

اثر وتیس‌وینی‌فرا در سمیت کبدی ناشی از استامینوفن

دکتر هیبتا... کلانتری، دکتر نسیم صدیق
دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز

چکیده

مقدمه: استامینوفن دارویی است ضدتب، ضد درد که مصرف آن توسط عموم بسیار گسترده است، اما استفاده نادرست و بی‌رویه آن در دوز درمانی برای طولانی‌مدت و در دوز بالا، باعث سمیت کبدی می‌شود. هدف از این مطالعه و بررسی نشان دادن اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی وتیس‌وینی‌فرا در سمیت کبدی ایجاد شده توسط استامینوفن در دوز سمی (۵۰۰ mg/kg) می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ابتدا پس از شناسایی علمی گیاه عصاره هیدروالکلی تهیه گردید و سپس دوزهای ۲۴۰ mg/kg، ۲۶۰، ۲۲۰، ۲۰۰، ۱۸۰، ۱۶۰ از راه خوراکی یک ساعت بعد از دادن استامینوفن در دوز سمی (۵۰۰ mg/kg) به موش‌ها تجویز شد (گروه تست). گروه کنترل منفی از راه خوراکی سرم فیزیولوژی دریافت کردند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت ابتدا زمان خواب در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری شد و بعد خون‌گیری انجام گردید و سرم تهیه شده برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کبدی مثل ALT و AST بکار گرفته شد. همچنین از بافت کبد برای مطالعات هیستوپاتولوژی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده سمیت کبدی را در گروه کنترل مثبت یعنی گروهی که استامینوفن را در دوز mg/kg ۵۰۰ دریافت کرده بودند بخوبی نشان می‌دهد و اثر محافظتی عصاره وتیس‌وینی‌فرا در دوز ۲۰۰ mg/kg در مقایسه با گروه کنترل مثبت از نظر فعالیت آنزیم‌های کبدی و همچنین هیستوپاتولوژی کبد معنی‌دار بوده است ($P < 0.05$). زمان خواب نیز در این گروه اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت داشته است. اگرچه دوزهای دیگر این عصاره اثر محافظتی از خود نشان دادند ولی در مقایسه با گروه کنترل مثبت معنی‌دار نبوده.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: با توجه به جمیع جهات بررسی شده، نتایج این مطالعه مطلوب بوده ولی نیاز به بررسی بیشتری دارد.

اثر عصاره وتیس ویننی فرا در سمی کبدی ناشی از دوز سمی استامینوفن می باشد.

مقدمه

مواد و روش ها

گیاه وتیس ویننی فرا، لام، لامل، سرنگ انسولین، تیغ بیستوری، پیکنومتر، ظروف نگهداری بافت، لوله دوکی، الک ۱۴ مش، قیچی جراحی، پنس معمولی، سمپلر، ترازوی دیجیتال، سانتریفیوژ، دستگاه تقطیر در خلأ، آون و ترازوی یک کفه و دیگر لوازم آزمایش بکار گرفته شد.

بعد از جمع آوری گیاه وتیس ویننی فرا در فصل بهار در منطقه شمال شرق خوزستان و شناسایی علمی آن در بخش گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه اهواز، عصاره هیدروالکلی آن به نسبت ۲:۸ تهیه گردید و از این عصاره دوزهای ۲۶۰، ۲۴، ۲۲، ۲۰۰، ۱۸۰، ۱۶۰ mg/kg به عنوان داروی محافظ کبدی مورد استفاده قرار گرفت (۸،۹).

براساس وزن موش سفید (نژاد آلبینو) به هر یک حجم ۰/۲ ml از عصاره از راه خوراکی با استفاده از کاتتر و سرنگ انسولین یک ساعت بعد از تجویز دوز سمی استامینوفن تجویز شد. (گروه تست)، گروه کنترل منفی سرم فیزیولوژی دریافت کردند و گروه کنترل مثبت استامینوفن دوز سمی (۵۰۰ mg/kg) دریافت کردند. سپس طبق جدول ۱ تجویزها صورت گرفت.

