University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Research Article

Protective Effect of Trimetazidine on Apoptosis and Liver Enzyme Changes in BALB/c Mice Treated with Doxorubicin

Sima Ahsan[1]✉, **Saeed Hesaraki**[2]✉, **Farnoosh Arfaee**[3]✉, **Bita Vazir**[4]✉

[1] *Graduated from the SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[2] *Department of Pathobiology, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[3] *Department of Clinical Science, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[4] *Department of Basic Science, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran*

Received: *30 Jun 2026****, Reciver in revised from:*** *25 Aug 2026****, Accepted:*** *1 Sep 2026****, Available online****:* *21 Dec 2026*

10.22059/jvr.2026.402647.3541 **J Vet Res, Volume 81, Number 4, 2026, 227-238**

Abstract

BACKGROUND: Doxorubicin (DOX)-associated hepatotoxicity presents a substantial clinical challenge, as the profound impairment of hepatic parenchymal cell viability and functionality often necessitates the premature cessation of chemotherapy.

OBJECTIVES: This study aimed to investigate the protective efficacy of trimetazidine (TMZ), a metabolic agent with potent antioxidant properties, in attenuating DOX-induced liver injury.

METHODS: Twenty male BALB/c mice were randomly allocated into four groups of 5, including control group (vehicle), DOX group (intraperitoneal dose: 9 mg/kg on day 12; 8 mg/kg on days 13 and 14), TMZ group (10 mg/kg, oral), and combined DOX-TMZ group. On day 15, serum biochemical markers (ALT, AST, GGT, and total bilirubin) were quantified. Hepatic tissue was harvested to evaluate total antioxidant capacity (TAC), malondialdehyde (MDA) content, and the transcriptional expression of pro-apoptotic markers (Bax and Caspase-3) via gene expression analysis.

RESULTS: The DOX group showed significantly higher serum ALT, AST, and GGT levels than the DOX-TMZ group (P<0.05). Biochemical analysis of hepatic tissue in the DOX group revealed depleted antioxidant status, indicated by significantly lower TAC and higher MDA levels than in other experimental groups (P<0.01). Furthermore, while Bax gene expression was significantly upregulated in the DOX group compared to the control and TMZ groups (P<0.05), no significant change in Caspase-3 was reported, suggesting that TMZ-mediated protection is limited to specific apoptotic signaling pathways.

CONCLUSIONS: TMZ confers significant hepatoprotection against DOX-induced injury by preserving antioxidant defenses and suppressing hepatic enzyme release. Notably, TMZ acts as a selective inhibitor of the Bax-dependent apoptotic pathway in hepatocytes, though it fails to modulate the Caspase-3 axis. Further studies utilizing comprehensive histopathological assessments and proteomic profiling are warranted to elucidate the precise molecular mechanisms underlying this protective response.

Keywords: BAX, Caspase-3, Doxorubicin, Hepatotoxicity, Trimetazidine

Copyright © The Author(s). Publisher: University of Tehran Press Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Saeed Hesaraki, Tel/Fax: +9821-44869155

How to cite this article:

…

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Comparison of serum ALT enzyme levels in different groups. DOX: Doxorubicin; TMZ: Trimetazidine; *: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001; ****: P<0.0001.
Figure 2. Comparison of serum AST enzyme levels among different groups.
Figure 3. Comparison of serum GGT enzyme levels among different groups.
Figure 4. Comparison of serum total bilirubin levels among different groups.
Figure 5. Comparison of tissue MDA levels among different groups.
Figure 6. Comparison of tissue TAC levels among different groups.
Figure 7. Comparison of BAX gene expression among different groups.
Figure 8. Comparison of Caspase-3 gene expression among different groups.

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

نقش محافظتی تری‌متازیدین بر آپوپتوز و تغییرات آنزیم‌های کبدی در موش‌های نژاد BALB/c تحت درمان با دوکسوروبیسین

سیما احسن[۱]، سعید حصارکی[۲]، فرنوش ارفعی[۳]، بیتا وزیر[۴]

[۱] دانش آموخته واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۳] گروه علوم بالینی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۴] گروه علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹ تیر ۱۴۰۵، **تاریخ بازنگری:** ۳ شهریور ۱۴۰۵، **تاریخ پذیرش:** ۱۰ شهریور ۱۴۰۵، **تاریخ انتشار:** ۳۰ آذر ۱۴۰۵

دوره ۸۱، شماره ۴، ۱۴۰۵، ۲۳۸-۲۲۷

10.22059/jvr.2026.402647.3541

چکیده

زمینه مطالعه: هپاتوتوکسیسیته القاشده توسط دوکسوروبیسین (DOX) یک چالش بالینی قابل‌توجه محسوب می‌شود، زیرا اختلال شدید در زنده‌مانی و کارکرد سلول‌های پارانشیمی کبد اغلب به قطع زودهنگام شیمی‌درمانی منجر می‌گردد.

هدف: مطالعه حاضر، کارایی حفاظتی تری‌متازیدین (TMZ) ـ یک عامل متابولیک با خواص آنتی‌اکسیدانی قوی ـ را در کاهش آسیب کبدی ناشی از دوکسوروبیسین بررسی کرد.

روش‌کار: بیست موش نر Balb/c به‌طور تصادفی در چهار گروه (هر گروه n=۵) کنترل (حامل دارو)، دریافت‌کننده DOX (تزریق داخل‌صفاقی: ۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز ۱۲ و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای ۱۳ و ۱۴)، دریافت‌کننده تنها TMZ (خوراکی، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و DOX+TMZ تقسیم شدند. در روز ۱۵، نشانگرهای بیوشیمیایی سرم شامل ALT، AST، GGT و بیلی‌روبین تام اندازه‌گیری شد. بافت کبد جهت ارزیابی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC)، محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) و بیان ژنی نشانگرهای پروآپوپتوتیک Bax و Caspase- 3 برداشت شد.

نتایج: گروه DOX افزایش معنی‌داری در ALT، AST و GGT سرم نسبت به گروه DOX+TMZ نشان داد ($P<۰/۰۵$). بررسی بیوشیمیایی بافت کبد در گروه DOX کاهش وضعیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد، به‌طوری‌که TAC به‌طور معنی‌داری کمتر و MDA به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P<۰/۰۱$). علاوه‌براین، بیان ژن Bax در گروه DOX نسبت به کنترل و گروه TMZ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). بااین‌حال هیچ تغییر معنی‌داری در Caspase- 3 مشاهده نشد که نشان می‌دهد اثر محافظتی TMZ به مسیرهای خاص آپوپتوز محدود است.

