IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

۱ (۲)، ۱۲۲-۱۱۶ تابستان ۱۳۹۶

گزارش فنی

ایجاد مدل سمیت کبدی ناشی از داروی آرسنیک تری اکساید در موش سوری بر اساس پروتوکل درمانی بیماران مبتلا به لوکمی پرومیلوسیتیک حاد

سعیده ستایی مختاری[۱و۲]، شهریار دبیری[۳]، محمودرضا حیدری[۱و۲]، علی ماندگاری[۱و۴*]

۱. بخش سم شناسی-فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۲. مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۳. بخش پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۴. مرکز تحقیقات گوارش و کبد، پژوهشکده علوم فیزیولوژی پایه و بالینی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ، کرمان

دریافت: ۶ خرداد ۹۴ پذیرش: ۲۳ شهریور ۹۴

چکیده

زمینه و هدف: داروی آرسنیک تری اکساید (ATO) در درمان سرطان خون از نوع Acute Promyelocytic Leukemia یاAPL مورد استفاده قرار می گیرد. سمیت کبدی یکی از عوارض مهم این دارو در بیماران گزارش شده است. بنابراین معرفی یک مدل مناسب حیوانی از این اثر سمی، می تواند در ارزیابی ترکیبات هپاتوپروتکتیو مفید باشد. از آنجائیکه در مطالعات حیوانی مختلف، دوزهای هپاتوتوکسیک مختلفی از آرسنیک گزارش شده بود، که اغلب تفاوتهای زیادی با هم دارند، در این مطالعه تصمیم به ایجاد یک مدل سمیت کبدی بر اساس پروتوکل رایج درمانی داروی ATO گرفته شد.

روش‌ها: بر اساس پروتوکل درمانی ATO در بیماران APL (۰/۱۴ mg/day) به مدت ۲۱ روز) و فرمول تبدیل دوز بین انسان و حیوانات آزمایشگاهی که توسط FDA معرفی شده است، دوز ۱/۷ mg/kg به عنوان دوز مورد استفاده انتخاب شد. برای دستیابی به بهترین مدت زمان تجویز ATO که بتواند بدون ایجاد مرگ و میر باعث سمیت کبدی گردد، ATO به مدت ۱۰ روز و ۲۱ روز بصورت تجویز داخل صفاقی به موشهای سوری نر تجویز گردید. در انتهای دوره های تیمار، حیوانات بیهوش شده و از آنها نمونه بافت کبد برداشته شد. پارامترهای استرس اکسیداتیو شامل فعالیت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز و میزان لیپید پراکسیداسیون در هموژنه بافت کبدی و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در نمونه سرم سنجیده شد و آسیب کبدی با مطالعات هیستوپاتولوژی بافت کبدی تعیین گردید.

یافته‌ها: نتایج هیستوپاتولوژی نشان دهنده وارد آمدن آسیب های جدی به بافت کبد در دوره ۲۱ روزه تیمار با آرسنیک تری اکساید بود. این آسیب با افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی ($p < ۰/۰۵$)، افزایش آنزیم کاتالاز ($p < ۰/۰۵$) و سوپراکسید دیسموتاز ($p < ۰/۰۱$) در گروه تیمار ۲۱ روزه با آرسنیک نسبت به گروه کنترل همراه بود.

نتیجه‌گیری: سمیت کبدی ناشی از تیمار موشها با آرسنیک تری اکساید با دوز ۱/۷ mg/kgو بمدت ۲۱ روز مشابه سمیت کبدی این دارو در انسان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آرسنیک تری اکساید، استرس اکسیداتیو، سمیت کبدی

مقدمه

ترکیبات آرسنیک جزو آلاینده های محیطی هستند که اثرات مضری روی جوامع بشری و طبیعت بر جای می گذارند. این اثرات بیشتر از طریق غذا، دارو ها، سموم و نیز آب آشامیدنی اعمال می شود. آرسنیک یکی از قوی ترین و فراوان ترین مواد سرطان زای موجود در طبیعت است و در دو فرم سه و پنج ظرفیتی یافت می شود [۱]. خطرات آرسنیک به اندازه ای تهدید کننده است که سازمان بهداشت جهانی (WHO) حد مجاز آرسنیک در آب های آشامیدنی را mg/L ۰/۰۵ اعلام کرده است [۲].

