتخاب شده برای هر نمونه بررسی شد. برای ارزیابی میزان زنده‌مانی و مورفولوژی اسپرم، از رنگ‌آمیزی ائوزین استفاده شد. برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر محیط حاوی اسپرم با رنگ ائوزین (۱٪) مخلوط شد و با تهیه اسمیر از یک قطره این مخلوط روی یک اسلاید تمیز، ۱۰۰ اسپرم در هر نمونه به صورت تصادفی توسط میکروسکوپ نوری بررسی شد(۲۰).

برای سنجش سطح مالون‌دی‌آلدئید بافت بیضه از کیت تجاری مالون‌دی‌آلدئید (ZellBio کشور آلمان) استفاده شد. بدین منظور ابتدا هموژنیزه شدن بافت بیضه به وسیله محلول ۱/۱۵٪ پتاسیم کلرید انجام شده و متعاقب آن نمونه‌ها بطور جداگانه بمدت ۱۰ دقیقه در دور g ۱۵۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس نمونه‌های هموژنیزه شده به ترکیب واکنشی که شامل سدیم دودسیل سولفات (Sodiumdodecyl sulfate, SDS) و اسید سیتریک و آب مقطر اضافه شده و پس از جوشاندن ترکیب بمدت یک ساعت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و سانتریفیوژ کردن آن در دور g۳۰۰۰ بمدت ۱۰ دقیقه، قدرت جذب سوپراناتانت (محلول روئی) به وسیله دستگاه طیف‌نگار (Jenway کشور چین) در طول موج nm۵۵۰ سنجیده شد.

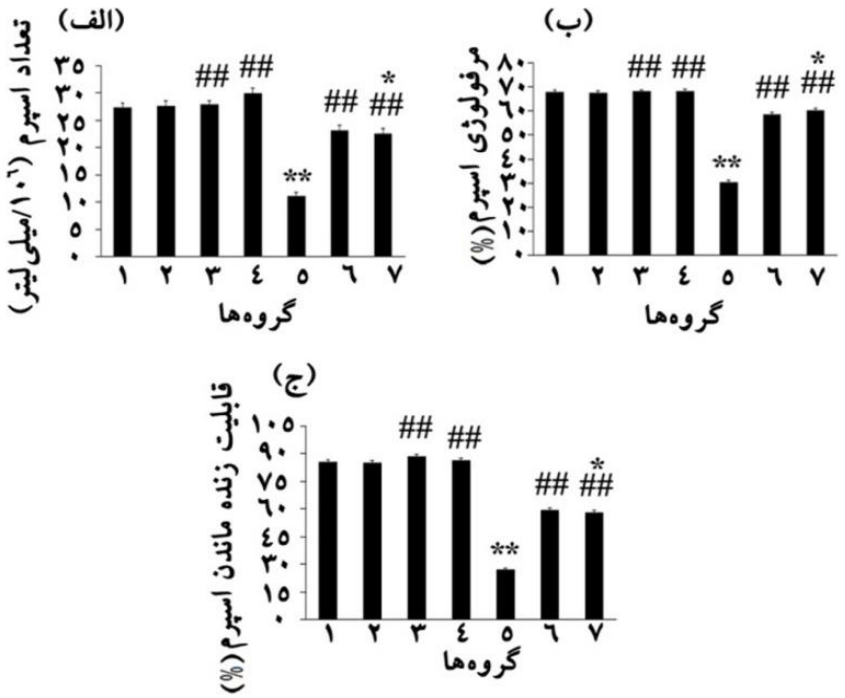
سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام بافت بیضه با استفاده از کیت (ZellBio کشور آلمان) انجام شد. این کیت حاوی یک معرف آماده مصرف، بافر X۱۰۰، پودر رنگ‌زا، محلول متوقف‌کننده واکنش، استاندارد و یک میکروپلیت ۹۶ چاهکی بود. در این سنجش، مقدار ظرفیت آنتی-اکسیدانی تام از مقایسه مقدار آنتی‌اکسیدان موجود در نمونه (۱ گرم از بافت‌های هموژنیزه شده) با اسیدآسکوربیک بعنوان استاندارد محاسبه گردید. حساسیت کیت برابر mM

۰/۱ بود و توسط دستگاه الایزا در جذب ۴۹۰ نانومتر، مقدار آنتی‌اکسیدان تام خوانده شد.

