مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۷، شماره ۴/ مهر و آبان ۱۳۹۴/ ۷۹-۷۰

مقاله پژوهشی

ارزیابی نقش محافظتی ویتامین C در برابر تغییرات ناشی از کم خونی همولیتیک در ساختار بافتی روده کوچک موش های تحت درمان با فنیل هیدرازین

حجت عنبرا[۱]، رسول شهروز[۱]، علی شالیزار جلالی[۱*]، مزدک رازی[۱]، علی کلانتری حصاری[۲]

[۱]گروه علوم پایه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛ [۲]دانشجو، گروه علوم پایه، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۱۵

چکیده:

زمینه و هدف: **هیپوکسی ناشی از کم خونی همولیتیک می تواند منجر به اختلال در عملکرد اندام های متعددی گردد. مطالعه حاضر جهت ارزیابی کارایی ویتامین C که دارای خاصیت آنتی اکسیدانت می باشد، در برابر تغییرات ناشی از کم خونی همولیتیک در ساختار بافتی روده کوچک موش های تحت درمان با فنیل هیدرازین صورت پذیرفت.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی، موش های نر بالغ به صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ سری تقسیم شدند. ۲ گروه از موش ها فنیل هیدرازین را به میزان ۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت به مدت ۳۵ روز دریافت کردند. یکی از گروه های فوق، ویتامین C را به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی ۴ ساعت قبل از فنیل هیدرازین دریافت کردند. گروه شاهد و گروهی که تنها ویتامین C را دریافت می کرد نیز در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، قسمت های مختلف روده کوچک جدا، مقاطع بافتی تهیه و فراسنجه های مورفومتریک ارزیابی گردید.**

یافته ها: **فنیل هیدرازین کاهش معنی داری را در عرض پرزهای دئودنوم و ژژنوم، عمق کریپت های دئودنوم، میزان پراکندگی سلول های جامی شکل پرزهای ایلئوم و طول پرزهای هر ۳ قسمت روده کوچک موجب گشت ($P<0/05$). ویتامین C موجب بهبود قابل ملاحظه ای در فراسنجه های فوق گردید.**

نتیجه گیری: **به نظر می رسد ویتامین C می تواند عوارض بافتی ناشی از کم خونی همولیتیک را در روده کوچک موش بهبود بخشد.**

واژه های کلیدی: **کم خونی همولیتیک، فنیل هیدرازین، ویتامین C، روده کوچک، موش.**

مقدمه:

کم خونی ها، به خصوص کم خونی های همولیتیک می توانند برگرفته از عوامل مختلفی باشند که از این عوامل می توان به عوامل شیمیایی یا صنعتی مانند برخی سموم تجاری استفاده شده در محصولات کشاورزی و غذایی، استفاده ناصحیح از برخی داروها و برخی عوامل طبیعی مانند سم حیوانات و انگل‌ها اشاره کرد که عوامل مذکور هر یک به نوبه خود می توانند منجر به لیز در گلبول‌های قرمز و بروز کم خونی همولیتیک شوند. یکی از عوارض ناشی از کم خونی همولیتیک افزایش میزان آهن بافتی در اثر لیز گلبول های قرمز و کاهش اکسیژن (هیپوکسی) ناشی از این نوع کم خونی می باشد. میزان آهن داخل سلولی به طور دقیق توسط مکانیسم های غشاء و داخلی سلول تنظیم می شود، نشان داده شده است که افزایش میزان این ماده در داخل و خارج سلول موجب ایجاد تنش اکسیداتیو و آسیب به چربی غشای سلول و اندامک های آن می شود (۶-۱). از سوی دیگر، حدود ۲۰ میلیون انسان در ارتفاعات بیش از ۳۰۰۰ متر از سطح دریا و تحت شرایط کمبود اکسیژن زندگی می‌کنند. بررسی ها نیز نشان می دهند که جمعیت افراد شاغل در ارتفاعات

نویسنده مسئول: ارومیه- دانشگاه ارومیه- گروه علوم پایه- تلفن: ۰۹۱۱۱۱۶۶۰۰۴، E-mail:ali_shalizar@yahoo.com

www.SID.ir

افزایش یافته است. در دهه گذشته مطالعات متعددی در رابطه با رشد، تکامل و تولید مثل تحت شرایط هیپوکسی انجام پذیرفته است (۷،۳). به خوبی مشخص شده است که کم خونی و خونرسانی مجدد، می تواند در اندام های مختلف آسیب ایجاد کند (۹،۸)؛ همچنین مطالعات بالینی و تجربی نشان داده است که هیپوکسی و اکسیژن رسانی مجدد به روده آسیب وارد می کند و می تواند نقش مهمی در بیماری زایی عفونت ها، التهاب های سیستمیک و سندروم های اختلال عملکرد در اندام های مختلف ایفاء کند (۱۰).