نتیجه‌گیری نهایی: تری‌متازیدین حفاظت معنی‌داری در برابر آسیب کبدی القاشده توسط DOX ایجاد می‌کند. این اثر با حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش آزادسازی آنزیم‌های کبدی همراه است. نکته قابل‌توجه این است که TMZ به‌عنوان یک مهارکننده انتخابی مسیر آپوپتوز وابسته به Bax در هپاتوسیت‌ها عمل می‌کند، اگرچه قادر به تعدیل محور Caspase- 3 نیست. انجام مطالعات بیشتر با استفاده از ارزیابی‌های جامع هیستوپاتولوژیک و پروتئومیک برای روشن‌سازی دقیق مکانیسم‌های مولکولی این اثر محافظتی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: تری‌متازیدین، دوکسوروبیسین، هپاتوتوکسیسیتی، BAX، Caspase- 3

کپی‌رایت © نویسندگان. ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: سعید حصارکی، گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

مقدمه

تری‌متازیدین (TMZ) داروی مورداستفاده در آنژین صدری است که خواص آنتی‌اکسیدانی زیادی در مواجهه با گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از خود نشان می‌دهد (۱). در مطالعه‌ایی درمان یک‌ماهه با تری‌متازیدین موجب کاهش پراکسیدهای لیپیدی و سطح مالون دی‌آلدئید در لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL) در بیماران دچار تنگی عروق کرونر شده است. البته تری‌متازیدین

به‌طور مستقیم رادیکال‌های آزاد را از بین نمی‌برد، اما اثرات منفی اکسیداسیون شدید آن‌ها را کاهش می‌دهد (۲). تری‌متازیدین فیبروز کبدی و تکثیر سلول‌های ستاره‌ای کبد را ازطریق کاهش مسیر سیگنالینگ TGF-β/Smad مهار می‌کند (۳).

داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین به‌دلیل اثربخشی درمانی انتخابی خود در برابر انواع بدخیمی‌ها بسیار مورد توجه است، اما تجویز زیاد باعث آسیب به کبد، رگ‌های خونی، کلیه‌ها و سایر اندام‌ها می‌شود (۴). ثابت شده است دوکسوروبیسین موجب القای رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود. کبد به‌عنوان اندام اصلی سم‌زدا در مواجهه با دوکسوروبیسین بسیار آسیب‌پذیر است (۵). در این حالت ژن‌های آپوپتوزدهنده، ازجمله کاسپاز-۳ می‌توانند در کبد فعال شود (۶). محققان متعددی برای مقابله با سمیت سلولی ناشی از دوکسوروبیسین، مطالعات گسترده‌ای انجام داده‌اند که عمدتاً بر دو راهبرد اصلی تمرینات ورزشی و دارودرمانی تمرکز دارند. یافته‌های پژوهشی نشان می‌دهند انواع آنتی‌اکسیدان‌ها، ازجمله ویتامین‌ها و مواد دارویی کنترل‌کننده رادیکال‌ها، اثرات مثبتی در مقابله با سمیت ناشی از دوکسوروبیسین دارند (۷). دراین‌راستا، تری‌متازیدین به‌عنوان یک داروی با خواص ضدرادیکالی، پتانسیل بالایی برای تنظیم‌گری و افزایش اثربخشی درمان‌های رایج سرطان و بهبود کیفیت زندگی بیماران سرطانی می‌تواند داشته باشد. همچنین اثرات مثبت تری‌متازیدین در کنترل متابولیسم سلول‌ها در حالات توکسیک یا ایسکمیک می‌تواند موجب کمک به زنده‌مانی سلول‌های طبیعی در برابر تجویز دوکسوروبیسین شود (۵). بااین‌حال هنوز درزمینه میزان تأثیرات تری‌متازیدین در شرایط شیمی‌درمانی مطالعه نشده است. مکانیسم مولکولی مهمی که داروهای ضدسرطان ازطریق آن آپوپتوز را القا می‌کنند، نشت سیتوکروم c از میتوکندری است که می‌تواند به افزایش بیان ژن‌های آپوپتوز، ازجمله انواع کاسپاز و نیز ژن BAX منجر شود (۸). ازنظر بالینی، انواع پروتکل‌های درمان ضدسرطان کم‌وبیش برای کبد توکسیک بوده و ممکن است برای بیمار خطر مرگ را رقم بزنند (۹). امروزه عنوان می‌شود آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی تنها زمانی که به نسبت‌های مناسب همراه با شیمی‌درمانی/ پرتودرمانی تجویز شوند، پتانسیل جلوگیری از پیشرفت سرطان را خواهند داشت. پس از یک دوره شیمی‌درمانی کامل، اگر یک عامل آنتی‌اکسیدانی محافظت‌کننده نیز در دستور غذایی قرار گیرد می‌تواند راه را برای شیمی‌درمانی مؤثر و ایمن‌تر هموار کند (۷). تری‌متازیدین ممکن است برای مقابله با آسیب‌های توکسیک ناشی از دوکسوروبیسین و داروهای شبیه آن بهبودبخش باشد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و محافظت‌کنندگی کبدی تری‌متازیدین در برابر جراحات ناشی از داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین در موش بود.

مواد و روش کار

داروها: تری‌متازیدین (VASTAREL، تری‌متازیدین دی کلرهیدرات، فرانسه) و دوکسوروبیسین (Doxorubicin، Cell Pharma، ۵۰ میلی‌گرم در هر ۲۵ میلی‌لیتر) تهیه شدند. دارو در دی متیل سولفوکساید حل گردید.

حیوانات: برای انجام آزمایشات از موش‌های نر نژاد بالب / سی به‌عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده شد. برای انجام مطالعه تعداد ۲۰ سر موش بالب / سی به‌طور تصادفی به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند که شامل گروه‌های شاهد (در روزهای ۱۲، ۱۳ و ۱۴ مطالعه با ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم محلول آب مقطر (حلال اصلی موجود در ویال دوکسوروبیسین) به‌صورت داخل‌صفاقی تجویز شد)، گروه دوکسوروبیسین یا DOX (داروی دوکسوروبیسین در روز ۱۲ مطالعه به میزان ۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در روزهای ۱۳ و ۱۴ مطالعه در هر روز به میزان ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی تجویز شد) (۱۰)، گروه تری‌متازیدین یا TMZ (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم / روز به‌مدت ۱۴ روز تری‌متازیدین خوراکی گاواژ دریافت کردند) (۱۱) و گروه دوکسوروبیسین ـ تری‌متازیدین یا DOX-TMZ (دریافت هر دو دارو با روش عنوان‌شده) بود. کل دوره مطالعه و نگهداری موش‌ها ۱۵ روز ادامه داشت و رویکرد محققان نسبت به حیوانات مطابق با قوانین درمان و تیمار آن‌ها برای اهداف علمی بود.

