IRAQI Academic Scientific Journals
Samarra Journal of Pure and Applied Science
SJPAS
مجلة سامراء للعلوم الصرفة والتطبيقية
www.sjpas.com
p ISSN: 2663-7405
e ISSN: 2789-6838

تقييم فعالية سم النحل العامل على الفئران المعملية المصابة بتلف الكبد الناجم عن الأسيتامينوفين

عبير مكيف جاسم [1]*، مكارم مصطفى كمال أسعد [2]، هشام ناجي حميد [2]
1- مديرية تربية صلاح الدين، وزارة التربية، العراق.
2- قسم علوم الحياة، كلية التربية، جامعة سامراء، العراق

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
https://doi.org/10.54153/sjpas.2024.v6i3.839

معلومات البحث:
تأريخ الاستلام: 2024/03/06
تاريخ التعديل : 2024/04/14
تأريخ القبــول: 2024/05/25
تاريخ الـنشر: 2024/09/30

الكلمات المفتاحية:
Apis mellifera L ، سم النحل، الأسيتامينوفين، الخلايا الكبدية، التهاب الكبد

معلومات المؤلف

الايميل:
الموبايل:

الخلاصة:

يعد العلاج بمنتجات النحل احد أنواع طرق العلاج البديل يعتمد على استخدام منتجات نحل العسل، وأهمها سم النحل لعلاج العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان. يمكن إدخال السم إلى جسم الإنسان عن طريق الحقن اليدوي يحتوي سم النحل على العديد من الجزيئات النشطة مثل الببتيدات والإنزيمات التي لها استخدامات مفيدة في علاج الالتهابات. أجريت الدراسة لمعرفة فعالية سم النحل على انسجة الفئران المختبرية المستحث فيها التهاب الكبد بالاسيتامينوفين، صممت التجربة بأخذ فئران مختبرية عدد (35) وقسمت الى خمس مجاميع واحدة سيطرة (مغذي) واحدة حقنت الاسيتامينوفين300 mg\kg وثلاث مجاميع سم النحل بتراكيز(15 ، 30 ، 60 مايكرولتر)، واوضحت النتائج من خلال الفحص ان الاسيتامينوفين احدث تضرر واضح في الخلايا الكبدية وادى الى ارتشاح الخلايا الالتهابية وتنكس عام للنسيج فضلاً عن تلف الاوعية الدموية وكانت النتائج المجموعات الأخرى تقريباً بنفس درجة الإصابة، بينما أظهرت المجموعة المعاملة بسم النحل (30 مايكرولتر) بعد شهر ان ترتيب الخلايا الكبدية حول الوريد المركزي بشكل منتظم تقريباً. واستنتج ان لسم النحل القدرة على حماية الكبد من اضرار الادوية المسببة للألتهاب الكبدي او على الأقل الحد من اثاره.

المقدمة

يتكون مجتمع نحل العسل *Apis mellifera L*. من افراد مختلفة هي الملكة، والشغالات والذكور، ويعد من الحشرات الاجتماعية *Social insect* [1]، وتساهم حشرة نحل العسل مساهمة فعالة في الحفاظ على البيئة والتنوع الحيوي، إذ ان النحل في البيئة دليل على صحتها [2]، وللنحل القدرة على التعرف على الروائح ومكان الغذاء والماء والتمييز بين الأنواع [3].

يعد سم النحل *Bee Venom* أحد منتجات نحل العسل ذات الاهمية الطبية، اذ تم استعماله في العديد من مناهج الطب التقليدية منذ الاف السنين في محاولة لعلاج العديد من الامراض. كما تؤكد النصوص القديمة ان الاطباء استعملوا سم النحل لسنوات في العلاج [4]. يتميز سم النحل بكونه مادة هلامية متوسطة الكثافة تقوم بإنتاجها غدة خاصة في بطن الشغالة حيث يخرج السم بوساطة ابرة اللسع الى الجسم الملسوع وتبقى الإبرة وملحقاتها ملتصقة في جسم الملسوع وتنفصل عن جسم العاملة التي تموت بعد فترة قصيرة، تستمر عضلات كيس السم بدفع السم الى الجسم الملسوع حتى بعد انفصاله عن الشغالة، وتكون الة اللسع للشغالات حديثة الخروج غير مكتملة النمو وحاوية على كميات صغيرة جداً من السم ولكن بتقدم العمر تتراكم بشكل تدريجي لتصل الى 0.3 ملغرام في الشغالة الواحدة بعمر15 يوماً، بعدها ينقطع تكوين السم ولا ينتج كميات اضافية منه [5]، وتختلف كمية سم النحل باختلاف الفصول اذ تصل اعلى كمية في الربيع وتقل في فصل الشتاء والخريف لان البيئة التي تحتوي على الكربوهيدرات والنشويات والتي لا تحتوي على حبوب اللقاح تكون غير مناسبة لتكوين سم النحل فيزداد بزيادة تناول الشغالة للبروتينات ويقل بتناولها الكربوهيدرات [6].

يحتوي سم النحل على العديد من الببتيدات، بما في ذلك الميليتين *melittin*، والأبامين *apamin*، والآدو لابين *adolapin*، والببتيد المزيل لحبيبات الخلايا البدينة *mast-cell-degranulating peptide (MCD)*، والإنزيمات مثل (الفسفوليباز *phospholipase A2 [PL]*)، والأمينات *amines* النشطة فسيولوجيًا (مثل الهيستامين *histamine* والأدرينالين *epinephrine*)، ومكونات غير ببتيدية ذات صفات دوائية مختلفة. وفي العديد من الدراسات، تبين أن سم النحل يوفر خصائص مضادة للالتهابات. ويعد الميليتين، وهو مكون الببتيد الرئيسي في سم النحل، ذو خصائص مضادة للالتهابات ومضادة لالتهاب المفاصل. ويمكن ان يعد تأثيره المثبط على العامل النووي *kappa B (NF-κB)* احدى السمات الاساسية المفيدة لسم النحل [7].

تعد إصابات الكبد الناجمة عن الأدوية مشكلة كبيرة أصبحت منتشرة بشكل متزايد، حيث يمكن أن تسبب العديد من المواد السامة تلفاً حاداً في الكبد، وأكثرها انتشاراً هو *N-acetyl-para-amino phenol (APAP)*، المعروف غالبًا بإسم الباراسيتامول او الأسيتامينوفين *Acetaminophen) [8]*. وهو دواء خافض للحرارة ومسكن شائع الاستخدام وفعّال ويعد آمنًا في جرعته العلاجية، ومع ذلك فأنه يمكن أن يسبب نخرًا حادًا في الكبد، وسمية كلوية، وآفات إضافية للكبد، وحتى الموت في فئران التجارب والبشر عند تناوله بجرعات عالية. لقد سعى العديد من الباحثين إلى تحديد الآلية الكامنة وراء الإصابة الحادة الناجمة عن الأسيتامينوفين، وخاصة مسارات الإشارات التي تؤدي إلى تلف الأنسجة وسميتها في الكبد [9]. وذُكر في العديد من الأبحاث ان التركيز 300 *mg/kg* هي الجرعة التي تسبب التهاب الكبد وأن اقصى جرعة اعتيادية هي 15 *mg/kg* أي ما يعادل 185 *mg/kg* في الفئران، حيث يعد اعطاء الأسيتامينوفين بجرعة عالية (*over dose*) نموذجاً رئيساً في أبحاث الكبد التجريبية، وهذا التركيز يؤدي الى نفس النتائج دائما [10].