آنالیز داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS16 انجام شد. داده‌های کمی با روش آماری ANOVA یک‌طرفه و تست Tukey مقایسه شدند. همچنین اعداد در بخش نتایج بصورت Mean± SEM ارائه و P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

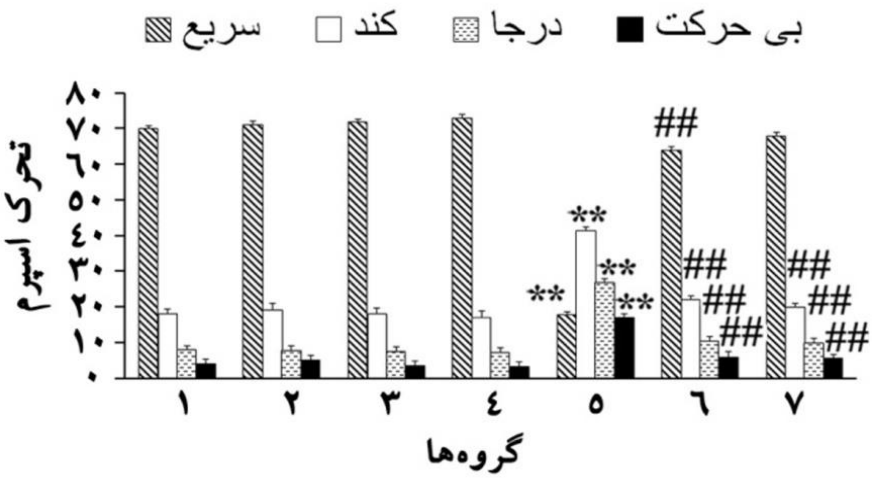
یافته‌ها

در پژوهش حاضر، پارامترهای سیمن از نظر تعداد اسپرم و نیز انواع حرکت‌های اسپرم (سریع، آهسته، درجا، بدون تحرک) و مورفولوژی اسپرم بررسی شدند. از نظر شمارش اسپرم، تعداد اسپرم‌ها در ۵ میدان مختلف میکروسکوپ نوری در هر موش مورد مطالعه قرار گرفتند. در این مطالعه، کاهش معنی‌دار پارامترهای اسپرم شامل تعداد و مورفولوژی اسپرم در موش‌های دریافت‌کننده دانوروبیسین نسبت به گروه‌های شم و کنترل نشان داده شد (p<۰/۰۱)، در حالیکه در گروه درمان (تجویز همزمان دانوروبیسین و ژل رویال) این کاهش جبران شده و تعداد و مورفولوژی اسپرم‌ها به‌طور معنی‌داری فزایش یافت (p<۰/۰۱) (نمودار ۱- الف و ب). کاهش معنی‌دار قابلیت زنده‌ماندن اسپرم و نیز تحرک اسپرم در گروه دریافت‌کننده دانوروبیسین در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل مشاهده شد که در گروه درمان (تجویز همزمان دانوروبیسین و ژل رویال) افزایش قابلیت زنده‌ماندن اسپرم و تحرک اسپرم دیده شد (p<۰/۰۱) (نمودار ۱- ج و نمودار ۲).



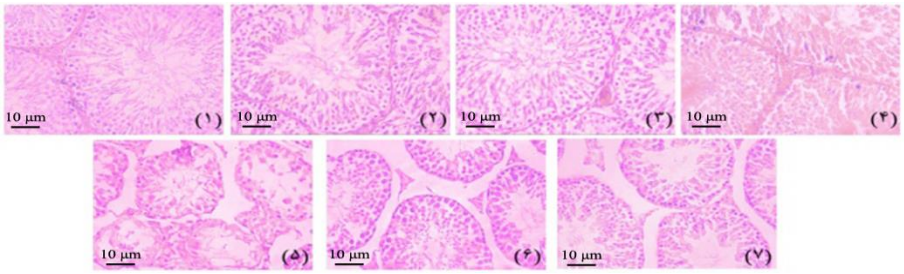
نمودار ۱. اثرات تجویز ژل رویال و دانوروبیسین بر پارامترهای اسپرم در گروه‌های آزمایشی. در هر گروه، هر ستون نمودار نشان دهنده مقادیر میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. مقدار p<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است. *، **به‌ترتیب نشان‌دهنده میزان p<۰/۰۵ و p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه‌های شم، کنترل، ژل رویال ۱و ۲، ## نشان‌دهنده میزان p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه دانوروبیسین می‌باشد. (۱) گروه شم، (۲) گروه

کنترل، (۳) گروه ژل رویال ۱، (۴) گروه ژل رویال ۲، (۵) گروه دانوروبیسین، (۶) گروه ژل رویال ۱ + دانوروبیسین، (۷) گروه ژل رویال ۲ + دانوروبیسین. ژل رویال ۱ و ۲: دریافت‌کننده ژل رویال با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم.



