مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال۶۲، شماره ۶ ، صفحات ۴۷۵ تا ۴۸۰ ، (۱۳۸۳)

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 mg/kg ۲۰۰ 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.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-11]

مقدمه

کبد از بزرگترین غدد داخلی بدن می‌باشد که داروها، مواد شیمیایی، مواد سمی، ویروس‌ها و انگل‌ها می‌توانند صدمات شدیدی به آن وارد کنند که در بسیاری از موارد مکانیسم بیماری‌زایی مشخص نیست بنابراین برای هر یک از اختلالات کبدی اسامی مختلفی وجود دارد و نقش کبد در سم‌زایی، سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، ذخیره گلیکوژن و بعضی از املاح و ویتامین‌ها بخوبی شناخته شده است (۱).

استامینوفن جزء دسته دارویی ضددرد و از مشتقات پارا‌آمینوفنل می‌باشد که جانشین مناسبی برای آسپرین در درمان سردرد، دردهای عضلانی خفیف تا متوسط، درد مفاصل، تب، درد بعد از جراحی، دردهای بعد از زایمان و دردهای ناشی از سرطان می‌باشد. این دارو بطور وسیع و گسترده‌ای مورد استفاده عموم قرار می‌گیرد که در اثر مصرف طولانی مدت و در دوز بالا باعث سمیت کبدی می‌شود (۲،۳،۴).

جهت تشخیص سمیت کبدی ایجاد شده توسط استامینوفن اندازه‌گیری سطح خونی آنزیم‌های درون سلولی کبد ضروری است- که از میان آنها گلوتامات پیروات ترانس‌آمیناز (SGPT) یا آلانین‌ترانس‌آمیناز (ALT) که از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. گلوتامات اگزالواستات ترانسفراز (SGOT) یا اسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در تمامی سلول‌های بدن بخصوص سلول‌های قلب، کبد، عضله اسکلتی و کلیه وجود دارد و هنگامی که این بافت‌ها تحت شرایط بخصوص صدمه و آسیب ببینند از سلول‌های آسیب دیده آزاد شده و غلظت آن در خون افزایش پیدا می‌کند که اندازه‌گیری این آنزیم‌ها به عنوان شاخصی جهت تشخیص آسیب کبدی بکار می‌رود (۵،۶).

گیاه وتیس‌وینی‌فرا گونه‌ای 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 اثر عصاره وتیس‌وینی‌فرا در سمتی کبدی ناشی از دوز سمی استامینوفن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

گیاه وتیس وینی‌فرا، 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 جمع‌آوری گیاه وتیس‌وینی‌فرا 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 mg/kg ۲۶۰، ۲۴، ۲۲، ۲۰۰، ۱۸۰، ۱۶۰ به عنوان داروی محافظ کبدی مورد استفاده قرار گرفت (۸،۹).

براساس وزن موش سفید (نژاد آلبینو) به هر یک حجم ml ۰/۲ از عصاره از راه خوراکی با استفاده از کاتاتر 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 mg/kg ۲۵ هگزوباربیتال سدیم داخل صفاق به تمام گروه‌ها، زمان خواب محاسبه شد (زمان شروع، زمان بیداری) و سپس خون داخل لوله‌های دوکی شکل شیشه‌ای جمع‌آوری شد. پس از نیم ساعت بوسیله سواپ چوبی محل تماس شیشه با رشته‌های فیبرین ناشی از لخته شدن خون را قطع نموده تا دسترسی به سرم حاصله بعد از سانتریفیوژ راحت‌تر امکان‌پذیر باشد. پس از آن لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس سرم را توسط سمپلر ۱۰۰ میکرولیتری خارج و به لوله‌های آزمایش پلی‌اتیلن مخصوص نگهداری سرم منتقل گردید و اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-11]

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.