ارزیابی بیوشیمیایی سرم: در روز ۱۵، حیوانات که همگی زنده بودند، با استفاده از کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) معدوم شدند. قبل از مرگ نمونه‌گیری مستقیم خون از قلب نیز انجام شد. ALT (آلانین آمینوترانسفراز)، AST (آسپارتات آمینوترانسفراز)، GGT (گاما گلوتامیل ترانسفراز) و بیلیروبین تام سرم اندازه‌گیری شدند. این فراسنجه‌ها شاخص‌های ضایعات کبدی می‌باشند.

وضعیت اکسیدان و آنتی‌اکسیدان در بافت کبد (ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)): غلظت پروتئین کل نمونه‌ها به روش برادفورد (Bradford assay) و با استفاده از رنگ Coomassie Brilliant Blue G-250 تعیین شد. به این منظور، ۱۰ میکرولیتر از نمونه یا محلول‌های استاندارد آلبومین سرم گاوی (BSA) به چاهک‌های مربوطه اضافه شد و سپس ۲۰۰ میکرولیتر معرف برادفورد به هر چاهک افزوده گردید. پس از انکوباسیون به‌مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از میکروپلیت‌ریدر قرائت شد. غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد BSA محاسبه و نتایج TAC براساس مقدار پروتئین کل نرمال‌سازی شدند (۱۲).

برای انجام سنجش TAC، حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت کبد مرطوب در ۰/۵ میلی‌لیتر بافر (X Assay Buffer۱۰) در محیط سرد همگن شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی جمع‌آوری و به لوله‌های تازه منتقل شد. لوله‌ها روی یخ قرار داده شدند. سپس پروتکل TAC طبق دستورالعمل کیت (کوشان زیست KushanZist، ایران) اجرا و پس از آن این پروتکل اجرا شد: همه نمونه‌ها تکان داده شدند تا همگن شوند. ۱۰ میکرولیتر از استانداردها / نمونه‌ها به چاهک‌های مرتبط اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول کروموژن به همه چاهک‌ها اضافه گردید؛۲۰ میکرولیتر محلول میوگلوبین به همه چاهک‌ها اضافه و به‌مدت ۵ دقیقه در انکوبه قرار گرفت. برای شروع واکنش، ۲۰ میکرولیتر محلول پراکسید هیدروژن به همه چاهک‌ها اضافه شد. این مرحله در سریع‌ترین زمان ممکن انجام گردید. صفحه به‌مدت ۵ دقیقه روی شیکر در اتاق بدون نور قرار گرفت. در آخر ۵۰ میکرولیتر محلول استاپ به همه چاهک‌ها اضافه و در طول ۱ ساعت در سطح جذب ۴۱۲±۷ نانومتر عدد ثبت شد.

سنجش مالون دی‌آلدئید (MDA): فعالیت MDA با ظهور رنگ زرد ناشی از واکنش نمک تترازولیوم با آنیون سوپراکسید در بافت کبد به‌وسیله کیت (آزمایش نوند Navand Lab، ایران) ارزیابی شد. به این صورت که مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از بافت هموژن‌شده کبد با ۸۰۰ میکرولیتر از محلول کار مخلوط شد. سپس درب لوله‌های حاوی محلول کامل بسته و درون بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شدند. در مرحله بعد، نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه درون ظرف حاوی آب یخ قرار گرفتند تا سریع سرد شوند. سپس نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند و ۲۵۰ میکرولیتر از مایع رویی به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه انتقال داده شد و جذب مایع رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت شد.

ارزیابی RT-qPCR برای بیان ژن‌های کاسپاز-۳ و BAX (جداسازی کل RNA): کیت جداسازی RNA (Megarena، Kiagenfaravar، ایران) RNA خالص را از حدود ۵ میلی‌گرم کبد استخراج کرد. نمونه‌ها با DNase کیت برای جلوگیری از آلودگی DNA پردازش شدند. یک اسپکتروفتومتر UV-Vis (IMPLEN، آلمان) چگالی نوری را در A260/A280 و A260/A230 نشان داد.

سنتز cDNA: کیت سنتز cDNA (Yektatajhiz, Iran) برای شروع رونویسی معکوس در حجم واکنش ۲۰ میکرولیتر استفاده شد. تمام اجزا شامل ۱ میکروگرم RNA الگو (۱۱ میکرولیتر)، RevertAid RT 200 واحد در میکرولیتر (۱ میکرولیتر)، مهارکننده RNase RiboLock 20 واحد در میکرولیتر (۱ میکرولیتر)، پرایمر هگزامر تصادفی (۱ میکرولیتر)، dNTP Mix 10 میلی‌مولار (۲ میکرولیتر) و بافر واکنش x۵ (۴ میکرولیتر) بودند. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و ۵ دقیقه در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (۱۳).

پس از به دست آوردن توالی ژن‌های کاسپاز-۳، BAX و Beta-actin از سایت NCBI، پرایمرهای اختصاصی هر ژن توسط برنامه Primer Express طراحی و توالی پرایمرها برای تأیید صحت و اختصاصیت آن‌ها بلاست شد. توالی‌های آغازگر برای ژن BAX به‌صورت CAC CAG CTC TGA-GCA GAT G-3′-۵ رو به جلو و به‌صورت GCG AGG CGG TGA-GCA CTC C-3′-۵ رو به عقب و برای ژن کاسپاز-۳ به‌صورت TGG GCC TGA AAT ACC AAG TC-3′-۵ رو به جلو و به‌صورت TCC CAT AAA TGA CCC CTT CA-3′-۵ رو به عقب بودند، درحالی‌که آغازگرهای β-اکتین به‌عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شدند. باندهای پیش‌رونده برای β-اکتین GTG GGG CGC CCC AGG CAC CA-3′-۵ و باند معکوس آن CTC CTT AAT GTC ACG CAC GAT TTC-3′-۵ بود.

براین‌اساس ۱۰ میکرولیتر Master Mix، ۷ میکرولیتر آب‌مقطر استریل، ۱ میکرولیتر cDNA تهیه‌شده، ۱ میکرولیتر پرایمر Forward و ۱ میکرولیتر پرایمر Reverse با هم ترکیب شدند. برنامه زمان‌بندی PCR شامل یک مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ سیکل، شامل واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه، اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. در پایان محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید منتقل و الکتروفورز گردیدند (۱۴).

