ORIGINAL ARTICLE

Effects of Royal Jelly on Apoptosis and the Expression of Apoptotic Genes on Testicular Tissue in Male Balb/C Mice Treated with Daunorubicin

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

[1] PhD student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Professor, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[3] Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
[5] Associate Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

(Received November 20, 2022 ; Accepted March 13, 2023)

Abstract

Background and purpose: Daunorubicin is an effective drug in chemotherapy, but its clinical use is limited due to serious side effects. Royal jelly as a natural compound obtained from bees can be helpful in preventing the damage caused by daunorubicin. The present study aimed to evaluate the effects of royal jelly on the number of apoptotic cells and the expression of genes involved in apoptosis in mice treated with daunorubicin.

Materials and methods: In this experimental study, 77 Balb/c mice were randomly divided into seven groups (n= 11 per group): sham, control, royal jelly (50 and 100 mg/kg), daunorubicin (2 mg/kg), and royal jelly (50 and 100 mg/kg) + daunorubicin. The mice received saline (0.09%), IP daunorubicin, and royal jelly orally for eight weeks. To estimate the number of apoptotic cells and the expression of genes related to apoptosis in testis, we used ELISA test and Real-time PCR assay, respectively. Data analysis was done applying One-way Analysis of Variance and Tukey's test in SPSS.

Results: Daunorubicin caused significant increase in the number of apoptotic cells, and expression levels of *p53*, *Bax*, *caspase 3*, *caspase 8*, and *caspase 9* ($P<0.01$) and a significant decrease in the *bcl-2* gene expression ($P<0.01$). In treatment groups, these changes were moderated by royal jelly.

Conclusion: Royal jelly administration, by reducing the number of apoptotic cells and affecting the expression of genes involved in apoptosis, improves the damage caused by daunorubicin on the testicular tissue of mice.

Keywords: apoptosis, testicular tissue, toxicity, daunorubicin, royal jelly

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (220): 19-30 (Persian).

Corresponding Author: Ali Ghanbari - School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. (E-mail: aghanbari@kuma.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره 220 اردیبهشت سال 1402 (30-19)

اثرات ژل رویال بر درصد سلول‌های آپوپتوزی و بیان ژن‌های آپوپتوزی بافت بیضه در موش‌های نر نژاد Balb/c تیمار شده با داروی دانوروبیسین

منصور صفایی پور زمانی[1]
شهربانو عریان[2]
سیروس جلیلی[3]
پریچهر یغمایی[4]
علی قنبری[5]

چکیده

سابقه و هدف: دانوروبیسین یک داروی مؤثر در شیمی‌درمانی است، اما استفاده بالینی از آن به دلیل عوارض جانبی جدی، دارای محدودیت است. به‌نظر می‌رسد که ژل رویال؛ یکی از ترکیبات طبیعی حاصل از زنبور عسل، می‌تواند در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از دانوروبیسین مفید باشد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات ژل رویال بر درصد سلول‌های آپوپتوزی و نیز میزان بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز در موش‌های تیمار شده با دانوروبیسین انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی 77 سر موش نر نژاد Balb/c به طور تصادفی به 7 گروه (11 موش در هر گروه) شامل شم، کنترل، ژل رویال (50 و 100 میلی‌گرم/کیلوگرم)، دانوروبیسین (2 میلی‌گرم/کیلوگرم) ، ژل رویال (50 و 100 میلی‌گرم/کیلوگرم) + دانوروبیسین تقسیم شدند. موش‌ها به‌مدت 8 هفته سالین (0/09 درصد) و دانوروبیسین را به‌صورت داخل صفاقی و ژل رویال را به‌شکل خوراکی دریافت نمودند. جهت تعیین درصد سلول‌های آپوپتوزی و بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز در بیضه به‌ترتیب از روش الایزا و تکنیک Real-time PCR استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی با نرم‌افزارSPSS انجام شد.

یافته‌ها: دانوروبیسین سبب افزایش معنی‌دار درصد سلول‌های آپوپتوز و بیان ژن‌های p53، Bax، caspase 3، caspase 8 و caspase 9 (P<0/01) و کاهش معنی‌دار بیان ژن bcl-2 (P<0/01) شد، درحالی‌که در گروه درمان این تغییرات با تجویز ژل رویال تعدیل شد.

استنتاج: تجویز ژل رویال با کاهش درصد سلول‌های آپوپتوزی و اثر بر بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز، سبب بهبود آسیب‌های ناشی از دانوروبیسین روی بافت بیضه موش می‌شود.

واژه های کلیدی: آپوپتوز، بافت بیضه، سمیت، دانوروبیسین، ژل رویال

مقدمه

آپوپتوز نوعی مرگ سلولی است که توسط طیف وسیعی از عوامل داخلی و خارجی ایجاد می‌شود. یکی از اقدامات داروهای شیمی‌درمانی حذف سلول‌های آسیب دیده از طریق فعال شدن آپوپتوز است. دانوروبیسین؛ یک آنتی‌بیوتیک ضدسرطان از گروه آنتراسایکلین است که جهت درمان میلوما، لوسمی لنفوبلاستیک حاد

مولف مسئول: علی قنبری - کرمانشاه: دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پزشکی E-mail: aghanbari@kuma.ac.ir
1. دانشجوی دکترا، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
2. استاد، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
3. استاد، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
4. استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
5. دانشیار، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
تاریخ دریافت : 1401/8/29 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1401/10/1 تاریخ تصویب : 1402/12/22

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

و لوسمی‌های میلوئیدی استفاده می‌شود که به‌واسطه القاء مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی، رشد تومورها را متوقف می‌کند(1). با وجود اثرات ضدسرطانی دانوروبیسین، استفاده بالینی از این دارو به دلیل عوارض جانبی جدی آن، از جمله اختلال در گلبول‌سازی، آسیب به بافت قلب و بروز زخم‌های دهانی محدود شده است(2). افزون بر این، پس ازمدتی استفاده از دارو، بدن نسبت به همه داروهای ضدسرطان دچار مقاومت دارویی می‌شود(3). بروز اثرات جانبی و ایجاد مقاومت دارویی از چالش‌های اصلی در مورد استفاده از داروهای ضد سرطان مانند دانوروبیسین در شیمی‌درمانی بیماران سرطانی هستند. یکی از راه کارهای حل این مشکلات داروهای ضد سرطان، استفاده از داروهای کمکی است تا بتوان با کم‌ترین دوز و مدت درمان، بیشترین اثرات سودمند این داروها را به‌دست آورد.

