Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.12, Mar 2016
Pages: 1140-1154

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۱۲، اسفند ۱۳۹۴
صفحه: ۱۱۵۴-۱۱۴۰

مطالعه اثرات محافظتی ژل رویال و ویتامین C در برابر آنمی همولیتیک تجربی بر هورمون‌های جنسی و هیستوشیمی بافت بیضه موش‌های سفید آزمایشگاهی بالغ

حجت عنبرا[۱]، رسول شهروز*[۲]، حسن ملکی نژاد[۳]، صادق سعادتی[۴]

چکیده

مقدمه: فنیل‌هیدرازین یک ترکیب همولیتیک شناخته شده است که باعث ایجاد سمیت در گلبول‌های قرمز می‌گردد. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات محافظتی احتمالی ژل‌رویال و ویتامین C در برابر آسیب‌های بافتی ناشی از فنیل‌هیدرازین در بیضه موش انجام شد.

روش بررسی: تعداد ۶۴ موش نر بالغ به صورت تصادفی و به تعداد مساوی به هشت گروه تقسیم شدند. گروه اول سرم فیزیولوژی با دوز ۰/۱ ml به صورت داخل صفاقی دریافت کردند، گروه دوم فنیل‌هیدرازین با دوز ۶ mg/۱۰۰gr به صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت دریافت نمودند، گروه سوم به همراه فنیل‌هیدرازین، ویتامین C با دوز ۲۵۰ mg/kg به صورت روزانه و داخل صفاقی دریافت کردند. گروه چهارم به همراه فنیل‌هیدرازین، ژل‌رویال با دوز ۱۰۰ mg/kg به صورت گاواژ روزانه دریافت کردند. گروه پنجم به همراه فنیل‌هیدرازین، ویتامین C و ژل‌رویال را با دوزهای مشابه گروه قبل دریافت کردند. گروه ششم ویتامین C، گروه هفتم ژل‌رویال و گروه هشتم ژل‌رویال و ویتامین C را با دوزهای مشابه گروه‌های قبل و بدون تزریق فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند. پس از ۳۵ روز نمونه‌های سرمی و بافتی تهیه و برای آزمایشات سرمی(تستوسترون، LH، FSH) و مطالعات هیستوشیمیایی(مالوری آزان، آلکالین فسفاتاز، Oil-Red-O، PAS) مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج: نتایج نشان‌دهنده تغییرات هیستوشیمیایی بافت بیضه درگروه فنیل‌هیدرازین بود، که ژل‌رویال و ویتامین C توانستند تا حدودی این تغییرات را بهبود بخشند. همچنین آزمایشات سرمی نیز نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار تستوسترون، FSH و LH بود که ژل‌رویال و ویتامین C توانستند از این کاهش جلوگیری کنند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ژل‌رویال و ویتامین C از طریق مهار رادیکال آزاد می‌توانند آسیب‌های بافتی و سرمی ناشی از فنیل‌هیدرازین را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: ژل‌رویال، ویتامینC، فنیل هیدرازین، هیستوشیمی، هورمون‌های جنسی

۱- دانشجوی دکترای تخصصی، بخش بافت شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۲- دانشیار، بخش بافت‌شناسی و جنین شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
۳- استاد، بخش سم شناسی و دارو شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
۴- دانشجوی دکترای عمومی، بخش دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۴۳۴۸۲۴۳۶، پست الکترونیکی: rasoulshahrooz1@gmail.com

تاریخ دریافت:۱۳۹۴/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۰

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

مقدمه

فنیل‌هیدرازین یک ماده شیمیایی قوی است که باعث سمیت در بافت و سطوح مختلف می‌شود که عمدتاً در صنعت، سموم صنعتی و آفت‌کش‌ها، مواد منفجره، به عنوان تب بر در پزشکی، در درمان سل و فشار خون بالا کاربرد دارد(۱،۲). این ماده در انسان و حیوانات باعث ایجاد کم‌خونی همولیتیک می‌شود، افزایش میزان آهن بافتی در اثر لیز شدن گلبول‌های قرمز و کاهش اکسیژن(هیپوکسی) از عوارض ناشی از این نوع کم‌خونی است. میزان آهن داخل سلولی، مثل تمامی مواد ضروری مورد نیاز سلول، به طور دقیق توسط مکانیسم‌های غشای سلول و خود سلول تنظیم می‌شود و ثابت شده است که افزایش میزان این ماده در داخل و خارج از سلول باعث ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو و آسیب به چربی غشای سلول و اندامک‌های آن می‌شود(۳،۴). مطالعات نشان می‌دهد که هیپوکسی مزمن اسپرماتوژنز را در موش‌های صحرایی و میمون متوقف می‌کند(۵). همچنین هیپوکسی در جوندگان نر از سنتز و آزاد شدن گونادوتروپین‌ها جلوگیری می‌کند(۶،۷). از آنجایی که فنیل هیدرازین به عنوان ماده‌ای مناسب برای القای این نوع کم‌خونی و مطالعه مکانیسم‌های کم خونی توصیف شده است(۱)، در این بررسی این ماده به عنوان عامل ایجادکننده کم‌خونی بکار رفت. ویتامین C یا ال-آسکوربات ریزمغذی حیاتی برای گونه‌های پیشرفته مانند انسان، میمون‌ها و شمار اندکی از گونه‌های دیگر پستانداران به ویژه خوکچه هندی و تعدادی از گونه‌های پرندگان و برخی ماهی‌ها است. مقدار ویتامین C یک شاخص اساسی برای تعریف ارزش تجاری میوه‌ها و سبزی‌ها می‌باشد. ویتامین C ماده جامد سفید رنگ و یکی از ویتامین‌های محلول در آب و غیرسمی، و دارای آستر حلقوی بوده و در محیط آبی هیدرولیز می‌شود و حالت اسیدی پیدا می‌کند(۸،۹). این ویتامین در واکنش‌های شیمیایی بدن یک حمل‌کننده الکترون است و از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها است(۱۰)، و در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و رفع استرس اکسیداتیو نقش دارد(۱۱،۱۲).

ژل‌رویال(Royal Jelly یا RJ) به عنوان غذای ملکه زنبورهای عسل شناخته شده و توسط لاروهای جوان زنبور عسل و ملکه مورد استفاده قرار می‌گیرد و این ماده نقش مهمی در تغذیه ملکه دارد. این ماده از غدد زیرحلقی(hypopharynx) و تحت‌فکی(mandibular) زنبورهای کارگر جوان ترشح می‌شود. ژل رویال ماده‌ای ژلاتینی به رنگ سفید شیری است و دارای بوی تند و مزه‌ای میوه‌ای و ارزش غذایی فراوان می‌باشد. این ژل عامل بزرگ‌تر بودن جثه، قدرت باروری زیاد و بیشتر بودن طول عمر ملکه است(۱۳،۱۴). همچنین نشان داده شده است که ژل‌رویال دارای انواع فعالیت‌های بیولوژیکی در سلول‌ها و بافت‌های مختلف مدل‌های حیوانی می‌باشد(۱۵). ژل‌رویال اثرات تحریکی بر اندام‌های مختلف بدن دارد و می‌تواند عملکرد آنها را بهبود ببخشد(۱۶). ژل‌رویال به حفظ فعالیت منظم و طبیعی هورمون‌ها کمک کرده، همچنین یک مکمل انرژی برای سنین مختلف به شمار می‌رود و در درمان مشکلات از کار افتادگی جنسی مزمن ارزشمند است(۱۷).

هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات محافظتی ژل‌رویال و ویتامین C در جلوگیری از اثرات هیپوکسی و به دنبال آن استرس اکسیداتیو ناشی از آنمی‌همولیتیک القاء شده توسط فنیل هیدرازین بر کیفیت پارامترهای مورفومتری بیضه و میزان هورمون‌های جنسی در موش‌های سوری بالغ می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی فنیل هیدرازین(Sigma Aldrich P6926) جهت القاء کم‌خونی همولیتیک مورد استفاده قرار گرفت. ویتامین C(500 mg/5 ml) از شرکت دارو پخش(تهران-ایران) تهیه شد. ژل‌رویال مورد استفاده در این مطالعه شهریور ماه سال ۱۳۹۲ از کندوهای زنبورستان های شهرستان ارومیه تهیه گردید.

برای انجام این مطالعه که به صورت یک کارآزمایی تجربی تصادفی دارای شاهد طرح‌ریزی شده بود، تعداد ۶۴ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ با 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 ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰±۵۰٪ در قفس‌هایی با پوشش

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

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. کلیه ضوابط و شرایط نگهداری و انجام آزمایشات روی حیوانات نیز بر اساس دستورالعمل‌های مصوب کمیته اخلاق دانشکده صورت پذیرفت. متعاقب دو هفته سازگاری با شرایط محیط، حیوانات به صورت تصادفی به هشت گروه هشت‌سری به شکل زیر تقسیم شدند و طی ۳۵ روز مورد بررسی قرار گرفتند:

گروه کنترل: شامل موش‌هایی هستند که روزانه سرم فیزیولوژی به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه فنیل‌هیدرازین: حیوانات این گروه فنیل‌هیدرازین را به میزان ۶ میلی‌گرم به ازای هر صدگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت به منظور ایجاد کم‌خونی همولیتیک دریافت کردند(۱۸).

گروه سوم: حیوانات این گروه علاوه بر فنیل‌هیدرازین، ۲۵۰ میلی‌گرم ویتامین C نیز به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی چهار ساعت قبل از تجویز فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند(۱۹).

گروه چهارم: حیوانات این گروه علاوه بر فنیل‌هیدرازین، ژل‌رویال را نیز به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی چهار ساعت قبل از تجویز فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند(۲۰).

گروه پنجم: حیوانات در این گروه علاوه بر فنیل‌هیدرازین، ویتامین C را به میزان۲۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی همراه با ژل‌رویال به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی چهار ساعت قبل از تجویز فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند.

گروه ششم: شامل موش‌هایی هستند که ویتامین C با دوز مشابه گروه‌های قبلی، بدون تزریق فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند.

گروه هفتم: شامل موش‌هایی هستند که ژل رویال با دوز مشابه گروه‌های قبلی، بدون تزریق فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند.

گروه هشتم: شامل موش‌هایی هستند که ژل رویال را همراه با ویتامین C با دوزهای مشابه گروه‌های قبل بدون تزریق فنیل‌هیدرازین دریافت کردند.

تمامی موش‌های موجود در هشت گروه ذکر شده ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، آسان‌کشی شدند سپس وزن بدن و بیضه حیوانات توسط ترازوی دقیق آزمایشگاهی(در حد میلی‌گرم) اندازه‌گیری شد و نمونه‌های خون توسط سرنگ‌های استریل به صورت مستقیم از قلب جمع‌آوری گردیدند. جهت به دست آوردن سرم، نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم‌ها تا زمان سنجش هورمونی به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. برای سنجش تستوسترون، روش الایزا و ایمنومتری با استفاده از کیت اختصاصی(Diaplus Inc. USA) مورد ارزیابی قرار گرفته و گروه‌ها با هم مقایسه شدند. همچنین میزان هورمون‌های FSH و LH سرم نیز با روش ایمنواسی(آی کروما) و با استفاده از کیت‌های اختصاصی WHO/Sigma Asso-REGC اندازه‌گیری شدند.

پس از کالبدگشایی، نمونه‌های بافتی بیضه با رعایت اصول استریل برداشت و بیضه‌های سمت راست جهت ثبوت به محلول ثبوتی فرمالین ۱۰٪ منتقل شدند. نمونه‌های بافتی بیضه راست پس از ثبوت، به همراه مشخصات درون ظروف مخصوص قرار گرفته و متعاقب 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 و رنگ‌آمیزی مالوری آزان(Mallory-Azan) جهت رنگ‌آمیزی نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در مطالعات بافت‌شناسی حالت بافت بینابینی از نظر ادم و پرخونی و لوله‌های منی‌ساز از نظر ضخامت و گسیختگی اپیتلیوم زایگر مورد بررسی قرار گرفت. میزان پراکندگی رشته‌های کلاژن در بافت بیضه نیز توسط رنگ‌آمیزی مالوری آزان مورد بررسی قرار گرفت(۲۱). همچنین این مقاطع بافتی به منظور مطالعه ترکیبات کربوهیدراته به وسیله روش پریودیک اسید شیف(PAS) رنگ‌آمیزی شده که در این روش دانه‌های پاس مثبت به رنگ قرمز براق دیده می‌شوند(۲۲).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

بیضه سمت چپ نیز پس از توزین برای بررسی‌های هیستوشیمی مانند آلکالین فسفاتاز و چربی غیراشباع به ۷۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت و سپس به منظور مطالعه وجود چربی غیراشباع، با دستگاه کرایوستات(برش انجمادی) مدل برایت ساخت انگلیس از آنها مقاطع ۱۰ میکرومتری تهیه و به روش اویل-رد-او(Oil-Red-O) رنگ‌آمیزی شد و دانه‌های حاوی چربی به رنگ قرمز روشن دیده شدند(۲۲). همچنین مقاطع ۱۰ میکرومتری برش انجمادی به روش آلکالین فسفاتاز(ALP) رنگ‌آمیزی شدند که دانه‌های حاوی این آنزیم به رنگ قهوه‌ای تیره مشاهده گردیدند(۲۲).

داده‌های این مطالعه با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۹ 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<۰/۰۵ برای تعیین سطح معنی‌داری بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج وزن بدن و بیضه‌ها:

مطالعه حاضر نشان داد که وزن حیوانات در تمامی گروه‌ها در هنگام شروع آزمایش بین ۲۰ تا ۲۵ گرم بوده که در تمامی گروه‌ها هنگام نمونه‌برداری افزایش وزن مشاهده شد. میانگین وزن حیوانات در هنگام نمونه‌برداری نشان داد که میانگین وزن در گروه فنیل هیدرازین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری وجود داشت(P=۰/۰۰۱). درحالی‌که استفاده از ویتامین C و ژل‌رویال به تنهایی و باهم به همراه فنیل هیدرازین در گروه‌های جداگانه باعث شد که وزن حیوانات نسبت به گروه فنیل هیدرازین افزایش نشان داده و هر سه گروه نسبت به گروه کنترل و فنیل هیدرازین دارای اختلاف معنی‌دار بودند، در حالی که با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نشان ندادند. همچنین در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C و ژل‌رویال به تنهایی و با هم بدون فنیل‌هیدرازین موجب افزایش وزن در حد گروه کنترل و بیشتر از آن شده ولی با گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌دار بودند.

میانگین اختلاف وزن گروه‌ها قبل و بعد از تزریق نیز نتایج مشابهی نشان داد(جدول ۱).

نتایج حاصل از بررسی نسبت وزن بیضه راست و چپ به وزن بدن نشان داد که این نسبت در گروه فنیل‌هیدرازین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد(P=۰/۰۲). در حالی که در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C و ژل‌رویال همراه با فنیل‌هیدرازین این نسبت افزایش یافته و نسبت به گروه فنیل‌هیدرازین اختلاف معنی‌دار نشان دادند(P=۰/۰۰۱)، ولی این افزایش به اندازه گروه کنترل نبود(جدول ۱).

