

## اثر ژل رویال بر میزان سلول‌کشی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و سلول سرطانی رده K562

سید احسان حسینی، نوروز دلیرژ\*، ناهیدافضل آهنگران

گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** ژل رویال که به وسیله زنبورهای کارگر ترشح می‌شود، دارای فعالیت‌های زیستی مختلفی در سلول‌ها و بافت‌های بدن می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی تأثیر ژل رویال بر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و سلول سرطانی رده K562 بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی که بر روی سه نفر داوطلب به طور جداگانه و با سه بار تکرار صورت گرفت، سلول سرطانی K562 (۱۰<sup>۴</sup> سلول) و سلول تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) (۱۰<sup>۵</sup> سلول) باغلظت‌های متفاوت از ژل رویال (۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به طور جداگانه و در شرایط استاندارد برای مدت زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت کشت داده شد. سپس میزان کشتندگی آن بر سلول‌های PBMC و سلول سرطانی K562 با روش MTT (Tetrazolium Dye-Reduction Assay) بررسی شد. همچنین تعداد سلول‌های زنده PBMC که به مدت ۴۸ ساعت با ژل رویال مواجه شده بودند، با رنگ‌آمیزی تریپان بلو بررسی شدند. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** ژل رویال بر روی سلول‌های PBMC تأثیر کشتندگی نداشت ولی بر روی سلول‌های سرطانی رده K562 در رقت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با افزایش میزان سلول‌کشی سلول‌های سرطانی همراه بود. همچنین در رقت‌های ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سبب افزایش تعداد سلول‌های زنده PBMC شد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به عدم کشتندگی ژل رویال بر روی سلول‌های PBMC و افزایش میزان زنده ماندن این سلول و همچنین افزایش میزان کشتندگی آن بر روی سلول‌های سرطانی در آینده پتانسیل‌های درمانی آن به عنوان کاندیدای بالقوه برای مطالعات بیشتر در درمان سرطان خون می‌تواند بررسی شود.

**واژه‌های کلیدی:** ژل رویال، K562، سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی

\* نویسنده مسئول: نوروز دلیرژ، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه میکروبی‌شناسی

Email: n.delirez@urmia.ac.ir

## مقدمه

از گسترش سلول‌های سرطانی می‌گردد. در این میان ژل رویال یکی از موادی است که به نظر می‌رسد در بحث تقویت سیستم ایمنی می‌تواند مؤثر باشد (۹ و ۸). ژل رویال حاوی ویتامین‌های گروه B محلول در آب مانند؛ تیامین، ریبوفلاوین، و پیریدوکسین، نیاسین، بیوتین، اسید فولیک، اینوزیتول و مواد معدنی می‌باشد. همچنین دارای ۲۰ اسید آمینه ضروری، قند، استرول، ترکیبات فسفردار، اسیدکولین و دیگر ترکیبات مورد نیاز برای سلامتی می‌باشد (۱۱ و ۱۰).

در این مطالعه با توجه به اثرات ضد توموری در راستای تعدیل سیستم ایمنی ژل رویال، فعالیت تکثیر سلول سرطانی اریثرو لوسمی رده K562 و سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی<sup>(۲)</sup> نرمال بررسی شد.

## روش بررسی

این مطالعه تجربی بر روی سه نفر داوطلب به طور جداگانه انجام شد. برای جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی ابتدا خون هیپارینه با محیط کشت RPMI-1640 رقیق شده را به آرامی بر روی فایکول که حجم آن برابر خون رقیق نشده است اضافه شده و آن را با سرعت ۸۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ کردید. سلول‌های PBMC که در حد فاصل فایکول و خون رقیق شده به آرامی جمع‌آوری و PBMC به دست آمده با پیپت پاستور استریل برداشته

لوسمی‌میلوئیدی مزمن<sup>(۱)</sup> یکی از شناخته شده‌ترین سرطان‌های خون می‌باشد که به دلیل جا به جایی دو طرفه بین ژن abl بر روی کروموزوم ۹ و ژن bcr بر روی کروموزوم شماره ۲۲ در سلول‌های بنیادی چند توان به وجود می‌آید (۲ و ۱). رده سلولی K562 به عنوان الگویی جهت مطالعه لوسمی‌میلوئیدی مزمن به کار می‌رود (۳). آپوپتوز، یک فرآیند تنظیم شده مرگ سلولی می‌باشد که باعث حذف سلول‌های ناخواسته، بدون ایجاد آسیب در ارگان‌های چند سلولی می‌گردد و سبب کنترل رشد و ثابت نگاه داشتن شرایط محیط داخل بدن می‌شود (۴). به طور کلی داروهایی که در شیمی درمانی به کار می‌رود منجر به القا آپوپتوز و مهار رشد می‌شود (۵)، اما اثرات جانبی این داروها و مقاومتی که سلول‌های سرطانی نسبت به آن نشان می‌دهد از مشکلات و موانع شیمی درمانی به حساب می‌آید (۶).