دانوروبیسین با ایجاد تغییرات در پتانسیل غشای میتوکندری و تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، سبب القای مرگ آپوپتوتیک و نکروتیک سلول‌های لوسمی حاد می‌شود که باعث نفوذپذیری غشای میتوکندری و القای آپوپتوز متعاقب آن می‌شود(4). اثر دانوروبیسین به‌دلیل مسدود کردن چرخه سلولی در فاز G2 و نیز القای مرگ سلولی است(5). علاوه بر این، دانوروبیسین باعث ایجاد تغییرات مورفولوژیکی مانند انقباض سلولی و تراکم هسته‌ای (از ویژگی‌های معمول آپوپتوز هستند)، می‌شود(6).

آپوپتوز اغلب به عنوان فرآیند خودکشی سلولی شناخته می‌شود، زیرا پروتئین‌های خود سلول در نابودی آن شرکت می‌کنند. داروهای شیمی‌درمانی باعث آسیب می‌شوند و این تعادل بین سیگنال‌های طرفدار و ضد آپوپتوز است که در نهایت سرنوشت سلول را تعیین می‌کند. مکانیسم‌های شروع آپوپتوز که شامل سیگنال‌های درونی و بیرونی هستند، پیچیده بوده و تداخل قابل توجهی بین آن‌ها وجود دارد. مسیر ذاتی آپوپتوز که به‌عنوان مسیر میتوکندری آپوپتوز نیز شناخته می‌شود، به‌دنبال آسیب DNA و فعال شدن *p53*، آغاز می‌شود. این امر باعث ایجاد آبشاری از رویدادهایی می‌شود که منجر به نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری شده و در نهایت باعث از دست رفتن پتانسیل غشای میتوکندری، توقف سنتز ATP میتوکندری و فعالیت‌های انتقال وابسته به پتانسیل غشای میتوکندری می‌شود. جهت ایجاد این فرایندهای داخل سلولی، بیان ژن‌های caspase و ژن‌های خانواده *bcl-2* دخیل هستند(7). امروزه ترکیبات طبیعی با خواص منحصر به فرد خود مانند عوارض جانبی کم و در دسترس بودن و قیمت نسبتاًپایین، توجه محققان و درمانگران را برای تسکین عوارض جانبی داروهایی مانند دانوروبیسین جلب کرده است(11-8).

ژل رویال که به‌عنوان یک محصول پزشکی تجاری استفاده می‌شود، در واقع یکی از فرآورده‌های زنبور عسل است که حاوی انواع مواد مغذی از جمله پروتئین‌ها، قندها، اسیدهای چرب، ویتامین‌ها (C و B) و مواد معدنی (آهن، کلسیم، مس، پتاسیم، منیزیم، روی و گوگرد) است(12). این ترکیب طبیعی، دارای اثرات فیزیولوژیکی و دارویی بسیاری از جمله خواص ضد التهابی، ضد توموری، آنتی‌اکسیدانی، کاهنده فشارخون، کاهنده قند خون، کاهنده کلسترول خون، ضد عفونی‌کننده و ضد باکتریایی است(14،13). علاوه بر این اثرات ضد ضد آپوپتوزی ژل رویال در مقابل آسیب ناشی از نیکوتین، استرپتوزوتوسین، کادمیوم و آسیب گرمایی در بافت بیضه مدل‌های حیوانی گزارش شده است(18-15).

جامعه امروزی درگیر بیماری‌های پیچیده و خطرناکی همچون انواع سرطان‌ها شده است، به‌طوری که دومین علت مرگ و میر در جهان پس از بیماری‌های قلبی و عروقی به‌شمار می‌آید. درمان این بیماری‌ها عموماً کاری دشوار بوده و صدمات اقتصادی و اجتماعی زیادی به سیستم سلامت وارد می‌کند. امروزه به‌دلیل عوارض جانبی مرتبط با استفاده از داروهای شیمی‌درمانی، نیاز به تعیین استراتژی‌های جدید در درمان و بهبود سرطان‌های مختلف به شدت احساس می‌شود. در این راستا، ترکیبات

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

طبیعی به‌دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در کاهش عوارض داروهای ضدسرطان از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند و به‌عنوان داروی کمکی برای داروهای ضد سرطان، در مطالعات و کارآزمایی‌های بالینی مورد استفاده گسترده قرار گرفته‌اند. براساس نتایج مطالعات گذشته، به‌نظر می‌رسد که ژل رویال به‌عنوان یک ترکیب طبیعی دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آپوپتوزی می‌تواند در کاهش عوارض جانبی ناشی از دانوروبیسین سودمند باشند. نظر به این‌که یکی از عوارض جانبی دانوروبیسین؛ از داروهای شیمی‌درمانی سرطان‌های مختلف، تأثیر مخرب بر سیستم تناسلی مردانه و کاهش باروری است(10) و از آن‌جا که هیچ گزارشی در مورد اثر ژل رویال بر میزان آپوپتوز و بیان ژن‌های آپوپتوزی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی تیمار شده با دانوروبیسین یافت نشد، بنابراین در مطالعه حاضر اثرات ژل رویال بر درصد سلول‌های آپوپتوزی و بیان ژن‌های آپوپتوزی در موش‌های نر نژاد Balb/c تیمار شده با داروی دانوروبیسین مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی از موش‌های نر نژاد Balb/c بالغ (دو ماهه) و وزن 2±28 گرم که از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند، استفاده شد. موش‌ها به خانه حیوانات دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران انتقال یافته و به‌منظور تطابق حیوانات با محیط، قبل از شروع مطالعه موش‌ها به مدت یک هفته بدون دریافت هیچگونه مداخله نگهداری شدند. در طول مدت انجام آزمایش، موش‌ها در شرایط چرخه نور/تاریکی 12 ساعته، دمای کنترل شده 2±22 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 30-25 درصد، با دسترسی آزاد به رژیم غذایی استاندارد (شرکت بهپرور، ایران) و آب قرار گرفتند. پروتکل تحقیق مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه و و دانشگاه آزاد اسلامی (IR.KUMS.REC.1398.695) قرار گرفت. تمامی آزمایشات حیوانی براساس دستورالعمل هلسینکی و کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه و دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد.