جدول ۱: نتایج میانگین و انحراف معیار وزن بدن در گروه‌ها برحسب گرم و نسبت وزن بیضه به وزن بدن برحسب میلی‌گرم

گروه	میانگین وزن گروه‌ها قبل از تزریق	میانگین وزن گروه‌ها بعد از تزریق	میانگین اختلاف وزن گروه‌ها قبل و بعد از تزریق	نسبت وزن بیضه به وزن بدن
کنترل	۲۱/۵۸±۰/۴۳	۳۴/۵۸±۰/۴۱	۱۳/۰۸±۰/۴۵	۰/۰۰۶۷±۰/۹۴$^{-۴}$
فنیل هیدرازین	۲۲/۰۸±۰/۶۱	۲۷/۹۱^{a}±۰/۶۲	۵/۹۱^{a}±۰/۸۷	۰/۰۰۵۷^{a}±۰/۷۶$^{-۴}$
فنیل هیدرازین + ویتامین C	۲۲/۲۸±۰/۴۱	۳۱/۷۵^{ab}±۰/۴۰	۹/۰۶^{ab}±۰/۵۵	۰/۰۰۶۴^{ab}±۰/۵۵$^{-۴}$
فنیل هیدرازین + ژل رویال	۲۱/۹۱±۰/۷۰	۳۳/۱۵^{b}±۰/۴۶	۱۱/۳۳^{ab}±۰/۶۹	۰/۰۰۶۳^{ab}±۰/۴۷$^{-۴}$
فنیل هیدرازین + ویتامین C + ژل رویال	۲۲/۲۵±۰/۶۱	۳۳/۲۵^{b}±۰/۴۸	۱۰/۹۱^{ab}±۰/۵۰	۰/۰۰۶۵^{ab}±۰/۷۸$^{-۴}$
ویتامین C	۲۲/۰۸±۰/۴۹	۳۴/۶۶^{b}±۰/۴۴	۱۲/۵۸^{b}±۰/۸۷	۰/۰۰۶۷^{b}±۰/۸۴$^{-۴}$
ژل رویال	۲۲/۲۵±۰/۶۱	۳۶/۷۵^{b}±۰/۴۲	۱۴/۶۶^{b}±۰/۵۱	۰/۰۰۶۷^{b}±۰/۹۹$^{-۴}$
ویتامین C + ژل رویال	۲۲/۳۳±۰/۶۲	۳۵/۹۱^{b}±۰/۲۳	۱۳/۵۸^{b}±۰/۵۶	۰/۰۰۶۷^{b}±۰/۹۳$^{-۴}$

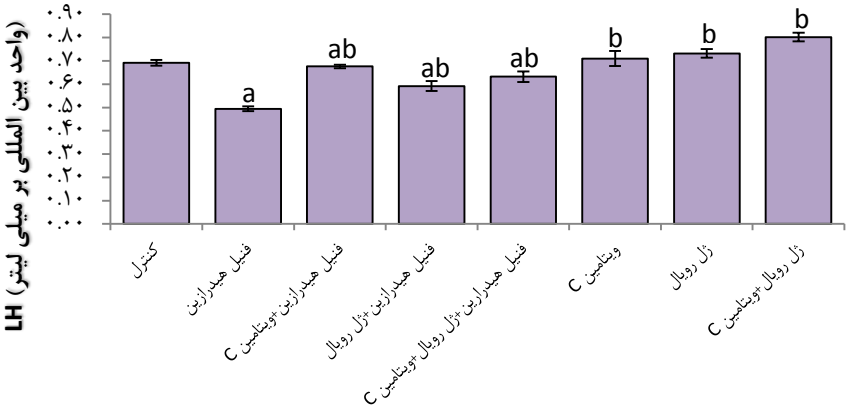
a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل

b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

نتایج حاصل از سنجش هورمون‌ها:

بررسی سطح هورمون LH در گروه‌های مختلف مورد آزمایش نشان داد که این هورمون در گروه فنیل‌هیدرازین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌دار کاهش یافته است(P=۰/۰۰۵)، درحالی که استفاده از ویتامین C و ژل‌رویال در گروه‌های دریافت‌کننده فنیل‌هیدرازین سطح این هورمون را نسبت به گروه فنیل‌هیدرازین به طور معنی‌دار افزایش داده و با گروه کنترل نیز دارای اختلاف معنی‌دار بودند(P=۰/۰۰۳). همچنین استفاده از ویتامین C و ژل‌رویال به تنهایی و باهم بدون فنیل‌هیدرازین سطح هورمون LH را نسبت به گروه کنترل افزایش داده ولی با این گروه فاقد اختلاف معنی‌دار بودند(نمودار ۱).



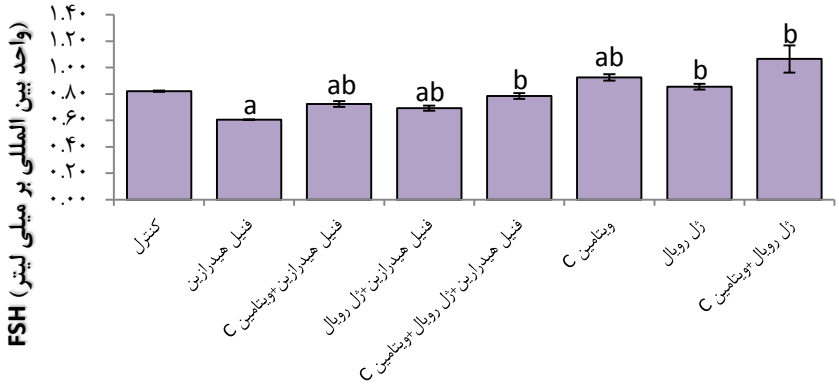
نمودار ۱: مقایسه میانگین هورمون LH درگروه‌های مختلف آزمایشی

تمامی نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

a: وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه کنترل

b: وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین

میزان سطح هورمونی FSH هم در گروه فنیل هیدرازین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌دار کاهش یافت در حالی که در گروه‌های ویتامین C و ژل‌رویال به تنهایی و با هم همراه با فنیل‌هیدرازین، سطح FSH نسبت به گروه فنیل‌هیدرازین به طور معنی‌دار افزایش نشان داد(P=۰/۰۱). همچنین این افزایش در گروه دریافت‌کننده ویتامین C و ژل‌رویال باهم به همراه فنیل‌هیدرازین همانند گروه کنترل بوده و با آن فاقد اختلاف معنی‌دار بود(نمودار ۲).



نمودار ۲: مقایسه میانگین هورمون FSH درگروه‌های مختلف آزمایشی

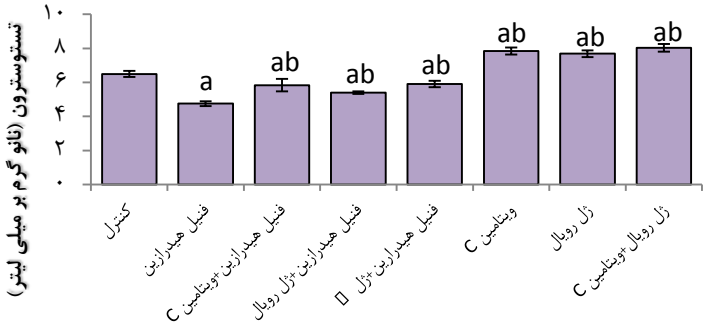
تمامی نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند.

a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل

b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

بررسی میزان هورمون تستوسترون نیز در گروه‌های مختلف نشان داد که میزان این هورمون در گروه فنیل‌هیدرازین نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌دار کاهش یافته و در گروه‌های ویتامین C و ژل‌رویال به تنهایی و با هم همراه با فنیل‌هیدرازین سطح این هورمون نسبت به گروه فنیل‌هیدرازین به طور معنی‌دار افزایش یافت ولی این افزایش به اندازه گروه کنترل نبوده و با آن اختلاف معنی‌دار نشان دادند(P=۰/۰۱). در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C و ژل‌رویال به تنهایی و باهم بدون فنیل‌هیدرازین سطح هورمون تستوسترون بیش از گروه کنترل بوده و با هر دو گروه کنترل و فنیل هیدرازین اختلاف معنی‌دار نشان داد(نمودار ۳).