فنیل هیدرازین که برای نخستین بار در سال ۱۸۷۵ میلادی از هیدرازین تهیه شده است، جهت آماده سازی ایندول ها (Indoles) که یک ماده حد واسط برای تولید رنگ های مختلف و مواد دارویی می باشد، مورد استفاده قرار می گیرد؛ همچنین برای تولید فنیل هیدرازون ها (Phenyl hydrazones) از ترکیبات طبیعی که به منظور تشخیص و تفکیک قندهای ساده از یکدیگر به کار می روند، از فنیل هیدرازین استفاده می شود (۱۲،۱۱). بر اساس بررسی های به عمل آمده فنیل هیدرازین به واسطه آسیب مستقیم به غشای گلبول های قرمز اثرات خود را ایجاد می کند (۱۳) و به عنوان ماده ای مناسب جهت القاء کم خونی همولیتیک و مطالعه مکانیسم های کم خونی مد نظر قرار می گیرد (۱۴). علاوه بر این، این ماده به عنوان یک اکسیدانت قوی عوارض متعددی نظیر اختلالات کبدی، کلیوی، دستگاه عصبی مرکزی، خود ایمن و نیز بد خیمی ها را موجب می گردد (۱۵).

ویتامین C یا ال- آسکوربات ریز مغذی 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 ماهیان می باشد. مقدار ویتامین C یک شاخص اساسی برای تعریف ارزش تجاری میوه ها و سبزیجات می باشد. ویتامین C ماده ای جامد، سفید رنگ، محلول در آب، غیر سمی و دارای استر حلقوی می باشد و در محیط آبی هیدرولیز می‌شود و حالت اسیدی پیدا می کند (۱۷،۱۶). این ویتامین که در واکنش‌های شیمیایی بدن یک حمل کننده الکترون محسوب می شود، به عنوان یکی از مهم ترین آنتی اکسیدانت ها در خنثی سازی رادیکال های آزاد و مهار تنش اکسیداتیو نقش دارد (۱۹،۱۸).

بر این اساس، هدف مطالعه حاضر ارزیابی عوارض سوء احتمالی کم خونی همولیتیک القاء شده توسط فنیل هیدرازین بر روی ساختار بافتی روده کوچک موش و برآورد نقش محافظتی ویتامین C در راستای بهبود این ناهنجاری ها می باشد.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی، از فنیل هیدرازین (Sigma Aldrich P6926) به عنوان عامل ایجاد کننده کم خونی همولیتیک استفاده شد (۲۱،۲۰،۱۳). ویتامین C (500 mg/5 ml) نیز از شرکت دارو پخش (تهران- ایران) تهیه گردید؛ سپس تعداد ۳۲ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد Balb/c از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه و حیوانات تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۱۰±۵۰ درصد نگهداری شدند. تمام حیوانات در شرایط تغذیه ای یکسان با ذرت، گندم، جو و پلت به نسبت های برابر تغذیه شده و امکان دسترسی آزاد به آب نیز برای تمامی آن ها وجود داشت. همه موارد اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی نیز در حین انجام این مطالعه به دقت رعایت شد. متعاقب ۲ هفته سازگاری با شرایط محیط، حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ سری به شکل زیر تقسیم شدند:

گروه شاهد: حیوانات این گروه روزانه ۰/۱ میلی لیتر به صورت داخل صفاقی سرم فیزیولوژی دریافت کردند. گروه فنیل هیدرازین: حیوانات این گروه فنیل هیدرازین را به میزان ۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم

Archive of SID
www.SID.ir

وزن بدن به صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت به منظور ایجاد کم خونی همولیتیک دریافت کردند (۲۰). گروه فنیل هیدرازین + ویتامین C: حیوانات این گروه علاوه بر فنیل هیدرازین، ویتامین C را نیز به میزان ۲۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی چهار ساعت قبل از تجویز فنیل هیدرازین دریافت نمودند (۲۲). گروه ویتامین C: حیوانات این گروه ویتامین C را به میزان ۲۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. مدت زمان این مطالعه نیز ۳۵ روز در نظر گرفته شد.

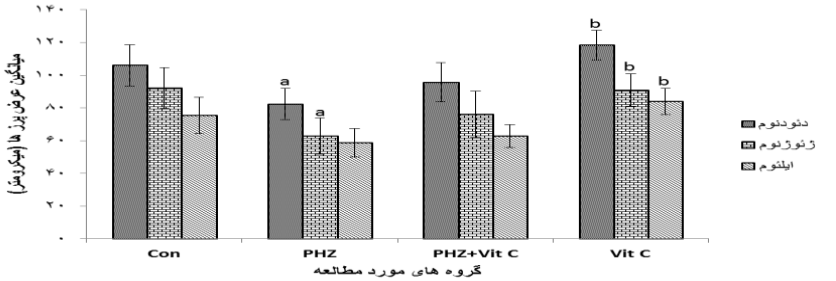
۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، متعاقب آسان کشی حیوانات و تحت شرایط استریل، محوطه شکمی باز و نمونه های بافتی مربوط به قسمت های مختلف روده کوچک به دقت جدا سازی و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی، جهت تهیه مقاطع بافتی داخل فرمالین ۱۰٪ بافری قرار داده شدند. پس از ثبوت بافت و انجام مراحل پاساژ بافتی و قالب گیری، از بلوک ها مقاطع ۷ میکرومتری تهیه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین صورت پذیرفت.