گروه‌های مورد مطالعه و طراحی تجربی مطالعه: 77 سر موش نر نژاد Balb/c به‌صورت تصادفی به هفت گروه مساوی (هر گروه 11 سر) تقسیم شدند. گروه‌ها براساس شرح پیرو به‌مدت 8 هفته تیمار شدند: گروه 1 (شم): موش‌هایی که هیچگونه دارویی دریافت نکردند، گروه 2 (کنترل): موش‌هایی که نرمال سالین را به‌صورت داخل وریدی دریافت نمودند، گروه 3 (ژل رویال 50 میلی‌گرم/کیلوگرم): موش‌هایی که ژل رویال با دوز50 میلی‌گرم/کیلوگرم را به‌صورت خوراکی دریافت نمودند، گروه 4 (ژل رویال 100 میلی‌گرم/کیلوگرم): موش‌هایی که ژل رویال با دوز100 میلی‌گرم/کیلوگرم را به‌صورت خوراکی دریافت نمودند، گروه 5 (دانوروبیسین): موش‌هایی که دانوروبیسین با دوز 2 میلی‌گرم/کیلوگرم را به‌صورت داخل وریدی دریافت نمودند، گروه 6 (ژل رویال 50 میلی‌گرم/کیلوگرم + دانوروبیسین): موش‌هایی که به‌طور همزمان ژل رویال با دوز50 میلی‌گرم/کیلوگرم را به‌صورت خوراکی و نیز دانوروبیسین با دوز 2 میلی‌گرم/کیلوگرم را به‌صورت داخل وریدی دریافت نمودند، گروه 7 (ژل رویال 100 میلی‌گرم/کیلوگرم + دانوروبیسین): موش‌هایی که به‌طور همزمان ژل رویال با دوز100 میلی‌گرم/کیلوگرم را به‌صورت خوراکی و نیز دانوروبیسین با دوز 2 میلی‌گرم/کیلوگرم را به‌صورت داخل وریدی دریافت نمودند. دوزهای مورد استفاده برای ژل رویال و دانوروبیسین بر اساس مطالعه قبلی از همین نویسندگان تعیین شد(10). نرمال سالین، ژل رویال و دانوروبیسین از شرکت سیگما (Sigma) خریداری شدند. خرید تمام مواد مورد استفاده در آزمایش توسط محققین صورت گرفت. 24 ساعت بعد از آخرین تزریق، حیوانات بوسیله اتر بی‌هوش شدند و سپس بافت بیضه برداشته شد و با Ice saline cold شستشو داده شد و سپس هوموژنیزه شدندو سوپرناتانت جدا شد.

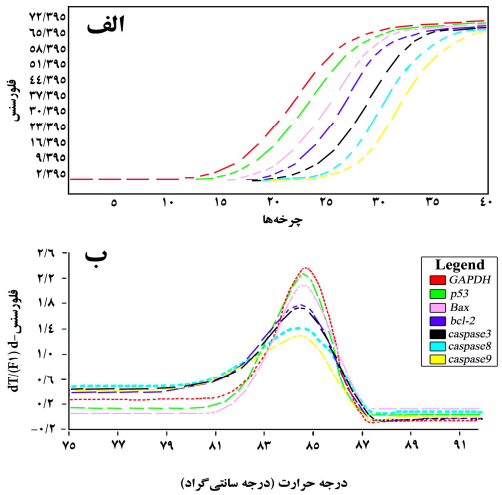
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

بررسی میزان آپوپتوزیس: میزان آپوپتوز در نمونه بافت بیضه هوموژنیزه با استفاده از کیت ELISA (Cat.No.11544675001; Roche) براساس دستورالعمل کارخانه سازنده کیت اندازه‌گیری شد. در این روش آنتی‌بادی‌های آنتی‌هیستون بر روی دیواره میکروپلیت‌ها تثبیت شد. محلول مسدودکننده برای اشباع محل‌های اتصال غیراختصاصی روی دیواره‌ها به‌کارگرفته شد. سپس، اتصال نوکلئوزومی از طریق اجزای هیستونی آن‌ها به آنتی‌بادی ضد هیستون بی‌حرکت انجام شد. آنتی DNA-پراکسیداز (POD) با بخش DNA نوکلئوزوم واکنش داد. در طول شستشو، پراکسیداز متصل نشده از نمونه خارج شد. در نهایت، از 2,2′-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) جهت تجزیه و تحلیل سطوح پراکسیداز استفاده شد و توسط یک الایزا ریدر در طول موج‌های 405 نانومتر اندازه‌گیری صورت گرفت. درنهایت نتایج به‌صورت درصد آپوپتوز بیان شد که از نسبت جذب نمونه تیمار شده (آپوپتوز) به نمونه تیمار نشده (شاهد) محاسبه شد(19).