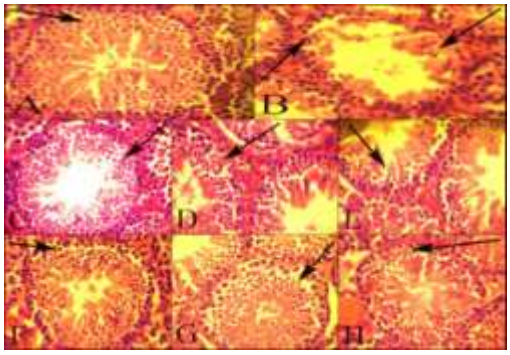


نمودار ۳: مقایسه میانگین هورمون تستوسترون درگروه‌های مختلف آزمایشی
تمامی نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.
a: وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه کنترل
b: وجود اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین

نتایج بافت‌شناسی:

مشاهدات بافت‌شناسی بیضه نشان داد که در گروه فنیل هیدرازین اپی‌تلیوم زایگر به میزان قابل توجهی در بیشتر لوله‌های منی‌ساز تحلیل رفته همچنین بین سلول‌های سری اسپرماتوژنز، گسیختگی سلولی مشاهده گردید. در بعضی از نواحی بافت بینابینی نیز حالت ادماتوز مشاهده شد، در حالی که در گروه کنترل این تغییرات مشاهده نگردید(شکل ۱).

در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C و ژل‌رویال به تنهایی و باهم به همراه فنیل‌هیدرازین مطالعه بافت‌شناسی بیضه نشان داد که ضایعه بافت‌شناسی ایجاد شده توسط فنیل‌هیدرازین به میزان قابل توجهی توسط ویتامین C و ژل‌رویال جبران شده و از گسیختگی اپی‌تلیوم زایگر لوله‌های منی‌ساز جلوگیری شده است و ضخامت اپی‌تلیوم زایگر در این گروه‌ها به طور ظاهری افزایش نشان داد. ولی حالت ادماتوز در بعضی نواحی از بافت بینابینی بیضه مشاهده شد(شکل ۱).



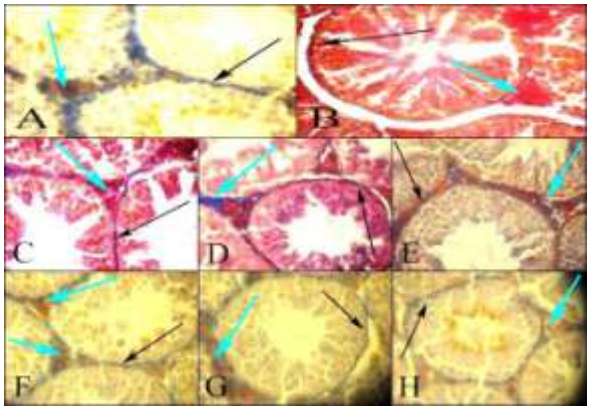
شکل ۱: تصویر مربوط به رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین(۴۰۰x).

A: گروه کنترل. در گروه کنترل ادم و گسیختگی در سلول های رده اسپرماتوژنز (فلش سیاه رنگ) دیده نشد. B: گروه فنیل هیدرازین. در این گروه افزایش ادم بافتی و گسیختگی سلول های رده اسپرماتوژنز مشهود بود (فلش‌های سیاه رنگ). C-D-E: گروه‌های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی و باهم به همراه فنیل هیدرازین. ویتامین C و ژل رویال تا حدود زیادی توانسته بودند تغییرات بافت شناسی حاصل از تزریق فنیل هیدرازین را جبران کنند (فلش‌های سیاه رنگ).
F-G-H: گروه های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی. در این گروه ها ادم و گسیختگی سلول های رده اسپرماتوژنز (فلش‌های سیاه رنگ) دیده نشد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

مطالعه رشته‌های کلاژن در بافت بیضه توسط رنگ‌آمیزی مالوری آزان:

رشته‌های کلاژن توسط رنگ‌آمیزی مالوری آزان در بافت بیضه مورد مطالعه قرار گرفتند این مطالعه نشان داد که کپسول بیضه دارای بیشترین تراکم از رشته‌های کلاژن بوده و نیز بخش پارین در پیرامون لوله‌های منی‌ساز نیز تجمعی از رشته‌های کلاژن را به صورت یک لایه آبی رنگ نشان داد. در گروه کنترل تجمع رشته‌های کلاژن در این ناحیه(پارین لوله‌های منی‌ساز) به میزان قابل توجهی مشاهده شد و نیز به میزان بسیار کم رشته‌های ظریف کلاژن در بافت بینابینی در خارج پارین مشاهده شد. در گروه فنیل‌هیدرازین تجمع رشته‌های کلاژن در ناحیه پارین به طور مشخص کاهش نشان داده و رشته‌های آبی رنگ کلاژن بسیار کم در ناحیه پارین لوله‌های منی‌ساز مشاهده شد. در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C و ژل‌رویال به همراه فنیل هیدرازین رشته‌های کلاژن در پارین لوله‌های منی‌ساز افزایش قابل توجهی نسبت به گروه فنیل‌هیدرازین نشان دادند ولی این افزایش به اندازه گروه کنترل نبود(شکل ۲).



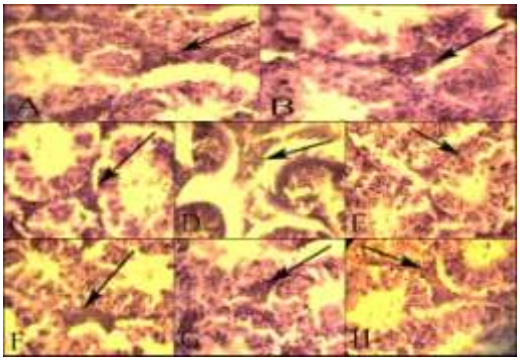
شکل ۲: تصویر مربوط به رنگ آمیزی مالوری آزان (۴۰۰x).

A: گروه کنترل. رشته های آبی رنگ کلاژن در پارین لوله‌های منی‌ساز(فلش سیاه رنگ) و در بافت بینابینی در خارج از پارین (فلش آبی رنگ). B: گروه فنیل هیدرازین. رشته‌های کلاژن در ناحیه پارین (فلش سیاه رنگ) به طور مشخص کاهش یافته و نیز بسیار کم در ناحیه بافت بینابینی (فلش آبی رنگ) مشاهده شد.
C-D-E: گروه‌های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی و باهم به همراه فنیل هیدرازین. رشته‌های کلاژن افزایش قابل توجهی نسبت به گروه PHZ نشان دادند. F-G-H: گروه های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی. همانند گروه کنترل رشته های آبی رنگ کلاژن در پارین لوله‌های منی ساز (فلش سیاه رنگ) و در بافت بینابینی در خارج از پارین (فلش آبی رنگ).

نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی آلکالین فسفاتاز در بافت بیضه:

در این مطالعه فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز داخل سلول‌های لیدیگ بافت بینابینی در گروه کنترل با وجود دانه‌های قهوه‌ای پررنگ در داخل سیتوپلاسم مشخص شد و در سری سلول‌های اسپرماتوژنز نیز به میزان بسیار کم مشاهده شد. واکنش آلکالین فسفاتاز در گروه فنیل‌هیدرازین در سلول‌های لیدیگ و همچنین در سلول‌های سری اسپرماتوژنز به طور مشخص افزایش نشان داد به خصوص در سلول‌های سطحی اپیتلیوم زایگر واکنش مشخصی مشاهده شد. در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C و ژل‌رویال به تنهایی واکنش آلکالین فسفاتاز تقریباً مشابه گروه کنترل بود(شکل ۳).