نمودار ۲. اثرات تجویز ژل رویال و دانوروبیسین بر تحرک اسپرم در گروه‌های آزمایشی. در هر گروه، هر ستون نمودار نشان دهنده مقادیر میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. مقدار $p<۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است. ** نشان‌دهنده میزان $p<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه‌های شم، کنترل، ژل رویال ۱و ۲، ## نشان‌دهنده میزان $p<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه دانوروبیسین می‌باشد. (۱) گروه شم، (۲) گروه کنترل، (۳) گروه ژل رویال ۱، (۴) گروه ژل رویال ۲، (۵) گروه دانوروبیسین، (۶) گروه ژل رویال ۱ + دانوروبیسین، (۷) گروه ژل رویال ۲ + دانوروبیسین. ژل رویال ۱ و ۲: دریافت‌کننده ژل رویال با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم.

تجویز دانوروبیسین منجر به کاهش معنی‌دار وزن بیضه در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل شد ($P<۰/۰۱$) (جدول ۱). همچنین کاهش معنی‌دار وزن بیضه در گروه ژل رویال ۲ + دانوروبیسین نسبت به گروه‌های شم و کنترل دیده شد ($P<۰/۰۵$). درگروه‌های دریافت‌کننده ژل رویال به‌تنهایی و نیز گروه‌های دریافت‌کننده همزمان ژل رویال و دانوروبیسین وزن بیضه افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دانوروبیسین نشان داد ($P<۰/۰۱$) (جدول ۱). مقاطع بافت بیضه در گروه های هفت گانه با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ در رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین حاکی از آسیب بافت بیضه پس از تجویز دانوروبیسین بود، بطوریکه لوله‌های سمینفروس دچار چروکیدگی شده بودند و تعداد اسپرم در داخل لومن آنها کاهش نشان داد. در حالی‌که در گروه‌های درمان (تجویز همزمان دانوروبیسین و ژل رویال) این تغییرات بافتی بهبود یافت (شکل ۱).



شکل ۱: اثرات تجویز ژل رویال و دانوروبیسین بر بافت بیضه در گروه‌های آزمایشی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر). (۱) گروه شم، (۲) گروه کنترل، (۳) گروه ژل رویال ۱، (۴) گروه ژل رویال ۲، (۵) گروه دانوروبیسین، (۶) گروه ژل رویال ۱ + دانوروبیسین، (۷) گروه ژل رویال ۲ + دانوروبیسین. ژل رویال ۱ و ۲: دریافت‌کننده ژل رویال با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم. نوار مقیاس بیانگر ۱۰ میکرومتر است.

بررسی تأثیر ژل رویال بر روی میزان پراکسیداسیون لیپیدی (malondialdehyde, MDA) بافت بیضه موش‌ها نشان داد که در گروه دریافت کننده دانوروبیسین و نیز گروه‌های درمان (تجویز همزمان دانوروبیسین و ژل رویال)، افزایش معنی‌داری در سطح بافتی MDA در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). نسبت به گروه دانوروبیسین، سطح بافتی MDA در گروه‌های ژل رویال ۱ و ۲ و نیز گروه‌های درمان (تجویز همزمان دانوروبیسین و ژل رویال) کاهش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۱$) (جدول ۱).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام بافت بیضه در گروه دانوروبیسین ($P<۰/۰۱$) و نیز گروه‌های درمان (تجویز همزمان دانوروبیسین و ژل رویال) در مقایسه با گروه‌های شم کنترل کاهش قابل توجهی داشت. نتایج این پژوهش حاکی از افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام گروه‌های ژل رویال ۱ و ۲ و نیز گروه‌های درمان (تجویز همزمان دانوروبیسین و ژل رویال) در مقایسه با گروه دانوروبیسین بود ($P<۰/۰۱$) (جدول ۱).