لذا كان الهدف من الدراسة الحالية معرفة تأثير سم النحل على انسجة الفئران المختبرية المستحث فيها التهاب الكبد باستخدام عقار الاسيتامينوفين، وعمل مقارنة بين الانسجة السليمة والمريضة قبل وبعد المعاملة بمنتجات النحل.

المواد وطرق العمل

جمع سم النحل Venom من الشغالات خلال موسم الربيع كون النحل في قمة نشاطه (بوساطة جهاز جمع كهربائي - ألواح الجمع) تم جمع 3غم من حوالي 10000 نحلة مرت خلال الجهاز الكهربائي، حيث يعطي كهربائية تحفز الشغالة على فرز السم اثناء مرورها على الأسلاك الكهربائية، ان الصدمة الكهربائية الخفيفة تحث شغالة النحل على دفع قطرة واحدة من السم في نهاية ابرة اللسع فتسقط هذه القطرة على اللوح الزجاجي الموجود اسفل الأسلاك الكهربائية والذي يتصلب بدوره بعد فترة قليلة من ملامسته للهواء، بعدها يتم جمعه بطريقة القشط من على اللوح الزجاجي، ويكون السم بلون ابيض في البداية ثم يميل الى الاصفرار بمرور الوقت، بعدها تم حفظه في قناني معتمة بدرجة حرارة (5) مْ في الثلاجة لحين الاستعمال، وللحفظ الطويل deep frizzing بدرجة (-20) مْ.[11].

أنجزت الدراسة في مختبرات قسم علوم الحياة التابعة لكلية التربية في جامعة سامراء، أما عمل المقاطع فتم إنجازها في مختبرات كلية الطب البيطري/جامعة تكريت، وصمّمت التجربة بأخذ (35) من ذكور الفئران البيض (mus musculus) ذات وزن 20-25 غرام، تم الحصول عليها من بيت الحيوانات التابع لوزارة العلوم والتكنولوجيا العراقية، وقبل إجراء التجربة، تركت الفئران في أقفاص لمدة 10 أيام تحت ظروف مختبرية من (دورة ضوء/ظلام مدتها 12 ساعة ودرجة حرارة قدرها 25 درجة مئوية). حيث وزنت فئران التجربة قبل اجراء الحقن وقسمت على خمس مجموعات كل مجموعة تحوي على 7 مكررات بعدها تم بدأ صيام لمدة 12 الى 14 ساعة بوجود الماء قبل الحقن بأول جرعة. حُقنت المجموعات الخمسة بالأسيتامينوفين بشكل محلول سائل تنتجه شركة Acino التابعة للولايات المتحدة الامريكية بوساطة حقنة صغيرة خاصة وحُقن داخل الصفاق Intraperitoneal injection، وبتركيز 300 ملغم/كغم من وزن الجسم [10]. وهو ما يعادل الجرعة المسببة لالتهاب الكبد الحاد واستمر حقن المجاميع يومياً لمدة اسبوع ثم تركت لمدة اسبوع بدون حقن مع استمرار الغذاء والماء وبعدها بدأت مرحلة المعالجة بسم النحل Bee venom حقناً داخل الصفاق intraperitonially تم تخفيف سم النحل بمقدار نصف غرام سم النحل مع 500 مل ماء مقطر 1 mg:1ml [12].

المجموعة الأولى (مجموعة الأستيامينوفين): حقنت بالعقار لمدة أسبوع وتترك بدون علاج.

المجموعة الثانية (مجموعة الأسيتامينوفين ومحلول المغذي): تحقن بواسطة حقنة صغيرة لمدة اسبوعين كل اسبوع جرعتين باعتبارها مجموعة سيطرة بالنسبة للمجاميع المعالجة بسم النحل.

المجموعة الثالثة (مجموعة الأستيامينوفين وسم النحل 15): المجموعة تعالج بسم النحل (15 مايكرولتر) تحقن بواسطة حقنة صغيرة لمدة اسبوعين كل اسبوع جرعتين.

المجموعة الرابعة (مجموعة الأستيامينوفين وسم النحل 30): تعالج بسم النحل (30 مايكرولتر) لمدة اسبوعين.

المجموعة الخامسة (مجموعة الأستيامينوفين وسم النحل 60): تعالج بسم النحل (60 مايكرولتر) لمدة أسبوعين.

شرّح قسم من الفئران (عدد 3) بعد انتهاء فترة المعالجة بسم النحل مباشرة وترك القسم الاخر (عدد 4) لمدة شهر بعد المعالجة، ثم شرّحت بعدها. تم تخدير الفئران بالكلوروفورم. وتحضيراً للمقاطع النسجية للكبد، تم تشريح بطن كل فأر، وازيل كبده وحفظ لمدة 48 ساعة على الأقل في 10٪ من الفورمالين. بعدها تم معالجة جميع عينات الكبد المثّبتة باستخدام تقنية الطمر بشمع البارافين. وقد استُخدمت صبغة الهيماتوكسيلين والإيوسين H&E لتصبيغ الشرائح المجهرية. وأخيراً، فحصت الشرائح النسجية بالمجهر الضوئي (Biolab) لتحديد التغيرات التي تطرأ على النسيج [13].

النتائج والمناقشة

التغيرات النسجية في الكبد

مجموعة أسيتامينوفين Acetaminophen

يوّضح الشكل (1) مقطع نسجي لكبد ذكور الفئران المعاملة بعقار الأسيتامينوفين لمدة اسبوع والتي تشريحها بعد اسبوعين من ايقاف العلاج مباشرة يوضح احتقان الاوردة المركزية والوريد البابي Congestion، وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية Infiltrated Leukocytes، احتقان الجيبانات الدموية Sinusoids congestion، وعدم انتظام الخلايا الكبدية Hepatocytes، ترسب صبغة الهيموسيدرين he الناتجة عن تحلل كريات الدم الحمراء. كما أظهر الفحص النسجي تنكس الخلايا الكبدية الدهني Fatty degeneration، وانتفاخها Swelling hepatocytes، احتقان الاوعية الدموية الوريد المركزي Central veins والجيبانات الدموية blood sinusoids، وحدوث تحلل دموي جزئي Partial haemolysis، انتفاخ الانوية Swelling nucleus وتحلل قسم منها Karyolysis، وظهور خلايا البلعمية الكبيرة Macrophages وانسلاخ بطانة الاوعية الدموية Desquamation، وتثخن جدرانها في المنطقة البابية Portal Triad، الشكل (2).

واظهر الفحص النسجي للمجموعة التي شرحت بعد شهر حدوث احتقاناً في الوريد المركزي وانسلاخ بطانته وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية، احتقان الجيبانات الدموية S con، وعدم انتظام الخلايا الكبدية HC وتنكسها، ترسب لصبغة الهيموسيدرين الناتجة عن تحلل كريات الدم الحمر he، فضلاً عن تثخن جدار القنية الصفراوية Thickening wall، الشكلين (3، 4).