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: alimandegary@kmu.ac.ir
وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir
پست الکترونیکی: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

آرسنیک تری اکساید (ATO) به عنوان یکی از درمان‌های مؤثر برای بیماری Acute promyelocytic leukemia یا APL معرفی شده است و در ایران نیز این دارو چندین سال است که استفاده می شود [۳، ۴]. مطالعات زیادی نشان داده اند که این دارو همچنین می تواند گزینه مناسبی برای درمان تعدادی از دیگر سرطان های از جمله سرطان سینه، سرطان سلول‌های کبد، سرطان ریه و سرطان پروستات باشد. هرچند این دارو اثرات درمانی بسیار خوبی داشته است ولی بروز بعضی عوارض جانبی می تواند درمان را با مشکل همراه سازد [۳، ۵]. از عوارض مهم ذکر شده برای داروی آرسنیک تری اکساید می‌توان به احتباس مایعات، افزایش گلبول‌های سفید، علائم گوارشی شامل (تهوع، استفراغ و اسهال)، خستگی، افزایش قند خون، نوروپاتی و سمیت کبدی اشاره نمود. از جمله عوارض مهم این دارو می توان به سمیت این ماده برای سلول‌های کبدی اشاره کرد [۳، ۶]. سمیت کبدی آرسنیک را می توان به توانایی این فلز به واکنش با گروه های سولفیدریل پروتئین‌ها ربط داد که این اتصال باعث تغییر فعالیت در بعضی مسیرهای سیگنالینگ سلول بخصوص مسیر Mitogen Activated Protein Kinases (MAPKs) می شود [۷]. یکی دیگر از مکانیسم های درگیر در سمیت آرسنیک، تحریک سنتز رادیکال های آزاد و القاء استرس اکسیداتیو می باشد [۷]. استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین تولید گونه های فعال اکسیژن و توانایی یک سیستم بیولوژیک برای از بین بردن این ترکیبات است که نتیجه این عدم تعادل آسیب رسیدن به سیستم بیولوژیک می باشد. ذکر این نکته ضروری است سنتز رادیکال آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو توسط داروی آرسنیک تری اکساید، نه تنها مکانیسم سمیت این دارو بوده بلکه یکی از مکانیسم‌های درمانی این دارو در سرطان نیز می باشد [۳، ۴، ۷].

با توجه به نیاز به یک مدل حیوانی مناسب از سمیت کبدی ATO جهت ارزیابی ترکیبات هپاتوپروتکتیو، در این مطالعه تصمیم به معرفی یک مدل سمیت کبدی حیوانی گرفته شد تا بیشترین هماهنگی را با پروتوکل درمانی ATO در انسان دارا باشد.

مواد و روش‌ها

آرسنیک تری اکسید (ATO) از شرکت سینا دارو تهیه و در نرمال سالین استریل حل گردید. مالون دی آلدهید (MDA)، n–بوتانول، تیو باربیتوریک اسید (TBA)، تری پیریدیل تیازین (TPTZ)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و پیروگالل از شرکت Merck آلمان خریداری گردید.

در این مطالعه موش های سوری نر در محدوده وزنی ۲۵–۱۸ گرم از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه شدند. موش ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی، در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی گراد و با دسترسی آزاد به آب و غذا در آزمایشگاه مطالعات حیوانی دانشکده داروسازی کرمان نگهداری شدند. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمان رعایت شد.

حیوانات به چهار گروه، که هر گروه شامل ۶ موش بود تقسیم شدند:

گروه اول: به مدت ۱۰ روز نرمال سالین با دوز ۱۰ml/kgرا به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه دوم: به مدت ۱۰ روز آرسنیک تری اکساید با دوز ۱/۷ ml/kg را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه سوم: به مدت ۲۱ روز نرمال سالین با دوز ۱۰ ml/kg را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه چهارم: به مدت ۲۱ روز آرسنیک تری اکساید با دوز ۱/۷ ml/kg را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

۲۴ ساعت پس از آخرین دوز تیمار حیوانات با استفاده از کتامین به طور کامل بیهوش شدند وکبد از حفره شکمی خارج شده و عمل پرفیوژن با نرمال سالین سرد انجام گردید. قسمتی از کبد جدا و در فرمالین ۱۰٪ برای مطالعات هیستوپاتولوژی فیکس گردید و جهت رنگ آمیزی با روش هماتوکسیلین ائوزین (H & E)، به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال گردید. جهت سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم، بعد از سانتریفوژ نمونه های خون منعقد شده در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه در rpm ۱۰۰۰۰، سرم جدا شده و در ۸۰– درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