تمام روش‌های درمانی از جمله جراحی، قطع اندام، پرتو درمانی و شیمی درمانی دارای عوارض زیادی از جمله ریزش مو، تهوع، استفراغ، خارش پوست و افزایش احتمال عفونت به دنبال تضعیف سیستم ایمنی می‌باشد، در حالی که روش‌های بیولوژیک، غیر تهاجمی و مؤثر می‌باشد (۷). استفاده از ایمنی درمانی در درمان سرطان یکی از روش‌های مورد مطالعه و مؤثر محسوب می‌شود که در این روش تمرکز بر روی تقویت سیستم ایمنی می‌باشد.

تقویت سیستم ایمنی موجب کاهش رشد و جلوگیری

1-Chronic Myeloid Leukemia(CML)  
2-Peripheral Blood Mononuclear(PBMC)

غلظت‌های مختلف از ژل رویال به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه گردید. در انجام این تست از نمونه خون افرادی مورد استفاده قرار گرفت که از نظر پاسخ ایمنولوژیک کاملاً سالم بوده و در میان افراد تفاوتی نسبت به پاسخ سلول‌های PBMC به ژل رویال وجود نداشت و سلول‌ها در شرایط کاملاً یکسانی قرار گرفتند. به منظور سنجش تأثیر غلظت‌های مختلف ژل بر میزان زنده ماندن و در پایان زمان‌های انکوباسیون ۴۸ و ۷۲ ساعت با روش MTT<sup>(۳)</sup> استفاده شد.

این آزمایش در دوره زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام شد. مبنای تست MTT رنگ سنجی است که بر اساس احیاء شدن و شکسته شدن کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم با فرمول شیمیایی MTT به وسیله آنزیم سوکسینات دی هیدروژناز و تشکیل کریستال‌های آبی رنگ نامحلول می‌باشد. پس از اتمام انکوباسیون در هر یک از دو دوره زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت ۲۵ میکرولیتر از محلول MTT به هر چاهک اضافه نموده و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور حاوی دی‌اکسید کربن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از اتمام زمان انکوباسیون کریستال‌های رنگی بر سطح سلول‌ها ایجاد گردید. سپس به هر چاهک میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محلول DMSO<sup>(۴)</sup>

شده و بعد از سه بار شستشو در RPMI1640 برای انجام آزمایش‌ها استفاده شد. تعداد و میزان سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی به دست آمده با استفاده از رنگ تری پان بلو<sup>(۱)</sup> تعیین شد. سپس رده سلولی K562 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شده و در شرایط In Vitro در محیط کشت RPMI1640 و FBS<sup>(۲)</sup> ۱۵ درصد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن کشت داده شد.

ژل رویال که از زنبورداران آذربایجان غربی، شهرستان ارومیه به صورت تازه خریداری شد، در شرایط استاندارد نگهداری شده و برای انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه غلظت‌های متفاوت، ژل رویال را با بافر PBS به نسبت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رقیق کرده و سپس بعد از سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰g قسمت مومی شکل آن را جدا کرده و با فیلتر سر سرنگی ۰/۲ میکرون استریل گردید. سپس رقت‌های مورد نیاز از آن تهیه شد و به میزان مورد نیاز جهت انجام هر آزمایش در لوله‌های استریل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سلول‌ها در شرایط رشد بهینه در گروه‌های ۳ چاهکی به تعداد ۱۰<sup>۴</sup> از سلول K562 و ۱۰<sup>۵</sup> از PBMC به طور جداگانه در پلیت‌های کشت ۹۶ خانه در محیط کشت RPMI1640 حاوی FBS ۱۵ درصد کشت داده شد. یک گروه به عنوان شاهد که شامل محیط کشت RPMI1640 با FBS ۱۵ درصد می‌باشد، برای انجام تست در نظر گرفته شد. گروه‌های دیگر در مجاورت