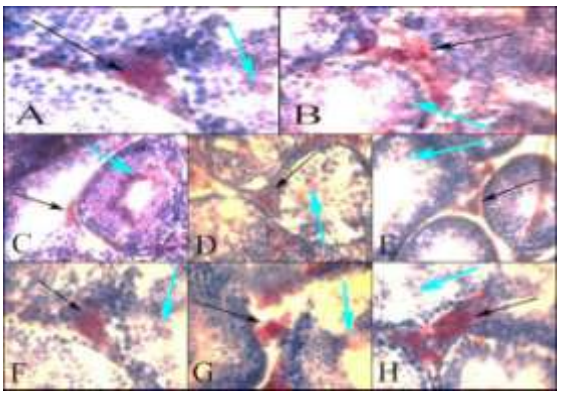
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]



شکل۳: تصویر مربوط به رنگ آمیزی آلکالین فسفاتاز که دانه های قهوه ای(فلش‌های سیاه رنگ) نشانگر واکنش مثبت به رنگ آمیزی آلکالین فسفاتاز می باشد (۴۰۰x). A: گروه کنترل. در گروه کنترل واکنش آلکالین فسفاتاز به میزان خیلی کم دیده می شود. B: گروه فنیل هیدرازین. در این گروه میزان واکنش آلکالین فسفاتاز افزایش یافته است. C-D-E: گروه‌های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی و باهم به همراه فنیل هیدرازین. ویتامین C و ژل رویال توانسته بودند تا حدود زیادی میزان رنگ پذیری بافت بیضه به رنگ آلکالین فسفاتاز را کاهش دهند. F-G-H: گروه های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی. همانند گروه کنترل واکنش آلکالین فسفاتاز به میزان خیلی کم دیده می شود.

مطالعه چربی غیر اشباع در بافت بیضه به واسطه رنگ‌آمیزی اویل-رد-او:

وجود چربی غیر اشباع در داخل سلول‌های بافت بیضه در گروه کنترل توسط رنگ‌آمیزی اویل-رد-او به صورت دانه‌های قرمز شفاف مشخص گردید که بیشترین واکنش چربی در داخل سیتوپلاسم سلول‌های لیدیگ در بافت بینابینی وجود داشته و در سری سلول‌های اسپرماتوژنز واکنش چربی بسیار کم بوده و به طور کلی در سلول‌های مجاور حفره میانی لوله‌های منی‌ساز واکنش بیشتری مشاهده شد. در گروه فنیل‌هیدرازین واکنش چربی در سلول‌های لیدیگ نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد در حالی که در ضخامت اپیتلیوم زایگر، دانه‌های قرمز رنگ نشان‌دهنده واکنش چربی به میزان فراوان بود. استفاده از ویتامین C و ژل رویال به همراه فنیل‌هیدرازین میزان این واکنش را در سری سلول‌های اسپرماتوژنز به مقدار بسیار زیاد کاهش داد و فقط در سلول‌های پیرامون حفره میانی این واکنش مشاهده گردید و نیز شدت واکنش در سلول‌های لیدیگ نیز افزایش نشان داد(شکل ۴).



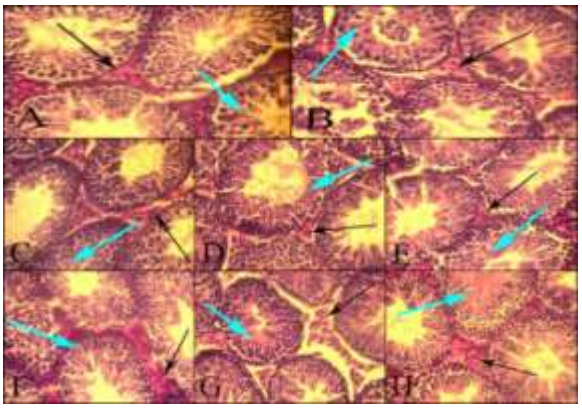
شکل ۴: تصویر مربوط به رنگ آمیزی Oil-Red-O که در آن بودن دانه های قرمز رنگ نشانگر واکنش مثبت به رنگ آمیزی Oil-Red-O می باشد (۴۰۰x). A: گروه کنترل. میزان ذخیره بالای چربی در سلول های لیدیگ (فلش سیاه رنگ) و اسپرماتوژنز (فلش آبی رنگ) مشهود است. B: گروه فنیل هیدرازین. در این گروه میزان رنگ‌پذیری به رنگ ا اویل-رد-او فزایش یافته است. C-D-E: گروه‌های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی و باهم به همراه فنیل هیدرازین. ویتامین C و ژل رویال توانسته بودند تا حدود زیادی میزان رنگ پذیری بافت بیضه به رنگ اویل-رد-او را کاهش دهند. F-G-H: گروه های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی. میزان ذخیره بالای چربی در سلول های لیدیگ (فلش سیاه رنگ) و اسپرماتوژنز (فلش آبی رنگ) مشهود است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

مطالعه مواد حاوی کربوهیدرات در بافت بیضه به واسطه رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف:

در این مطالعه که ترکیبات حاوی کربوهیدرات‌ها، توسط رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف(PAS) به صورت واکنش قرمز رنگ(وجود دانه‌های قرمز رنگ) در داخل سیتوپلاسم سلول‌ها مشاهده شد، نشان داد که سلول‌های لیدیگ دارای بیشترین واکنش PAS بوده و نیز در بافت بینابینی پارین پیرامون لوله‌های منی‌ساز دارای واکنش PAS مثبت بود. اپیتلیوم زایگر در لوله‌های منی‌ساز در گروه کنترل دارای واکنش PAS بسیار ضعیف بوده و دانه‌های قرمز رنگ و پراکنده داخل سیتوپلاسم سلول‌های نیمه عمقی اپیتلیوم بیشتر از نیمه سطحی مشاهده شد.

در گروه فنیل‌هیدرازین واکنش PAS در سلول‌های لیدیگ به طور مشخص کاهش نشان داد و در اپیتلیوم زایگر این واکنش در نیمه مجاور حفره میانی بیشتر از نیمه محیطی به نظر می‌رسد. در حالی که در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C و ژل‌رویال شدت واکنش PAS در سلول‌های لیدیگ افزایش نشان داده و در نیمه عمقی سری سلول‌های اسپرماتوژنز نیز داخل سیتوپلاسم سلول‌ها واکنش PAS مشاهده و در سلول‌های نیمه فوقانی نیز این واکنش به چشم می‌خورد(شکل ۵).



شکل ۵: تصویر مربوط به رنگ آمیزی پاس که وجود دانه های قرمز رنگ نشانگر واکنش مثبت به رنگ آمیزی می باشد (۴۰۰x).

A: گروه کنترل. دانه های PAS مثبت در سلول های لیدیگ (فلش سیاه رنگ) و اسپرماتوژنز (فلش آبی رنگ) مشهود است. B: گروه فنیل هیدرازین. در این گروه واکنش PAS در سلولهای لیدیگ به طور مشخص کاهش نشان داد. C-D-E: گروه‌های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی و باهم به همراه فنیل هیدرازین. واکنش PAS در سلولهای لیدیگ افزایش نشان داده و نیز داخل سلول‌های اسپرماتوژنز هم واکنش PAS مشاهده شد. F-G-H: گروه های دریافت کننده ویتامین C و ژل رویال به تنهایی. همانند گروه کنترل دانه های PAS مثبت در سلول های لیدیگ (فلش سیاه رنگ) و اسپرماتوژنز (فلش آبی رنگ) دیده شد.