قسمت دیگر بافت کبد برای انجام تست های مربوط به آنزیم های کبدی (SOD, CAT) و نیز انجام تست TBARSدر میکروتیوب قرار گرفته و با استفاده از نیتروژن مایع فریز شد و در ۸۰– درجه سانتی گراد نگهداری شد.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

در روز یازدهم از گروه های اول و دوم و در روز بیست و دوم از گروه‌های سوم و چهارم در شرایط بیهوشی کامل نمونه‌برداری شد. بافت کبد پس از شستشو با نرمال سالین سرد، به وسیله فرمالین ۱۰٪ تثبیت و توسط میکروتوم به برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تبدیل شد و به روش (H&E) رنگ آمیزی گردید. آسیب های کبدی به طور نیمه کمی و به صورت نرمال (-)، خفیف (+)، متوسط (++) و شدید (+++) دسته بندی شدند.

مقدار تقریبی ۴۰ میلی گرم از نمونه کبد گروه های مختلف در بافر فسفات (pH برابر ۷/۴) به طور کامل هموژنه شد و با دور ۳۵۰۰rpm به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ و مایع رویی جدا سازی گردید. به منظور دست یابی به نمونه هایی با میزان پروتئین یکسان برای سایر آزمایشات، میزان پروتئین نمونه ها با روش برادفورد تعیین شد.

اندازه گیری مقدار MDA در نمونه کبد

پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان یکی از اصلی ترین نشانه های آسیب سلولی در نظر گرفته می شود که به راحتی با سنجش میزان MDA نمونه قابل اندازه گیری است.در این مطالعه از روش TBARS برای اندازه گیری میزان MDA نمونه کبد استفاده می شود که یک روش رنگ سنجی است و طول موج مورد استفاده در آن ۵۳۲ نانومتر می باشد. به طور خلاصه، ۲۰۰ میکروگرم پروتئین با ۱۰۰۰ میکرولیتر فسفریک اسید M ۰/۰۵ و ۸۰۰ میکرولیتر TBA ۰/۲۲٪ مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از سرد شدن مخلوط حاصل، رنگ تولید شده توسط n-بوتانول استخراج شده و در طول موج ذکر شده اندازه‌گیری می‌شود. غلظت MDA به صورت µM/µg پروتئین گزارش شد.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام نمونه

واکنش FRAP یک واکنش ساده برای سنجش قدرت آنتی اکسیدانی تام می باشد که در در طی این واکنش در شرایط pH اسیدی، آهن (III) تری پیریدیل تیازین به آهن (II) تری پیریدیل تیازین تبدیل شده و رنگ آبی تولید می کند که در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه گیری می گردد. به طور خلاصه محلول آماده FRAP به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید و پس از طی این مدت زمان نمونه سرم به محلول اضافه شده و مجددا به مدت ۱۰ دقیقه در همین دما انکوبه شد. پس از پایان انکوباسیون دوم، جذب نمونه در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه گیری گردید و نتایج به صورت غلظت Fe^{2+} بر حسب µM گزارش می شود.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نمونه

آنزیم کاتالاز یکی از آنزیم های آنتی اکسیدان در سلول های پستاندار و غیر پستاندار هوازی است که دارای سیستم سیتوکروم هستند. فعالیت کاتالاز بافت های مختلف متفاوت است. این مقدار در بافت های کبد و کلیه بسیار زیاد و در بافت پیوندی کمترین مقدار است. فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه گیری کاهش جذب محلول حاویH_2O_2 که به عنوان سوبسترای آنزیم کاتالاز موجود در نمونه هموژنه کبدی در این آزمایش در نظر گرفته می شود، در طول موج ۲۴۰ نانومتر و در دمای اتاق، به دست می‌آید.