المجموعة المعاملة بالأسيتامينوفين ومحلول المغذي Acetaminophen and Normal Saline

أظهر الفحص النسجي لكبد الفئران المعاملة بالأسيتامينوفين لمدة اسبوع ومن ثم بالمحلول المغذيNormal Saline لمدة اسبوعين من اعطاء الأسيتامينوفين وشرحت بعدها مباشرة لوحظ ظهور بعض الخلايا المتنّكسة مع حصول انتفاخ بعض الخلايا Swelling Hepatocytes، بالإضافة إلى توسف الخلايا البطانية لجدار الوعاء الدموي، إذ تظهر الأوعية الدموية تحلل دموي جزئي Partial hemolysis، وحدوث احتقان دموي Congestion، وترسب صبغة الهيموسيدرين he، مع وجود ارتشاح الخلايا اللمفاوية الالتهابية حول بعض الأوعية الدموية Infiltrated lymphocytes وارتشاح خلايا العدلة Neutrophils، تسمك جدار القنية الصفراوية TH في منطقة الثلاثي البابي وتسمك الشرين البابي Portal arteriole، وانتفاخ الجيبانات الدموية SS، وملاحظة لخلايا كويفر البلعمية Kupffer cells وكانت النتائج مشابهة للمجموعة المعاملة بالأسيتامينوفين، كما في الشكل (5).

واظهر الفحص النسجي للمجموعة التي شرحت بعد شهر حدوث احتقاناً في الوريد المركزي وانسلاخ بطانته وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية، احتقان الجيبانات الدموية S con، وعدم انتظام الخلايا الكبدية HC وتنكسها، ترسب لصبغة الهيموسيدرين الناتجة عن تحلل كريات الدم الحمر he، فضلاً عن تثخن جدار القنية الصفراوية Thickening wall، الشكل (6).

المجموعة المعاملة بالأسيتامينوفين وسم النحل 15 Acetaminophen and Bee Venom 15

أظهر الفحص النسجي لكبد الفئران المعاملة بالأسيتامينوفين لمدة اسبوع ومن ثم بسم النحل 15 لمدة اسبوعين من اعطاء الأسيتامينوفين وشرحت بعدها مباشرة انتفاخ الخلايا الكبدية SH وتنكسها DH بشكل واضح، والقسم الأكبر منها ذات سايتوبلازم متفّجي، فضلاً عن تضرر جدار الوعاء الدموي بشكل كبير Damage of Wall، وخروج كريات الدم الحمر دلالة على النزف Haemorrhage وارتشاح عدد كبير من الخلايا اللمفاوية حول الاوعية الدموية في منطقة النزف مما يدل على حصول الالتهاب، ويلاحظ خلايا كويفر البلعمية Kpc، وفي مقاطع اخرى ظهور خلايا بلعمية متعددة النوى Giant cells، اضافة الى ارتشاح الخلايا الالتهابية وحيدة النواة Monocytes، الشكل (5 ، 6).

اما بالنسبة للمجموعة التي شرحت بعد مدة شهر فكانت نتائج الفحص ارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية، تواجد عدد قليل من الخلايا الوحيدة النواة MNc، ظهور خلايا كويفر البلعمية Kpc وعدم انتظام الخلايا الكبدية H، تحلل دموي داخل الشرين البابي. وجود كريات الدم الحمراء RBCs، وارتشاح الخلايا الالتهابية IL، وخلايا وحيدة النواة MNs، احتقان الجيبانات الدموية S con، انتفاخ أنوية الخلايا الكبدية SN، تواجد الخلايا العملاقة متعددة النوى الماكروفاج gc، الشكل (7، 8).

المجموعة المعاملة بالأسيتامينوفين وسم النحل 30: Acetaminophen and Bee Venom 30 Group

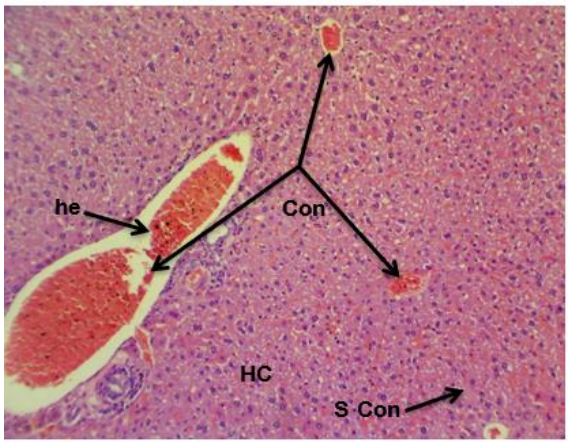
أظهر الفحص النسجي لكبد الفئران المعاملة بعقار الأسيتامينوفين لمدة اسبوع وسم النحل 30 لمدة اسبوعين من اعطاء الأسيتامينوفين وشرحت بعدها مباشرة عدم انتظام الخلايا الكبدية وارتشاح الخلايا الالتهابية وحدوث التحلل الدموي الكامل لكريات الدم الحمر Haemolysis الشكل (9). وفي مقاطع اخرى اظهر تنكساً عاماً للنسيج وانتفاخ أنويتها Swelling Nucleus فضلاً عن تلف الاوعية الذي تمثلت بتضرر جدار الوعاء الدموي وحصول تسمك للجدار وحدوث تليف قرب الوعاء الدموي Fibrosis، ولوحظ ايضاً تواجد عدد قليل من الخلايا وحيدة النواة Monocytes، الشكل (10).

بينما اظهر الفحص النسجي للمجموعة التي شرحت بعد مدة شهر ترتيب الخلايا الكبدية حول الوريد المركزي بشكل منتظم تقريباً، وارتشاح الخلايا الالتهابية وحيدة النواة Mnc، تنكس بعض الخلايا الكبدية DH وارتشاح الخلايا الالتهابية وحيدة النواة Mnc، والخلايا اللمفاوية IL، فضلاً عن تورم نوى الخلايا الكبدية SN، الشكلين (11 ، 12).

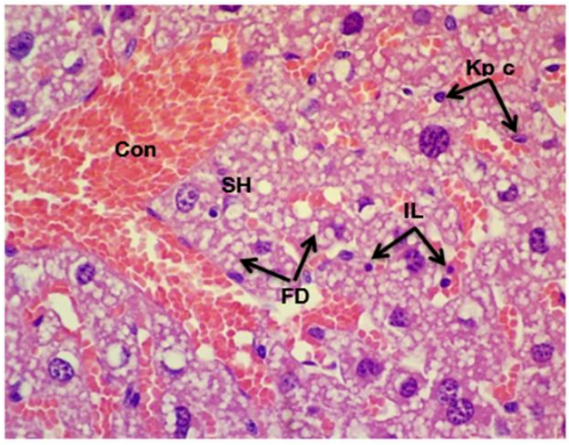
المجموعة المعاملة بالأسيتامينوفين وسم النحل 60: Acetaminophen and Bee Venom 6 Group

أظهر الفحص النسجي لكبد الفئران المعاملة بعقار الأسيتامينوفين لمدة اسبوع وسم النحل 60 لمدة اسبوعين من اعطاء الأسيتامينوفين وشرحت بعدها مباشرة تنكس الخلايا الكبدية DH، احتقان وتحلل دموي جزئي في الوريد المركزي PHe، وظهور تجمعات من الخلايا الالتهابية المرتشحة في مناطق متعددة IL، اضافةً الى كريات الدم الحمر RBCs، فضلاً عن تنخر قسم الخلايا الكبدية وحدوث احتقان وتحلل دموي جزئي في كل من الوريد المركزي والوريد البابي وكذلك تحلل كامل He، الشكلين (13 ،14).