تکنیک PCR کمی (Real-time PCR، QPCR): توسط این تکنیک بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز، با پرایمرهای خاص آنها تأیید می‌شود. این تکنیک شامل سه مرحلهٔ استخراج RNA، سنتز cDNA و واکنش QRT-PCR می‌باشد. به‌طور خلاصه، RNA کل با استفاده از کیت RNAeasy Plus Mini Kit استخراج شد. با استفاده از پرایمر پلی T-tail موجود در کیت یک مرحله‌ای RT-PCR، RNA کل (≥1 میکروگرم) رونویسی معکوس شد. cDNA با استفاده از کیت رونویسی معکوس QuantiTect Reverse Transcription شرکت Qiagen، طبق دستورالعمل کارخانه سازنده تکثیر شد. کپی‌های cDNA با جذب در 260 نانومتر شمارش شدند. مقدار کمی cDNA با QuantiFast® SYBER® Green PCR Master Mix از Qiagen و پرایمرها ترکیب شد و در سه تکرار با استفاده از RT-PCR بیدرنگ Rotor-Gene 6000 مورد سنجش قرار گرفت. پرایمرها در بانک اطلاعات مرکز ملی اطلاعات (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) با استفاده از برنامه BioEdit and BLAST سنتز شدند و ویژگی‌های آن‌ها در جدول شماره 1 نشان داده شده است. هم‌چنین نمودارهای تکثیر و ذوب Real-time PCR در نمودار شماره 1 نمایش داده شده است.

جدول شماره 1: اطلاعات پرایمرها برای Real-time PCR جهت مطالعه اثر دانوروبیسین و ژل رویال بر بیان ژن آپوپتوز در بافت بیضه موش‌های نر نژاد Balb/c

ژن	توالی پرایمر	دمای Annealin	اندازه(جفت باز)
GAPDH	F: ACCTCAACTACATGGTCTAC R: TTGTCATTGAGAGCAATGCC	58	172
p53	F: CATCATCACGCTGGAAGACTC R: TCAGCTCTCGGAACATCTC	58	178
Bax	F: GCTGATGGCAACTTCAACTG R: GATCAGCTCGGGCACTTTAG	56	156
bcl-2	F: AGCGTCAACAGGGAGATGTC R: TTCCACAAAGGCATCCCAGC	58	149
caspase 3	F: TGTCATCTCGCTCTGGTACG R: CCCTTTCTGCCTGTCTTCTG	58	137
caspase 8	F: ACAATGCCCAGATTTCTCCCTAC R: CAGACAGTATCCCCGAGGTTTG	59	147
caspase 9	F:CATCCTTGTGTCCTACTCCACC R: CAGCTTTTTCCGGAGGAAGT	59	142



نمودار شماره 1: نمودارهای تکثیر و ذوب Real-time PCR ، الف: نمودار تکثیر، ب- نمودار ذوب

از روش مقایسه‌ای $2^{-\Delta\Delta C}$ T برای تجزیه و تحلیل تفاوت‌های فولدها استفاده شد. مقادیر کمی چرخه آستانه (CT) به دست آمد. مقادیر CT حاصل از نمونه‌ها

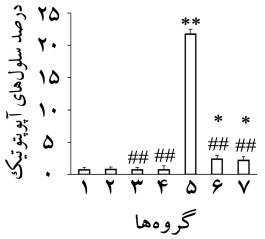
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

بر روی منحنی استاندارد رسم شد و تعداد کپی‌ها با استفاده از GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی محاسبه شد(20).

روش تجزیه و تحلیل: داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه 16) تجزیه و تحلیل شدند و به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (SEM) ارائه شدند. ANOVA یک طرفه و به‌دنبال آن تست تعقیبی توکی Tukey برای مقایسه چندگروهی داده‌های کمی استفاده شد. اختلافات در سطح P<0/05 معنی‌دار در نظرگرفته شدند.

یافته‌ها

نتایج ارزیابی درصد سلول‌های آپوپتوزی بافت بیضه با استفاده از روش الایزا در نمودار شماره 2 نشان داده شده است. درصد سلول‌های آپوپتوزی بافت بیضه موش‌های دریافت‌کننده دانوروبیسین به‌تنهایی، به‌طور معنی‌داری (حدود 21 برابر) بیش‌تر از موش‌های گروه‌های شم و کنترل بود (P<0/01). تیمار موش‌ها با دانوروبیسین و ژل رویال به‌طور همزمان، سبب کاهش معنی‌دار درصد سلول‌های آپوپتوزی بافت بیضه در مقایسه با موش‌های دریافت‌کننده دانوروبیسین به‌تنهایی شد (P<0/01) اما همچنان به‌طور معنی‌داری بالاتر از موش‌های گروه‌های شم و کنترل بود (P<0/05). به عبارت دیگر، تجویز ژل رویال درصد سلول‌های آپوپتوزی بافت بیضه موش‌ها را کاهش داده بود اما نتوانسته بود در مدت زمان مطالعه سطح آن را به مقادیر طبیعی بازگرداند. درصد سلول‌های آپوپتوزی بافت بیضه در موش‌های دریافت‌کننده ژل رویال به‌تنهایی، به‌طور معنی‌داری کمتر از موش‌های دریافت‌کننده دانوروبیسین به‌تنهایی بود (P<0/01). مقایسه بین گروهی موش‌های دریافت‌کننده ترکیب دانوروبیسین و ژل رویال نشان داد که اگرچه با افزایش دوز ژل رویال، درصد سلول‌های آپوپتوزی بافت بیضه کاهش یافت اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>0/05) (نمودار شماره 2).



نمودار شماره 2: هیستوگرام اثرات تجویز ژل رویال و دانوروبیسین بر سلول‌های آپوپتوتیک در گروه‌های مختلف مورد مطالعه.

- مقادیر به‌صورت انحراف معیار± میانگین برای هر گروه (11 موش در هر گروه) ارائه شده است.

- مقایسه بین گروهی با آزمون واریانس یک‌طرفه و پس آزمون توکی انجام شد.