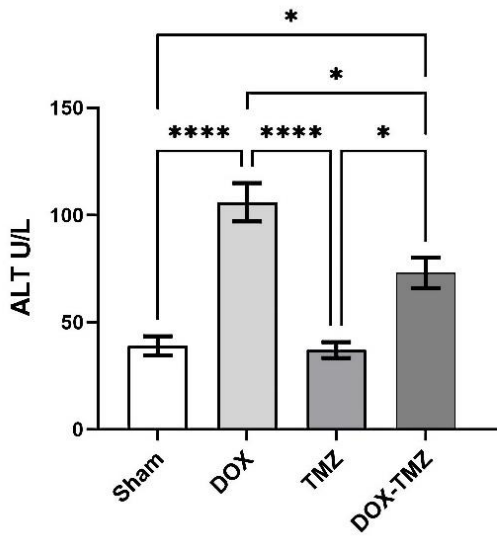
آنالیز آماری: داده‌های جمع‌آوری‌شده توسط نرم‌افزارهای آماری گراف‌پد پریسم ۹ مورد تحلیل قرار گرفتند. در مطالعه حاضر از روش‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی بنفرنی (Bonferroni Test) و از میانگین، خطای معیار و شکل‌های ستونی جهت توصیف اطلاعات استفاده شد. سطح معنی‌داری آماری ۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

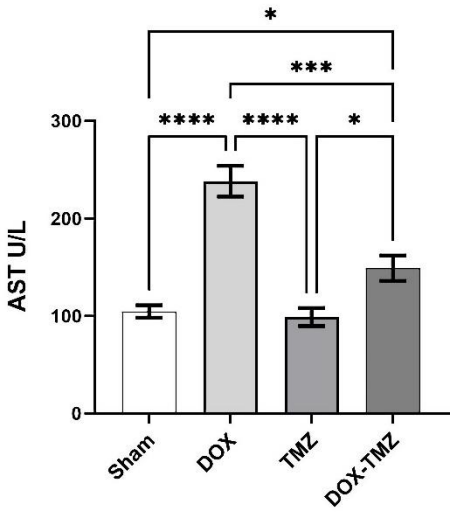
مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر داروی تری‌متازیدین بر کاهش سطوح آنزیمی و آپوپتوز سلول‌های کبدی در مدل آزمایشگاهی هپاتوتوکسیسیتی ناشی از دوکسوروبیسین در موش‌های بالب / سی صورت گرفت.

در گروه DOX، سطح ALT به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($P<۰/۰۰۰۱$). در گروه TMZ، سطح ALT نزدیک شاهد بود و اختلاف معنی‌داری با آن نداشت. درمورد گروه DOX+TMZ سطح ALT به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه DOX و بیشتر از شاهد و TMZ بود ($P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه DOX) (تصویر ۱).

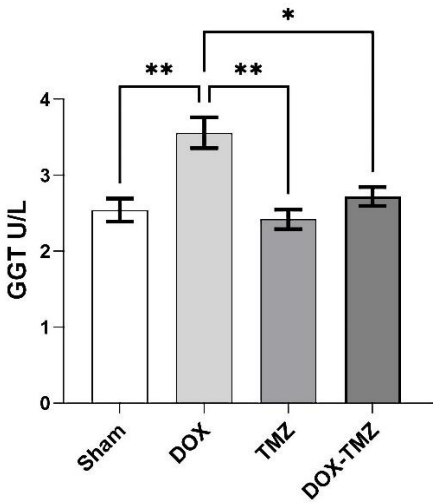
درمورد میانگین سطح AST سرم، گروه شاهد با گروه‌هایی که داروی دوکسوروبیسین دریافت کرده بودند تفاوت معنی‌دار زیادی داشت ($P<۰/۰۰۰۱$) (تصویر ۲). ازطرفی گروه تری‌متازین با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت ($P>۰/۰۵$)، اما گروه تری‌متازین با گروه DOX تفاوت معنی‌دار نشان داد و البته همین تفاوت معنی‌دار نیز در گروه شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۰۰۱$). تفاوت معنی‌دار زیادی بین گروه DOX و گروه DOX- TMZ دیده شد ($P<۰/۰۰۰۱$). ازطرفی بین دو گروه تری‌متازیدین و DOX- TMZ نیز تفاوت معنی‌دار دیده شد ($P<۰/۰۵$).



تصویر ۱. مقایسه سطح سرمی آنزیم ALT گروه‌های مختلف در تحقیق اثرات محافظت کبدی تری‌متازیدین در برابر دوکسوروبیسین. DOX: دوکسوروبیسین و TMZ: تری‌متازیدین (*: $P<۰/۰۵$، **: $P<۰/۰۱$، ***: $P<۰/۰۰۱$، ****: $P<۰/۰۰۰۱$).



تصویر ۲. مقایسه سطح سرمی آنزیم AST گروه‌های مختلف در تحقیق اثرات محافظت کبدی تری‌متازیدین در برابر دوکسوروبیسین.

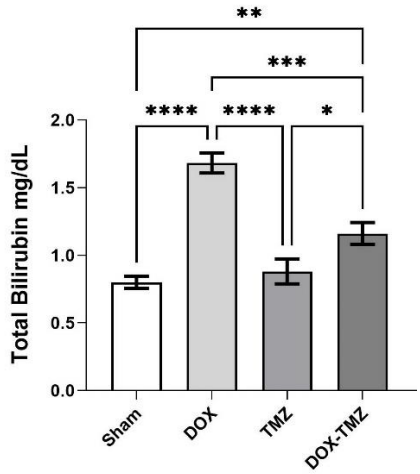


تصویر ۳. مقایسه سطح سرمی آنزیم GGT گروه‌های مختلف تحقیق اثرات محافظت کبدی تری‌متازیدین در برابر دوکسوروبیسین.

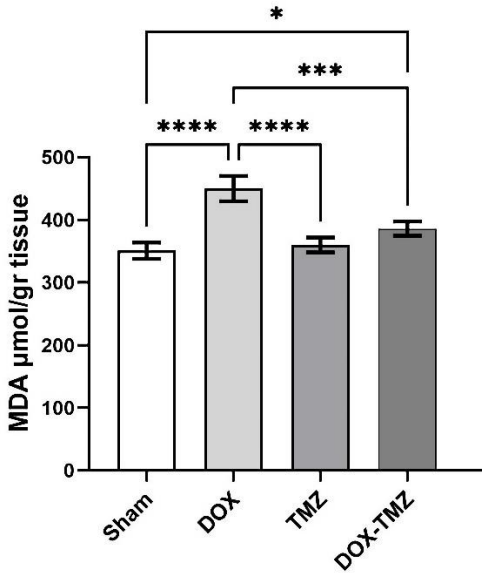
در گروه شاهد میانگین سطح GGT پایین‌ترین مقدار را نشان داد. این مقدار پایه برای مقایسه سایر گروه‌ها در نظر گرفته می‌شود. در گروه DOX سطح GGT به‌طور معنی‌دار افزایش یافت ($P<۰/۰۱$). تری‌متازیدین، اما نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت و کمتر از گروه DOX دیده شد ($P<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه DOX). در گروه DOX+TMZ مشخص شد سطح GGT در مقایسه با گروه DOX کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$) (تصویر ۳).