بعد از گذشت ۲۴ ساعت با تجویز ۲۵ mg/kg هگزوباریتال سدیم داخل صفاق به تمام گروه ها، زمان خواب محاسبه شد (زمان شروع، زمان بیداری) و سپس خون داخل لوله های دوکی شکل شیشه ای جمع آوری شد. پس از نیم ساعت بوسیله سوآپ چوبی محل تماس شیشه با رشته های فیبرین ناشی از لخته شدن خون را قطع نموده تا دسترسی به سرم حاصله بعد از سانتریفیوژ راحت تر امکان پذیر باشد. پس از آن لوله ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس سرم را توسط سمپلر ۱۰۰ میکرولیتری خارج و به لوله های آزمایش پلی اتیلن مخصوص نگهداری سرم منتقل گردید و اندازه گیری آنزیم های کبدی

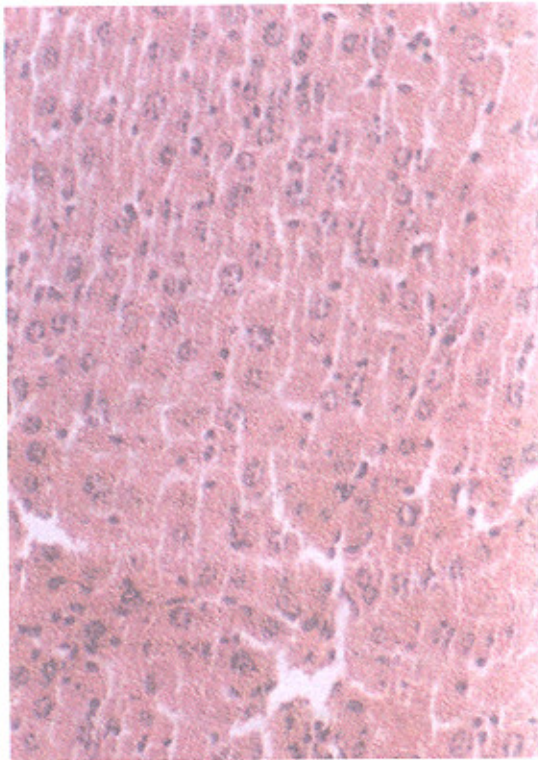
کبد از بزرگترین غدد داخلی بدن می باشد که داروها، مواد شیمیایی، مواد سمی، ویروس ها و انگل ها می توانند صدمات شدیدی به آن وارد کنند که در بسیاری از موارد مکانیسم بیماری زایی مشخص نیست بنابراین برای هر یک از اختلالات کبدی اسامی مختلفی وجود دارد و نقش کبد در سم زایی، سنتز پروتئین ها و آنزیم ها، ذخیره گلیکوژن و بعضی از املاح و ویتامین ها بخوبی شناخته شده است (۱).

استامینوفن جزء دسته دارویی ضد درد و از مشتقات پارآمینوفنل می باشد که جانشین مناسبی برای اسپرین در درمان سردرد، دردهای عضلانی خفیف تا متوسط، درد مفاصل، تب، درد بعد از جراحی، دردهای بعد از زایمان و دردهای ناشی از سرطان می باشد. این دارو بطور وسیع و گسترده ای مورد استفاده عموم قرار می گیرد که در اثر مصرف طولانی مدت و در دوز بالا باعث سمیت کبدی می شود (۲،۳،۴).

جهت تشخیص سمیت کبدی ایجاد شده توسط استامینوفن اندازه گیری سطح خونی آنزیم های درون سلولی کبد ضروری است - که از میان آنها گلوتامات پیرووات ترانس آمیناز (SGPT) یا آلانین ترانس آمیناز (ALT) که از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد. گلوتامات اگزولواستات ترانسفراز (SGOT) یا اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در تمامی سلول های بدن بخصوص سلول های قلب، کبد، عضله اسکلتی و کلیه وجود دارد و هنگامی که این بافت ها تحت شرایط بخصوص صدمه و آسیب ببینند از سلول های آسیب دیده آزاد شده و غلظت آن در خون افزایش پیدا می کند که اندازه گیری این آنزیم ها به عنوان شاخصی جهت تشخیص آسیب کبدی بکار می رود (۵،۶).