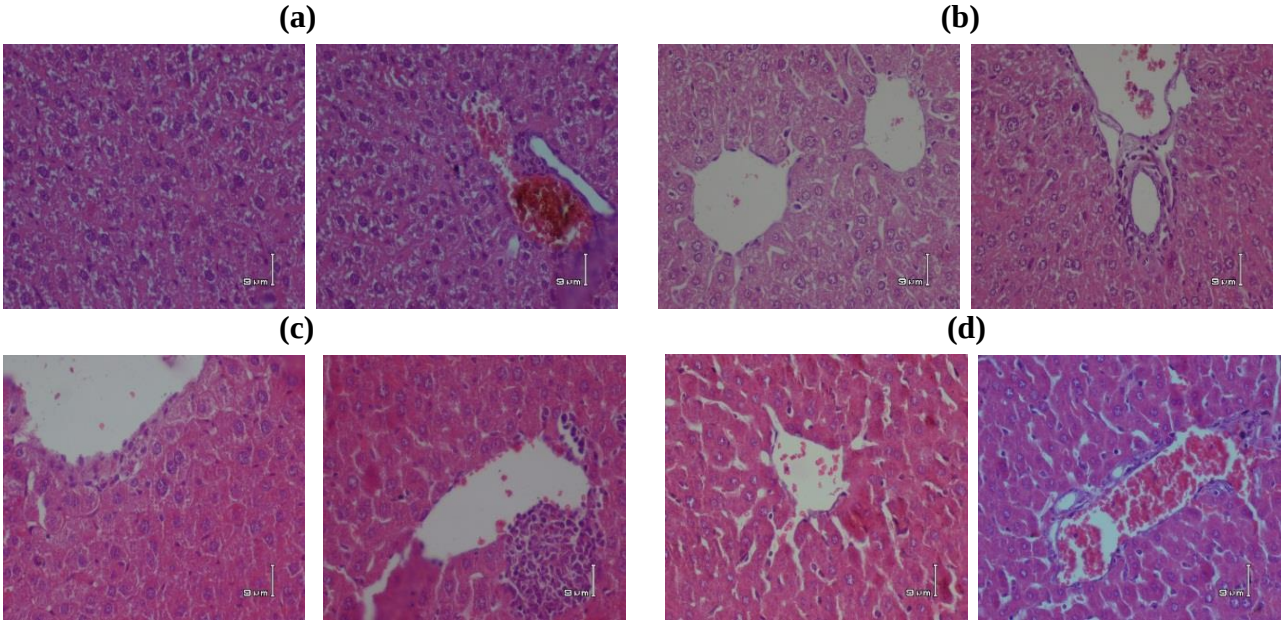
اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نمونه

ایجاد سمیت توسط رادیکال های اکسیژن یکی از عوامل مهم در ایجاد سرطان ها و پیری می باشد. یکی از رادیکال های آزاد اکسیژن، آنیون سوپراکسید می باشد که باید توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از بین برود .فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از اندازه گیری کاهش سرعت اکسید شدن پیروگالل در حضور آنزیم موجود در نمونه هموژنه کبدی، در طول موج ۴۲۰ نانومتر و در دمای اتاق به دست می آید.

یافته‌ها

شکل ۱ نشان دهنده نتایج حاصل از مطالعات بافت شناسی در گروه های ۱۰ و ۲۱ روزه تیمار با آرسنیک تری اکساید و نرمال سالین به عنوان حلال آرسنیک تری اکساید و گروه کنترل می باشد. تیمار ۲۱ روزه با آرسنیک تری اکساید موجب وارد آمدن آسیب های شدیدی از جمله دژنرسانس آبکی در فضای پری پورتال، آپوپتوز و تجمع سلول های دفاعی در اطراف فضای پورت در بافت کبد شده است. این در حالی است که بررسی های بافت شناسی برای گروه کنترل، سالم بودن بافت کبدی را در هر دو گروه ۱۰ و ۲۱ روزه تایید می کند و

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



شکل ۱– مقایسه اثر آرسنیک تری اکساید بر بافت شناسی کبد در دوره های تیمار ۱۰ و ۲۱ روزه. a) اثر تجویز داخل صفاقی آرسنیک تری اکساید با دوز ۱/۷ mg/kg به مدت ۱۰ روز، این دوز از آرسنیک تری اکساید باعث وارد آمدن آسیب اندک به بافت کبد شده است. b) اثر تجویز داخل صفاقی نرمال سالین با دوز ۱۰ ml/kg به مدت ۱۰ روز، در این گروه هیچگونه آسیبی به بافت کبد وارد نشده است. c) اثر تجویز داخل صفاقی آرسنیک تری اکساید با دوز ۱/۷ mg/kg به مدت ۲۱ روز، این دوز باعث آسیب های جدی از جمله تجمع سلول های دفاعی، دژنرسانس آبکی و آپوپتوز در بافت کبد شده است. d) اثر تجویز داخل صفاقی نرمال سالین با دوز ۱۰ ml/kg به مدت ۲۱ روز، در این گروه هیچگونه آسیبی به بافت کبد وارد نشده است.