ارزیابی های مورفومتریک طول و عرض پرز و عمق کریپت روده با استفاده از عدسی چشمی مدرج صورت پذیرفت؛ همچنین، تعداد سلول های جامی شکل و غیر جامی شکل و نیز میزان پراکندگی سلول های مذکور در هر پرز روده مورد ارزیابی قرار گرفت.

داده های این مطالعه با استفاده از بسته نرم افزاری SPSS مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند. جهت مقایسه بین گروه ها آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست های مقایسه ای چندگانه توکی مورد استفاده قرار گرفت. مقدار $P<۰/۰۵$ برای تعیین سطح معنی داری بین گروه ها در نظر گرفته شد.

یافته ها:

عرض پرزهای دو قسمت ابتدایی روده کوچک (دوازدهه و ژژنوم) در گروه فنیل هیدرازین در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری کاهش معنی داری داشتند ($P<۰/۰۵$). در حالی که عرض پرزهای ایلئوم این گروه فاقد اختلاف معنی دار با گروه شاهد بود؛ همچنین عرض پرزهای هر سه قسمت روده کوچک گروه دریافت کننده ویتامین C به تنهایی، دارای افزایش معنی داری با گروه فنیل هیدرازین بود ($P<۰/۰۵$). سایر گروه ها فاقد اختلاف معنی دار با یکدیگر بودند (نمودار شماره ۱).



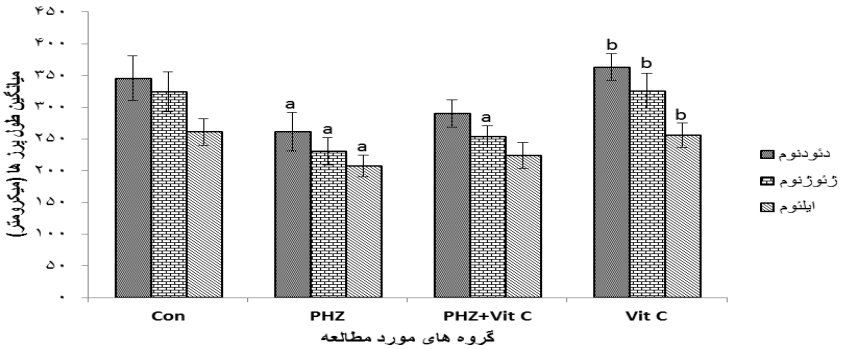
نمودار شماره ۱: مقایسه میانگین عرض پرزها در گروه های مختلف آزمایشی

PHZ: فنیل هیدرازین، Vit C: ویتامین C، Con: کنترل، a: $P<۰/۰۵$ نسبت به گروه شاهد و b: $P<۰/۰۵$ نسبت به PHZ. تمامی نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند.

طول پرزهای هر سه قسمت روده کوچک گروه فنیل هیدرازین در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری دارای کاهش معنی داری بودند ($P<۰/۰۵$)؛ همچنین طول پرزهای ژژنوم گروه دریافت کننده فنیل هیدرازین به همراه ویتامین C نیز با گروه شاهد از نظر آماری دارای کاهش معنی داری بود

www.SID.ir

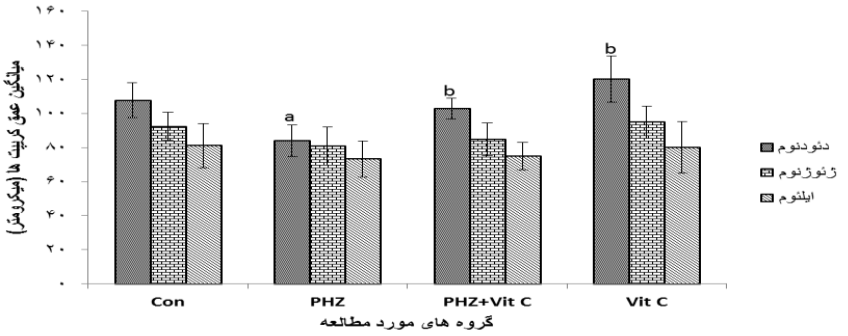
(P<۰/۰۵). در حالی که طول پرزهای دوازدهه و ایلئوم این گروه فاقد اختلاف معنی دار با گروه شاهد بودند (P>۰/۰۵). طول پرزهای هر سه قسمت روده کوچک گروه دریافت کننده ویتامین C به تنهایی، در مقایسه با گروه فنیل هیدرازین از نظر آماری دارای افزایش معنی داری بودند (P<۰/۰۵). سایر گروها فاقد اختلاف معنی دار با یکدیگر بودند (P>۰/۰۵). (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲: مقایسه میانگین طول پرزها در گروه های مختلف آزمایشی

PHZ: فنیل هیدرازین، Vit C: ویتامین C، Con: کنترل، a: P<۰/۰۵ نسبت به گروه شاهد و b: P<۰/۰۵ نسبت به PHZ. تمامی نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند.