گروه شاهد دارای کمترین سطح بیلی‌روبین بود. گروه DOX افزایش معنی‌داری در میزان بیلی‌روبین داشت ($P<۰/۰۰۰۱$). گروه TMZ سطحی بدون اختلاف با گروه شاهد داشت. در گروه DOX+TMZ کاهش قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به گروه DOX مشاهده شد ($P<۰/۰۵$)، ولی همچنان از سطح شاهد بالاتر بود (تصویر ۴).

سطح MDA در گروه دریافت‌کننده دوکسوروبیسین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P<۰/۰۰۰۱$). سطح مالون دی‌آلدئید در گروه TMZ به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه DOX بود ($P<۰/۰۰۰۱$). در گروه درمان ترکیبی، میزان MDA نسبت به گروه DOX کاهش یافت ($P<۰/۰۰۱$)، ولی هنوز اندکی بالاتر از گروه TMZ بود. مقایسه کلی بین گروه DOX+TMZ و شاهد نیز حاکی از یک اختلاف معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) (تصویر ۵).



تصویر ۴. مقایسه سطح سرمی بیلیروبین تام گروه‌های مختلف تحقیق اثرات محافظت کبدی تری‌متازیدین در برابر دوکسوروبیسین.

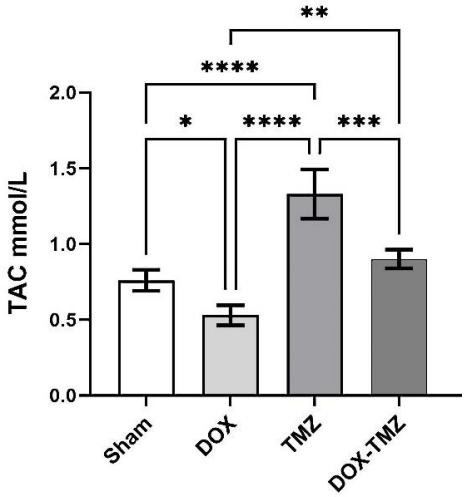


تصویر ۵. مقایسه سطح بافتی مالون دی‌آلدئید گروه‌های مختلف تحقیق اثرات محافظت کبدی تری‌متازیدین در برابر دوکسوروبیسین.

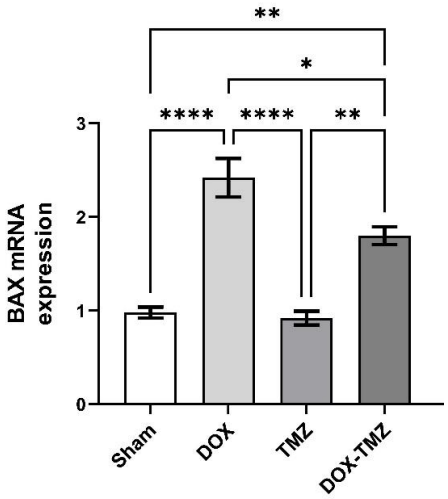
مقایسه میزان سطح بافتی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (تصویر ۶) نشان داد بین گروه DOX و گروه‌های دریافت‌کننده تری‌متازیدین تفاوت معنی‌دار بسیار زیاد است ($P<۰/۰۰۰۱$). همچنین بین گروه تری‌متازیدین و شاهد نیز تفاوت بسیار زیاد دیده شد ($P<۰/۰۰۰۱$). تفاوت اندکی بین گروه شاهد و DOX نیز مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). گروه DOX- TMZ حد واسط بین گروه‌های شاهد و DOX ایستاد.

گروه شاهد سطح پایه‌ای از BAX را نشان داد، درحالی‌که گروه DOX افزایش بسیار معنی‌داری در بیان BAX با حدود ۲/۷ برابر نسبت به شاهد داشت ($P<۰/۰۰۰۱$). گروه TMZ به‌تنهایی تقریباً همان سطح گروه شاهد از بیان BAX را داشت که نشان‌دهنده غیرسمی بودن تری‌متازیدین در شرایط پایه و فقدان خاصیت آپوپتوتیک آن است. با اینکه گروه DOX+TMZ افزایش بیان BAX را داشت، اما به‌طور مشخص کمتر از گروه DOX بود و اختلاف بین DOX و DOX+TMZ از لحاظ آماری معنی‌دار شد ($P<۰/۰۵$) (تصویر ۷).

مقایسه میزان بیان ژن کاسپاز-۳ (تصویر ۸) در گروه‌های شاهد و تری‌متازیدین در مقایسه با گروه DOX نشان داد اختلاف معنی‌دار بین این گروه‌ها دیده می‌شود ($P>۰/۰۱$). ازطرفی گروه تری‌متازیدین با گروه DOX- TMZ اختلاف معنی‌دار داشتند ($P>۰/۰۵$). گروه DOX با گروه DOX- TMZ تفاوت نداشت.



تصویر ۶. مقایسه سطح بافتی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام گروه‌های مختلف تحقیق اثرات محافظت کبدی تری‌متازیدین در برابر دوکسوروبیسین.

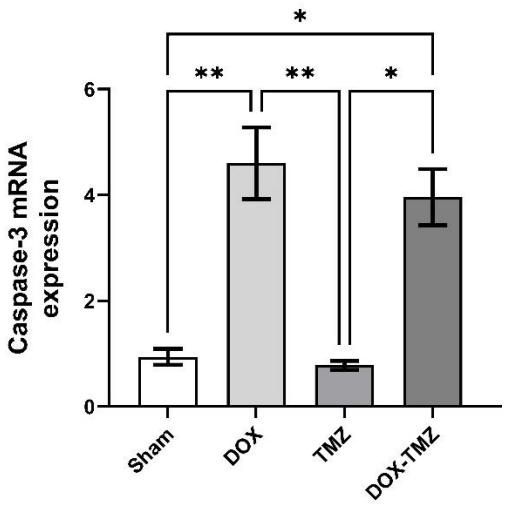


تصویر ۷. مقایسه میزان بیان ژن BAX گروه‌های مختلف تحقیق اثرات محافظت کبدی تری‌متازیدین در برابر دوکسوروبیسین.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد تجویز تری‌متازیدین می‌تواند به‌طور معنی‌داری میزان بیان ژن BAX و روند آپوپتوز کبد را کاهش دهد. دوکسوروبیسین دارای اثرات سایتوتوکسیک بر روی سلول‌ها بوده و باعث کاهش تکثیر سلولی و مرگ آن می‌شود؛ بنابراین می‌توان گفت تری‌متازیدین روی توسعه جراحات کبدی ناشی از شیمی‌درمانی انجام‌شده در این مطالعه اثر مهاری داشته و باعث کاهش استرس اکسیداتیو و درنتیجه کاهش آپوپتوز هپاتوسیت‌ها شده است. تری‌متازیدین موجب شد روند آپوپتوز بیشتر ازطریق فعالیت ژن BAX هدایت شود؛ به‌طوری‌که نقش ژن کاسپاز-۳ در مسیر مرگ سلولی کمرنگ گردید.