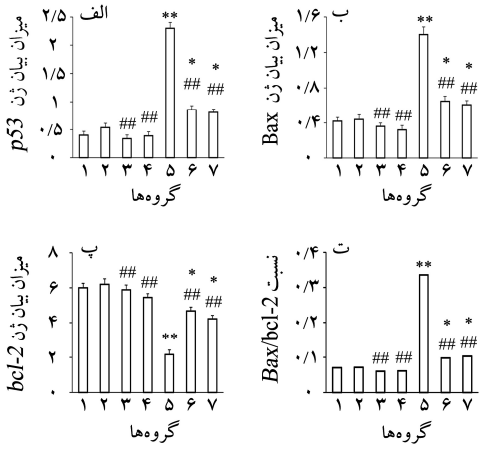
* و ** تفاوت معنی‌دار (به‌ترتیب P<0/05 و P<0/01) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم؛ ## تفاوت معنی‌دار (P<0/01) در مقایسه با گروه دانوروبیسین

گروه‌ها شامل: 1- شم، 2- کنترل، 3- ژل رویال 50 میلی‌گرم/کیلوگرم، 4- ژل رویال 100 میلی‌گرم/کیلوگرم، 5- دانوروبیسین، 6- ژل رویال 50 میلی‌گرم/کیلوگرم + دانوروبیسین، 7- ژل رویال 100 میلی‌گرم/کیلوگرم + دانوروبیسین

سنجش میزان بیان ژن‌های *p53* و *Bax* نشان داد که در موش‌های دریافت‌کننده دانوروبیسین به‌تنهایی، میزان بیان این دو ژن به‌طور قابل توجهی (P<0/01) نسبت‌به گروه‌های شم و کنترل افزایش پیدا کرده بود. موش‌های دریافت‌کننده ترکیب دانوروبیسین و ژل رویال به‌طور معنی‌داری میزان بیان ژن‌های *p53* و *Bax* بالاتری در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل داشتند (P<0/05). میزان بیان ژن‌های *p53* و *Bax* در موش‌های دریافت‌کننده ژل رویال به‌تنهایی و نیز موش‌های دریافت‌کننده ترکیب دانوروبیسین و ژل رویال به‌طور معنی‌داری کم‌تر از موش‌های دریافت‌کننده دانوروبیسین به‌تنهایی، بود (P<0/01). از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین دو گروه دریافت‌کننده ترکیب دانوروبیسین و ژل رویال وجود نداشت (P>0/05) (نمودار شماره 3 الف و ب). در موش‌های دریافت‌کننده دانوروبیسین، نیز دریافت‌کننده ترکیب دانوروبیسین و ژل رویال با هر دو دوز، کاهش معنی‌داری در بیان ژن *bcl-2* در مقایسه با موش‌های

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

گروه‌های شم و کنترل مشاهده شد (P<0/01). موش‌های دریافت‌کننده ژل رویال به‌تنهایی و نیز دریافت‌کننده همزمان ژل رویال و دانوروبیسین میزان بیان ژن *bcl-2* افزایش معنی‌داری نسبت به موش‌هایی که دانوروبیسین به‌تنهایی دریافت‌کرده بودند، نشان داد (P<0/01). مقایسه بین گروهی موش‌های گروه‌های ژل رویال (50 و 100میلی‌گرم/کیلوگرم) + دانوروبیسین تفاوت آماری قابل توجهی را در میزان بیان این ژن نشان نداد (P>0/05) (نمودار شماره 3 ج). محاسبه نسبت *Bax/bcl-2* حاکی از افزایش قابل توجه این نسبت در گروه دریافت‌کننده دانوروبیسین به‌تنهایی و نیز دریافت‌کننده همزمان ژل رویال و دانوروبیسین در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل بود (P<0/01). نسبت *Bax/bcl-2* در گروه‌های دریافت‌کننده ژل رویال به‌تنهایی و نیز دریافت‌کننده همزمان ژل رویال و دانوروبیسین در مقایسه با گروه دریافت‌کننده دانوروبیسین به‌تنهایی، کاهش قابل توجهی (P<0/01) داشت (نمودار شماره 3 د).



نمودار شماره 3: هیستوگرام اثرات تجویز ژل رویال و دانوروبیسین بر میزان بیان ژن‌های *p53*، *Bax*، *bcl-2* و نسبت *Bax/bcl-2* در گروه‌های مختلف مورد مطالعه.

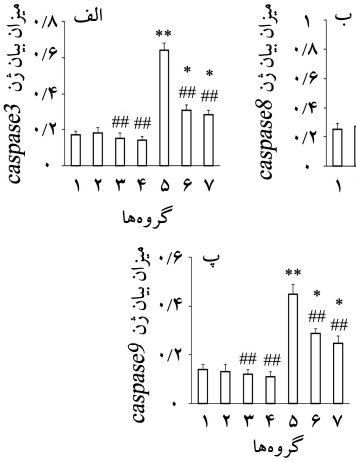
- مقادیر به‌صورت انحراف معیار±میانگین برای هر گروه (11 موش در هر گروه) ارائه شده است.

- مقایسه بین گروهی با آزمون واریانس یک‌طرفه و پس آزمون توکی انجام شد.

* و ** تفاوت معنی‌دار (به‌ترتیب P<0/05 و P<0/01) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم؛ ## تفاوت معنی‌دار (P<0/01) در مقایسه با گروه دانوروبیسین

گروه‌ها شامل: 1- شم، 2- کنترل، 3- ژل رویال 50 میلی‌گرم/کیلوگرم، 4- ژل رویال 100 میلی‌گرم/کیلوگرم، 5- دانوروبیسین، 6- ژل رویال 50 میلی‌گرم/کیلوگرم + دانوروبیسین، 7- ژل رویال 100 میلی‌گرم/کیلوگرم + دانوروبیسین

نتایج ارزیابی بیان ژن‌های *caspase 3* و *caspase 8* و *caspase 9* در نمودار شماره 4 الف-ج نشان داده شده است. اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌های *caspase 3* و *caspase 8* و *caspase 9* در بافت بیضه موش‌های مورد مطالعه نشان داد که میزان بیان این سه ژن در گروه دریافت‌کننده دانوروبیسین به‌تنهایی، به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه‌های شم و کنترل بود (P<0/01). تیمار همزمان موش‌ها با ژل رویال و دانوروبیسین سبب کاهش معنی‌دار بیان این سه ژن در مقایسه با موش‌هایی که دانوروبیسین به‌تنهایی دریافت‌کرده بودند، شد (P<0/01)، اما همچنان نسبت به موش‌های گروه‌های شم و کنترل بیان این ژن‌ها بیش‌تر بود (P<0/05). مقایسه بین گروهی موش‌های دریافت‌کننده ترکیب دانوروبیسین و ژل رویال اختلاف آماری قابل توجهی را نشان نداد (P>0/05).