در بررسی میانگین عمق کریپت ها نتایج نشان دادند که تنها تفاوت معنی دار قابل مشاهده در قسمت ابتدایی یا همان دوازدهه می باشد (P<۰/۰۵). سایر قسمت های روده کوچک اختلاف معنی داری از نظر آماری نشان ندادند (P>۰/۰۵)؛ اما در مورد مقایسه میانگین عمق کریپت های دوازدهه گروه های مورد مطالعه، تنها گروه دارای کاهش معنی دار با گروه شاهد، گروه فنیل هیدرازین بود (P<۰/۰۵)؛ همچنین هر دو گروه دریافت کننده فنیل هیدرازین به همراه ویتامین C و گروه دریافت کننده ویتامین C به تنهایی با گروه فنیل هیدرازین از نظر میانگین عمق کریپت های دوازدهه افزایش معنی داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). سایر گروه ها از نظر آماری فاقد اختلاف آماری با یکدیگر بودند (P>۰/۰۵) (نمودار شماره ۳).



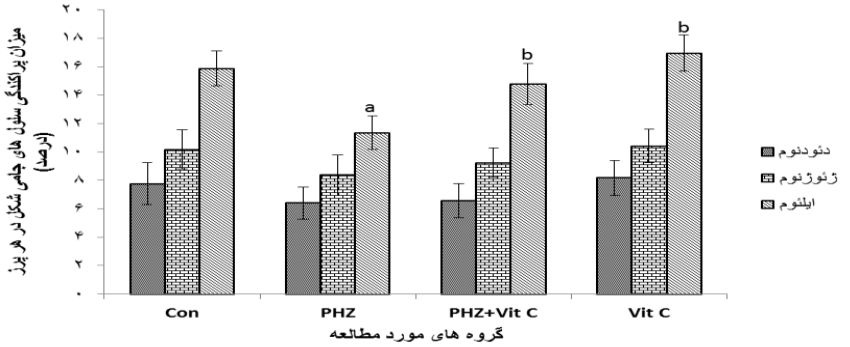
نمودار شماره ۳: مقایسه میانگین عمق کریپت ها در گروه های مختلف آزمایشی

PHZ: فنیل هیدرازین، Vit C: ویتامین C، Con: کنترل، a: P<۰/۰۵ نسبت به گروه شاهد و b: P<۰/۰۵ نسبت به PHZ. تمامی نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند.

در بررسی میانگین درصد پراکندگی سلول های جامی شکل در پرزهای هر سه قسمت روده کوچک، قسمت دوازدهه و ژژنوم در هیچکدام از گروه ها از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی داری نشان ندادند

www.SID.ir

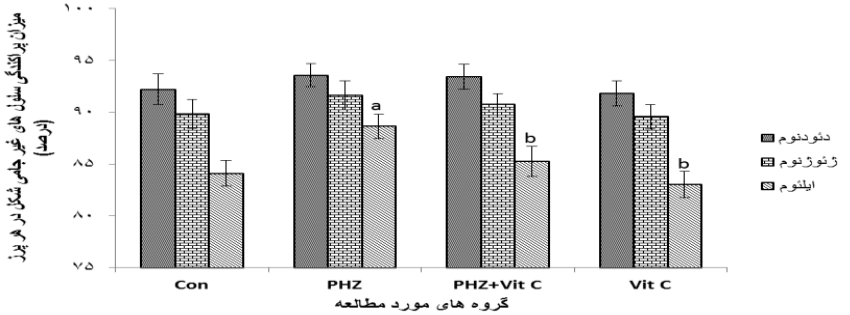
(P>۰/۰۵). تنها تفاوت معنی دار در قسمت ایلئوم قابل مشاهده بود، بدین صورت که تنها گروه دارای کاهش معنی دار با گروه شاهد، گروه فنیل هیدرازین بود (P<۰/۰۵). ایلئوم سایر گروه ها فاقد اختلاف معنی دار با ایلئوم گروه شاهد بود (P>۰/۰۵)؛ همچنین درصد سلول های جامی شکل در ایلئوم هر دو گروه دریافت کننده فنیل هیدرازین به همراه ویتامین C و گروه دریافت کننده ویتامین C به تنهایی دارای افزایش معنی داری نسبت به گروه فنیل هیدرازین بود (P<۰/۰۵). سایر گروه ها فاقد اختلاف معنی دار با یکدیگر بودند (P>۰/۰۵). (نمودار شماره ۴).



نمودار شماره ۴: مقایسه درصد پراکندگی سلول های جامی در هر پرز در گروه های مختلف آزمایشی

PHZ: فنیل هیدرازین، Vit C: ویتامین C، Con: کنترل، a: P<۰/۰۵ نسبت به گروه شاهد و b: P<۰/۰۵ نسبت به PHZ. تمامی نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند.