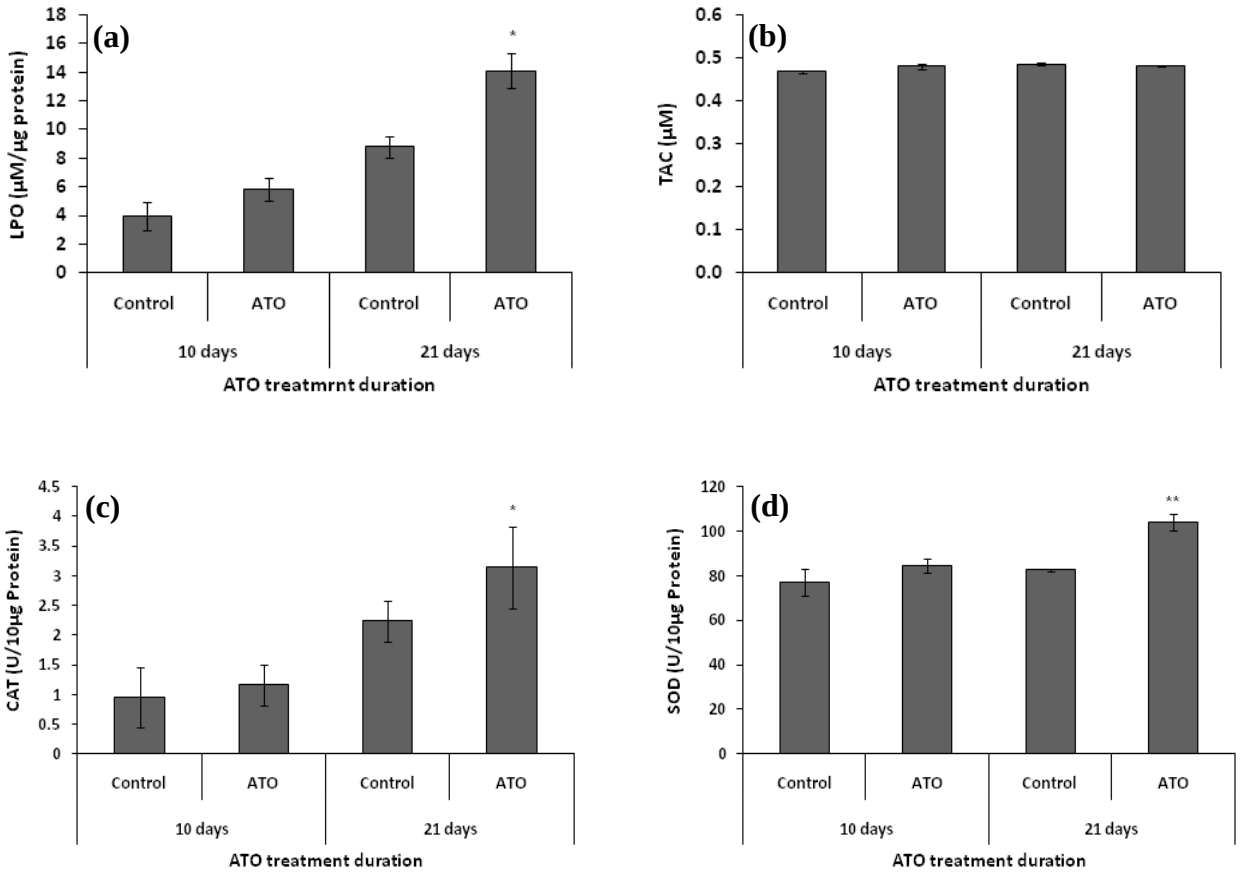
نیزدر بررسی های بافت شناسی گروه تیمار ۱۰ روزه با آرسنیک تری اکساید آسیب جدی مشاهده نشد. همانطور که در نمودار ۱a مشاهده می شود، تیمار ۲۱ روزه با آرسنیک تری اکساید نسبت به گروه کنترل خود (نرمال سالین ۲۱ روزه) باعث افزایش قابل توجه میزان مالون دی آلدهید یاMDA در بافت کبد شده است (p <۰/۰۵). در حالیکه این افزایش در گروه تیمار ۱۰ روزه مشاهده نشده و نیز مصرف ۱۰ روزه آرسنیک موجب افزایش قابل توجه MDA در مقایسه با گروه کنترل خود (نرمال سالین ۱۰ روزه) نشده است. نتایج حاصل از بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم حاکی از عدم وجود ارتباط معنادار بین گروه های آزمایش می باشد (نمودار ۱ b). فعالیت آنزیم در گروه ۲۱ روزه تیمار با آرسنیک تری اکساید نسبت به گروه کنترل خود افزایش قابل توجهی داشته (p <۰/۰۵) اما این روند در گروه تیمار ۱۰ روزه با آرسنیک تری اکساید مشاهده نشد (نمودار ۱ c). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه ۲۱ روزه تیمار با آرسنیک تری اکساید دارای افزایش قابل توجه نسبت به گروه کنترل خود بود (p <۰/۰۱) که این تغییر در گروه ۱۰ روزه تیمار از لحاظ آماری معنی دار نشد (نمودار ۱ d).