نمودار شماره 4: هیستوگرام اثرات تجویز ژل رویال و دانوروبیسین بر میزان بیان ژن‌های *caspase 3*، *caspase 8* و *caspase 9* در گروه‌های مختلف مورد مطالعه.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

- مقادیر به‌صورت انحراف معیار±میانگین برای هر گروه (11 موش در هر گروه) ارائه شده است.
- مقایسه بین گروهی با آزمون واریانس یک‌طرفه و پس آزمون توکی انجام شد.
* و ** تفاوت معنی‌دار (به‌ترتیب P<0/05 و P<0/01) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم؛ ## تفاوت معنی‌دار (P<0/01) در مقایسه با گروه دانوروبیسین
گروه‌ها شامل: 1- شم، 2- کنترل، 3- ژل رویال 50 میلی‌گرم/کیلوگرم، 4- ژل رویال 100 میلی‌گرم/کیلوگرم، 5- دانوروبیسین، 6- ژل رویال 50 میلی‌گرم/کیلوگرم + دانوروبیسین، 7- ژل رویال 100 میلی‌گرم/کیلوگرم + دانوروبیسین

بحث

دانوروبیسین یکی از داروهای شیمی‌درمانی سرطان‌های مختلف است که بر اساس مطالعه قبلی ما، اثرات نامطلوبی بر سیستم تناسلی مردانه دارد(10). از سوی دیگر گزارش شده است که محصولات زنبور عسل اثرات مثبتی بر عملکرد تولیدمثلی پستانداران دارند(21). لذا در مطالعه حاضر اثرات دانوروبیسین بر میزان آپوپتوز و تغییرات بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز در موش کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/c مورد بررسی قرار گرفت و اثرات احتمالی ژل رویال بر این متغیرها مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌طور کلی، نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که داروی دانوروبیسین سبب القای آپوپتوز در بافت بیضه و نیز افزایش بیان ژن‌های *p53*، *Bax*، *caspase 3*، *caspase 8*، *caspase 9* و کاهش بیان ژن *bcl-2* شد. این درحالی است که تجویز ژل رویال سبب بهبود این پارامترها به‌دنبال تجویز دانوروبیسین شد.

نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار درصد سلول‌های آپوپتوزی بافت بیضه پس از دریافت دانوروبیسین بود. همسو با این نتایج، گزارش شده است که دانوروبیسین سبب افزایش آپوپتوز در رده‌های سلولی لوسمی شد(22). مطالعات دیگری نیز افزایش میزان آپوپتوز در بافت بیضه در گروه دریافت‌کننده دوکسوروبیسین را گزارش نمودند(۲۴،۲۳،11). با توجه به مطالعه قبلی ما به‌نظر می‌رسد که تولید سطوح بالا از رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تجویز دانوروبیسین(10)، باعث ایجاد آسیب به پروتئین‌های داخل سلولی و DNA بیضه شده و درنهایت آپوپتوز در بافت بیضه رخ داده است.

داده‌های این مطالعه همسو با نتایج یک مطالعه قبلی، نشان داد که دانوروبیسین سبب افزایش بیان ژن *p53* شد(22). این اثر دانوروبیسین به‌دلیل آسیب DNA و متعاقب آن بیان ژن *p53* رخ می‌دهد که به نوبه خود فعالیت توپوایزومراز II (آنزیم مسئول همانندسازی DNA) را مهار می‌کند. بیان ژن *p53* به‌طور مستقیم بر فعالیت *bcl-2* به عنوان بخشی از برنامه مستقل رونویسی مرگ سلولی تأثیر می‌گزارد(25). در واقع، *p53* سیتوزولی به پروتئین‌های خانواده *bcl-2* پرو آپوپتوتیک (مانند Bax) متصل می‌شود که به‌نوبه خود منجر به افزایش نفوذپذیری غشای میتوکندری، آزاد سازی سیتوکروم C و فعال شدن کاسپازهای 3 و 9 می‌شود(۲۷،۲۶). مطالعات قبلی نیز گزارش نموده‌اند که افزایش بیان ژن *p53* سبب آپوپتوز ناشی از دوکسوروبیسین در بافت بیضه شده است(۱۱،۲۸).

براساس نتایج مطالعه حاضر، مقایسه بیان ژن‌های *Bax* و *bcl-2* نشان داد که سطح بیان ژن *Bax* پس از تجویز دانوروبیسین بالاتر بود. درفرآیند آپوپتوز *Bax* و *bcl-2* به‌ترتیب به‌عنوان ژن پیش برنده و ژن متوقف‌کننده آپوپتوز شناخته می‌شوند(29). مطالعه حاضر همراستا با سایر مطالعات، نقش ژن‌های *p53*، *Bax* و *bcl-2* را در آپوپتوز ناشی از دوکسوروبیسین در بافت بیضه نشان می‌دهد(۲۸،۱۱). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه قبلی در خصوص اثر دانوروبیسین بر بیان ژن‌های *Bax* و *bcl-2* در سلول‌های لوسمی، مطابقت داشت(22). ژن *bcl-2*، غشاء میتوکندری را از اثرات مخرب *Bax* محافظت می‌نماید. کاهش در بیان/پایداری ژن *bcl-2*، منجر به آزاد شدن سیتوکروم c از طریق غشای میتوکندری می‌شود که به نوبه خود منجر به فعال شدن مسیرهای وابسته به کاسپاز می‌شود(۳۱،۳۰). تنظیم نسبت *Bax/bcl-2* که باعث ارتقای اندونوکلئازهای کاسپاز می‌شود یکی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