بحث

قرار گرفتن در شرایط هیپوکسی باعث کاهش وزن بدن و اندام‌ها، افزایش ناهنجاری‌ها و تغییر فراسنجه‌های مورفومتریک می‌شود(۲۳). نشان داده شده است که کم‌خونی همولیتیک از دو طریق می‌تواند اثرات اکسیداتیو خود را اعمال نماید، اول کاهش اکسیژن‌رسانی و دوم افزایش آهن خون و بافت‌ها. کم‌خونی همولیتیک و لیز شدن گلبول‌های قرمز خون موجب کاهش ظرفیت انتقال اکسیژن و افزایش میزان آهن خون می‌گردد که این امر به نوبه خود پایه‌گذار تغییراتی در بدن می‌شود(۳،۴). همچنین مشخص شده است که افزایش آهن بافتی از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو باعث آسیب شدید غشاء، پروتئین‌ها و DNA می‌شود. همان‌گونه که در مطالعه حاضر نیز مشاهده گردید به نظر می‌رسد که تنش اکسیداتیو ناشی از تجویز فنیل‌هیدرازین موجب کاهش اکثر فراسنجه‌های بافتی و سرمی شده است، به طوری که کاهش معنی‌داری در میزان وزن بدن و بیضه‌ها، هورمون تستوسترون، LH و FSH در گروه فنیل‌هیدرازین مشاهده گردید، که این کاهش در فراسنجه‌های فوق در نتیجه تنش اکسیداتیو، با مطالعات قبلی قابل توجیه می‌باشد(۲۴،۲۵).

نتایج تحقیقات نشان داده است که حساس‌ترین بخش در دستگاه تناسلی جنس نر، اپی‌تلیوم زایگر لوله‌های منی‌ساز

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

می‌باشد. این موضوع شاید به این دلیل باشد که تحت شرایط هیپوکسی سلول‌هایی که در فاصله بیشتری نسبت به مویرگ‌ها و غشای پایه قرار دارند اکسیژن کمتری دریافت نموده و به کمبود اکسیژن بیشتر حساس می‌باشند(۲۶).

در اثر کاهش فعالیت متابولیکی سلول‌های زایگر و کاهش تکثیر سلولی به دلیل کمبود اکسیژن، ضخامت اپی تلیوم کاهش یافته و فضای بینابینی به دلیل ادم بافتی افزایش می‌یابد(۲۶)، در مشاهدات بافت شناسی مطالعه حاضر نیز این یافته مورد تأیید قرار گرفت. همچنین گفته شده است که کاهش تعداد سلول‌های اپیتلیوم زایگر، تعداد سلول‌های سرتولی و لیدیگ در بافت بیضه می‌تواند در اثر تجمع اسید لاکتیک در اثر تنفس سلولی در میزان اکسیژن پایین رخ دهد. استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش آهن از طریق آسیب به غشای فسفو لیپیدی اندامک‌ها اثرات سوء خود را نشان می‌دهد(۲)، که به احتمال زیاد تغییرات نشان داده شده در رابطه با بررسی‌های بافت‌شناسی بیضه و کاهش میزان هورمون‌های جنسی در مطالعه حاضر نیز ناشی از وقوع همین شرایط در بافت بیضه می‌باشد. این عارضه نیز وابسته به اثر هیپوکسی ناشی از فنیل هیدرازین بوده و تجویز ویتامین C و ژل‌رویال موجب تعدیل این اثر گردیده است.

نتایج گزارشات نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض هیپوکسی باعث کاهش چشمگیر در عملکرد بیضه می‌شود که این تاثیرات می‌تواند وابسته به اثرات مستقیم کمبود اکسیژن بر اسپرماتوژنز و یا اثرات غیر مستقیم از طریق تاثیر آن بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی-بیضه‌ای باشد(۲۷). در این محور هیپوفیزی-بیضه‌ای، هورمون آزادکننده گنادوتروپین از هیپوتالاموس با تاثیر بر هیپوفیز پیشین، موجب افزایش ترشح هورمون FSH و LH شده و در نتیجه باعث تحریک ترشح تستوسترون می‌شود(۲۸). طبق نتایج حاصل از این تحقیق افزایش هم‌زمان در سطح سرمی هورمون تستوسترون و هورمون‌های FSH و LH نشان‌دهنده تاثیر ویتامین C و ژل‌رویال بر محور هیپوفیزی-بیضه‌ای است. این تاثیر می‌تواند به دلیل افزایش میزان ترشح FSH و LH از هیپوفیز پیشین و به دنبال آن، افزایش سطح هورمون تستوسترون در سرم باشد. بنابراین افزایش سطح سرمی تستوسترون در این آزمایش، پیامد افزایش هورمون‌های محرک گنادها، به خصوص LH بوده است.

تستوسترون به عنوان مهم‌ترین هورمون آندروژن در تکامل و تکثیر سلول‌های زایگر و تمایز اسپرماتیدهای گرد به اسپرماتیدهای کشیده نقش اساسی ایفا می‌کند(۲۹) و همچنین عملکرد جنسی را حمایت می‌کند. در واقع سلامت سلول‌های زایگر و توانایی آنها برای انجام تقسیمات میتوزی در لوله‌های منی‌ساز، به ترشح هورمون تستوسترون توسط سلول‌های لیدیگ وابسته می‌باشد(۳۰). بنابراین اختلال در بیوسنتز تستوسترون در سلول‌های لیدیگ می‌تواند اثرات مضر روی باروری جنس نر داشته باشد(۳۱). مکانیسم عمل فنیل‌هیدرازین همچنین ممکن است به دلیل اثر آن روی سلول‌های لیدیگ باشد که منجر به کاهش سطح تستوسترون می‌شود(۳۲). با آتروفی سلول‌های لیدیگ، میزان سنتز و ترشح تستوسترون کاهش می‌یابد که با یافته‌های حاصل از این مطالعه کاهش معنی‌دار سطح سرمی تستوسترون در گروه فنیل‌هیدرازین، مشاهده شد کاملاً مطابقت دارد. شواهدی وجود دارد مبنی بر اینکه آسیب‌دیدگی سلول‌های اپی‌تلیوم زایگر می‌تواند عملکرد سلول‌های لیدیگ را تحت تأثیر قرار دهد(۳۳). مطالعات نشان داده‌اند که ارتباط بسیار مهم عملکردی بین سلول‌های لیدیگ و سرتولی وجود دارد که این ارتباط توسط تحریک سلول‌های لیدیگ با هورمون‌های LH و FSH مترشحه از هیپوفیز برقرار می‌شود، لذا با تخریب سلول‌های سرتولی و ریزش سلول‌های جنسی، میزان هورمون تستوسترون کاهش می‌یابد. یکی دیگر از مکانیسم‌های احتمالی در اختلالات سلول‌های لیدیگ، افزایش رادیکال‌های آزاد و بروز استرس اکسیداتیو می‌تواند باشد. در یک بررسی بالینی در سال ۲۰۱۴ نشان داده شد که ژل‌رویال دارای خواص درمانی در مقابل آسیب‌های بافتی و سرمی حاصل از بلئومایسین می‌باشد(۳۴)، در مطالعه حاضر نیز ویتامین C و ژل‌رویال با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانت توانستند آسیب‌های بافتی و سرمی ناشی از فنیل‌هیدرازین را تا حدودی تعدیل نمایند، که با نتایج به دست آمده توسط Silici در سال ۲۰۰۹ درمورد نقش محافظتی ژل‌رویال در برابر سیس‌پلاتین که دارای خواص اکسیدانتی مشابه فنیل‌هیدرازین است مطابقت دارد(۲۰).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

آنزیم آلکالین فسفاتاز که نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای سلولی دارد و با تغییر نسبت کلسترول به فسفولیپید غشای سلولی دچار تغییر می‌شود. آسیب غشای سلول موجب رهاسازی بیش از حد این آنزیم به مایعات بین سلولی و حتی سرم می‌گردد. از آن جایی که آنزیم آلکالین فسفاتاز از طریق کنترل سطح نوکئوتیدی AMP در تنظیم موضعی جریان خون دخالت دارد و در سطح سلولی نیز با دخالت در نقل و انتقال کلسیم از غشای سلولی و عملکرد آن به عنوان Ca-Mg-ATPase و تداخل عمل با آنزیم‌های غشایی سلول دخالت دارد، از این رو اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم به عنوان شاخصی در خصوص تغییرات بافت بیضه مورد استفاده قرار گرفت(۳۵).