بحث

آرسنیک تری اکساید (ATO) در سالهای اخیر جهت درمان بیماری APL از FDA تأییدیه گرفته است و در ایران نیز کاربرد گسترده ای یافته است [۳، ۴]. هرچند این دارو اثرات درمانی بسیار خوبی داشته است ولی بروز بعضی عوارض جانبی می تواند درمان را با مشکل همراه سازد [۳، ۶]. از عوارض مهم ذکر شده برای داروی آرسنیک تری اکساید می توان به احتباس مایعات، افزایش گلبول‌های سفید، علائم گوارشی شامل (تهوع، استفراغ و اسهال)، خستگی، افزایش قند خون، نوروپاتی و سمیت کبدی اشاره نمود [۳، ۶]. به نظر می رسد که ایجاد یک مدل حیوانی از سمیت کبدی ATO می تواند به بررسی و تحقیق در مورد ترکیبات کاهش دهنده این عارضه کمک نماید.

در این مطالعه، برای دست یابی به بهترین مدل سمیت کبدی با داروی ATO، دوز درمانی مورد استفاده برای بیماران مبتلا به سرطان خون APL را با محاسبات بدست آمده از فعالیت Reagan-Shaw و همکارانش [۸] به دوز مورد نظر برای موش تبدیل کرده و برای دست یابی به بهترین مدت زمان تیمار با آرسنیک، دو دوره ۲۱ روزه (مطابق با طول دوره درمان بیماران APL) و ۱۰ روزه (معادل نصف طول این دوره

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]



نمودار ۱– مقایسه اثر آرسنیک تری اکساید بر فاکتور های استرس اکسیداتیودر دوره های تیمار ۱۰ و ۲۱ روزه. بعد از تجویز داخل صفاقی آرسنیک تری اکساید (ATO) با دوز ۱.۷ mg/kg به مدت ۱۰ روز و ۲۱ روز به موش های آزمایشگاهی، a) میزان پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد، b) ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم، c) فعالیت آنزیم کاتالاز بافت کبد، d) فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بافت کبد تعیین گردید. برای هر یک ار دوره‌های زمانی، یک گروه کنترل منفی در نظر گرفته شد که نرمال سالین (۱۰ml/kg) به عنوان حلال آرسنیک و به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است. در هر گروه ۶ موش مورد آزمایش قرار گرفت. **: $p < ۰/۰۱$ و *: $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل.

برای کاهش مرگ و میر موش ها در دوره های تیمار طولانی) انتخاب گردید. بررسی های پاتولوژیک نمونه های کبد در دوره های تیمار آرسنیک (۱۰ و ۲۱ روزه) نشان داد که بافت کبد در تیمار ۱۰ روزه آسیب شدیدی نسبت به گروه کنترل خود نداشته است، اما در دوره ۲۱ روزه آسیب کبدی جدی و کاملا نسبت به گروه کنترل خود محسوس می باشد.

برای مشخص کردن نقش استرس اکسیداتیو در آسیب های کبدی ایجاد شده، بیومارکرهای استرس اکسیداتیو شامل میزان لیپید پراکسیداسیون بافت کبد، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم، فعالیت آنزیمهای کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در نمونه های بافتی موشها تعیین گردید. اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی در تیمار ۲۱ روزه نسبت به گروه کنترل خود افزایش معنی داری نشان داد. این در حالی است که در گروه تیمار ۱۰ روزه آرسنیک این تفاوت معنی دار نشد.