در بررسی میانگین درصد پراکندگی سلول های غیر جامی در هر پرز نتایج نشان دادند که تفاوت معنی داری در دو قسمت ابتدایی روده کوچک (دوازدهه و ژژنوم) وجود نداشت (P>۰/۰۵) و در اینجا نیز تنها تفاوت معنی دار در قسمت ایلئوم قابل مشاهده بود (P<۰/۰۵). بدین صورت که تنها گروه دارای افزایش معنی دار با گروه شاهد، از نظر درصد پراکندگی سلول های غیر جامی در قسمت ایلئوم روده کوچک، گروه فنیل هیدرازین بود (P<۰/۰۵)؛ همچنین هر دو گروه دریافت کننده فنیل هیدرازین به همراه ویتامین C و گروه دریافت کننده ویتامین C به تنهایی نیز با گروه فنیل هیدرازین از نظر آماری کاهش معنی داری داشتند (P<۰/۰۵). سایر گروه ها فاقد اختلاف معنی دار بودند (P>۰/۰۵؛ نمودار شماره ۵).



نمودار شماره ۵: مقایسه درصد پراکندگی سلول های غیر جامی در هر پرز در گروه های مختلف آزمایشی

PHZ: فنیل هیدرازین، Vit C: ویتامین C، Con: کنترل، a: P<۰/۰۵ نسبت به گروه شاهد و b: P<۰/۰۵ نسبت به PHZ. تمامی نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند.

Archive of SID
www.SID.ir

بحث:

قرار گرفتن در شرایط هیپوکسی باعث کاهش وزن بدن و اندام ها، افزایش ناهنجاری ها و تغییر فراسنجه های مورفومتریک می‌گردد (۲۳). نشان داده شده است که کم خونی همولیتیک از دو طریق می تواند اثرات خود را اعمال نماید، اول کاهش اکسیژن رسانی و دوم تنش اکسیداتیو که به دنبال افزایش آهن خون و بافت ها به وجود خواهد آمد. کم خونی همولیتیک و لیز گلبول های قرمز خون موجب کاهش ظرفیت انتقال اکسیژن و افزایش میزان آهن خون می گردد که این امر به نوبه خود پایه گذار تغییراتی در بدن می شود (۶-۲)؛ همچنین مشخص شده است که افزایش آهن بافتی از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو باعث آسیب شدید غشاء، پروتئین ها و DNA می شود؛ همانگونه که در مطالعه حاضر نیز مشاهده گردید به نظر می رسد که تنش اکسیداتیو ناشی از تجویز فنیل هیدرازین موجب کاهش اکثر فراسنجه های مورفومتریک روده شده است. به طوری که کاهش معنی داری در طول پرز، عرض پرز، عمق کریپت و میزان پراکندگی سلول های جامی شکل در گروه فنیل هیدرازین مشاهده گردید.

زمانی که عملکرد سد روده ای مختل می گردد، باکتری های اندوژن یا اندوتوکسین ها می توانند از داخل حفره روده به خارج از حفره منتقل شده و شروع به ایجاد پاسخ های سیستمیک سپتیک کنند (۱۰). علاوه بر این، مطالعات تجربی صورت گرفته بر روی حیوانات نشان داده اند که ایسکمی و خونرسانی مجدد از عوامل اولیه دخیل در پیشرفت استقرار باکتری ها و افزایش نفوذپذیری روده متعاقب شوک خونریزی (۲۴)، آسیب دمایی (۲۵) و چالش های اندوتوکسینی می باشد. تنش اکسیداتیو ناشی از تجویز فنیل هیدرازین همچنین می تواند اختلال در بیوسنتز چربی ها را در پی داشته باشد (۲۶). علاوه بر این، رادیکال های آزاد می توانند بیوملکول های حیاتی از جمله DNA را مورد حمله اکسیداتیو قرار داده و تغییراتی در ساختمان DNA ایجاد نمایند (۲۷)؛ همچنین گزارش شده است که هایپوکسی و اکسیژن رسانی مجدد افزایش چشمگیری را در میزان نفوذپذیری سلول های روده موجب می گردد. این افزایش در میزان نفوذ پذیری سلولی به نظر می رسد که در ارتباط با کاهش مقاومت الکتریکی ترانس اپی تلیال (Trans Epithelial Electrical Resistance= TEER) باشد. شواهد دیگری نیز نقش شوک حاصل از خونریزی در اختلال عملکرد سلول های اپی تلیال در شرایط آزمایشگاهی را تأیید می نماید که احتمالاً این اختلال ناشی از اکسیدانت های تولید شده به واسطه فعال شدن دستگاه گزانتین اکسیداز (Xanthine Oxidase) می باشد (۲۸). پیشتر نیز آسیب های مخاطی القاء شده توسط هیپوکسی و کم خونی به اکسیدازهای مشتق شده از اکسیدانت ها نسبت داده شده بود. بررسی های دیگری نیز که در این راستا صورت پذیرفته اند، نشان می دهند که متابولیت های فعال اکسیژن نفوذپذیری سلول های روده ای را افزایش می دهند (۲۹). بر پایه آنچه گفته شد، از آنجایی که سلول های پوششی روده حاوی مقادیر بالایی گزانتین دهیدروژناز/اکسیداز می باشند، روده یکی از اندام های حساس به آسیب های بافتی ناشی از کم خونی می باشد (۳۱،۳۰). به علاوه، ثابت گردیده است که روده در پاسخ به تنش هایی همچون هیپوکسی تولید سیتوکین می نماید که تولید سیتوکین های پیش التهابی در شرایط هیپوکسی خود می تواند در اختلال عملکرد سلول های روده نقش داشته باشد (۳۴-۳۲).