جدول ۱. ارزیابی وزن بیضه و شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت بیضه در گروه های آزمایشی. در هر گروه داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است. مقدار $p<۰/۰۵$ ۰ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است. *,**به‌ترتیب نشان‌دهنده میزان $p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه‌های شم، کنترل، ژل رویال ۱و ۲، $^{\#\#}$نشان‌دهنده میزان $p<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه دانوروبیسین می‌باشد. (۱) گروه شم، (۲) گروه کنترل، (۳) گروه ژل رویال ۱، (۴) گروه ژل رویال ۲، (۵) گروه دانوروبیسین، (۶) گروه ژل رویال ۱ + دانوروبیسین، (۷) گروه ژل رویال ۲ + دانوروبیسین. ژل رویال ۱ و ۲: دریافت‌کننده ژل رویال با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم.

گروه	پارامتر		
	وزن بیضه (گرم)	سطح مالون‌دی‌آلدئید (میلی‌مول/میلی‌لیتر)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (میلی‌مول/میلی‌لیتر)
۱	۱/۲۰ ± ۰/۰۶	۴/۶۹ ± ۰/۰۷	۰/۹۴ ± ۰/۰۵
۲	۱/۱۶ ± ۰/۰۳	۴/۷۴ ± ۰/۰۸	۰/۹۳ ± ۰/۰۷
۳	۱/۲۴ ± ۰/$^{\#\#}$۰۲	۴/۶۵ ± ۰/$^{\#\#}$۰۹	۰/۹۲ ± ۰/$^{\#\#}$۰۶
۴	۱/۲۲ ± ۰/$^{\#\#}$۰۵	۴/۵۴ ± ۰/$^{\#\#}$۱۰	۱/۰۵ ± ۰/$^{\#\#}$۰۸
۵	۰/۵۹ ± ۰/۰۳**	۲۰ ± ۱/۲**	۰/۴۷ ± ۰/۰۳**
۶	۰/۹۸ ± ۰/$^{\#\#}$۰۲	۶/۲۰ ± ۰/۰۹$^{*\#\#}$	۰/۷۹ ± ۰/۰۵$^{*\#\#}$
۷	۰/۹۶ ± ۰/۰۴$^{*\#\#}$	۶/۴۳ ± ۰/۰۷$^{*\#\#}$	۰/۷۳ ± ۰/۰۶$^{*\#\#}$

بحث

مطالعات نشان داده‌اند که تجویز دانوروبیسین به‌عنوان یکی از داروهای ضدسرطان، با عوارض جانبی جدی همراه بوده است. در مطالعه حاضر سعی شده است که اثر محافظتی ژل رویال بر عوارض جانبی داروی دانوروبیسین در سیستم تناسلی مردانه مورد بررسی قرار گیرد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که دانوروبیسین سبب ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت بیضه شد که تشخیص این آسیب توسط افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید، کاهش ظرفیت آنتی-اکسیدانی تام بافت بیضه، کاهش وزن بیضه، کاهش تحرک و قابلیت زنده ماندن اسپرم و نیز افزایش اسپرم‌های غیرطبیعی تأیید گردید. در حالیکه تجویز ژل رویال با اصلاح کردن فاکتوهای تغییر یافته، سبب کاهش اثرات مخرب دانوروبیسین شد.