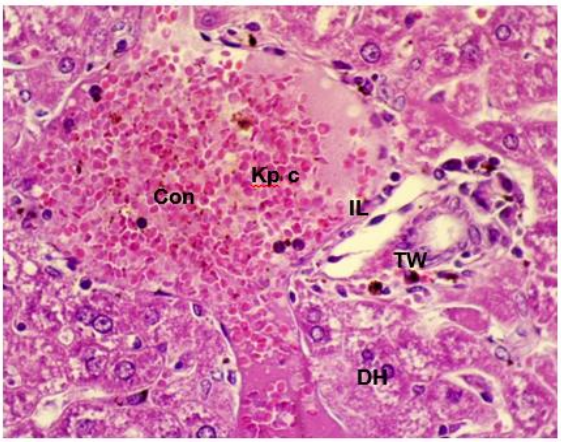
اما بالنسبة للمجموعة التي شرحت بعد مدة شهر فأظهرت نتائج الفحص تنكس الخلايا الكبدية حول الوريد المركزي، وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية، تثخن جدار القنية الصفراوية، حدوث تليف وتورم الخلايا الكبدية SH وانتفاخ أنويتها SN، وظهور الخلايا البلعمية الكبيرة (ماكروفاج)، توسع الجيبانات الدموية، الشكلين (15، 16).



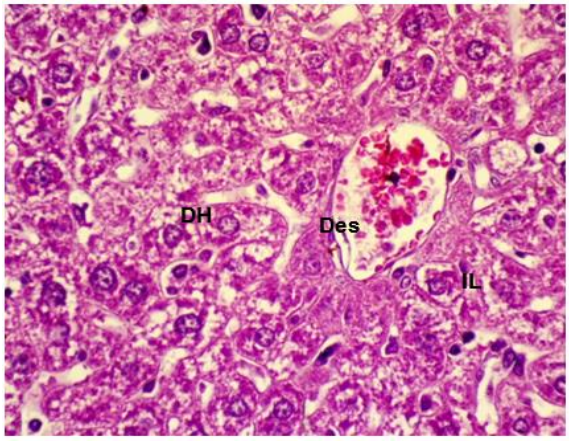
الشكل 1: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين بعد ايقاف العلاج مباشرة يوضح احتقان الاوردة المركزية والوريد البابي Con، وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية، احتقان الجيبانات الدموية S con، الصبغة H&E، 400 X.



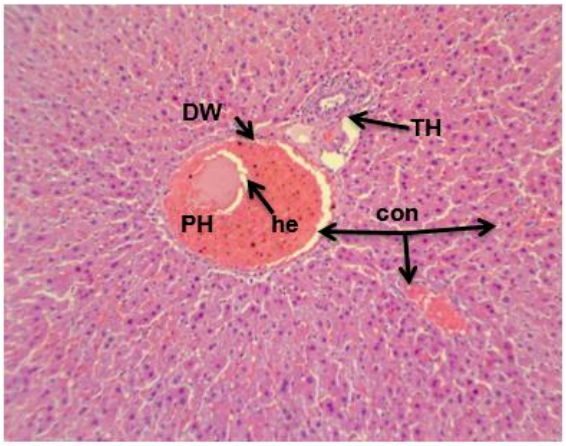
الشكل 2: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين بعد ايقاف العلاج مباشرة يوضح تنكس الخلايا الكبدية الدهني FD، وانتفاخها SH، الاحتقان الدموي Con، ارتشاح الخلايا اللمفاوية IL، الصبغة H&E، 400 .



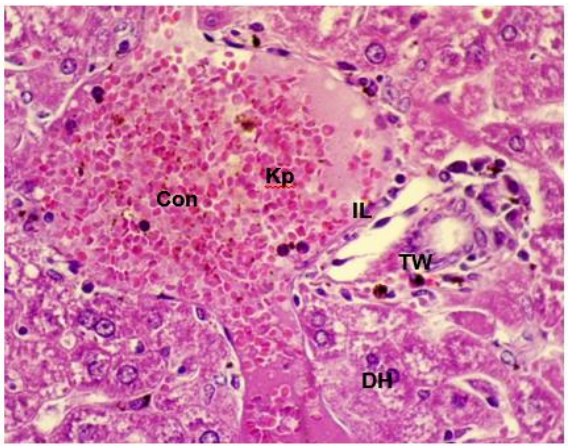
الشكل 3: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين بعد انتهاء التجربة يوضح احتقان الوريد البابي Con، وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية، وعدم انتظام الخلايا الكبدية وتنكسها DH، ترسب هيموسيدرين he، تثخن جدار القنية الصفراوية TW، الصبغة H&E، 400 .



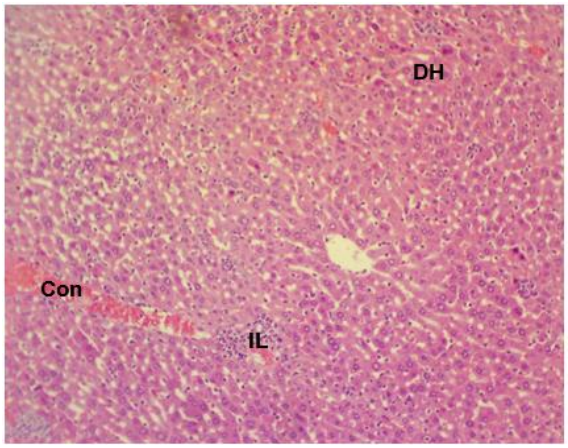
الشكل 4: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين بعد انتهاء التجربة يوضح احتقان الوريد المركزي وانسلاخ بطانته Des وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية، وعدم انتظام الخلايا الكبدية HC، الصبغة H&E، 400 .



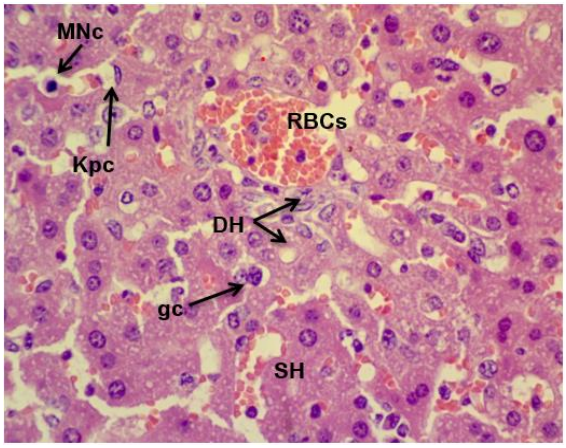
الشكل 5: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين ومحلول المغذي Normal Slain لمدة اسبوعين يوضح احتقان دموي للأوعية الدموية con، التحلل الدموي الجزئي PHe، تضرر جدار الوعاء الدموي DW، تسمك جدار القنية الصفراوية TH، ترسب صبغة الهيموسيدرين he، الصبغة H&E، 100.