1-Trypan blue

2-Fetal Bovine Serum(FBS)

3-Tetrazolium Dye-Reduction Assay (MTT)

4-Dimethyl Sulfoxide

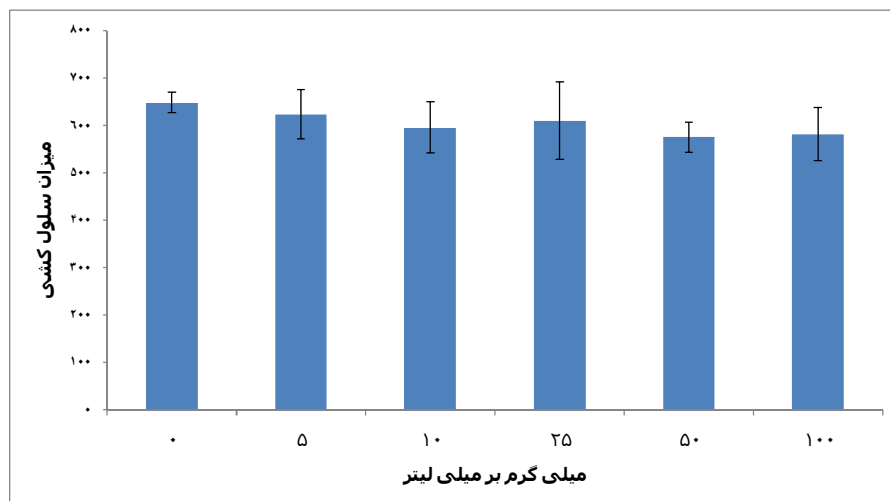
## یافته‌ها

براساس نتایج حاصله، عصاره ژل رویال تأثیر معنی‌داری بر میزان تکثیر سلول‌های PBMC در فواصل زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت نسبت به گروه کنترل نشان نداد ( $p > 0.05$ ) (نمودارهای ۲ و ۱)، در حالی که عصاره ژل رویال تأثیر معنی‌داری را در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل بر روی سلول سرطانی K562 را در هر دو فاصله زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت از خود نشان داد ( $p > 0.05$ ) (نمودارهای ۴ و ۳).

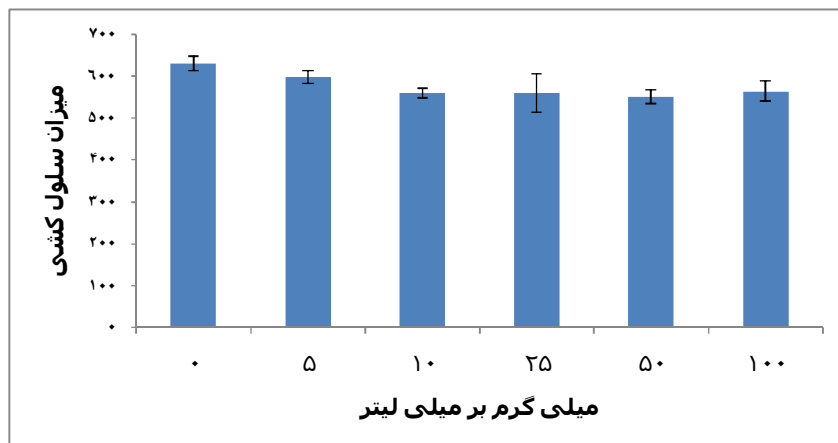
نتایج تست تریپان بلو نشان داد، عصاره ژل رویال سبب افزایش میزان زنده ماندن سلول‌های PBMC شده و در رقت‌های ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم شد ( $p > 0.05$ ) (نمودار ۵).

اضافه شد که سبب حل شدن کریستال‌های موجود در کف هر چاهک شده و سپس میزان جذب نوری در طول موج ۴۹۲ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا خوانده شده و میزان سلول‌های زنده در هر چاهک محاسبه شد. همچنین تعداد سلول‌های زنده و مرده سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی که به مدت ۴۸ ساعت با ژل رویال مواجه شدند با رنگ‌آمیزی تریپان بلو شمارش و به صورت درصد گزارش شدند.