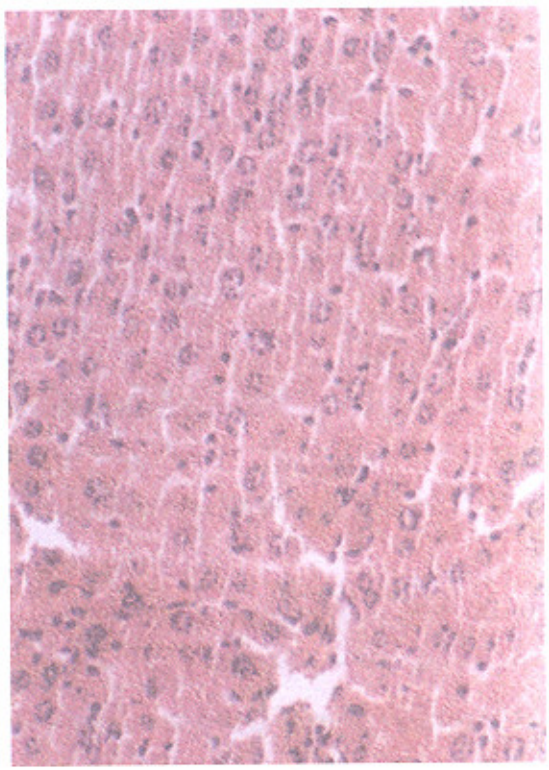
جدول شماره ۱- مقدار و زمان تجویز عصاره و استامینوفن در گروه‌های مختلف

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

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

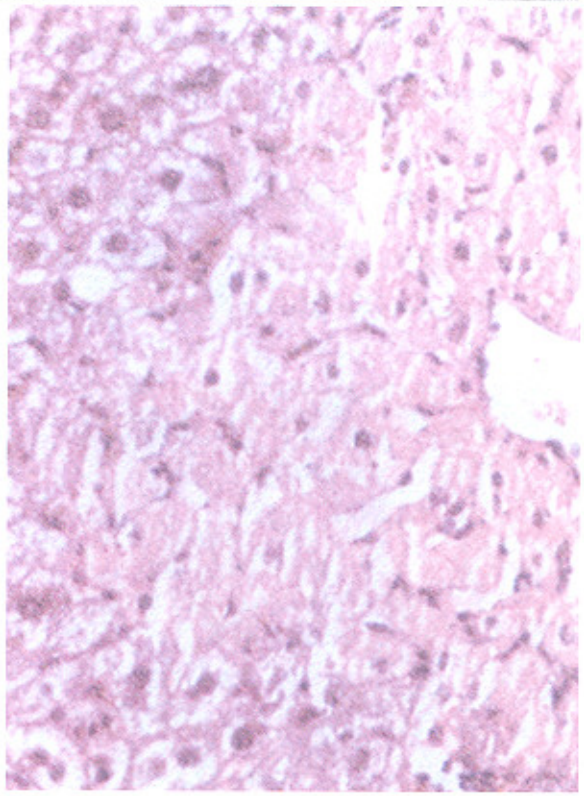
برای اثبات اثر عصاره ویتس‌وینی‌فرا سه فاکتور هیستوپاتولوژیزما، خواب و فعالیت آنزیم‌های ترانس آمینازهای کبد مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده از بررسی و مطالعات هیستوپاتولوژی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین نشان دادند که گروه کنترل منفی (نرمال) سلول‌های کبدی دارای هسته و سیتوپلاسم طبیعی می‌باشند. سینوزوییدها 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 (×۴۰)

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).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-11]

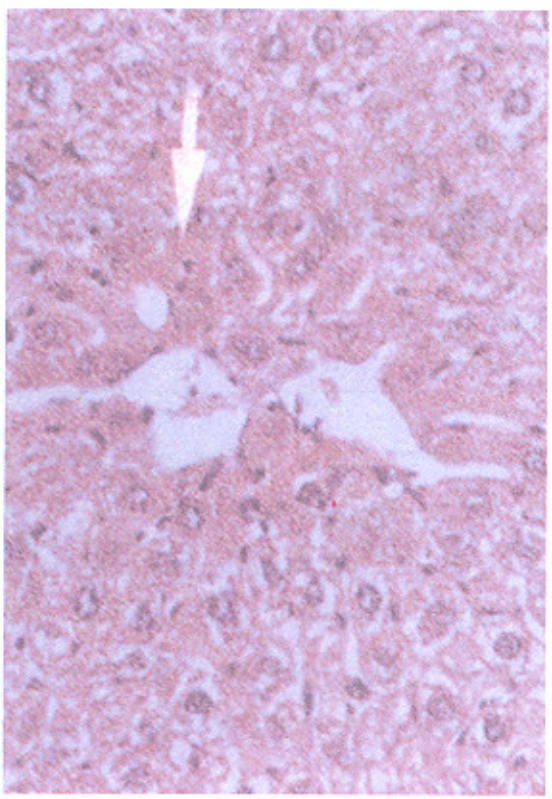


نمای میکروسکوپی ۲- مقطع کبد موش سفید بعد از تجویز استامینوفن با دوز mg/kg ۵۰۰، بزرگنمایی (×۴۰)

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 mg/kg ۲۰۰ 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 mg/kg ۲۰۰ نسبت به گروه کنترل مثبت اثر محافظتی داشته است که در نمودار ۲ بخوبی نشان داده شده است. زمان خواب در گروهی که mg/kg ۲۰۰ وتیس‌وینی‌فرا دریافت کرده بودند نیز نسبت به گروه کنترل مثبت کمتر بوده که این نیز دال بر اثر محافظتی عصاره می‌باشد (نمودار ۳).