در این مطالعه نشان دادیم که دانوروبیسین باعث کاهش قابل توجه تعداد اسپرم‌ها، حرکت اسپرم، زنده ماندن اسپرم و نیز مورفولوژی اسپرم‌ها شدکه این امر می‌تواند به علت اختلال در اسپرماتوژنز باشد و از آنجا که دوره تیمار ۸ هفته بوده(۱۸) که یک سیکل اسپرماتوژنز موش را در بر می‌گیرد، بنابراین می‌توان گفت که دانوروبیسین به واسطه مهار آنزیم‌های توپوایزومرازی، اسپرماتوژنز را مختل نموده است. از آنجا که مشابه یا مخالف این نتیجه در بررسی سایت‌های علمی یافت نشد، می‌توان اظهار داشت که برای اولین بار، تأثیر داروی دانوروبیسین بر روند اسپرماتوژنز در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است. افزون بر این، کاهش وزن بیضه در موش‌های تیمار شده با دانوروبیسین در این پژوهش را می‌توان با آتروفی پارانشیم بافت بیضه توضیح داد. اختلال در اسپرماتوژنز و نیز تحلیل بافت بیضه پس از تجویز دانوروبیسین در پژوهش حاضر، شواهدی بر سمیت این دارو بر روی سیستم تولیدمثلی نر هستند. همسو با نتایج ما، اثرات تخریبی دوکسوروبیسین بر بافت بیضه و پارامترهای اسپرم رت نیز گزارش شده است(۲۱). البته تخریب بافت بیضه به مدت زمان و دوز داروی دوکسوروبیسین بستگی دارد و این آسیب می تواند برگشت پذیر باشد(۲۲). نتایج مطالعه دیگر حاکی از اثرات مخرب بلئومایسین (یک آنتی‌بیوتیک کموتراپیک) بر اسپرم است(۲۳). مطالعات متعدد نیز آثار سوء شیمی درمانی و رادیودرمانی را بر روند اسپرماتوژنز انسان نشان می‌دهند(۲۴, ۲۵) که بیانگر سمیت این روش‌ها بر سیستم تولید مثل مذکر است. در این پژوهش مشخص شد که دانوروبیسین سبب افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید بافت بیضه موش‌ها شد که این امر بیانگر پراکسیداسیون لیپیدی بافت بیضه است و دلیلی دیگر برای آسیب بافت بیضه در اثر تجویز دانوروبیسین می‌باشد. بر این اساس، دانوروبیسین سبب تولید رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن القای استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی و درنهایت نقص در پارانشیم بافت بیضه شده است. به‌نظر می‌رسد که تجویز دانوروبیسین سبب تولید رادیکال‌های فعالی شده است که در طی واکنش‌های آبشاری می‌توانند با بیومولکول‌های سلول و غشای سلول پیوند برقرار کرده و غشای سلول را از بین ببرند. تخریب غشای سلول می‌تواند سبب ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش میزان مالون‌دی-آلدئید بافت بیضه موش‌ها شود. پراکسیداسیون لیپیدی گواهی بر عدم تعادل بین میزان رادیکال آزاد و آنتی‌اکسیدان‌های بدن است. علاوه بر این، کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام بافت بیضه پس ازتجویز دانوروبیسین نیز گواه دیگری برای القای استرس اکسیداتیو در اثر تجویز دانوروبیسین بود. از طرف دیگر، در پژوهش حاضر کاهش وزن بیضه، کاهش تحرک و قابلیت زنده ماندن اسپرم و نیز افزایش اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه دانوروبیسین را می‌توان از عواقب ناشی از القای استرس اکسیداتیو توسط این دارو دانست. همسو با نتایج این پژوهش گزارش شده است که تجویز سیس‌پلاتین باعث افزایش سطح مالون‌دی-آلدئید در بافت بیضه و کاهش قدرت باروری در

موش‌های تیمار شده با این دارو شد(۱۷). در مطالعه دیگری توسط Ibrahim و همکارانش، کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در گروه دریافت کننده دوکسوروبیسین گزارش شد(۲۶).

ژل رویال یک ماده آنتی‌اکسیدان است که مقاومت بدن را در برابر اثرات جانبی و زیان‌آور شیمی درمانی و اشعه درمانی بالا برده و در نتیجه باعث بازسازی سلول‌ها وافزایش قدرت سیستم ایمنی بدن می‌شود. نتایج مطالعه ما نشان داد که مصرف توأم ژل رویال با داروی دانوروبیسین سبب افزایش وزن بیضه، پارامترهای اسپرم، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، کاهش تعداد اسپرم‌های غیرطبیعی و نیز کاهش سطح مالون‌دی-آلدئید بافت بیضه شد. نتایج مشابهی با این نتایج در یک مطالعه گزارش شده است(۱۷). در این تحقیق مشخص شد که ژل رویال با کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید بافت بیضه، پراکسیداسیون لیپید را کاهش داده و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این بافت را افزایش داده است که باعث کاهش استرس اکسیداتیو شد. Azad و همکارانش گزارش نمودند که ژل رویال با دارا بودن اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد آپوپتوز به‌طور مؤثری از بافت بیضه در برابر آسیب‌های ناشی از نیکوتین محافظت نمود(۲۷). علاوه بر این، گزارش شده است که مصرف توأم ژل رویال با داروی سیس‌پلاتین سبب کاهش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید و بهبود شاخصه‌های باروری موش‌ها شد(۱۷).