گیاه وتیس ویننی فرا گونه ای از تیره ویتاسی (Vitaceae) که در طب سنتی به عنوان مقوی و در درمان زردی ضد صفرا مؤثر است (۷). منظور از این تحقیق و مطالعه بررسی علمی

بررسی و مطالعات هیستوپاتولوژی با رنگ آمیزی هماتوکیلین و اتوزین نشان دادند که گروه کنترل منفی (نرمال) سلول‌های کبدی دارای هسته و سیتوپلاسم طبیعی می‌باشند. سینوزوئیدها بحالت تقریباً نرمال از مرکز تا محیط به صورت شعاعی کشیده شده‌اند و هیچگونه نکروز سلولی تغییر چربی و التهاب مشاهده نمی‌گردد (نمای میکروسکوپی ۱).



نمای میکروسکوپی ۱- از مقطع کبد موش سفید بعد از تجویز سرم فیزیولوژی، بزرگنمایی (۲۰×)

اما در گروه مسموم (کنترل مثبت) مشاهدات هیستوپاتولوژیک بیانگر آسیب شدید سلول‌های کبد است. تغییرات چربی و بزرگ شدن سلول‌ها به وضوح نمایان می‌باشد. همچنین تورم سلولی، التهاب و نکروز شدید مشاهده می‌شود (نمای میکروسکوپی ۲). نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژیک در گروهی که عصاره ویتس‌وینی‌فرا در دوز ۲۰۰ mg/kg دریافت کرده‌اند، شدت نکروز کاهش یافته است و از تغییرات چربی تا اندازه‌ای کاسته و سلول‌ها به حالت طبیعی در مقایسه با گروه کنترل مثبت دیده می‌شوند (نمای میکروسکوپی ۳).

انجام شد و بعد از عمل خون‌گیری کبد موش را وزن کرده و در فرمالین ۱۰٪ قرار دادیم تا برای بررسی هیستوپاتولوژی آنها اقدام گردد.

جدول شماره ۱- مقدار و زمان تجویز عصاره و استامینوفن در

گروه‌های مختلف

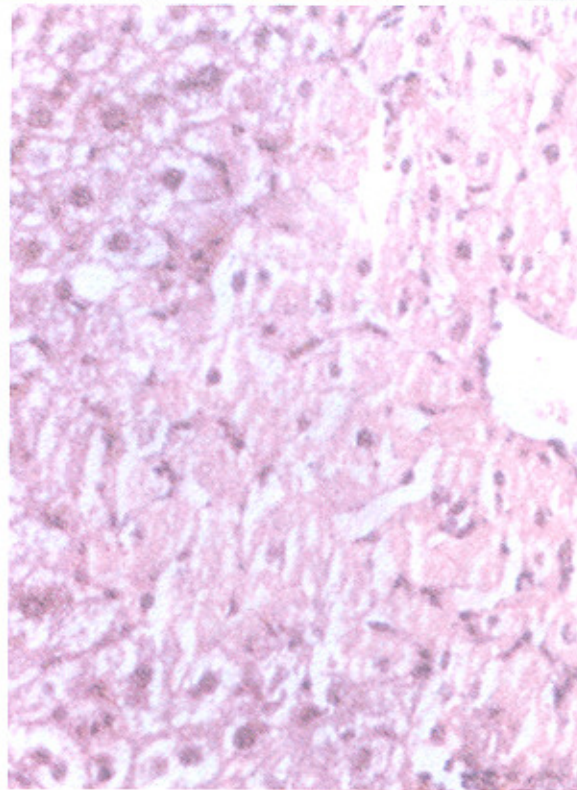
گروه/زمان	صفر	یک ساعت بعد
A	سرم فیزیولوژی	سرم فیزیولوژی
B	کتیرا حامل استامینوفن	سرم فیزیولوژی
C	استامینوفن ۵۰۰ mg/kg	سرم فیزیولوژی
D	استامینوفن ۵۰۰ mg/kg	عصاره ویتس‌وینی‌فرا ۱۶۰ mg/kg
E	استامینوفن ۵۰۰ mg/kg	عصاره ویتس‌وینی‌فرا ۱۸۰ mg/kg
F	استامینوفن ۵۰۰ mg/kg	عصاره ویتس‌وینی‌فرا ۲۰۰ mg/kg
G	استامینوفن ۵۰۰ mg/kg	عصاره ویتس‌وینی‌فرا ۲۲۰ mg/kg
H	استامینوفن ۵۰۰ mg/kg	عصاره ویتس‌وینی‌فرا ۲۴۰ mg/kg
I	استامینوفن ۵۰۰ mg/kg	عصاره ویتس‌وینی‌فرا ۲۶۰ mg/kg