دیگر از مسیرهای آپوپتوز است که تحت تأثیر دانوروبیسین در بیضه قرار می‌گیرد. کاسپاز 3 در شرایط آسیب DNA و اختلالات فاکتور رشد، و نیز مسیر وابسته به پروتئین *bcl-2* فعال می‌شود. این مسیر وابسته به میتوکندری است و دخالت پروتئین‌های سیستئین یا کاسپازها (کاسپازهای 3، 8، 9 و 6) ضروری است. براساس نتایج مطالعه حاضر، تجویز دانوروبیسین سبب فعال شدن کاسپازهای 3، 8 و 9 شد. کاسپازها دسته‌ای از پروتئازهای سیستئینی هستند که نقش مهمی در فرآیند آپوپتوز بر عهده دارند(32). فعال شدن کاسپاز 9 در نتیجه اختلال در غشای خارجی میتوکندری است که موجب تغییر پتانسیل غشا و نفوذپذیری آن می‌شود(33). در حقیقت، کاسپازهای 8 و 9، کاسپازهای آغازگر در مسیر میتوکندریایی آپوپتوز هستند و موجب فعال شدن کاسپاز 3 یعنی کاسپاز اجرایی پایین دست می‌شود(34). کاسپاز 3 اندونوکلئازهای سیتوپلاسمی را فعال می‌کند و در نهایت باعث تخریب مواد هسته‌ای، پروتئین‌ها و ساختارهای اسکلت سلولی می‌شود(35). همسو با نتایج این مطالعه، گزارش شده است که پس از تجویز دانوروبیسین، افزایش سطح بیان فعالیت کاسپازهای 3 و 8 منجر به آپوپتوز در سلول‌های لوسمی شد(22). نتایج یک مطالعه نشان داد که دانوروبیسین منجر به فعال شدن کاسپازهای پایین دستی (عمدتاً کاسپاز 3) می‌شود که مسئول جداسازی سوبستراهای مهم در مرحله تخریب مرگ سلولی است(36). مشابه این نتایج، نتایج مطالعات دیگر نشان داد که دوکسوروبیسین باعث افزایش کاسپازهای فعال 3، 8 و 9 می‌شود(۱۱،۲۸،36).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز توأم ژل رویال با داروی دانوروبیسین سبب کاهش درصد سلول‌های آپوپتوزی، بیان ژن‌های *P53*، *Bax*، *caspase 3*، *caspase 8*، *caspase 9* و افزایش بیان ژن *bcl-2* شد. این نتایج با مطالعه قبلی ما در خصوص اثر تجویز همزمان ژل رویال و داروی ضدسرطان دوگزوروبیسین بر تعداد سلول‌های آپوپتوزی بافت بیضه و بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز، کاملاً مطابقت داشت(11). نتایج مطالعه قبلی ما نشان داد که ژل رویال به‌دلیل فعالیت‌های استروژنی و آنتی‌اکسیدانی و نیز کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها، در تعدیل آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از دانوروبیسین در بیضه موش مؤثر بود(10). بنابراین می‌توان اظهار داشت که کاهش قابل توجه آپوپتوز پس از تجویز ژل رویال از طریق تنظیم سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بیضه، تنظیم آبشار ژن‌های دخیل در آپوپتوز، مهار مسیر آپوپتوز وابسته به میتوکندری و هم‌چنین تنظیم آپوپتوز سلول‌های زایا رخ می‌دهد. اثر محافظتی ژل رویال از بافت بیضه در برابر آسیب‌های مرتبط با نیکوتین و استرس گرمایی توسط مطالعات قبلی گزارش شده است(۱۷،۱۸).

با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه‌گیری نمود که با استفاده از ژل رویال می‌توان اثربخشی داروهای ضدسرطان نظیر دانوروبیسین را بهبود بخشید و عوارض جانبی آن‌ها را بر بافت‌های طبیعی تعدیل نمود. در این مطالعه بررسی بر روی موش‌های سالم انجام شد و پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده بر روی موش‌های سرطانی نیز انجام شود. هم‌چنین، مطالعات بیش‌تری در مورد القاء آنژیوژنز و مرگ اتوفاژی توسط داروی دانوروبیسین و اثرات بهبود دهنده ژل رویال در مدل‌های سرطانی پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

نتایج این مطالعه بخشی از پایان نامه دکتری تخصصی فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات است که با شماره 980615 تصویب شده است. کد اخلاق IR.KUMS.REC.1398.695 می‌باشد. نویسندگان از کارشناسان گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