همچنین بالاتر بودن میزان پراکسیداسیون لیپیدی در کبد موش های کنترل ۲۱ روزه نسبت به گروه آرسنیک ۱۰ روزه، می‌تواند مربوط به تعداد دفعات بیشتر تزریق داخل صفاقی باشد. بررسی مطالعات گذشته بر روی مدل های سمیت کبدی ناشی از آرسنیک نیز نشان دهنده این است که مسمومیت با این عنصر باعث افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کبد می‌شود [۶]. انجام تست FRAP و بررسی نتایج حاصل از آن در مطالعه اخیر، نشان می دهد که رابطه معنی داری بین قدرت آنتی اکسیدانی پلاسما در گروه های تیمار ۱۰ و ۲۱ روزه و گروه های کنترل مشاهده نشد. مطالعه و بررسی فعالیت های گذشته حاکی از این است که مسمومیت با آرسنیک می تواند باعث کاهش قدرت آنتی اکسیدانی در پلاسما گردد [۹]. همانطور که اشاره شد یکی از مکانیزم های اصلی سمیت آرسنیک، ایجاد استرس اکسیداتیو می باشد. از سوی دیگر

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

جدول ۱– مقایسه شدت سمیت ایجاد شده توسط آرسنیک تری اکساید در دوره های زمانی ۱۰ و ۲۱ روزه

مدت تیمار	گروه	دژنزسانس آبکی	تجمع سلول دفاعی	آپوپتوز	شدت سمیت
۱۰ روز	NS 10 ml/kg	–	–	–	–
	ATO 1.7 mg/kg	–	+	–	+
۲۱ روز	NS 10 ml/kg	–	–	–	–
	ATO 1.7 mg/kg	+	+	+	+++

NS: Normal saline; ATO: Arsenic trioxide; -: normal, +: mild, ++: moderate, +++: severe

برخی منابع نشان می دهند که در مسمومیت کبدی آرسنیک میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش پیدا می‌کند [۶، ۱۰]. بررسی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در کبد موش‌های آزمایشگاهی در مطالعه اخیر نشان دهنده افزایش معنی دار فعالیت این آنزیم در دوره تیمار ۲۱ روزه نسبت به گروه کنترل ۲۱ روزه می باشد. در دوره تیمار ۱۰ روزه نیز افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مشاهده شد که معنی دار نبود. نتایج حاصل از بررسی مطالعات پیشین نشان دهنده افزایش فعالیت آنزیم یاد شده در برخی منابع و کاهش در برخی دیگر است [۶، ۱۰].

نتیجه‌گیری

برآیند آزمایشات بالا نشان دهنده این می باشد که دوره ۲۱ روزه تیمار موشها با آرسنیک تری اکساید با القاء استرس اکسیداتیو و آپوپتوز می تواند به عنوان مدل مناسب جهت القای سمیت کبدی مورد استفاده قرار گیرد.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهم نویسندگان

س.س.م: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ ش.د: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ م.ر.ح: مشاوره؛ ع.م: ایده، طراحی، و نظارت بر حسن اجرای مطالعه.

فهرست منابع

[1] Rossman TG, Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach. ***Mutat Res*** 533 (2003) 37-65.

[2] Kumar M, Puri A, A review of permissible limits of drinking water. ***Indian J Occup Environ Med*** 16 (2012) 40–44.

[3] Mandegary A, Hosseini R, Ghaffari SH, Alimoghaddam K, Rostami S, Ghavamzadeh A, Ghahremani MH, The expression of p38, ERK1 and Bax proteins has increased during the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide. ***Ann Oncol*** 21 (2010) 1884–1890.

[4] Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S, Ferrara F, Fazi P, Cicconi L, Di Bona E, Specchia G, Sica S, Divona M, Levis A, Fiedler W, Cerqui E, Breccia M, Fioritoni G, Salih HR, Cazzola M, Melillo L, Carella AM, Brandts CH, Morra E, von Lilienfeld-Toal M, Hertenstein B, Wattad M, Lübbert M, Hänel M, Schmitz N, Link H, Kropp MG, Rambaldi A, La Nasa G, Luppi M, Ciceri F, Finizio O, Venditti A, Fabbiano F, Döhner K, Sauer M, Ganser A, Amadori S, Mandelli F, Döhner H, Ehninger G, Schlenk RF, Platzbecker U; Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto; German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group; Study Alliance Leukemia. ***N Engl J Med*** 369 (2013) 111-121.