همان طور که در نتایج نشان داده شد با تزریق فنیل هیدرازین و آسیب‌های وارده به سلول‌های بیضه و رده اسپرماتوژنز میزان واکنش این آنزیم نیز در مقاطع بافتی در گروه تحت تأثیر هیپوکسی ناشی از آنمی همولیتیک تجربی افزایش یافت و در اینجا نیز ویتامین C و ژل‌رویال توانسته بودند نقش محافظتی خود را به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت نشان دهند.

رشته‌های کلاژن توسط رنگ‌آمیزی مالوری آزان در بافت بیضه مورد مطالعه قرار گرفت و نشان داده شد که در گروه کنترل کپسول بیضه دارای بیشترین تراکم از رشته‌های کلاژن بوده و نیز بخش پارین در پیرامون لوله‌های منی‌ساز نیز تجمعی از رشته‌های کلاژن را به صورت یک لایه آبی رنگ نشان می‌دهد که میزان این رشته‌های کلاژن در پارین لوله‌های منی‌ساز در گروه فنیل‌هیدرازین کاهش چشم‌گیری نشان داد که با نتایج حاصل از گزارش دیگر در این مورد کاملاً مطابقت دارد(۳۶). همچنین در شرایط طبیعی سلول‌های سری اسپرماتوژنز مستقر روی غشای پایه لوله‌های منی‌ساز از منابع کربوهیدراتی و سلول‌های سری بالاتر از چربی‌ها جهت متابولیسم خود استفاده می‌کنند، در حالات پاتولوژیک و برهم‌خوردن چرخه‌های متابولیسمی تغییراتی در نوع متابولیسم سلولی رخ می‌دهد. یکی از اثرات تغییر چرخه‌های متابولیکی استفاده سلول از سایر منابع غذایی موجود در محیط و یا عدم ذخیره مواد در سلول مورد انتظار می‌باشد(۳۷،۳۸).

همانطور که در این مطالعه نشان داده شد، علاوه بر کاهش شدید ذخیره چربی در سلول‌های لیدیگ و سایر سلول‌های رده اسپرماتوژنز در حیوانات مبتلا به آنمی همولیتیک، ذرات کربوهیدرات که با رنگ‌آمیزی PAS مشخص شدند در رده‌های سلول‌های نزدیک به مرکز لوله اسپرم‌ساز نیز دیده شد که نشان از تغییر چرخه‌های متابولیکی این سری از سلول‌ها بودند. در اینجا نیز ویتامین C و ژل‌رویال تا حدودی توانسته بودند آثار ناشی از کم‌خونی همولیتیک را جبران کنند. همانطور که گفته شد در نتیجه تمام آسیب‌های وارده به بیضه، فعالیت‌های بیولوژیکی بیضه تغییر کرده و علائم حاصل از آسیب بافتی مانند افزایش میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز، بر هم خوردن چرخه‌های متابولیسمی چربی و قند، کاهش میزان رشته‌های کلاژن و تغییرات فاکتورهای سرمی بروز می‌کند، همان‌گونه که در قسمت نتایج نشان داده شده و در تحقیق حاضر نیز مشهود بود. در نهایت می‌توان بیان نمود که ویتامین C و ژل‌رویال به عنوان آنتی‌اکسیدانت نقش خود را تا حد قابل قبولی ایفا کردند.

نتیجه‌گیری

با جمع‌بندی یافته‌های مطالعه حاضر چنین بر می‌آید که هیپوکسی و استرس اکسیداتیو حاصل از کم‌خونی همولیتیک القاء شده توسط فنیل‌هیدرازین موجبات آسیب‌های بافتی تغییر در روند متابولیسم سلولی و اختلالات هورمونی را فراهم می‌آورد. حال آنکه ویتامین C و ژل‌رویال به سبب دارا بودن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانت و ضدالتهابی، قادر به بهبود اثرات نامطلوب بافتی و سرمی کم‌خونی همولیتیک در بیضه می‌باشد. با این وجود، آشکارشدن کارآیی درمانی ویتامین C و ژل‌رویال در موارد بالینی کم‌خونی نیازمند مطالعات گسترده‌تری می‌باشد.

سپاسگزاری

در پایان از تمام کسانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود. این مقاله حاصل پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد بافت شناسی دانشگاه ارومیه به شماره ۱۱۷-۲د می‌باشد. نگارندگان همچنین از بخش بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه کمال تشکر و قدردانی را دارند.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

References:

1- Berger J. ***Phenylhydrazine haematotoxicity.*** J Appl Biomed 2007; 5: 125-30.

2- Puntarulo S. ***Iron, oxidative stress and human health.*** Mol Aspects Med 2005; 26(4): 299-312.

3- Ferrali M, Ciccoli L, Signorini C, Comporti M. ***Iron release and erythrocyte damage in allyl alcohol intoxication in mice.*** Biochem Pharmacol 1990; 40(7): 1485-90.

4- Friedmann B, Jost J, Weller E, Werle E, Eckardt KU, Bärtsch P, et al. ***Effects of iron supplementation on total body hemoglobin during endurance training at moderate altitude.*** Int J Sports Med 1999; 20(2): 78-85.

5- Macome JC, Costa LE, Martin IH, Taquini AC. ***Steroid biosynthesis by gonads of rats submitted to chronic hypobaric hypoxia.*** Acta Physiol Lat Am 1976; 27(5): 249-57.

6- Tararak T. ***Morphological characteristics of the pituitary-gonad system in high altitude hypoxia.*** Biull Eksp Biol Med 1991; 111(4): 432-36.

7- Rattner BA, Macmillan BT, Michael SD, Altland PD. ***Plasma gonadotrophins, prolactin and corticosterone concentrations in male mice exposed to high altitude.*** J Reprod Fertil 1980; 60(2): 431-36.

8- McCluskey ES. ***Which Vertebrates Make Vitamin C?*** Origins 1985; 12(2): 96-100.

9- du Toit R, Volsteedt Y, Apostolides Z. ***Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents.*** Toxicology 2001; 166(1): 63-9.

10- Siddique YH, Beg T, Afzal M. ***Antigenotoxic effects of ascorbic acid against megestrol acetate-induced genotoxicity in mice.*** Hum Exp Toxicol 2005; 24(3): 121-27.

11- Aly N, Kawther EG, Mahmoud F, El-Sebae AK. ***Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice.*** Pesticide Biochemistry Physio 2010; 97(1): 7-12.

12- Anbara H, Shahrooz R, Shalizar Jalali A, Razi M, Kalantari Hesari A. ***Protective effect of vitamin C against changes caused by hemolytic anemia in small intestine histoarchitecture of phenylhydrazine-treated mice.*** J Shahrekord Uni Med Sci 2015; 17(4): 70-79. [Persian]

13- Ramadan MF, Al-Ghamdi A. ***Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review.*** J Function Foods 2012; 4(1): 39-52.

14- Nakajima Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Mishima S, Hara H. ***Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities.*** BMC Complement Altern Med 2009; 9(1): 1.