نتایج پژوهش حاضر حاکی از اثرات بهبودبخش ژل رویال بر آسیب پارامترهای تولیدمثلی موش‌های دریافت کننده دانوروبیسین است که به فعالیت‌های استروژنی و آنتی‌اکسیدانی ژل رویال نسبت داده می‌شود، زیرا ژل رویال فعالیت آنتی‌اکسیدانتی بالایی داشته و توانایی مهار رادیکال‌های آزادی مانند آنیون سوپراکساید و هیدروکسی رادیکال و نیز کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها(۲۸) را دارد و لذا قادر به سرکوب مسیرهای مولکولی و اکسیداسیون در موش‌های دریافت‌کننده دانوروبیسین بوده است. بر این اساس، می‌توان اظهار داشت که افرادی که تحت درمان با داروی دانوروبیسین هستند، می‌توانند با مصرف ژل رویال آثار تخریبی این دارو بر بافت بیضه را به حداقل برسانند، هرچند مطالعات بیشتری در این خصوص نیاز است. با توجه به ویژگی‌های ژل رویال، احتمال دارد که خواص دیگر ژل رویال نظیر سرکوب واکنش‌های آماسی و نیز مهار آپوپتوز در تعدیل آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از دانوروبیسین در بیضه موش مؤثر باشد، لذا پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی این خواص مورد بررسی بیشتر قرار گیرند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که دانوروبیسین اثرات مخرب بر سیستم تناسلی مردانه داشت و سبب کاهش باروری شد. ژل رویال به‌علت دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند به‌عنوان یک عامل محافظتی در کاهش این اثرات منفی دانوروبیسین مؤثر باشد.

تشکر و قدردانی

بودجه تحقیق توسط خود نویسندگان مقاله تأمین شده است. نتایج این تحقیق بخشی از پایان نامه دکتری تخصصی فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات است که با شماره ۹۸۰۶۱۵ تصویب شده است. کد اخلاق IR.KUMS.REC.1398.695 می‌باشد. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه‌ها تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند. نویسندگان از کارشناسان گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه قدردانی می‌نمایند.