References

1. Murphy T, Yee KW. Cytarabine and daunorubicin for the treatment of acute myeloid leukemia. Expert Opin Pharmacother 2017; 18(16): 1765-1780.
2. Morrow GR, Black PM. Anticipatory nausea and vomiting side effects experienced by cancer patients undergoing chemotherapy treatment. In: Effect of cancer on quality of life. Florida: CRC Press; 2021. p. 251-268.
3. Stojak M, Mazur L, Opydo-Chanek M, Łukawska M, Oszczapowicz I. In vitro induction of apoptosis and necrosis by new derivatives of daunorubicin. Anticancer Res 2013; 33(10): 4439-4443.
4. Chikayama S, Kimura S, Kobayashi Y, Abe T, Maekawa T, Kondo M. Effects of daunorubicin on cell growth, cell cycle and induction of apoptosis in HL-60 cells. Haematologia 1998; 29(2): 115-121.
5. Rao J, Xu D-R, Zheng F-M, Long Z-J, Huang S-S, Wu X, et al. Curcumin reduces expression of Bcl-2, leading to apoptosis in daunorubicin-insensitive CD34+ acute myeloid leukemia cell lines and primary sorted CD34+ acute myeloid leukemia cells. J Trans Med 2011; 9(1): 1-15.
6. Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. Physiol Rev 2007; 87(1): 99-163.
7. Ramadan MF, Al-Ghamdi A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A rev. JFF 2012; 4(1): 39-52.
8. Zangeneh MM, Zangeneh A. Novel green synthesis of Hibiscus sabdariffa flower extract conjugated gold nanoparticles with excellent anti-acute myeloid leukemia effect in comparison to daunorubicin in a leukemic rodent model. Appl Organomet Chem 2020; 34(1): e5271.
9. Safaei Pourzamani M, Oryan S, Jalili C, Yaghmaei P, Ghanbari A. Protective effects of royal Jelly on the male reproductive system in Daunorubicin-treated mice. SJKU 2022; 27(1): 28-38.
10. Safaei Pourzamani M, Oryan S, Yaghmaei P, Jalili C. Royal jelly alleviates side effects of Doxorubicin on male reproductive system: a mouse model simulated human chemotherapy cycles. Res J Pharmacogn 2022; 9(1): 77-87.
11. Miguel MG, El-Guendouz S. Volatile compounds of royal jelly In: Alvarez-Suarez J. (eds) Bee Products-Chemical and Biological Properties. Switzerland: Springer; 2017. P 191-197.
12. Ahmad S, Campos MG, Fratini F, Altaye SZ, Li J. New insights into the biological and pharmaceutical properties of royal jelly. Int J Mol Sci 2020; 21(2): 382.
13. Martinello M, Mutinelli F. Antioxidant activity in bee products: A review. Antioxidants 2021; 10(1): 71.
14. Karaca T, Demirtaş S, Karaboğa İ, AYVAZ S. Protective effects of royal jelly against testicular damage in streptozotocin-induced diabetic rats. Turk J Med Sci 2015; 45(1): 27-32.
15. Almeer RS, Soliman D, Kassab RB, AlBasher GI, Alarifi S, Alkahtani S, et al. Royal jelly abrogates cadmium-induced oxidative challenge in mouse testes: involvement of the Nrf2 pathway. Int J Mol Sci 2018; 19(12): 3979.
16. Mahdivand N, Shalizar-Jalali A, Nejati V, Najafi G, Rahmani F. Adaptogenic potential of royal jelly in reproductive system of heat stress-exposed male rats. J Therm Biol 2021; 96: 102827.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

17. Nazar-Zadeh M, Jalili C, Nikgoftar Fathi A, Ghanbari A, Bakhtiari M. Royal-jelly-based apitherapy can attenuate damages to male reproductive parameter following nicotine administration. Animal Model Exp Med 2022; 5(2): 133-140.
18. Shahneh FZ, Valiyari S, Azadmehr A, Hajiaghaee R, Yaripour S, Bandehagh A, Baradaran B. Inhibition of growth and induction of apoptosis in fibrosarcoma cell lines by Echinophora platyloba DC: in vitro analysis. Adv Pharmacol Sci 2013; 2013: 512931.
19. Darakhshan S, Ghanbari A. Tranilast enhances the anti-tumor effects of tamoxifen on human breast cancer cells in vitro. J Biomed Sci 2013; 20(1): 1-13.
20. Hashem NM, Hassanein EM, Simal-Gandara J. Improving reproductive performance and health of mammals using honeybee products. Antioxidants 2021; 10(3): 336.
21. Al-Aamri HM, Irving HR, Bradley C, Meehan-Andrews T. Intrinsic and extrinsic apoptosis responses in leukaemia cells following daunorubicin treatment. BMC Cancer 2021; 21(1): 438.
22. Trivedi P, Tripathi D, Jena G. Hesperetin protects testicular toxicity of doxorubicin in rat: role of NFκB, p38 and caspase-3. Food Chem Toxicol 2011; 49(4): 838-847.
23. Öztürk E, Kaymak E, Akin A, Karabulut D, Ünsal HM, Yakan B. Thymoquinone is a protective agent that reduces the negative effects of doxorubicin in rat testis. Hum Exp Toxicol 2020; 39(10): 1364-1373.
24. Erster S, Moll UM. Stress-induced p53 runs a transcription-independent death program. Biochem Biophys Res Commun 2005; 331(3): 843-850.
25. Petros AM, Gunasekera A, Xu N, Olejniczak ET, Fesik SW. Defining the p53 DNA-binding domain/Bcl-xL-binding interface using NMR. FEBS Lett 2004; 559(1-3): 171-174.
26. Ohtsuka T, Ryu H, Minamishima YA, Macip S, Sagara J, Nakayama KI, et al. ASC is a Bax adaptor and regulates the p53–Bax mitochondrial apoptosis pathway. Nat Cell Boil 2004; 6(2): 121-128.
27. Rizk SM, Zaki HF, Mina MA. Propolis attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats. Food Chem Toxicol 2014; 67: 176-186.
28. Gustavsson M, Wilson MA, Mallard C, Rousset C, Johnston MV, Hagberg H. Global gene expression in the developing rat brain after hypoxic preconditioning: involvement of apoptotic mechanisms? Pediatr Res 2007; 61(4): 444-450.
29. Chipuk JE, Green DR. How do BCL-2 proteins induce mitochondrial outer membrane permeabilization? Trends Cell Boil 2008; 18(4): 157-164.
30. Li YJ, Song TB, Cai YY, Zhou JS, Song X, Zhao X, et al. Bisphenol A exposure induces apoptosis and upregulation of Fas/FasL and caspase-3 expression in the testes of mice. Toxicol Sci 2009; 108(2): 427-436.
31. Lopez J, Tait S. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. Br J Cancer 2015; 112(6): 957-962.
32. Bertheloot D, Latz E, Franklin BS. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. Cell Mol Immunol 2021; 18(5): 1106-1121.
33. Green DR. Caspase activation and inhibition. Cold Spring Harb Perspect Biol 2022; 14(8): a041020.
34. McIlwain DR, Berger T, Mak TW. Caspase functions in cell death and disease. Cold Spring Harb Perspect Biol 2015; 7(4): a008656.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

35. Masquelier M, Zhou QF, Gruber A, Vitols S. Relationship between daunorubicin concentration and apoptosis induction in leukemic cells. Biochem Pharmacol 2004; 67(6): 1047-1056.

36. Sharifi S, Barar J, Hejazi MS, Samadi N. Doxorubicin changes Bax/Bcl-xL ratio, caspase-8 and 9 in breast cancer cells. Adv Pharm Bull 2015; 5(3): 351-359.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]