به منظور بررسی و مقایسه میزان اثر محافظت کبدی هر یک از دوزهای مورد استفاده و تعیین مؤثرترین آنها پس از جمع‌آوری نتایج و بدست آوردن میانگین‌ها، توزیع نرمال و خطای استاندارد از آزمون از آنالیز واریانس برای مقایسه گروه‌ها استفاده شد از این آزمایش برای تشخیص نمودن معنی‌دار بودن یا نبودن اختلافات استفاده شد (تست توکی).

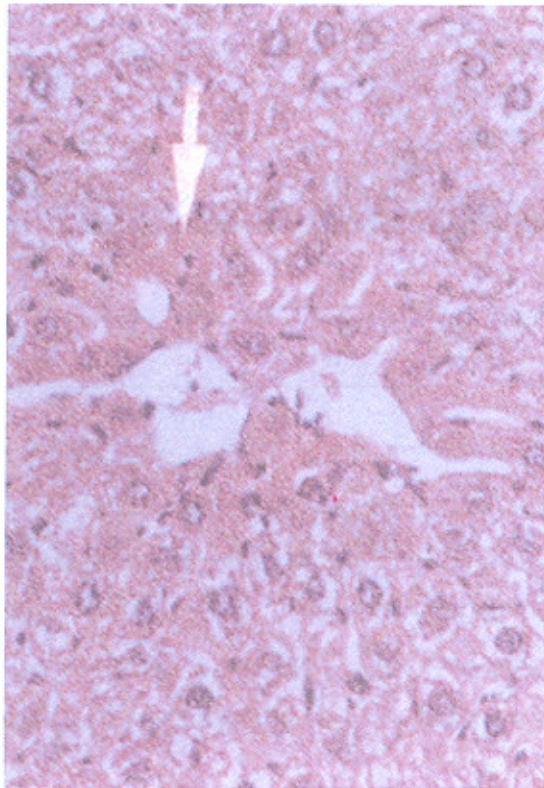
یافته‌ها

برای اثبات اثر عصاره ویتس‌وینی‌فرا سه فاکتور هیستوپاتولوژیک، خواب و فعالیت آنزیم‌های ترانس آمینازهای کبد مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده از

نکروز، تغییرات چربی و آسیب‌های کبدی می‌گردد که در اثر مسمومیت کبد زمان خواب نیز افزایش می‌یابد که احتمالاً مربوط به اختلالات آنزیمی است. استامینوفن در کبد متابولیزه شده و در اثر متابولیسم آن متابولیت سمی بوجود می‌آید که با کاهش ذخائر گلیکولایپون کبدی همراه است و این متابولیت سمی باعث ایجاد ضایعات کبدی می‌شود. از زمان‌های گذشته عصاره گیاهان به منظور درمان بیماری‌های کبدی استفاده می‌شده است که در این میان عصاره وتیس‌وینی‌فرا از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. این افزایش در فعالیت آنزیم‌های ALT و AST ناشی از دوز بیش از حد استامینوفن را می‌توان اینگونه توجیه کرد که آسیب هپاتوسیت‌ها با صدمه دیدن غشاء پلاسمایی سلول‌ها همراه می‌باشد، در نتیجه باعث آزاد شدن ALT و AST به درون