مطالعات متعددی بررسی فراسنجه های بافتی روده کوچک را شاخص مناسبی جهت ارزیابی میزان آسیب های این اندام بر می شمرند (۳۶،۳۵). تحقیقات پیشین نشان داده است که کاهش خونرسانی در روده کوچک موجب تشدید شکل گیری رادیکال های آزاد می گردد که این امر به سبب حساسیت بالای پرزهای روده نسبت به پیامدهای کاهش جریان خون، زمینه ساز

www.SID.ir
Archive of SID

آسیب های سلولی و بافتی روده خواهد شد که با یافته های بافت شناسی مطالعه حاضر نیز همخوانی دارد (۳۸،۳۷).

از سوی دیگر، از آنجایی که موسین ترشح شده توسط سلول های جامی شکل پوششی محافظ را برای سلول های استوانه ای جاذب روده شکل می دهد (۳۹)، کاهش میزان پراکندگی این سلول ها در پرزهای روده متعاقب تجویز فنیل هیدرازین به واسطه محروم ساختن سلول های اپی تلیال از پوشش موسینی، این سلول ها را نسبت به باکتری ها و سایر محرک ها آسیب پذیر می نماید که این یافته بافتی می تواند پیشرفت استقرار باکتری ها و افزایش نفوذپذیری روده متعاقب کاهش جریان خون را توجیه نماید (۲۴). علاوه بر این، آسیب بافتی مشاهده شده در مخاط روده موش های تحت درمان با فنیل هیدرازین می تواند ناشی از تهاجم رادیکال های آزاد به واسطه تجمع نوتروفیل ها متعاقب پیشرفت استقرار باکتری ها در اثر تخریب پوشش موسینی محافظ نیز باشد (۴۰).

در مطالعه حاضر، تجویز ویتامین C بهبود قابل ملاحظه ای را در فراسنجه های مورفومتریک مورد ارزیابی در بافت روده کوچک موش موجب گشت. به نظر می رسد ویتامین C به عنوان یک آنتی اکسیدانت از طریق مهار تنش های اکسیداتیو (۴۱) و نیز به واسطه سرکوب واکنش های آماسی(۴۲) می تواند در بهبود عوارض ناشی از کم خونی در دستگاه گوارش واجد کارایی باشد؛ همچنان که مطالعات صورت گرفته در گذشته نیز نشان داده اند که ویتامین C به مدد دارا بودن خصوصیات مذکور در برابر آسیب های ناشی از پرتو گاما در سلول های جامی شکل ایلئوم (۴۳) و ایسکمی خونرسانی مجدد در روده کوچک موش صحرایی (۳۵) دارای اثرات محافظتی بوده و قادر به مهار کولیت ناشی از تنش اکسیداتیو در موش های صحرایی می باشد (۴۴). در همین راستا و در تأیید یافته های مطالعه حاضر، بررسی های اخیر نیز بر نقش کاهش خونرسانی در کاهش طول پرز و عمق کریپت های روده و از بین رفتن پوشش موسینی پرزهای روده و اثرات محافظتی ویتامین C در برابر تغییرات مورفولوژیک و مورفومتریک روده متعاقب اختلال در خونرسانی صحه می گذارند (۴۶،۴۵).

نتیجه گیری:

با جمع بندی یافته های مطالعه حاضر چنین بر می آید که کم خونی همولیتیک ناشی از فنیل هیدرازین موجب آسیب های بافتی روده کوچک می شود. حال آنکه ویتامین C به سبب دارا بودن ویژگی های آنتی اکسیدانت و ضد التهابی، قادر به بهبود اثرات نامطلوب بافتی کم خونی همولیتیک در روده کوچک موش می باشد. با این وجود، آشکار شدن کارآیی درمانی ویتامین C در موارد بالینی کم خونی نیازمند مطالعات گسترده تری می باشد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه ارومیه به سبب تأمین مالی این مطالعه اعلام می دارند.