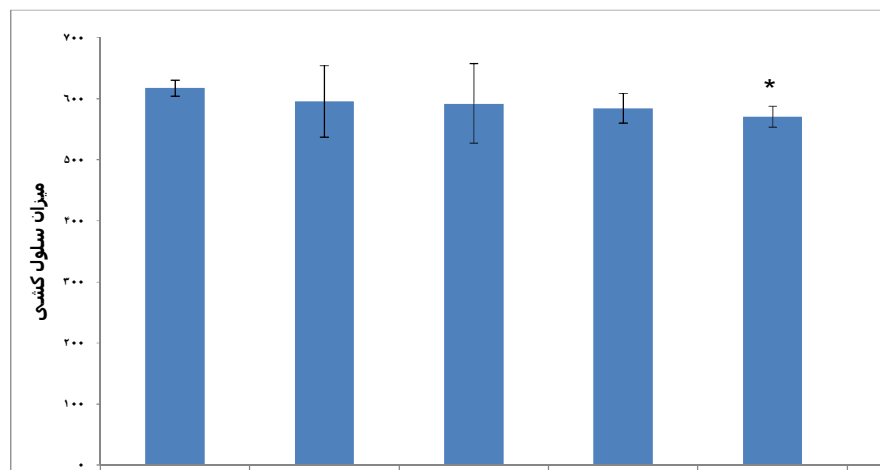
داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.



نمودار ۱: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ژل رویال بر سلول‌های PBMC بعد از ۴۸ ساعت مواجهه در تست MTT

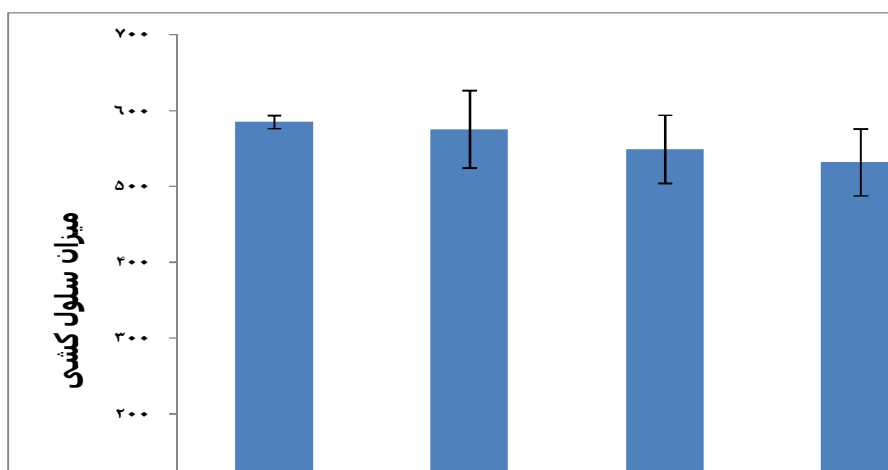


نمودار ۲: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ژل رویال بر سلول‌های PBMC بعد از ۷۲ ساعت مواجهه در تست MTT



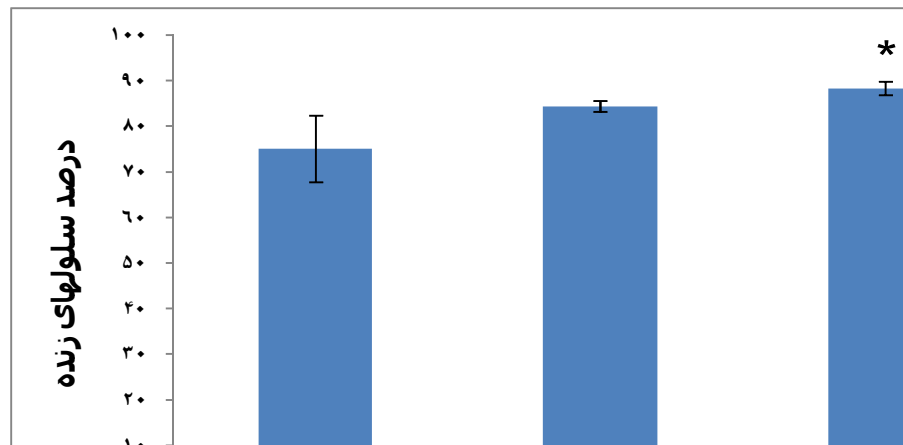
نمودار ۳: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ژل رویال بر سلول‌های K562 بعد از ۴۸ ساعت مواجهه در تست MTT

\* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ( $p > 0.05$ )



نمودار ۴: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ژل رویال بر سلول‌های K562 بعد از ۷۲ ساعت مواجهه در تست MTT

\* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ( $p > 0.05$ )



نمودار ۵: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ژل رویال بر میزان زنده ماندن سلول‌های PBMC بعد از ۴۸ ساعت مواجهه در تست TB

\* تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد ( $p > 0.05$ )

## بحث

حفاظتی علیه آسیب‌های DNA و کاهش قند خون دارند (۲۲-۲۵). همچنین در مطالعات گذشته نشان داده شده است که ژل رویال از طریق افزایش تعداد لوکوسیت‌ها سبب تقویت سیستم ایمنی می‌شود (۲۶-۲۸). مطالعات آزمایشگاهی و مطالعه روی حیوانات آزمایشگاهی نشان از اثرات ضد توموری و ضد التهابی این ماده می‌باشد (۲۹-۳۰). در طی مطالعه‌ای دیگر ثابت شد، غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره ژل رویال در مدت زمان ۷۲ ساعت سبب افزایش فعالیت تکثیری لنفوسیت‌ها و ترشح سایتوکاین‌های مترشحه از لنفوسیت‌ها می‌شود که در بیماری‌های خود ایمن سبب کاهش علائم مربوط به بیماری می‌شود (۲۷). همچنین در مطالعه دیگری روشن شد که ژل رویال سبب کاهش میزان آپوپتوز سلول‌های کبدی شد که با افزایش فعالیت‌های ضد آپوپتوزی سلول‌های کبدی نیز همراه بوده است (۳۱).

در حال حاضر داروهایی که برای درمان لوسمی به کار می‌روند، سبب ایجاد مقاومت دارویی شده و باعث عدم تأثیر و در نهایت سبب مرگ بیمار می‌شوند (۱۴-۱۲). بنابراین مطالعات جهانی و گسترده‌ای برای یافتن داروهای جدید با به کارگیری رده‌های سلولی در جریان است (۱۵). در پزشکی مدرن نیز توجه زیادی به استفاده از روش‌های درمانی با مواد طبیعی و بیولوژیکی شده است. عسل و سایر محصولات زنبور عسل نظیر ژل رویال به عنوان محرک سیستم ایمنی نیز استفاده می‌شود (۱۶ و ۱۷). همچنین بررسی دیگری نشان از اثرات ضد توموری ژل رویال دارد (۱۸ و ۱۹). مطالعه‌های اخیر نیز نشان از تأثیر ژل رویال و اثر آن بر روی تعدیل سیستم ایمنی دارند (۲۰). از دیگر اثرات ژل رویال می‌توان به اثرات ضد پیری، اثرات حفاظتی پوست و استخوان و اثرات مفید قلبی - عروقی اشاره کرد (۲۱). ژل رویال دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و

داروهای درمانی مرتبط می‌تواند مورد توجه و بررسی قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه ارومیه می‌باشد که با حمایت مالی دانشکده دامپزشکی این دانشگاه انجام شد.

نتایج مطالعه حاضر ما نشان داد که ژل رویال دارای اثرات سلول کشی بر روی سلول‌های سرطانی K562 دارد، اما فاقد اثرات سلول کشی بر روی سلول‌های PBMC می‌باشد. سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی نقش مهمی در دفاع علیه عوامل بیگانه و تومورها دارند که در بحث تقویت سیستم ایمنی بسیار است. تقویت سیستم ایمنی موجب کاهش رشد و جلوگیری از گسترش سلول‌های سرطانی می‌گردد. خوشبختانه علی‌رغم این که ژل رویال اثرات سیتوتوکسیک بر روی سلول‌های K562 به همراه دارد، فاقد اثر سیتوتوکسیک بر روی سلول‌های PBMC بوده و همچنین باعث افزایش درصد سلول‌های زنده در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی نیز می‌باشد. بنابراین ژل رویال می‌تواند به عنوان یک ترکیب مکمل در درمان لوسمی، همراه با تقویت سیستم ایمنی بدن مطرح گردد که نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

با توجه این که به ژل رویال بر روی سلول‌های PBMC تأثیر چندانی نداشته و شاهد عدم اثر کشندگی این ژل بر روی این سلول‌ها بوده و همچنین سبب افزایش میزان زنده ماندن سلول‌های PBMC شده و از طرف دیگر اثرات کشندگی این ژل بر روی سلول‌های سرطانی مشاهده شد، در آینده پتانسیل‌های درمانی آن در راستای تقویت سیستم ایمنی همراه با