15- Zamani Z, Reisi P, Alaei H, Pilehvarian AA. ***Effect of royal jelly on improving passive avoidance learning and spatial learning and memory in rats.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2012; 20(2): 211-19. [Persian]

16- Shirzad H, Sedaghat A, Ghasemi S, Shirzad M. ***Effect of Royal Jelly on Sterile Wound Healing in Balb/C Mice.*** J Armaghane Danesh 2010; 15(1): 38-46. [Persian]

17- Yang A, Zhou M, Zhang L, Xie G, Chen H, Liu Z, et al. ***Influence of royal jelly on the reproductive function of puberty male rats.*** Food Chem Toxicol 2012; 50(6): 1834-40.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

18- Hesari AK, Shahrooz R, Ahmadi A, Malekinejad H, Saboory E. ***Crocin prevention of anemia-induced changes in structural and functional parameters of mice testes.*** J App Biomedicine 2015; 13(3): 213-23.

19- Yu F, Wang Z, Ju B, Wang Y, Wang J, Bai D. ***Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E.*** Experimental Toxicologic Patho 2008; 59(6): 415-23.

20- Silici S, Ekmekcioglu O, Eraslan G, Demirtas A. ***Antioxidative effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage.*** Urolo 2009; 74(3): 545-51.

21- Koneff AA. ***Adaptation of the mallory-azan staining method to the anterior pituitary of the rat.*** Stain Technology 1938; 13(2): 49-52.

22- Humason GL. ***Animal tissue techniques.*** San Francisco: W.H. Freeman; 1962.

23- Guyton AC, Hall JE. ***Textbook of medical physiology.*** Philadelphia: W.B. Saunders; 1996.

24- Ahmadi R, Lotfizade MJ, Heidari F. ***The Effects of Cigarette and Waterpipe Smoking on Serum Levels of LH, FSH and Testosterone in Male Rats: A Comparative Study.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2013; 20(6): 752-59. [Persian]

25- Johari H, Sharifi E, Ansari N, Hosseini M, Amiri F. ***Effect of Hydro Alcoholic Ginger Extracts on the Body Weight, Testis Weight and Spermatogenesis in Male Rats Undergoing Chemotherapy with Cyclophosphamide.*** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2010; 17(5): 365-74. [Persian]

26- Bustos-Obregon E, Esveile C, Contreras J, Maurer I, Sarabia L. ***Effects of Chronic Simulated Hypobaric Hypoxia on Mouse Spermatogenesis:*** Inter J Morpho 2006; 24(3): 481-89.

27- Farias JG, Bustos-Obregon E, Orellana R, Bucarey JL, Quiroz E, Reyes JG. ***Effects of chronic hypobaric hypoxia on testis histology and round spermatid oxidative metabolism.*** Andrologia 2005; 37(1): 47-52.

28- Mitra SK, Muralidhar TS, Rao DRB. ***Experimental assessment of relative efficacy of drugs of herbal origin on sexual performance and hormone levels in alcohol exposed and normal rats.*** Phytother Res 1996; 10(4): 296-99.

29- McLachlan RI, O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, de Kretser DM, Pratis K, et al. ***Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man.*** Recent Prog Horm Res 2002; 57(1): 149-79.

30- Shan L, Hardy DO, Catterall JF, Hardy MP. ***Effects of luteinizing hormone (LH) and androgen on steady state levels of messenger ribonucleic acid for LH receptors, androgen receptors, and steroidogenic enzymes in rat Leydig cell progenitors in vivo.*** Endocrinology 1995; 136(4): 1686-93.

31- Yang J, Zhang Y, Wang Y, Cui S. ***Toxic effects of zearalenone and alpha-zearalenol on the regulation of steroidogenesis and testosterone production in mouse Leydig cells.*** Toxicol In Vitro 2007; 21(4): 558-65.

32- Bairy KL, Kumar G, Rao Y. ***Effect of acyclovir on the sperm parameters of albino mice.*** Indian J Physiol Pharmacol 2008; 53(4): 327-33.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

33- Howell SJ, Radford JA, Ryder WD, Shalet SM. ***Testicular function after cytotoxic chemotherapy: evidence of Leydig cell insufficiency.*** J Clin Oncol 1999; 17(5): 1493-98.

34- 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.

35- Sarookhani MR, Asiabanha Rezaei M, Safari A, Zaroushani V, Ziaeiha M. ***The influence of 950 MHz magnetic field(mobile phone radiation) on sex organ and adrenal functions of male rabbits.*** African J Biochemistry Res 2011; 5(2): 65-8.

36- Iafrate M, Galfano A, Macchi V, Ejituru E, Sarasin G, Porzionato A, et al. ***Varicocele is associated with an increase of connective tissue of the pampiniform plexus vein wall.*** World J Urol 2009; 27(3): 363-69.

37- Soengas JL, Sanmarttn B, Barciela P, Aloegunde M, And Rozas G. ***Icarbohydrate Metabolism In Domesticated Rainbow Trout (Oncorhynchus Mykiss) Related To Spermatogenesis.*** Camp Biochem Physiol; 1993. p. 665-76.

38- Neill AR, Masters CJ. ***Fatty acid incorporations and lipid compositions of mature and immature bovine testes.*** Int J Biochem 1974; 5(2): 137-56.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

Protective Effects of Royal Jelly and Vitamin C against Experimental Hemolytic Anemia on Sex Hormones and Histochemical Testicle Tissue Histochemistry of Adult Mice

Anbara H (DVM) [1], Shahrooz R (PHD) [2*], Malekinejad H (PHD) [3], Saadati S (DVM) [4]

[1] *Department of Comparative Histology & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.*
[2] *Department of Comparative Histology & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.*
[3] *Department of Toxicology & Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.*
[4] *Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.*

Received: 7 Oct 2015 ***Accepted:*** 31 Dec 2015

Abstract

Introduction: Phenylhydrazine (PHZ) is a well-known hemolytic compound inducing intoxication in erythrocytes. Therefore, the present study aimed to evaluate the protective effects of royal jelly and vitamin C against phenylhydrazine-induced damages in mouse testicles.

Methods: In this study, 64 adult male mice were randomly and equally assigned to eight groups. The first group received normal saline (0.1ml) intraperitoneally. The second group received PHZ (6 mg/100 gr) intraperitoneally in 48-hour intervals. The third group received vitamin C (250 mg/kg/day) intraperitoneally perday a long with PHZ. The fourth group received royal jelly (100 mg/kg/day) through gavage. The fifth group received PHZ along with vitamin C and royal jelly in similar doses to the previous groups. The sixth group received only vitamin C, the seventh group recieved only royal jelly, and finally the eighth group received similar doses of vitamin C and royal jelly. After 35 days, serum and tissue samples were taken and used for histochemical (Mallory-Azan, Alkaline phosphatase, Oil red-O and PAS), and serum analyses (Testosterone, LH, FSH).

Results: The study results revealed the histochemical changes in testicular tissue of the phenylhydrazine group, in which vitamin C and royal jelly partly improved the changes. Furthermore, serum analyses demonstrated a significant decrease in testosterone, FSH and LH levels, which this decrease was diminished by royal jelly and vitamin C.

Conclusions: Royal jelly and vitamin C seem to have the potential to decrease serum and tissue damages induced by phenylhydrazine via restraining free radicals.

Keywords: Histochemistry; Phenylhydrazine; Royal jelly; Sex hormones; Vitamin C

This paper should be cited as:
Anbara H, Shahrooz R, Malekinejad H, Saadati S. ***Protective effects of royal jelly and vitamin c against experimental hemolytic anemia on sex hormones and histochemical testicle tissue histochemistry of adult mice.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 23(12): 1140-54.

****Corresponding author: Tel: 09143482436, Email: rasoulshahrooz1@gmail.com***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]