منابع:

1. Puntarulo S. Iron, oxidative stress and human health. Mol Aspects Med. 2005; 26(4-5): 299-312.
2. Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA. A clinical evaluation of serum ferritin as an index of iron stores. N Engl J Med. 1974; 290(22): 1213-6.
3. Barton JC, Conrad ME, Nuby S, Harrison L. Effects of iron on the absorption and retention of lead. J Lab Clin Med. 1978; 92(4): 536-47.
4. Stevens RG, Cologne JB, Nakachi K, Grant EJ, Neriishi K. Body iron stores and breast cancer risk in female atomic bomb survivors. Cancer Sci. 2011; 102(12): 2236-40.
5. 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.

www.SID.ir
Archive of SID

6. Friedmann B, Jost J, Rating T, Weller E, Werle E, Eckardt KU, 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.
7. Wu RS. Effects of hypoxia on fish reproduction and development. Fish Physiol. 2009; 27: 79-141.
8. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med. 1985; 312(3): 159-63.
9. Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. Acta Physiol Scand Suppl. 1986; 548: 47-63.
10. Deitch EA. Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. Ann Surg. 1992; 216(2): 117-34.
11. Fischer E. Ueber aromatische Hydrazinverbindungen. Ber Dtsch Chem Ges. 1875; 8: 589-594.
12. Streitwieser A, Heathcock CH. Introduction to organic chemistry. New York: Macmillan; 1976.
13. Grigorovich NA. On the pathogenesis of hemolytic anemia caused by phenylhydrazine (experimental data). Biull Eksp Biol Med. 1966; 61(2): 29-32.
14. Berger J. Phenylhydrazine haematotoxicity. J Appl Biomed. 2007; 5: 125–30.
15. Luangaram S, Kukongviriyapan U, Pakdeechote P, Kukongviriyapan V, Pannangpetch P. Protective effects of quercetin against phenylhydrazine-induced vascular dysfunction and oxidative stress in rats. Food Chem Toxicol. 2007; 45(3): 448-55.
16. McCluskey ES. Which vertebrates make vitamin C. Origins. 1985; 12(2): 96-100.
17. 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(1-2): 63-9.
18. Siddique YH, Beg T, Afzal M. Antigenotoxic effects of ascorbic acid against megestrol acetate-induced genotoxicity in mice. Hum Exp Toxicol. 2005; 24(3): 121-7.
19. John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. J Nutr Biochem. 2001; 12(9): 500-4.
20. Gorustovich AA, Steimetz T, Giglio MJ, Guglielmotti MB. A histomorphometric study of alveolar bone modeling and remodeling under experimental anaemia and polycythaemia in rats. Archives of oral biology. 2006; 51(3): 246-51.
21. Vannucchi AM, Paoletti F, Linari S, Cellai C, Caporale R, Ferrini PR, et al. Identification and characterization of a bipotent (erythroid and megakaryocytic) cell precursor from the spleen of phenylhydrazine-treated mice. Blood. 2000; 95(8): 2559-68.
22. 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. Exp Toxicol Pathol. 2008; 59(6): 415-23.
23. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1996.
24. Deitch EA, Bridges W, Berg R, Specian RD, Granger DN. Hemorrhagic shock-induced bacterial translocation: the role of neutrophils and hydroxyl radicals. J Trauma. 1990; 30(8): 942-51.
25. Ma L, Ma JW, Deitch EA, Specian RD, Berg RD. Genetic susceptibility to mucosal damage leads to bacterial translocation in a murine burn model. J Trauma. 1989; 29(9): 1245-51.
26. Rezvanfar M, Sadrkhanlou R, Ahmadi A, Shojaei-Sadee H, Rezvanfar M, Mohammadirad A, et al. Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. Hum Exp Toxicol. 2008; 27(12): 901-10.
27. Rehman A, Jenner A, Halliwell B. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of DNA: optimization of protocols for isolation and analysis of DNA from human blood. Methods Enzymol. 2000; 319: 401-17.
28. Xu DZ, Lu Q, Kubicka R, Deitch EA. The effect of hypoxia/reoxygenation on the cellular function of intestinal epithelial cells. J Trauma. 1999; 46(2): 280-5.
29. Baker RD, Baker SS, LaRosa K. Polarized Caco-2 cells. Effect of reactive oxygen metabolites on enterocyte barrier function. Dig Dis Sci. 1995; 40(3): 510-8.
30. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol. 1988; 255(6 Pt 2): H1269-75.
31. Parks DA, Granger DN. Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology. Acta Physiol Scand Suppl. 1986; 548: 87-99.