**REFERENCES:**

1. Deininger MW, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000; 96: 3343-56.
2. Ten Bosch GJA, Joosten AM, Kessler JH, Melief CJM, Leeksa OC. Recognition of BCR ABL positive leukemic blasts by human CD34+ T cells elicited by primary in vitro immunization with aBCR-ABL breakpoint peptide. *Blood* 1996; 88: 3522-27.
3. Lozzio B, Lozzio C. Properties of the K562 cell line derived from a patient with chronic myeloid leukemia. *Int J Cancer* 1977;19(1): 136.
4. Moosavi MA, Yazdanparast R, Sanati MH. The cytotoxic and anti-proliferative effects of 3-Hydrogenkwadaphnin in K562 and Jurkat cells is reduced by guanosine. *J Biochem Mol Biol* 2005; 38: 391-8.
5. Kemnitzer W, Drewe J, Jiang S, Zhang H, Zhao J, Crogan-Grundy C. Discovery of 4-aryl 4Hchromenes as a new series of apoptosis inducers using a cell- and caspase-based highthroughput screening assay. 4 structure-activity relationships of fused rings at the 7, 8-positions. *J Med Chem* 2007; 50: 2858-64.
6. Wong S, McLaughlin J, Cheng D, Witte ON. Cell context-specific effects of the BCR-ABL oncogene monitored in hematopoietic progenitors. *Blood* 2003; 101: 4088-97.
7. Mattil-Fritz S, Scharner D, Piuko K, Thönes N, Gissmann L, Müller H, et al. Immunotherapy of equine sarcoid: dose-escalation trial for the use of chimeric papillomavirus-like particles. *J Gen Virol* 2008; 89(1): 138-47.
8. Sver L, Orsolic N, Tadic Z, Njari B, Valpotic I, Basic I. A royal jelly as a new potential immunomodulator in rats and mice. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1996; 19(1): 31-8.
9. Vučević D, Melliou E, Vasilijic S, Gasic S, Ivanovski P, Chinou I, et al. Fatty acids isolated from royal jelly modulate dendritic cell-mediated immune response in vitro. *Int Immunopharmacol* 2007; 7(9): 1211-20.
10. Obayashi N, Unten S, Kakuta H, Komatsu N, Fujimaki M, Satoh K, et al. Diverse biological activities of healthy foods. *In Vivo* 2001; 15(1): 17-23.
11. Ishii R, Horie M, Murayama M, Maitani T. Analysis of tetracyclines in honey and royal jelly by LC/MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 2006; 47(6): 277-83.
12. Wyllie A, Kerr JFR, Currie AR. Cell death: The significance of Apoptosis. *Int Rev Exp Pathol* 1999; 32: 323-54.
13. Rowan S, Fisher DE. Mechanism of apoptotic cell death. *Leukemia* 1997; 11: 457-65.
14. Rahmani M, Nguyen TK, Dent P, Grant S. The multikinase inhibitor sorafenib induces apoptosis in highly Imatinib Mesylate-resistant Bcr/Abl+ human leukemia cells in association with signal transducer and activator of transcription 5 inhibition and myeloid cell leukemia-1 down-regulation. *Mol Pharmacol* 2007; 72: 788-95.
15. Kawashima D, Asai M, Katagiri K, Takeuchi R, Ohtsuka K. Reinvestigation of the effect of carbenoxolone on the induction of heat shock proteins. *Cell Stress and Chaperones* 2009; 14: 535-43.
16. Majtán J. Apitherapy-the role of honey in the chronic wound healing process. *Epidemiol Mikrobiol Immunol* 2009; 58(3): 137-40.
17. Majtán J, Kumar P, Majtán T, Walls AF, Klaudivy J. Effect of honey and its major royal jelly protein 1 on cytokine and MMP-9 mRNA transcripts in human keratinocytes. *Exp Dermatol* 2009; 1: 1-7.
18. Shirzad H, Shahinfard N, Naficy MR, Karami M. Comparison of royal jelly effects with Gentamicin and Ceftriaxone on the growth of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonasaeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, in a laboratory environment. 5th European congress on Tropical Medicine and International Health. 2007; Amsterdam.
19. Mark RJ, Sercarz JA, Tran L, Selch M, Calcaterra TC. Fibrosarcoma of the head and neck. The UCLA experience. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; 117(4): 396-401.
20. Bincoletto C, Eberlin S, Figueiredo CA, Luengo MB. Effect produced by royal jelly (RJ) on haematopoiesis, relation with host resistance against Ehrlich ascites tumour challenge. *Nutr Cancer* 2005; 5(4): 679-88.
21. Krylov V, Sokolskii C. Royal jelly (in Russian). *Agroprompoligrafist Krasnodar* 2000; 214.
22. Inoue S, Koya-Miyata S, Ushio S, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. Royal Jelly prolongs the life span of C3H/HeJ mice: correlation with reduced DNA damage. *Experimental gerontology* 2003; 38(9): 965-9.