Akin و همکاران در سال ۲۰۲۱ در مطالعه‌ای اعلام کردند دوکسوروبیسین به القای آپوپتوز در سلول‌های کبدی منجر می‌شود (۱۵). دوکسوروبیسین در کبد تجمع می‌یابد و بخش عمده پاک‌سازی آن از مسیر کبدی‌صفراوی است. تجمع این دارو در کبد سبب افزایش نفوذپذیری غشای سلول‌های کبدی و درنتیجه افزایش غلظت آنزیم‌های کبدی می‌شود. دلیل افزایش مقدار بیلی‌روبین تام سرم را می‌توان مکانیسم‌های دفاعی در برابر آسیب‌های ایجادشده بر اثر تجمع رادیکال‌های آزاد، مانند افزایش‌دهندگان الکترون، ازجمله بیلی‌روبین دانست. Alsahli و همکاران در سال ۲۰۲۵ نشان دادند تزریق داخل‌صفاقی دوکسوروبیسین می‌تواند سبب افزایش آنزیم‌های ALP، AST، ALT و بیلی‌روبین تام در رت گردد (۱۶). مطالعه حاضر با تحقیقات Akin و Alsahli از لحاظ آثار سمی دوکسوروبیسین روی بافت و آنزیم‌های کبدی مطابقت داشت.



تصویر ۸. مقایسه میزان بیان ژن کاسپاز-۳ گروه‌های مختلف تحقیق اثرات محافظت کبدی تری‌متازیدین در برابر دوکسوروبیسین.

فعالیت ALT پلاسما و سرم در بیشتر جوندگان با آسیب سلول‌های کبدی افزایش می‌یابد و به نظر می‌رسد این آنزیم در موش‌ها و رت‌ها اختصاصی کبد باشد. افزایش فعالیت ALT سرم با درجه نکروز کبدی در موش‌ها همبستگی دارد (۱۷). میزان فعالیت آنزیم سرم لزوماً به‌شدت آسیب بافتی ارتباط پیدا نمی‌کند. ALT سرم هنگام آسیب غشای پلاسمایی هپاتوسیت‌ها از آن‌ها نشت می‌کند. فعالیت ALT سرمی که در زمان دژنره شدن (sublethal injury) تعداد زیادی از هپاتوسیت‌ها بالا می‌رود، از بالا رفتن این آنزیم در حالتی که فقط چند هپاتوسیت نکروز شوند، می‌تواند بسیار بیشتر باشد. از طرفی ALT بیشترین فعالیت را در هپاتوسیت‌های منطقه ۱ (اطراف پورت) و AST بیشترین فعالیت را در هپاتوسیت‌های منطقه ۳ (اطراف سیاهرگ مرکزی) دارد و فعالیت نسبی ALT یا AST در سرم ممکن است منعکس‌کننده ناحیه‌ای باشد که در آن آسیب کبدی رخ داده است (۱۸). مطالعه حاضر با تحقیقات گذشته که بیانگر آسیب منطقه ۱ (بالاتر بودن ALT) و منطقه ۳ (بالاتر بودن AST) لبول کبدی است، از لحاظ آثار سمی دوکسوروبیسین روی این مناطق مطابقت داشت(۱۹).

در مطالعه حاضر میزان ALT سرم در گروه DOX به‌شدت بالا رفت که نشانه تأثیر این دارو حتی روی هپاتوسیت‌های اطراف فضای پورت است. از طرفی میزان AST نیز بسیار معنی‌دار بالا رفت که نشان از درگیری هپاتوسیت‌ها، به‌ویژه در اطراف سیاهرگ مرکز لبولی داشت و این دو کنار هم بیانگر درگیری همه هپاتوسیت‌های کبد بود و با مطالعات ذکرشده مطابقت داشت. نکته دیگر اینکه تری‌متازیدین توانست آن‌قدر مؤثر باشد که تأثیرات دوکسوروبیسین را به نصف کاهش دهد. دوکسوروبیسین با ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب میتوکندریایی موجب نشت ALT می‌شود. تری‌متازیدین با حفظ عملکرد میتوکندری و محدود کردن پراکسیداسیون لیپیدها، توانسته است بخشی از این آسیب را تعدیل کند. به‌عبارتی تری‌متازیدین نقش محافظ کبدی نسبی در برابر سمّیت دوکسوروبیسین دارد. در گروه تحت درمان با دوکسوروبیسین، سطوح AST به‌طور قابل‌توجهی نسبت به گروه شاهد افزایش یافت که نشانگر بروز آسیب کبدی ناشی از دارو می‌باشد. تجویز توأم تری‌متازیدین موجب کاهش معنی‌دار سطح AST در مقایسه با گروه DOX گردید؛ به‌طوری‌که مقادیر آن نزدیک به سطوح پایه‌ای در گروه شاهد قرار گرفت. این نتایج دلالت بر اثر محافظتی تری‌متازیدین در برابر سمیت هپاتوسلولار القاشده با گروه DOX داشت.

افزایش تولید، آزادسازی و متعاقباً افزایش فعالیت GGT سرم در کلستاز و هایپرپلازی صفراوی رخ می‌دهد. افزایش فعالیت GGT سرم که در کلستاز رخ می‌دهد، ممکن است ناشی از افزایش تولید و حل شدن GGT متصل به غشای سلولی باشد. افزایش فعالیت GGT سرم در نتیجه تداخلات دارویی نیز اتفاق می‌افتد (۲۰). در مطالعه حاضر نیز مانند مطالعات گذشته افزایش فراوان سطح GGT پس از مواجهه با دوکسوروبیسین مشاهده شد (۲۱).

غلظت بیلی‌روبین تام سرم و پلاسما در جوندگان مبتلا به بیماری کبدی‌صفراوی اولیه، انسداد صفراوی خارج کبدی یا همولیز افزایش می‌یابد (۲۲). در مطالعه حاضر نیز میزان بیلی‌روبین تام سرم در گروه DOX بسیار بیشتر از گروه‌های شاهد و تری‌متازیدین بود. البته تری‌متازیدین‌درمانی موجب کاهش سطح بیلی‌روبین تام سرم شده بود.