Archive of SID

www.SID.ir

32. McGee DW, Elson CO, McGhee JR. Enhancing effect of cholera toxin on interleukin-6 secretion by IEC-6 intestinal epithelial cells: mode of action and augmenting effect of inflammatory cytokines. Infect Immun. 1993; 61(11): 4637-44.
33. Michalsky MP, Deitch EA, Ding J, Lu Q, Huang Q. Interleukin-6 and tumor necrosis factor production in an enterocyte cell model (Caco-2) during exposure to Escherichia coli. Shock. 1997; 7(2): 139-46.
34. Deem RL, Shanahan F, Targan SR. Triggered human mucosal T cells release tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma which kill human colonic epithelial cells. Clin Exp Immunol. 1991; 83(1): 79-84.
35. Higa OH, Parra ER, Ab'Saber AM, Farhat C, Higa R, Capelozzi VL. Protective effects of ascorbic acid pretreatment in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion injury: a histomorphometric study. Clinics (Sao Paulo). 2007; 62(3): 315-20.
36. Coura Oliveira T, Gouveia Peluzio Mdo C, da Matta SL, da Silveira Mezencio JM, Bressan J. Morphometric analysis of small intestine of BALB/c mice in models developed for food allergy study. Nutr Hosp. 2013; 28(3): 839-48.
37. Nilsson UA, Schoenberg MH, Aneman A, Poch B, Magadum S, Beger HG, et al. Free radicals and pathogenesis during ischemia and reperfusion of the cat small intestine. Gastroenterology. 1994; 106(3): 629-36.
38. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. Dig Dis Sci. 2004; 49(9): 1359-77.
39. Vaidya YP, Tarnekar AM, Shende MR, Hulke SM, John SP. Histomorphometric demonstration of the effect of chronic use of nsaid-ibuprofen on mucosa of small intestine of swiss albino mice. Int J Exp Pharmacol. 2014; 4: 65-9.
40. Tacheci I, Kopacova M, Rejchrt S, Bures J. Non-steroidal anti-inflammatory drug induced injury to the small intestine. Acta Medica (Hradec Kralove). 2010; 53(1): 3-11.
41. Mandl J, Szarka A, Banhegyi G. Vitamin C: update on physiology and pharmacology. Br J Pharmacol. 2009; 157(7): 1097-110.
42. Rizzo MR, Abbatecola AM, Barbieri M, Vietri MT, Cioffi M, Grella R, et al. Evidence for anti-inflammatory effects of combined administration of vitamin E and C in older persons with impaired fasting glucose: impact on insulin action. J Am Coll Nutr. 2008; 27(4): 505-11.
43. Kanter M, Akpolat M. Vitamin C protects against ionizing radiation damage to goblet cells of the ileum in rats. Acta Histochem. 2008; 110(6): 481-90.
44. Zerin M, Karkilcik A, Bitren M. Vitamin C modulates oxidative stress-induced colitis in rats. Turk J Med Sci. 2010; 40(6): 871-9.
45. Kheirandish R, Azari O, Samadieh H, Rasa Z. Protective effect of Trigonella foenum graecum (fenugreek) seed extract on experimental intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. Iran J Vet Surg. 2011; 6(1): 37-46.
46. Kohler HF, DeLucca IM, Sbragia Neto L. Enteral antioxidants in ischemia/reperfusion injuries in rats. Rev Col Bras Cir. 2011; 38(6): 422-8.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2015 Oct, Nov; 17(4): 70-79. ***Original article***

Protective effect of vitamin C against changes caused by hemolytic anemia in small intestine histoarchitecture of phenylhydrazine-treated mice

Anbara H[1], Shahrooz R[1], Shalizar Jalali A[1*], Razi M[1], Kalantari Hesari A[2]
[1]Basic Sciences Dept., Urmia University, Urmia, I.R. Iran; [2]Basic Sciences Dept., Tehran University, Tehran, I.R. Iran.
Received: 7/Mar/2015 Accepted: 4/Aug/2015

Background and aims: Hemolytic anemia-induced hypoxia can lead to multi-organ dysfunctions. The present study was aimed to evaluate the efficacy of vitamin C as an antioxidant agent against hemolytic anemia-induced changes in small intestine histoarchitecture of phenylhydrazine (PHZ) treated mice.
Methods: In this experimental study, adult male mice were randomly assigned to 4 groups of eight mice each. Both groups of mice received PHZ at a dose of 60 mg/kg per 48 hours intraperitoneally for 35 days. One of these groups received vitamin C (250 mg/kg per day) intraperitoneally 4 hours before PHZ administration. A vehicle-treated control group and a vitamin C control group were also included. 24 hours after the last treatment, desired segments of small intestines were dissected out and provided histological processing. Then, morphometric parameters were evaluated.
Results: PHZ caused a significant decrease in the villi width of duodenum and jejunum, crypts depth of duodenum, and distribution rate of the gobletcells in the ileal villi and height of villi in 3 segments of small intestine ((P<0.05). Vitamin C markedly improved all changes in the aforementioned parameters.
Conclusion: Vitamin C could improve histological injuries caused by hemolytic anemia in the mousse's small intestine.

Keywords: **Hemolytic anemia, Phenylhydrazine, Vitamin C, Small intestine, Mouse.**

Archive

Cite this article as: 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 Univ Med Sci. 2015; 17(4): 70-79.

[*]**Corresponding author:**
Basic Sciences Dept., Urmia University, Urmia, I.R. Iran, Tel: 00989111166004, E-mail: ali_shalizar@yahoo.com

www.SID.ir