[5] Niu C1, Yan H, Yu T, Sun HP, Liu JX, Li XS, Wu W, Zhang FQ, Chen Y, Zhou L, Li JM, Zeng XY, Yang RR, Yuan MM, Ren MY, Gu FY, Cao Q, Gu BW, Su XY, Chen GQ, Xiong SM, Zhang TD, Waxman S, Wang ZY, Chen Z, Hu J, Shen ZX, Chen SJ, Studies on treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide: remission induction, follow-up, and molecular monitoring in 11 newly diagnosed and 47 relapsed acute promyelocytic leukemia patients. ***Blood*** 94 (1999) 3315-3324.

[6] Mathews V, Binu P, Paul MS, Abhilash M, Manju A, Nair RH, Hepatoprotective efficacy of curcumin against arsenic trioxide toxicity. ***Asian Pacific J Tropical Biomed*** 2 (2012) S706–S711.

[7] Singh AP, Goe RK, Kaur T, Mechanisms pertaining to arsenic toxicity. ***Toxicol Int*** 18 (2011) 87–93.

[8] Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N, Dose translation from animal to human studies revisited. ***FASEB J*** 22 (2008) 659-661.

[9] Manna P, Sinha M, Sil PC, Arsenic-induced oxidative myocardial injury: protective role of arjunolic acid. ***Arch Toxicol*** 82 (2008):137–149.

[10] Mershiba SD, Dassprakash MV, Saraswathy SD, Protective effect of naringenin on hepatic and renal dysfunction and oxidative stress in arsenic intoxicated rats. ***Mol Biol Rep*** 40 (2013) 3681-3691.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]

Technical report

Development of Arsenic trioxide-induced hepatotoxicity model in mice according to the treatment protocol of acute promyelocytic leukemia

Saeedeh Sattaee Mokhtari[1,2], Shahriar Dabiri[3], Mahmoud-Reza Heidari[1,2], Ali Mandegary[2,4*]

1. Pharmaceutics Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3. Department of Pathology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
4. Gastroenterology and Hepatology Research Center, Institue of Basic and Clinical Physiology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Received: 26 May 2015 Accepted: 4 September 2015

Abstract

Background and aim: Arsenic trioxide (ATO) is used in treatment of APL. One of the major side effects of this drug is liver toxicity. So, introduction of an animal model for this toxic effect could be useful to evaluate hepato-protective compounds. As different hepatotoxic doses of arsenic have been reported in the literature, in this study we decided to develop a model of liver toxicity based on the protocol of ATO therapy in APL patients.

Methods: Considering the protocol of ATO therapy in APL patients (0.14 mg/day for 21 days) and FDA-suggested formula for dose translation between humans and animals, dose 1.7 mg/kg/day was used. To achieve the best time to take ATO administered without causing mortality, ATO was administered for 10 and 21 days to the male mice. At the end of the treatment period, liver tissue samples were dissected and then homogenized in physiologic buffer. The oxidative stress parameters including catalase and superoxide dismutase activity, lipid peroxidation and antioxidant capacity of the samples were determined using standard protocols. Damage to the liver tissue was determined by histopathological studies.

Results: Histopathological examinations indicated severe damage to the liver in the 21-day treated period. The damage was accompanied with significant increase in the lipid peroxidation ($p < 0.05$), catalase activity ($p < 0.05$), and superoxide dismutase activity ($p < 0.01$) in the ATO treated mice for 21days.

Conclusion: Treatment of mice with ATO 1.7 mg/kg for 21 days could resemble ATO-induced hepatotoxicty in human.

Keywords: Arsenic trioxide, Liver toxicity, Oxidative stress

Please cite this article as follows:
Sattaee Mokhtari S, Dabiri S, Heidari MR, Mandegary A, Development of Arsenic trioxide-induced hepatotoxicity model in mice according to the protocol of acute promyelocytic leukemia (APL) treatment. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 1 (2017) 116-122.

*Corresponding author e-mail: alimandegary@kmu.ac.ir
Available online at: http://ijpp.phypha.ir
E-mail: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-17]