در مطالعه حاضر، مقایسه میزان سطح بافتی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام TAC نشان داد بین گروه DOX و گروه‌های دریافت‌کننده تری‌متازیدین تفاوت معنی‌دار بسیار زیاد است و گروه DOX- TMZ حد واسط بین گروه‌های شاهد و DOX بود که نشان‌دهنده تأثیر بسیار زیاد تری‌متازیدین در حفظ خواص آنتی‌اکسیدانی بافت است. همچنین میزان مالون دی‌آلدئید MDA در گروه تری‌متازیدین کاهش بسیار نشان داد.

نتایج حاصل از بررسی بیان ژن‌های آپوپتوتیک Caspase-3 و BAX در مطالعه حاضر نشان داد دوکسوروبیسین موجب افزایش شدید بیان این ژن‌ها در بافت کبد گردیده است. این یافته‌ها با نقش شناخته‌شده دوکسوروبیسین در القای استرس اکسایشی، تخریب غشای میتوکندری و فعال‌سازی مسیرهای وابسته به کاسپازها همخوانی دارد. افزایش بیان BAX و Caspase-3 در گروه DOX نشان‌دهنده فعال شدن مسیر میتوکندریایی آپوپتوز است که ازطریق نفوذپذیری غشای میتوکندری و آزادسازی سیتوکروم c موجب فعال شدن متوالی کاسپازها و درنهایت مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده می‌شود (۲۳). در مطالعه حاضر تجویز تری‌متازیدین به‌تنهایی تغییر معنی‌داری در سطح بیان ژن‌های مذکور ایجاد نکرد که نشان‌دهنده ایمنی نسبی و نبود اثر سمی مستقیم این دارو بر بافت کبد است. در مقابل دریافت هم‌زمان تری‌متازیدین همراه با دوکسوروبیسین باعث کاهش قابل‌توجه بیان BAX و Caspase-3 نسبت به گروه DOX گردید. این پدیده بیانگر اثر محافظتی قابل‌توجه تری‌متازیدین در برابر سمیت آپوپتوتیک القاشده توسط DOX است. مکانیسم احتمالی این اثر حفاظتی می‌تواند به توانایی تری‌متازیدین در بهبود عملکرد میتوکندری، حفظ تعادل انرژی سلولی و مهار تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نسبت داده شود. تری‌متازیدین با پایداری بیشتر غشای میتوکندری و تعدیل نسبت BAX/Bcl-2، موجب مهار آزاد شدن سیتوکروم c و درنتیجه جلوگیری از فعال شدن کاسپاز-۳ می‌گردد. در مطالعات پیشین نیز نشان داده شده است تری‌متازیدین قادر است ازطریق مسیرهای PI3K/Akt، AMPK و MAPK آپوپتوز ناشی از دوکسوروبیسین را مهار کند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۴، ۲۵).

در مطالعه حاضر تری‌متازیدین نتوانست موجب کاهش بیان ژن کاسپاز-۳ نسبت به گروه DOX شود؛ درحالی‌که میزان بیان ژن BAX را کاهش داد؛ بنابراین تری‌متازیدین احتمالاً آپوپتوز را از مسیر کاسپاز-۳ اجرا نکرده و مسیرهای دیگری، مثل افزایش بیان ژن BAX را پیش گرفته است. یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر، تمرکز بر تعداد محدودی از شاخص‌های مولکولی (ازجمله BAX و Caspase-3) بود؛ درحالی‌که مسیرهای سیگنالینگ کلیدی دیگری، مانند NF-κB و p53 نیز در تنظیم پاسخ‌های التهابی، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز نقش دارند، اما در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار نگرفتند. ارزیابی تغییرات بیان این مسیرها می‌تواند در مطالعات آینده، درک دقیق‌تری از سازوکارهای حفاظتی TMZ در برابر سمیت کبدی القاشده توسط DOX فراهم کند.

نتیجه‌گیری نهایی: مطابق با روش‌های مطالعه حاضر و نتایج می‌توان گفت تری‌متازیدین دارای اثرات ضدرادیکالی و آنتی‌اکسیدانی و ضدآپوپتوزی قدرتمندی است. افزایش بیان ژن‌های BAX و Caspase-3 در اثر دوکسوروبیسین ناشی از فعال شدن مسیر میتوکندریایی مرگ سلولی است و تری‌متازیدین با تعدیل این پاسخ، نقش محافظتی بارزی در پیشگیری از آسیب آپوپتوتیک کبد ایفا می‌کند. این یافته‌ها می‌تواند مبنای مناسبی برای بررسی‌های تکمیلی در سطح پروتئین و مسیرهای سیگنالینگ مرتبط در مدل‌های حیوانی و بالینی باشد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر یک پژوهش تجربی بود که در سال ۱۴۰۴ با اخذ کد اخلاق به شماره IR.IAU.SRB.REC.1403.442 از واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد.

سپاس‌گزاری

نویسندگان از گروه پاتوبیولوژی و آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات، به‌ویژه آقای عابدی، تکنسین تهیه و عمل‌آوری نمونه‌های هیستوپاتولوژی، قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافعی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Chen A, Li W, Chen X, Shen Y, Dai W, Dong Q, et al. Trimetazidine attenuates pressure overload-induced early cardiac energy dysfunction via regulation of neuropeptide Y system in a rat model of abdominal aortic constriction. BMC Cardiovasc Disord. 2016;16(1):225. doi: 10.1186/s12872-016-0399-8 PMID: PMC5112876

2. Kamisah Y, Che Hassan HH. Role of trimetazidine in ameliorating endothelial dysfunction: A review. Pharmaceuticals (Basel). 2024;17(4). doi: 10.3390/ph17040464 PMID: PMC11054808

3. Ding W, Zhou D, Zhang S, Qian J, Yang L, Tang L. Trimetazidine inhibits liver fibrosis and hepatic stellate cell proliferation and blocks transforming growth factor-β (TGFβ)/Smad signaling in vitro and in vivo. Bioengineered. 2022;13(3):7147–56. doi: 10.1080/21655979.2022.2047403 PMID: PMC8973947

4. Vitale R, Marzocco S, Popolo A. Role of oxidative stress and inflammation in doxorubicin-induced cardiotoxicity: A brief account. Int J Mol Sci. 2024;25(13):7477. doi: 10.3390/ijms25137477 PMID: PMC11242665

5. Qi X, Guo J, Li Y, Fang C, Lin J, Chen X, et al. Vitamin E intake is inversely associated with NAFLD measured by liver ultrasound transient elastography. Sci Rep. 2024;14(1):2592. doi: 10.1038/s41598-024-52482-w PMID: PMC10831069