نمای میکروسکوپی ۲- مقطع کبد موش سفید بعد از تجویز استامینوفن با دوز ۵۰۰ mg/kg، بزرگنمایی (۴۰×)



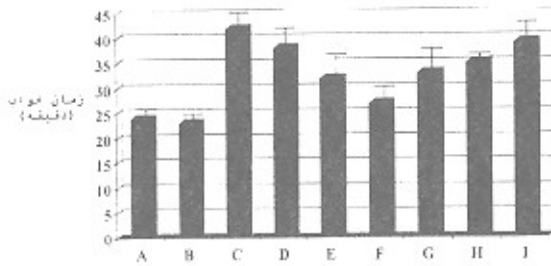
نمای میکروسکوپی ۳- مقطع کبد در موش سفید بعد از تجویز ۲۰۰ mg/kg وتیس‌وینی‌فرا، بزرگنمایی (۴۰×)

نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم AST روی نمودار ۱ نشان داده شده است، همانگونه که مشاهده می‌گردد و فعالیت این آنزیم در گروهی که عصاره وتیس‌وینی‌فرا در دوز ۲۰۰ mg/kg دریافت کردند، نسبت به گروه کنترل مثبت به حد نرمال نزدیکتر است و نشانگر اثر محافظتی عصاره را می‌رساند، همچنین در ارتباط با آنزیم ALT نیز عصاره وتیس‌وینی‌فرا در دوز ۲۰۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل مثبت اثر محافظتی داشته است که در نمودار ۲ بخوبی نشان داده شده است. زمان خواب در گروهی که ۲۰۰ mg/kg وتیس‌وینی‌فرا دریافت کرده بودند نیز نسبت به گروه کنترل مثبت کمتر بوده که این نیز دال بر اثر محافظتی عصاره می‌باشد (نمودار ۳).

بحث

سرم می‌شود، بنابراین افزایش این دو آنزیم معیار مناسبی برای ارزیابی میزان آسیب کبدی به شمار می‌آید (۱۰،۱۱).

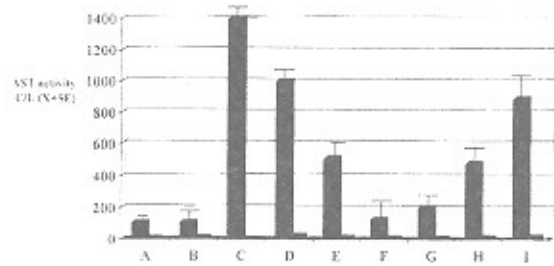
استامینوفن در دوز سمی باعث سمیت کبدی شده و سبب افزایش فعالیت ALT و AST می‌شود. همچنین ایجاد



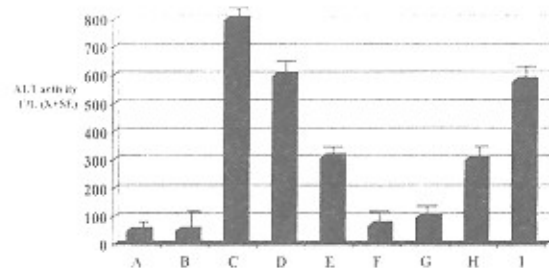
نمودار شماره ۳- مقایسه میانگین زمان خواب در گروه‌های مورد مطالعه A: سرم فیزیولوژی B: کنیرا C: استامینوفن ۵۰۰ mg/kg D: عصاره وتیس‌وینی فرا ۱۶۰ mg/kg E: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۰۰ mg/kg F: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۴۰ mg/kg G: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۲۰ mg/kg H: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۶۰ mg/kg و I: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۶۰ mg/kg