بحث

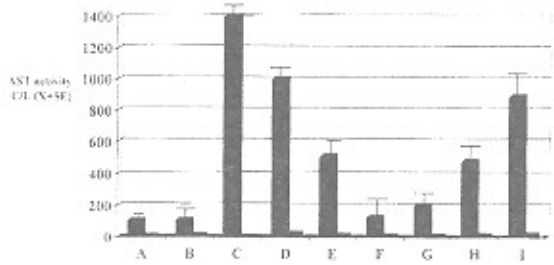
استامینوفن در دوز سمی باعث سمیت کبدی شده و سبب افزایش فعالیت AST و ALT می‌شود. همچنین ایجاد نکروز، تغییرات چربی و آسیب‌های کبدی می‌گردد که در اثر مسمومیت کبد زمان خواب نیز افزایش می‌یابد که احتمالاً مربوط به اختلالات آنزیمی است. استامینوفن در کبد متابولیزه شده و در اثر متابولیسم آن متابولیت سمی بوجود می‌آید که با کاهش ذخائر گلوتاتیون 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



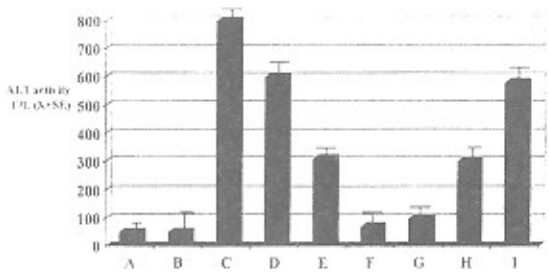
نمای میکروسکوپی ۳- مقطع کبد در موش سفید بعد از تجویز mg/kg ۲۰۰ وتیس‌وینی‌فرا، بزرگنمایی (×۴۰)

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

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-11]

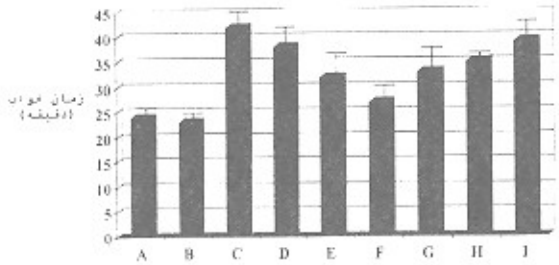


نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین فعالیت AST در گروه‌های مورد مطالعه A: سرم فیزیولوژی B: کنیرا C: استامینوفن ۵۰۰ mg/kg D: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۱۶۰ mg/kg E: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۱۸۰ mg/kg F: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۰۰ mg/kg G: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۲۰ mg/kg H: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۴۰ mg/kg و I: عصاره وتیس‌وینی‌فرا 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 وتیس‌وینی‌فرا ۱۶۰ mg/kg E: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۱۸۰ mg/kg F: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۰۰ mg/kg G: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۲۰ mg/kg H: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۴۰ mg/kg و I: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۶۰ mg/kg

بررسی اثر محافظتی عصاره وتیس‌وینی‌فرا در سمیت کبدی ایجاد شده بوسیله استامینوفن با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایشات عملکرد کبد تغییرات فعالیت آنزیم‌های



نمودار شماره ۳- مقایسه میانگین زمان خواب در گروه‌های مورد مطالعه A: سرم فیزیولوژی B: کنیرا C: استامینوفن ۵۰۰ mg/kg D: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۱۶۰ mg/kg E: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۱۸۰ mg/kg F: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۰۰ mg/kg G: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۲۰ mg/kg H: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۴۰ mg/kg و I: عصاره وتیس‌وینی‌فرا ۲۶۰ mg/kg

بررسی اثر محافظتی عصاره وتیس‌وینی‌فرا 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 هپاتوسیت‌ها 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 گلوتاتیون 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).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-11]

منابع

1. Willson JD. Harrisons, Principles of internal medicine 13 th edition McGrow-Hill/Inc 1994; P: 1333-1339.

2. Ali HM. Paracetamole 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 Gilmans 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 bilary 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.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-11]