

اثر سایمتیدین بر آسیب های حاصل از تتراکلرید کربن در کبد

معصومه احمدی زاده^{1*}، فریبا امیر غلامی^{**}

چکیده

مقدمه: سایمتیدین جهت درمان سوزش معده، زخم معده و زخم اثنی عشر مصرف گسترده بالینی دارد. این دارو موجب مهار فعالیت آنزیم های سیتوکروم p450 می شود. کربن تتراکلراید (CCl₄) بعنوان حلال، پاک کننده و ماده شیمیائی بینابینی در صنایع کاربرد دارد. این ترکیب بصورت فرم اصلی (parent chemical) موجب تضعیف سیستم عصبی می شود. تحت تاثیر آنزیم های سیتوکروم p450 به محصولات سمی واکنشگر تری کلرومتیل (CCl₃) و باعث آسیب در ارگان های مختلف بدن می شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر سایمتیدین بر آسیب های حاصل از CCl₄ در کبد می باشد.

روش بررسی: به گروهی از موش های صحرایی نر بالغ سایمتیدین در دوز 120 میلی گرم برای هر کیلوگرم و به گروه کنترل حلال سایمتیدین داده شد. 12 ساعت بعد حیوانات کربن تتراکلراید در دوزهای 2 mg/kg، 1/5، 1، 0/5 و گروه کنترل حلال کربن تتراکلراید از طریق تزریق داخل صفاقی دریافت نمودند. 24 ساعت بعد حیوانات با اور دوز سدیم پنتو باربیتال کشته و از خون حیوانات جهت اندازه گیری آنزیم های کبدی شامل آسپاراتات آمینوترانس آمیناز (AST⁻)، آلانین آمینو ترانس آمیناز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) استفاده گردید. بافت های کبد جدا و در فرمالین 10 درصد تثبیت و پس از انجام مراحل تهیه بافت و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین با استفاده از میکروسکپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: کربن تتراکلراید بصورت وابسته به دوز موجب افزایش آنزیم های کبدی و آسیب در سلول های کبد گردیده است. سایمتیدین موجب کاهش هپاتوتوکسیسیتی حاصل از این ترکیب گردیده است.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاصل از مطالعات بیوشیمیائی و هستیوپاتولوژی این تحقیق مشخص شد که سایمتیدین از طریق کاهش زیست دگرگونی CCl₄ موجب کاهش هپاتوتوکسیستی گردیده است. اگرچه سایمتیدین از تولید رادیکال های آزاد حاصل از CCl₄ جلوگیری نموده است، ولی از آنجا که فرم اصلی CCl₄ نیز سمی می باشد بنابراین در حضور سایمتیدین بنظر می رسد آثار سمی حاصل از فرم اصلی CCl₄ در مقایسه با محصولات واکنشگر سمی آن بیشتر می باشد.

ف ع ب 1389؛(1):9-1

کلمات کلیدی: سایمتیدین، تتراکلرید کربن، کبد، موش صحرایی.

* استاد، دانشکده بهداشت، گروه بهداشت حرفه ای، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

** دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

1-نویسنده مسوول

مقدمه

حلال های آلی به صورت گسترده در صنایع مختلف کار برد دارند. این ترکیبات از راه های مختلف وارد بدن شده و با توجه به قدرت حلالیت آنها در چربی از سد خونی مغزی عبور نموده و موجب تضعیف سیستم اعصاب مرکزی می شوند. از طرف دیگر این ترکیبات عمدتاً تحت تاثیر آنزیم های سیتوکروم p450 زیست دگرگونی می یابند. محصولات حاصل از متابولیسم آنها موجب آسیب در اورگان های مختلف بدن می شوند (3-1). تتراکلرید کربن (CCl4) در صنایع مختلف به صورت گسترده مصرف می شود. این ماده باعث انحطاط سیستم اعصاب مرکزی اختلال حواس و گاهی همراه با عوارض دیگری چون گیجی، سردرد، افسردگی و ضعف روانی می باشد. مطالعات انجام شده نشان داده است کبد یکی از اورگان های هدف برای این ماده می باشد (8-4). سایمتیدین با نام تجاری تاگامت برای درمان زخم معده مصرف بالینی دارد. این دارو در کبد تحت تاثیر آنزیم های سیتوکروم p450 متابولیز می شود. مطالعات نشان داده این ترکیب موجب مهار آنزیم های سیتوکروم p450 در کبد می گردد (10). گزارش شده است سایمتیدین به سیتوکروم p450 اتصال می یابد و در نتیجه باعث عدم فعالیت NADP و سیتوکروم C ردوکتاز می شود (10). مهار آنزیم های میکروزومال کبدی توسط سایمتیدین موجب تداخل دارویی می شود، زیرا بسیاری از داروها تحت تاثیر آنزیم های میکروزومال کبدی قرار می گیرند و در نتیجه سایمتیدین ممکن است باعث تغییر در آثار فارماکولوژیکی داروها گردد (11-10). اگرچه مطالعات گسترده در زمینه تداخل دارویی انجام گردیده ولی تداخل دارو و ترکیباتی که در صنایع و کارخانجات افراد در معرض آنها قرار می گیرند به صورت بسیار محدود مورد بررسی قرار گرفته است (9). به منظور بهتر شناسایی آثار داروها در افرادی که در معرض ترکیبات شیمیایی در محیط کار قرار می گیرند، هدف از این مطالعه اثر سایمتیدین بر آثار سمی تتراکلرید کربن در کبد می باشد.