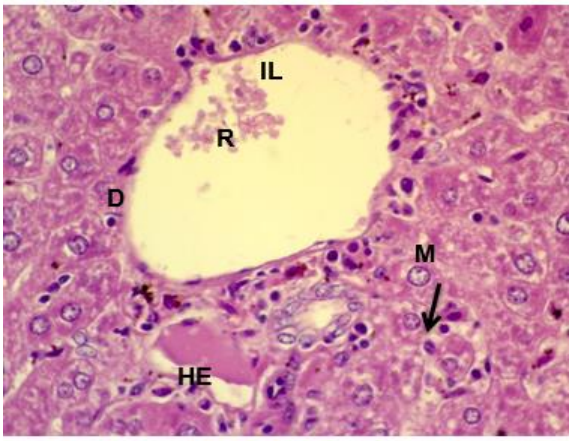
الشكل 6: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين بعد انتهاء التجربة يوضح احتقان الوريد البابي Con، وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية، وعدم انتظام الخلايا الكبدية وتنكسها DH، ترسب هيموسيدرين he، تثخن جدار القنية الصفراوية TW، الصبغة H&E، 400.



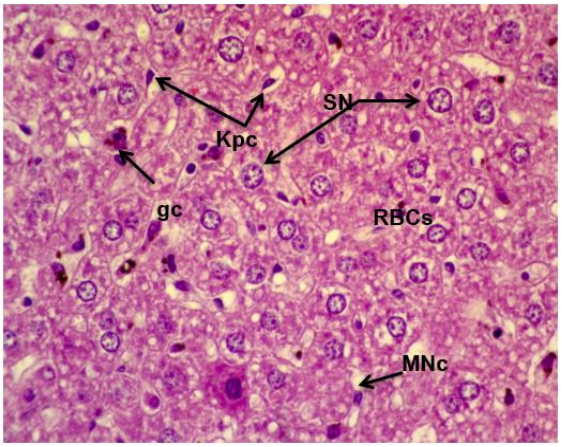
الشكل 7: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 15 لمدة اسبوعين، بعد ايقاف العلاج مباشرة يوضح احتقان الاوعية الدموية Con، انتفاخ الخلايا الكبدية SH وتنكسها DH، ارتشاح الخلايا الالتهابية IL، الصبغةH&E، 100.



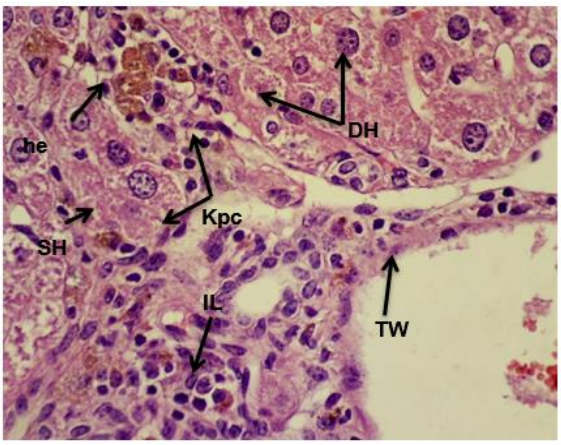
الشكل 8: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 15لمدة اسبوعين، بعد ايقاف العلاج مباشرة يوضح كريات الدم الحمر RBCs، انتفاخ الخلايا الكبدية SH وتنكسها DH، خلايا كوبفر البلعمية Kpc، خلايا ماكروفاج متعددة النوى gc، خلية وحيدة النواة MNc، الصبغة H&E، 400.



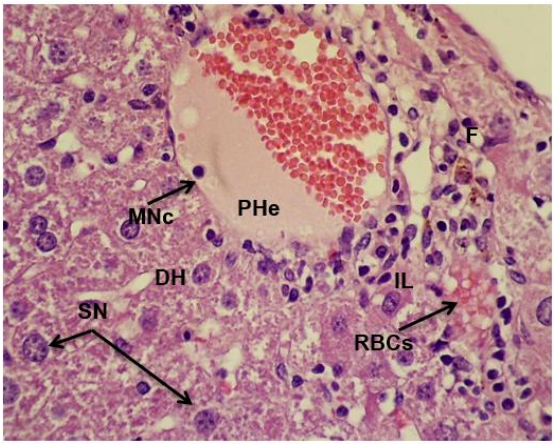
الشكل 9: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 15 بعد انتهاء التجربة يوضح ارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية، تواجد عدد قليل من الخلايا الوحيدة النواة MNc، وعدم انتظام الخلايا الكبدية H، تحلل دموي داخل الشرين البابي HE، الصبغة H&E، 100.



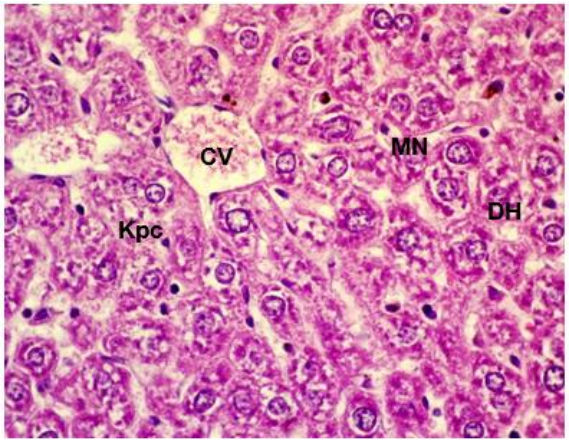
الشكل 10: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 15 بعد انتهاء التجربة يوضح انتفاخ الانوية SN، تواجد خلايا كوبفر البلعمية Kpc، تواجد الخلايا العملاقة gc، الصبغة H&E، 400.



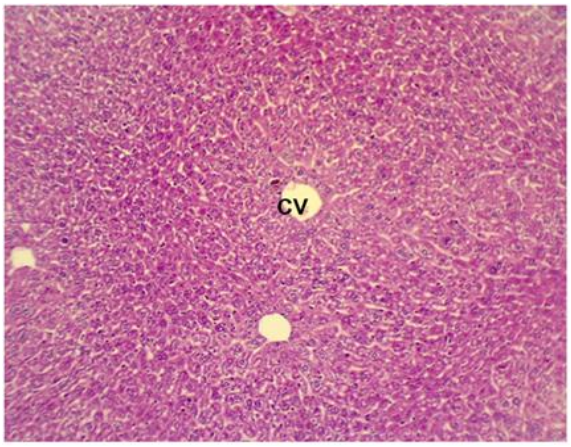
الشكل 11: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 30 لمدة اسبوعين، بعد ايقاف العلاج مباشرة يوضح تسمك جدار الوعاء الدموي TW، ارتشاح الخلايا الالتهابية IL، تواجد خلايا كوبفر البلعمية Kpc، انتفاخ الخلايا الكبدية SH، وتنكسها DH، ترسب صبغة الهيموسيدرين he، الصبغة H&E، 400.



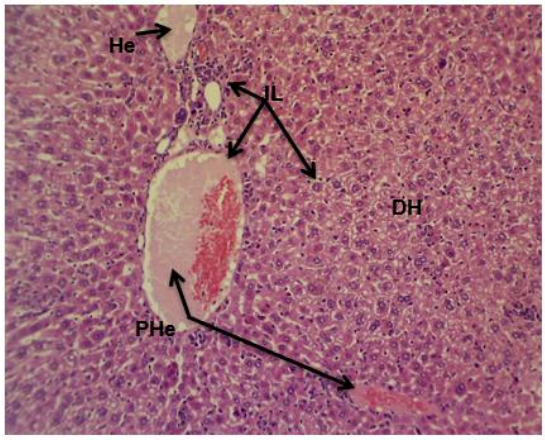
الشكل 12: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 3% لمدة اسبوعين، بعد ايقاف العلاج مباشرة يوضح احتقان وتحلل دموي جزئي داخل الوعاء الدموي PHe، حدوث تليف قرب الوعاء الدموي F، ارتشاح الخلايا الالتهابية IL، خلية وحيدة النواة Mnc، كريات الدم الحمر RBCs، تنكس الخلايا الكبدية DH، انتفاخ الانوية SN، الصبغة H&E ،400.