6. Kciuk M, Gielecińska A, Mujwar S, Kołat D, Kałuzińska-Kołat Ż, Celik I, et al. Doxorubicin-an agent with multiple mechanisms of anticancer activity. Cells. 2023;12(4):659 doi: 10.3390/cells12040659 PMID: PMC9954613

7. George S, Abrahamse H. Redox Potential of antioxidants in cancer progression and prevention. Antioxidants. 2020;9(11):1156. doi: 10.3390/antiox9111156 PMID: PMC7699713

8. Amgalan D, Garner TP, Pekson R, Jia XF, Yanamandala M, Paulino V, et al. A small-molecule allosteric inhibitor of BAX protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy. Nat Cancer. 2020;1(3):315–28. doi: 10.1038/s43018-020-0039-1 PMID: PMC7413180

9. Wen H, Deng H, Yang L, Li L, Lin J, Zheng P, et al. Vitamin E for people with non-alcoholic fatty liver disease. Cochrane Database Syst Rev. 2024;10(10):Cd015033. doi: 10.1002/14651858.CD015033.pub2 PMID: PMC11481097

10. Gedikli E, Barış V, Yersal N, Dinçsoy AB, Müftüoğlu SF, Erdem A. Taurine protects doxorubicin-induced hepatotoxicity via its membrane-stabilizing effect in rats. Life (Basel). 2023;13(10):2031. doi: 10.3390/life13102031 PMID: PMC10608465

11. Jiang L, Shen X, Dun Y, Xie M, Fu S, Zhang W, et al. Exercise combined with trimetazidine improves anti-fatal stress capacity through enhancing autophagy and heat shock protein 70 of myocardium in mice. Int J Med Sci. 2021;18(7):1680–6. doi: 10.7150/ijms.53899 PMID: PMC7976563

12. Aminian M, Nabatchian F, Vaisi-Raygani A, Torabi M. Mechanism of coomassie brilliant blue G-250 binding to cetyltrimethylammonium bromide: An interference with the bradford assay. Anal Biochem. 2013;434(2):287–91. doi: 10.1016/j.ab.2012.11.014 PMID: 23219565

13. Behroozaghdam M, Hashemi M, Javadi G, Mahdian R, Soleimani M. Expression of bax and bcl2 genes in MDMA-induced hepatotoxicity on rat liver using quantitative real-time pcr method through Triggering

programmed cell death. Iran Red Crescent Med J. 2015;17(11):e24609. doi: 10.5812/ircmj.24609 PMID: PMC4698330

14. Babakanrad E, Mohammadian T, Esmaeili D, Behzadi P. Studying the effect of gene fusion of A and C types capsular synthesizing enzymes and anticancer sequence on inducing the expression of apoptotic BCL-2, BAX, and Caspase-3 genes by Real-time RT-PCR method. Heliyon. 2023;9(5):e16326. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e16326 PMID: PMC10213348

15. Akin AT, Öztürk E, Kaymak E, Karabulut D, Yakan B. Therapeutic effects of thymoquinone in doxorubicin-induced hepatotoxicity via oxidative stress, inflammation and apoptosis. Anat Histol Embryol. 2021;50(6):908–17. doi: 10.1111/ahe.12735 PMID: 34494664

16. Alsahli TG, Alharbi KS, Alenezi SK, Alqahtani R, Afzal M, Sayyed N. Aegeline improves doxorubicin-induced liver toxicity by modulating oxidative stress and Bax/Bcl2/caspase/NF-κB signaling. Sci Rep. 2025;15(1):27203. doi: 10.1038/s41598-025-09675-8 PMID: PMC12297376

17. Luo L, Schomaker S, Houle C, Aubrecht J, Colangelo JL. Evaluation of serum bile acid profiles as biomarkers of liver injury in rodents. Toxicol Sci. 2014;137(1):12–25. doi: 10.1093/toxsci/kft221 PMID: 24085190

18. Kalas MA, Chavez L, Leon M, Taweesedt PT, Surani S. Abnormal liver enzymes: A review for clinicians. World J Hepatol. 2021;13(11):1688–98. doi: 10.4254/wjh.v13.i11.1688 PMID: PMC8637680

19. Singer AJ, Carracio TR, Mofenson HC. The temporal profile of increased transaminase levels in patients with acetaminophen-induced liver dysfunction. Ann Emerg Med. 1995;26(1):49–53. doi: 10.1016/s0196-0644(95)70237-7 PMID: 7793720

20. Armani S, Geier A, Forst T, Merle U, Alpers DH, Lunnon MW. Effect of changes in metabolic enzymes and transporters on drug metabolism in the context of liver disease: Impact on pharmacokinetics and drug-drug interactions. Br J Clin Pharmacol. 2024;90(4):942–58. doi: 10.1111/bcp.15990 PMID: 38148609

21. Ibrahim Fouad G, Ahmed KA. Curcumin ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity via suppressing oxidative stress and modulating iNOS, NF-κB, and TNF-α in rats. Cardiovasc Toxicol. 2022;22(2):152–66. doi: 10.1016/j.ab.2012.11.01410.1007/s12012-021-09710-w PMID: 23219565

22. Cuperus FJ, Schreuder AB, van Imhoff DE, Vitek L, Vanikova J, Konickova R, et al. Beyond plasma bilirubin: the effects of phototherapy and albumin on brain bilirubin levels in Gunn rats. J Hepatol. 2013;58(1):134–40. doi: 10.1016/j.jhep.2012.08.011 PMID: 22922094

23. Yu W, Zhu H, Huang R, Yan B, Xu B, Shi Y, et al. Roles of Cyt-c/Caspase-9/Caspase-3/Bax/Bcl-2 pathway in Cd-induced testicular injury in rats and the protective effect of quercetin. Toxicon. 2024;237:107561. doi: 10.1016/j.toxicon.2023.107561 PMID: 38092195

24. Kamranian H, Asoudeh H, Sharif RK, Taheri F, Hayes AW, Gholami M, et al. Neuroprotective potential of trimetazidine against tramadol-induced neurotoxicity: role of PI3K/Akt/mTOR signaling pathways. Toxicol Mech Methods. 2023;33(7):607–23. doi: 10.1080/15376516.2023.2202785 PMID: 37051630

25. Elbaset MA, Afifi SM, Esatbeyoglu T, Abdelrahman SS, Saleh DO. Neuroprotective effects of trimetazidine against cisplatin-induced peripheral neuropathy: Involvement of AMPK-mediated PI3K/mTOR, Nrf2, and NF-κB signaling axes. Oxid Med Cell Longev. 2024;2024:6612009. doi: 10.1155/2024/6612009 PMID: PMC11535264