23. Oka H, Emori Y, Kobayashi N, Hayashi Y, Nomoto K. Suppression of allergic reactions by royal jelly in association with the restoration of macrophage function and the improvement of Th1/Th2 cell responses. *International Immunopharmacology* 2001; 1(3): 521-32.
24. Kamakura M, Suernobu N, Fukushima M. Fifty-seven-kDa protein in royal jelly enhances proliferation of primary cultured rat hepatocytes and increases albumin production in the absence of serum. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2001; 282(4): 865-74.
25. Kamakura M. Signal transduction mechanism leading to enhanced proliferation of primary cultured adult rat hepatocytes treated with royal jelly 57kDa protein. *Journal of Biochemistry* 2002; 132(6): 911-19.
26. AL-Mufarrej SI, El-Sarag MSA. Effects of royal jelly on the humoral antibody response and blood chemistry of chickens. *Journal of Applied Animal Research* 1997; 12(1): 41-7.
27. Erem C, Deger O, Ovali E, Barlak Y. The effects of royal jelly on autoimmunity in Graves' disease. *Endocrine* 2006; 30(2): 175-83.
28. Mannoor MK, Tsukamoto M, Watanabe H, Yamaguchi K, Sato Y. The efficacy of royal jelly in the restoration of stress-induced disturbance of lymphocytes and granulocytes. *Biomedical Research-India* 2008; 19(2): 69-77.
29. Kohno K, Okamoto I, Sano O, Arai N, Iwaki K, Ikeda M, et al. Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 2004; 68(1): 138-45.
30. Bincoletto C, Eberlin S, Figueiredo CAV, Luengo MB, Queiroz MLS. Effects produced by Royal Jelly on haematopoiesis: relation with host resistance against Ehrlich ascites tumour challenge. *International Immunopharmacology* 2005; 5(4): 679-88.
31. Karadeniz A, Sımsek N, Karakus E, Yildirm S, Kara A, Can I, et al. Royal Jelly Modulates Oxidative Stress and Apoptosis in Liver and Kidneys of Rats Treated with Cisplatin. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2011.

# The Effects of Royal Jelly on In-Vitro Cytotoxicity of K562 Cells and Peripheral Blood Mononuclear Cells

Hosseini SE , Delerezh N\* , Afzal Ahangaran N

Department of Microbiology, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 29 July 2013    Accepted: 27 Nov 2013

## Abstract

**Background & aim:** Royal jelly, secreted by worker bees, has different biological activities on cells and tissues. The aim of this study was to evaluate the effects of royal jelly on peripheral blood mononuclear cells and on the tumor category of K562 cell line.

**Methods:** In the present experimental study, three subjects were selected separately with three repetitions. K562 ( $10^4$  cells) and PBMC ( $10^5$  cells) with different concentrations of royal jelly (5, 10, 25, 50 and 100 mg/ml) were cultured under standard conditions for 48 and 72 h separately. The fatality rate on PBMC cells and K562 cancer cells was evaluated by using MTT (Tetrazolium Dye-Reduction Assay). The number of viable cells in PBMC that were exposed for 48 hours with Royal Jelly was evaluated by trypan blue staining. Data were analyzed by ANOVA.

**Results:** The royal jelly had no cytotoxicity effect on PBMC cells but at concentration of 50 and 100 mg/mL the cytotoxicity effect were observed on k562 cells whereas, at 10 and 25 mg/ml the number of PBMC viable cells increased.

**Conclusion:** Due to the lack of lethality of royal jelly on PBMC cells and PBMC cell viability and an increase in the fatality rate of cancer cells in the future, royal jelly can be used as a potential candidate for treatment of leukemia.

**Keywords:** Royal jelly, K562, peripheral blood mononuclear cell

---

\*Corresponding author: Delerezh N, Department of microbiology, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

Email: n.delirezh@urmia.ac.ir