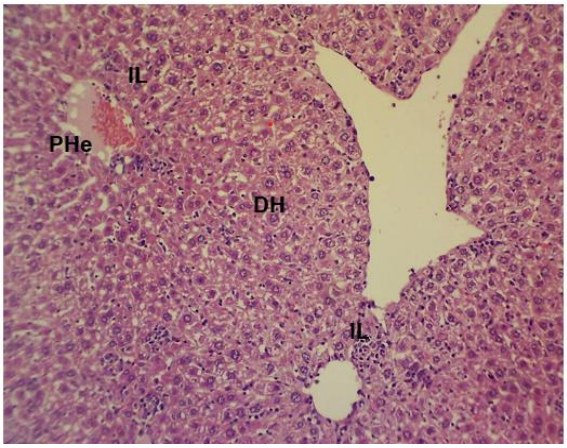
الشكل 13: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 30 بعد انتهاء التجربة يوضح الوريد المركزي CV، وارتشاح الخلايا الالتهابية وحيدة النواة Mnc، تنكس الخلايا الكبدية DH، الصبغة H&E، 400 .



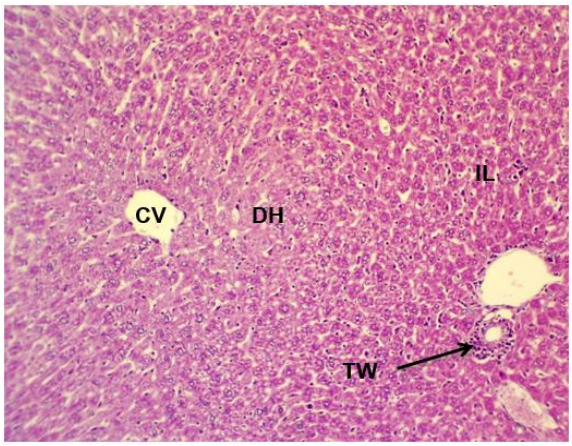
الشكل 14: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 3% بعد انتهاء التجربة يوضح الاوردة المركزية، وعدم انتظام الخلايا الكبدية HC, الصبغة H&E, 100.



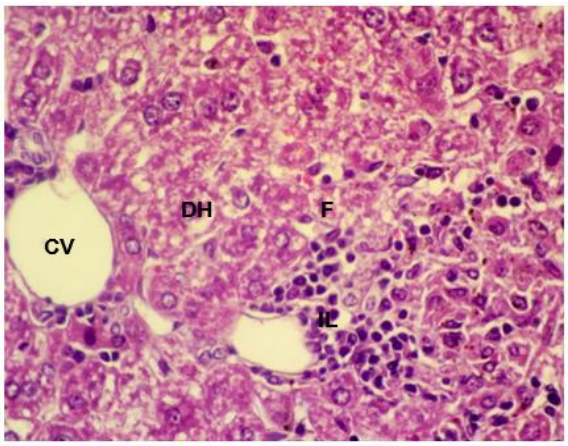
الشكل 15: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 60 لمدة اسبوعين، بعد ايقاف العلاج مباشرة يوضح تنكس الخلايا الكبدية DH، ارتشاح الخلايا الالتهابية IL، كريات الدم الحمر RBCs، احتقان وتحلل دموي جزئي في كل من الوريد المركزي والوريد البابي PHe وكذلك تحلل كامل He، الصبغة H&E، 100 .



الشكل 16: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 60 لمدة اسبوعين، بعد ايقاف العلاج مباشرة يوضح تنخر الخلايا الكبدية DH، احتقان وتحلل دموي جزئي في الوريد المركزي PHe، وظهور تجمعات من الخلايا الالتهابية المرتشحة في مناطق متعددة IL، الصبغة H&E، 100 .



الشكل 17: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 60 بعد انتهاء التجربة يوضح وتنكس الخلايا الكبدية DH حول الوريد المركزي CV، وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية IL، تثخن جدار القنية الصفراوية TW، الصبغة H&E، 100.



الشكل 18: مقطع نسجي لكبد فأر معامل بالأسيتامينوفين وسم النحل Bee Venom 60 بعد انتهاء التجربة يوضح وتنكس الخلايا الكبدية DH حول الوريد المركزي CV، وارتشاح الخلايا الالتهابية قرب المنطقة البابية IL، حدوث تليف F، الصبغة H&E، 400 .

أظهر الفحص النسيجي تأثير عقار الاسيتامينوفين على الكبد اذ سبب ظهور تغيرات نسجية تمثلت بتنكس الخلايا الكبدية، وتوسع الجيبانات الدموية وتضرر الأوعية الدموية وحدوث احتقان وتحلل دموي كامل وجزئي بالإضافة الى ارتشاح الخلايا الالتهابية. وتتفق هذه نتائج مع ما توصل اليه الباحث Jeong وجماعته (2019) من حصول تغيرات في نسيج الكبد بعد اعطاء الفئران جرعة اسيتامينوفين بتركيز300 mg/kg حقناً داخل الغشاء البريتوني Intraperitoneal injection اذ كانت هذه التغيرات تضرر الخلايا في منطقة الوريد المركزي [14]. ويعد الاسيتامينوفين أحد انواع السموم الكبدية Hepatoxin المرتبطة بالجرعة والذي يؤدي الى اصابة الكبد من خلال ثلاث آليات مختلفة سواءً كانت فردية او مجتمعة. الطريقة الاكثر شيوعاً لحدوث التسمم هي الجرعة الزائدة (اي تناول أكثر من 10الى gm15 عند البالغين 150 mg/kg عند الأطفال) والتي توثر على عملية ازالة السموم الكبدية. وهناك تقارير تشير الى حدوث سمية بجرعات اقل من gm10 وحتى عند استخدام الجرعات العلاجية [15].

وتتفق نتائج البحث أيضاً مع ما توصل اليه الباحث [16] من ان الاسيتامينوفين يؤدي الى التسمم الكبدي عند اعطائه بتركيز mg/kg500 وبجرعة واحدة فقط حيث اظهرت حصول فقد الخلايا الكبدية واستبدالها بخلايا الدم الحمراء التي تخثرت في مناطق الخلايا الكبدية. ويرجع السبب حدوث التغيرات النسجية الى المستويات المرتفعة من مركب N-acetyl-p-benzoquinone (NAPQI) في المنطقة المركزية للفصيص الكبدي. ويحدث التمثيل الغذائي في المقام الاول من خلال مسارات الجلوكورونيد والكبريت Glucuronidation and sulphuration التي تحدث في الكبد [17]. ففي حالة الجرعات الزائدة تكون هذه المسارات مشبعة، ويتم استقلاب المزيد من عقار الاسيتامينوفين لاحقا الى NAPQI بوساطة السيتوكروم P450. حيث تعد مادة NAPQI مادة سامة يتم تقليلها بأمان بوساطة الجلوتاثيون الى مركبات ميركبتات وسيستين mercaptate and cysteine غير سامة، والتي يتم طرحها بعد ذلك عن طريق الكلى. تستنفد الجرعة الزائدة من مخزون الجلوتاثيون، بمجرد وصولها الى اقل من 30% من المعدل الطبيعي، حيث تزداد مستويات NAPIQ وترتبط لاحقاً بالجزيئات الكبدية الكبيرة hepatic Macromolecules مما يسبب نخراً كبدياً [18]. وذكر الباحث Perugorria ان الاسيتامينوفين يؤدي الى زيادة ارتشاح الخلايا، مما يساهم في تفاقم إصابة الكبد [19].