منابع

1.Tzogani K, Penttilä K, Lapveteläinen T, Hemmings R, Koenig J, Freire J, et al. EMA Review of Daunorubicin and Cytarabine Encapsulated in Liposomes (Vyxeos, CPX-351) for the Treatment of Adults with Newly Diagnosed, Therapy-Related Acute Myeloid Leukemia or Acute Myeloid Leukemia with Myelodysplasia-Related Changes. Oncologist. 2020,25(9):e1414-e1420.
2.Blair HA. Daunorubicin/cytarabine liposome: a review in acute myeloid leukaemia. Drugs. 2018;78(18):1903-10.
3.Murphy T, Yee KW. Cytarabine and daunorubicin for the treatment of acute myeloid leukemia. Expert Opin Pharmacother. 2017;18(16):1765-80.
4.Lin SR, Chang CH, Hsu CF, Tsai MJ, Cheng H, Leong MK, et al. Natural compounds as potential adjuvants to cancer therapy: Preclinical evidence. Br J Pharmacol. 2020;177(6):1409-23.
5.Efferth T, Saeed ME, Kadioglu O, Seo E-J, Shirooie S, Mbaveng AT, et al. Collateral sensitivity of natural products in drug-resistant cancer cells. Biotechnol Adv. 2020;38:107342.
6.Ahmad R, Khan MA, Srivastava A, Gupta A, Srivastava A, Jafri TR, et al. Anticancer Potential of Dietary Natural Products: A Comprehensive Review. Anticancer Agents Med Chem (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents). 2020;20(2):122-236.
7.Ahmad S, Campos MG, Fratini F, Altaye SZ, Li J. New insights into the biological and pharmaceutical properties of royal jelly. Int J Mol Sci. 2020;21(2):382.
8.Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017(2):1-21.
9.El-Hanoun A, Elkomy A, Fares W, Shahien E. Impact of royal jelly to improve reproductive performance of male rabbits under hot summer conditions. World Rabbit Sci. 2014;22(3):241-8.
10.Temamoğulları F, Aral F, Yılmaz R. Royal jelly protection on flunixin meglumine-induced spermiotoxicity and testicular degeneration in mice. Pol J Vet Sci. 2018:497–506-497–506.
11.Tohamy HG, El-Karim DRG, El-Sayed YS. Attenuation potentials of royal jelly against hydroxyurea-induced infertility through inhibiting oxidation and release of pro-inflammatory cytokines in male rats. Environ Sci Pollut Res. 2019;26(21):21524-34.
12.Karaca T, Demirtaş S, Karaboğa İ, AYVAZ S. Protective effects of royal jelly against testicular damage in streptozotocin-induced diabetic rats. Turk J Med Sci. 2015;45(1):27-32.
13.Shahzad Q, Mehmood MU, Khan H, ul Husna A, Qadeer S, Azam A, et al. Royal jelly supplementation in semen extender enhances post-thaw quality and fertility of Nili-Ravi buffalo bull sperm. Anim Reprod Sci. 2016;167:83-8.
14.Delkhoshe-Kasmaie F, Malekinejad H, Khoramjouy M, Rezaei-Golmisheh A, Janbaze-Acyabar H. Royal jelly protects from taxol-induced testicular damages via improvement of antioxidant status and up-regulation of E2f1. Syst Biol Reprod Med. 2014;60(2):80-8.
15.Abdel-Hafez SMN, Rifaai RA, Abdelzaher WY. Possible protective effect of royal jelly against cyclophosphamide induced prostatic damage in male albino rats; a biochemical, histological and immuno-histo-chemical study. Biomed Pharmacother. 2017;90:15-23.
16.Bhachandra W, Alqadhi Y, Ninawe A. Ameliorative role of bee honey and royal jelly against cisplatin induced Alteration In Hematological parameters in Male wister albino Rat. Int J Pharm Pharmaceut Sci. 2018;10(4):110-14.
17.Silici S, Ekmekcioglu O, Kanbur M, Deniz K. The protective effect of royal jelly against cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. World J Urol. 2011;29(1):127-32.
18.Kapuvári B, Hegedüs R, Schulcz Á, Manea M, Tóvári J, Gacs A, et al. Improved in vivo antitumor effect of a daunorubicin-GnRH-III bioconjugate modified by apoptosis inducing agent butyric acid on colorectal carcinoma bearing mice. Invest New Drugs. 2016;34(4):416-23.
19.Chehrei S, Moradi M, Ghiabi H, Falahi M, Kaviani S, Ghanbari A. Pentoxifylline besides naltrexone recovers morphine-induced inflammation in male reproductive system of rats by regulating Toll-like receptor pathway. Andrologia. 2017;49(9):e12749.

20.Feyli S, Ghanbari A, Keshtmand Z. Therapeutic effect of pentoxifylline on reproductive parameters in diabetic male mice. Andrologia. 2017;49(1):e12604.
21.Georgy GS, Maher OW. Ellagic acid and rosmarinic acid attenuate doxorubicin-induced testicular injury in rats. J Biochem Mol Toxicol. 2017;31(9):e21937.
22.Silva RC, Britto DMC, de Fátima Pereira W, Brito-Melo GEA, Machado CT, Pedreira MM. Effect of short-and medium-term toxicity of doxorubicin on spermatogenesis in adult Wistar rats. Reprod Biol. 2018;18(2):169-76.
23.Amirshahi T, Najafi G, Nejati V. Protective effect of royal jelly on fertility and biochemical parameters in bleomycin- induced male rats. Iran J Reprod Med. 2014;12(3):209-16.
24.Allen CM, Lopes F, Mitchell RT, Spears N. How does chemotherapy treatment damage the prepubertal testis?. Reprod. 2018;156(6):R209-R33.
25.Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. Fertil Steril. 2013;100(5):1180-6.
26.Ibrahim RY, Mansour SM, Elkady WM. Phytochemical profile and protective effect of Ocimum basilicum aqueous extract in doxorubicin/irradiation-induced testicular injury. J Pharm Pharmacol. 2020;72(1):101-10.
27.Azad F, Nejati V, Shalizar-Jalali A, Najafi G, Rahmani F. Antioxidant and anti-apoptotic effects of royal jelly against nicotine-induced testicular injury in mice. Environ Toxicol. 2019;34(6):708-18.
28.Akbari A, Jelodar G, Nazifi S. Vitamin C protects rat cerebellum and encephalon from oxidative stress following exposure to radiofrequency wave generated by a BTS antenna model. Toxicol Mech Methods. 2014;24(5):347-52.