بررسی اثر محافظتی عصاره وتیس‌وینی فرا در سمیت

کبدی ایجاد شده بوسیله استامینوفن با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایشات عملکرد کبد تغییرات فعالیت آنزیم‌های فعالیت آنزیم‌های AST و ALT و طولانی شدن زمان خواب جلوگیری کرده تا حدودی تغییرات چربی را کاهش داده‌اند، تورم هیاتوسیت‌ها را نسبت به گروه مسموم کمتر نموده بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اثر محافظتی داشته است، احتمال دارد یکی از مکانیسم‌های حفاظتی این گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن بوده و مانع فعالیت رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط سیستم سیتوکروم p-450 می‌شود یا اینکه باعث افزایش ذخایر گلوکوتائین احیاء در کبد می‌شود (۱۲). احتمال می‌رود که یا از پراکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری کرده یا اینکه به نوسازی غشای سلولی و ترمیم و بازسازی کبد کمک می‌کند (۱۳، ۱۴، ۱۵).



نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین فعالیت AST در گروه‌های مورد مطالعه A: سرم فیزیولوژی B: کنیرا C: استامینوفن ۵۰۰ mg/kg D: عصاره وتیس‌وینی فرا ۱۶۰ mg/kg E: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۰۰ mg/kg F: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۴۰ mg/kg G: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۲۰ mg/kg H: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۶۰ mg/kg و I: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۶۰ mg/kg



نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین فعالیت ALT در گروه‌های مورد مطالعه A: سرم فیزیولوژی B: کنیرا C: استامینوفن ۵۰۰ mg/kg D: عصاره وتیس‌وینی فرا ۱۶۰ mg/kg E: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۰۰ mg/kg F: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۴۰ mg/kg G: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۲۰ mg/kg H: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۶۰ mg/kg و I: عصاره وتیس‌وینی فرا ۲۶۰ mg/kg

بررسی اثر محافظتی عصاره وتیس‌وینی فرا در سمیت

کبدی ایجاد شده بوسیله استامینوفن با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایشات عملکرد کبد تغییرات فعالیت آنزیم‌های

منابع

1. Willson JD. Harrison's, Principles of internal medicine 13 th edition McGraw-Hill/Inc 1994; P: 1333-1339.
2. Ali HM. Paracetamol bioavailability from an elixir, suspension and new alcohol free liquid dosage form in human. *Int J Pharm* 1988; 42: 155-159.
3. Thummel KE, Slauery JT, Nelson SD. Mechanism by which ethanol diminishes the hepatotoxicity of acetaminophen. *J Pharmacol Exp* 1988; 36: 129-254.
4. Goodman and Gilman's A. Pharmacological basis of therapeutics 9 th edition. McGraw-Hill New York 1996; P: 631-632.
5. Hayes WA. Principle and methods of toxicology, second edition raves press New York 1989; P: 514.
6. Sherlac S. Diseases of the liver and biliary system 8th edition black well scientific. Oxford 1989; P: 1-12.
7. Potterton D, Shellard FEJ. Culpeper colour herbal ed. By Foulsham and company limited 1983.
8. Kalantari H, Arzi A, Haghparast M. Application of Iranian medicinal plants in liver injury *Korean Journal of Toxicology* 1997; 13(3).
9. Kalantari H, Jfari M. The curative effect of propylene glycol against liver toxicity induced by acetaminophen. *Scientific Medical Journal of Ahwaz Medical University* 2000, No. 28.
10. Bishayee M. Stimulation of hepatic protein synthesis in response to milania grodat a root extract in carbontetrachloride induced hepato toxicity in mice. *J Biochem* 1992; 40: 345-351.
11. Janbaze K. Protective and curative effects of *Artemisia absithium* on acetaminophen and carbontetrachloride induced hepato toxicity. *Gen Pharmac* 1995; 2: 309-315.
12. Scottluper ND. A review of plants used in the treatment of liver disease. *Altern Med* 1998; 3(6): 410-421.
13. Kuhn H, Merrilly A, Winston D. Herbal therapy and supplements a scientific and traditional approach hppencon Philadelphia 2000 ; P: 228-231.
14. Blumenthal A, Goldberg W. Herbal Medicine Expanded commission E Monographs IMC Montana 2000; P: 257-262.
15. Grange I, Reyes E. Hepato protective of *Silibum Marianum* *Fitoterapia* 1996; 67(2): 166-171.