اظهر الفحص النسيجي لكبد الفئران المعاملة بسم نحل 30 التي شرحت بعد المعالجة مباشرة عدم انتظام الخلايا الكبدية وارتشاح الخلايا الالتهابية وحدوث التحلل الدموي الكامل لكريات الدم الحمراء Hemolysis، في مقاطع اخرى اظهر تنكسا عاما للنسيج انتفاخ أنويتها تلف الاوعية الذي تمثل تضرر الجدار الوعاء الدموي لوحظ ايضاً تواجد عدد قليل من خلايا وحيدة النواة Monocytes تتفق هذه الدراسة مع ما توصلت اليه الباحثة [20] من حصول تغيرات في خلايا الكبد وحيدة النواة وزيادة التسلل الخلوي الالتهابي والنخر وحصول تنكس خلوي الدقيق والكبير ، كما تتفق النتائج التي توصلنا لها بعد شهر من إعطاء سم النحل مع ما توصل اليه [21] حيث اثبت بوضوح ان العلاج بوساطة سم النحل ادى الى تحسن كبير في وظائف الكبد وتتفق ايضاً مع [22] اذ لاحظوا تحت الفحص المجهري ان الخلايا المعالجة بالإيثانول وحده او جرعة عالية من سم النحل (100/نانو غرام/مل من سم النحل) انكماشا اكبر للخلايا وتكشف السايتوبلازم وعدم انتظام الشكل الخلايا الكبدية مقارنة بتلك المعالجة بجرعات منخفضة من السم.

كما اشار [23] في نتائجهم التي فحصت ما يقرب من 200 نوع من المستخلصات العشبية أظهر ان العلاج بسم النحل يزيد من أعداد الخلايا المناعية ويمنعها تتفق هذه الدراسة مع نتائجنا على الرغم من أن سم النحل هو مادة سامة، إلا أن العديد من الدراسات الحديثة أثبتت تأثيراته الايجابية العلاجية هذا ما يتفق مع نتائجنا اذ يعالج سم النحل الفشل الكلوي الحاد، وهذا ما أشار اليه ايضا [24].

أظهرت الدراسة التي قام بها [25]، أن مركب الأبامين الموجود في سم النحل يمكن أن يعالج بشكل فعال التسمم الكبدي الناجم عن الأسيتامينوفين في الفئران عن طريق تخفيف الإجهاد التأكسدي، وتخفيف موت الخلايا المبرمج Apotosis لخلايا الكبد وتنشيط انزيم caspase، بالإضافة إلى تثبيط إنتاج السيتوكين، وكبح تنشيط kappa B (NF-κB)، وارتشاح الخلايا الالتهابية. وهذا يشير إلى أن الأبامين هو خيار علاجي محتمل لسمية الأسيتامينوفين. وهذا يتوافق مع ما توصلنا اليه بعد شهر من إعطاء سم النحل حيث كانت نسبة ارتشاح الخلايا الالتهابية اقل مما كانت عليه في المجموعة المعاملة بالاسيتامينوفين.

يمكن أن تكون التغيرات المرضية النسجية في الكبدية بعد حقن سم النحل ناجمة عن التأثير التأكسدي [26]. تسبب إضافة militin إلى طعام الفئران في تحفيز الكبد لإفراز البروستاجلاندين PGF2 والثرومبوكسان B2، والتي يُعتقد أنها ناقلات التهابية تزيد من الاستجابة الالتهابية وتسبب تلف الأنسجة [27]. كما ويرتبط دور سم النحل في إحداث تغييرات في استقلاب مركب heme الناتج عن تفكك الهيموغلوبين والموجود في خلايا الكبد بالإنزيمات الميكروسومية الكبدية، حيث أدى نشاط السيتوكروم P-

450 إلى تقليل عمل العديد من الإنزيمات ذات الصلة بما في ذلك ethyl morphine N-demethylase و benzopyrene hydroxylase [28].

الاستنتاجات

استنتج ان لسم النحل في المجموعة المعاملة بالتركيز الثاني له القدرة على حماية الكبد من الضرر الناجم عن حقن الاسيتامينوفين بالجرعة المسببة للألتهاب الكبدي او على الأقل الحد من اثاره. وكانت نتائج الفحص النسجي بعد شهر من المعاملة أفضل مقارنة مع المجاميع المعاملة بالتراكيز الأخرى.

References

1. Hadi, S. Z.; Shaher, K. W. and Ali, A. K. J. (2019). The effect of the pesticide Imidacloprid on the middle stomach and pharyngeal glands in honey bees (*Apis mellifera L.*). *Kirkuk University Journal of Agricultural Sciences*, 10 (2), 169-174.

2. Weston, R. (2000). The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: A review. Food Chemistry, 71(2), 235-239. *https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00162-X.*

3. Kazem, R. J. (2016). A diagnostic and comparative study of the most important honey bee pests in some apiaries in Al-Diwaniyah Governorate, Iraq.

4. Chen, H. S.; Qu, F.; He, X.; Liao, D.; Kang, S. M. & Lu, S. J. (2010). The anti-nociceptive effect and the possible mechanism of acupoint stimulation caused by chemical irritants in the bee venom pain model. Brain research, 1355, 61–69. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.08.002.

5. Al Nabi, M. A. (2001). Honey bees and their products. Dar Al Maaref, eighth edition, 378 pages.

6. Al-Basha, M. K. (1983). Encyclopedia of Bee Science - First Edition - Arab House of Encyclopedias, Beirut – Lebanon. p. 449.

7. Son, D. J.; Lee, J. W.; Lee, Y. H.; Song, H. S.; Lee, C. K. & Hong, J. T. (2007). Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. Pharmacology & therapeutics, 115(2), 246–270. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.04.004.

8. Krenkel, O.; Mossanen, J. C. & Tacke, F. (2014). Immune mechanisms in acetaminophen-induced acute liver failure. Hepatobiliary surgery and nutrition, 3(6), 331–343. https://doi.org/10.3978/j.issn.2304-3881.2014.11.01.

9. Lee, W. M. (2008). Acetaminophen-related acute liver failure in the United States. Hepatology research: the official journal of the Japan Society of Hepatology, 38 Suppl 1, S3–S8. https://doi.org/10.1111/j.1872-034X.2008.00419.x.

10. Mossanen, J. C. & Tacke, F. (2015). Acetaminophen-induced acute liver injury in mice. Laboratory animals, 49(1 Suppl), 30–36. https://doi.org/10.1177/0023677215570992.

11. Abbas, H. M.; Hasan, M. A.; & Ali, S. D. (2019). Effect of Bee Venom on MRSA Isolated from Patient's Wounds at Tikrit Teaching Hospital. Indian Journal of Public Health Research & Development, 10(10), 780-783.

12. Khalil, A.; Elesawy, B. H.; Ali, T. M. & Ahmed, O. M. (2021). Bee Venom: From Venom to Drug. Molecules (Basel, Switzerland), 26(16), 4941. https://doi.org/10.3390/molecules26164941.

13. Luna, L.G. (1968) Manual of histologic staining methods of the Armed Forces. Institute of Pathology. 3rd Edition, McGraw-Hill, New York.

14. Jeong, H.; Lee, C.; Cheng, C.; Chou, H. C.; Yang, H. & Bae, H. (2021). Targeting of adipose tissue macrophages by bee venom phospholipase A2 attenuates high-fat diet-induced obesity. International journal of obesity (2005), 45(8), 1656–1667. https://doi.org/10.1038/s41366-021-00823-4

15. Larson A. M. (2007). Acetaminophen hepatotoxicity. Clinics in liver disease, 11(3), 525–vi. https://doi.org/10.1016/j.cld.2007.06.006.

16. Muhammad-Azam, F.; Nur-Fazila, S. H.; Ain-Fatin, R.; Mustapha Noordin, M. & Yimer, N. (2019). Histopathological changes of acetaminophen-induced liver injury and subsequent liver regeneration in BALB/C and ICR mice. Veterinary world, 12(11), 1682–1688. https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1682-1688.

17. Wang, Y. X.; DU, Y.; Liu, X. F.; Yang, F. X.; Wu, X.; Tan, L.; Lu, Y. H.; Zhang, J. W.; Zhou, F. & Wang, G. J. (2019). A hepatoprotection study of Radix Bupleuri on acetaminophen-induced liver injury based on CYP450 inhibition. Chinese journal of natural medicines, 17(7), 517–524. https://doi.org/10.1016/S1875-5364(19)30073-1.

18. Guengerich F. P. (2020). Cytochrome P450 2E1 and its roles in disease. Chemico-biological interactions, 322, 109056. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109056.

19. Perugorria, M. J.; Esparza-Baquer, A.; Oakley, F.; Labiano, I.; Korosec, A.; Jais, A.; Mann, J.; Tiniakos, D.; Santos-Laso, A.; Arbelaiz, A.; Gawish, R.; Sampedro, A.; Fontanellas, A.; Hijona, E.; Jimenez-Agüero, R.; Esterbauer, H.; Stoiber, D.; Bujanda, L.; Banales, J. M.; Knapp, S.; … Mann, D. A. (2019). Non-parenchymal TREM-2 protects the liver from immune-mediated hepatocellular damage. Gut, 68(3), 533–546. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314107.

20. Hanafi, M.Y.; Zaher, E.L.; El-Adely, S.E.; Sakr, A.; Ghobashi, A.H.; Hemly, M.H. ... Kamel, M.A. (2018). The therapeutic effects of bee venom on some metabolic and antioxidant parameters associated with HFD-induced non-alcoholic fatty liver in rats. Experimental and Therapeutic Medicine, 15, 5091-5099. https://doi.org/10.3892/etm.2018.6028.

21. Lee, J. Y.; Kang, S. S.; Kim, J. H.; Bae, C. S. & Choi, S. H. (2005). Inhibitory effect of whole bee venom in adjuvant-induced arthritis. In vivo (Athens, Greece), 19(4), 801–805.

22. Kim, K. H.; Kum, Y. S.; Park, Y. Y.; Park, J. H.; Kim, S. J.; Lee, W. R.; Lee, K. G.; Han, S. M. & Park, K. K. (2010). The protective effect of bee venom against ethanol-induced hepatic injury via regulation of the mitochondria-related apoptotic pathway. Basic & clinical pharmacology & toxicology, 107(1), 619–624. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00549.x.

23. Kim, H.; Lee, H.; Lee, G.; Jang, H.; Kim, S. S.; Yoon, H.; Kang, G. H.; Hwang, D. S.; Kim, S. K.; Chung, H. S. & Bae, H. (2015). Phospholipase A2 inhibits cisplatin-induced acute kidney injury by modulating regulatory T cells by the CD206 mannose receptor. Kidney international, 88(3), 550–559. https://doi.org/10.1038/ki.2015.147.

24. Linkermann, A.; Himmerkus, N.; Rölver, L.; Keyser, K. A.; Steen, P.; Bräsen, J. H.; Bleich, M.; Kunzendorf, U. & Krautwald, S. (2011). Renal tubular Fas ligand mediates fratricide in cisplatin-induced acute kidney failure. Kidney international, 79(2), 169–178. https://doi.org/10.1038/ki.2010.317.

25. Jang, H. J.; Leem, J. & Kim, G. M. (2023). Protective Effects of Apamin on Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice. Current issues in molecular biology, 45(5), 4389–4399. https://doi.org/10.3390/cimb45050279.

26. Al-Allaf E.S.M. (2004). The effect of garlic and vitamin E on the pathogenesis atherosclerosis induced by hydrogen peroxide in rabbits. [Master`s thesis]. Mosul, university of Mosul. 27. 2004.

27. Okamoto, T.; Isoda, H.; Kubota, N.; Takahata, K.; Takahashi, T.; Kishi, T.; Nakamura, T. Y.; Muromachi, Y.; Matsui, Y. & Goshima, K. (1995). Melittin cardiotoxicity in cultured mouse cardiac myocytes and its correlation with calcium overload. Toxicology and applied pharmacology, 133(1), 150–163. https://doi.org/10.1006/taap.1995.1136.

28. Couch, T. L. & Benton, A. W. (1972). The effect of the venom of the honey bee, Apis mellifera L., on the adrenocortical response of the adult male rat. Toxicon : *official journal of the International Society on Toxinology,* 10(1), 55–62. https://doi.org/10.1016/0041-0101(72)90090-6.

IRAQI Academic Scientific Journals

Samarra Journal of Pure and Applied Science

SJPAS

p ISSN: 2663-7405
e ISSN: 2789-6838

www.sjpas.com

Evaluation of the effectiveness of worker honey bee venom on laboratory mice with induced liver damage by Acetaminophen

Abeer Mokaif Jasim [1*], Makarim Moustafa Kamal Asaad [2] and Husham Naji Hameed [2]

1- Directorate of Salah al-Din Education, Ministry of Education, Iraq
2- Department of Biology, College of Education, University of Samarra, Iraq

Article Information

Received: 06/03/2024
Revised: 14/04/2024
Accepted: 25/05/2024
Published:30/09/2024

Keywords:

Apis mellifera L., Bee Venom, Acetaminophen, Hepatocytes, Liver damage

Corresponding Author

E-mail: makarim53@uosamarra.edu.iq

Mobile:

Abstract

Apitherapy is an alternative treatment that relies on the use of honey bee products, the most important of which is bee venom, to treat many diseases that affect humans. The venom can be introduced into the human body through manual injection. Bee venom contains many active molecules such as peptides and enzymes that have beneficial uses in treating infections. The study was conducted to determine the effectiveness of bee venom on the tissues of laboratory mice in which hepatitis was induced by acetaminophen. The experiment was designed by taking (35) laboratory rats and divided into five groups, one control (fed), one injected with 300 mg/kg acetaminophen, and three groups with bee venom at concentrations (15, 30, 60 microliters). The results showed through examination that acetaminophen caused distinct damage to hepatic cells and led to infiltration of inflammatory cells and general tissue degeneration, in addition to damage to blood vessels. The results of the other groups were approximately the same degree of injury, while the group treated with bee (30 microliters) showed after a month that the hepatic cells Arranged almost uniformly around the central vein. It was concluded that bee venom has the ability to protect the liver from the damage of drugs that cause liver damage, or at least reduce its effects.