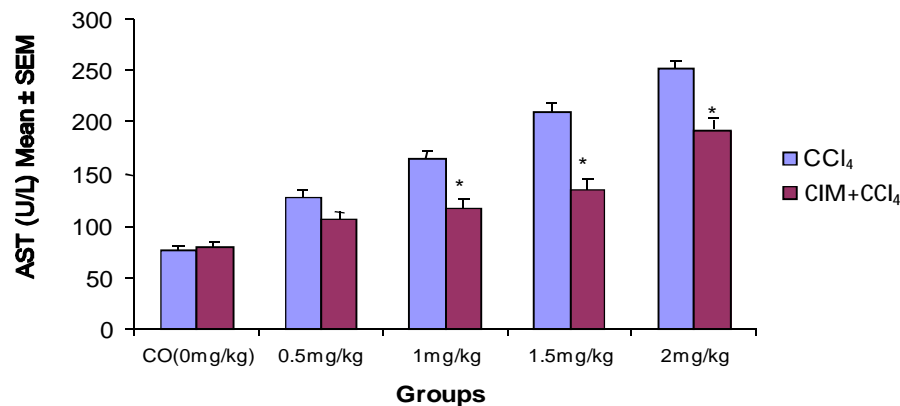
روش بررسی

برای انجام این تحقیق از موش صحرانی نر بالغ نژاد Wistar در محدوده وزنی 250-300-250 گرم بعنوان مدل حیوانی استفاده شد. حیوانات از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در قفس های اسنانه در مرکز حیوانات نگهداری گردیدند. دمای اطاق حیوانات در محدوده 20 ± 2 درجه سانتیگراد و حیوانات در شرایط 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی نگهداری و از غذای فشرده مخصوص جوندگان و آب تصفیه شده لوله کشی شهر تغذیه شدند. سایمتیدین در دوز 120 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به گروه کنترل حلال سایمتیدین از طریق تزریق داخل صفاقی به حیوانات داده شد (9). 12 ساعت بعد حیوانات تتراکلرید کربن در دوزهای 1/5، 1، 1/5، 0/5 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و یا حلال آن از طریق تزریق داخل صفاقی داده شد. 24 ساعت بعد حیوانات از طریق اور دوز با سدیم ینتوباربیتال کشته. از خون حیوانات جهت انجام آزمایش های بیوشیمیایی آسپارتات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase, AST)، آلانین آمینوترانسفراز (alanine, ALT alkaline phosphatase, ALP) و آلکالین فسفاتاز (ALP) استفاده گردید. بافت های کبد جدا و در فرمالین ده در صد فیکس گردید. پس از رنگ آمیزی با همتوکسیلین و ائوزین با استفاده از میکروسکپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. از هر بافت حداقل 5 لام میکروسکپی با فاصله 15 میکرون از یکدیگر تهیه و مورد بررسی قرار داده شد. نتایج آزمایشات بیوشیمیایی با استفاده از روش آنالیز واریانس آنالیز (ANOVA) با طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته است. تفاوت میان زوج میانگین های مورد نظر از طریق آزمون توکی با در نظر گرفتن ($p < 0.05$) مشخص گردید.

کاهش قدرت رنگ پذیری و ایجاد واکنش ملاحظه گردید (تصاویر 3-4). سایمتدین در دوز غیر سمی (9) موجب تغییر در آنزیم های کبدی ننموده و میزان آنزیم های کبدی مشابه گروه کنترل ملاحظه گردید. از نظر هیستوپاتولوژی نیز بافت کبد به صورت دست نخورده و فاقد آسیب سلولی ملاحظه گردید. سایمتدین موجب کاهش میزان آنزیم های AST, ALT, ALP و باعث کاهش آسیب های سلولی حاصل از تتراکلرید کربن گردیده است.

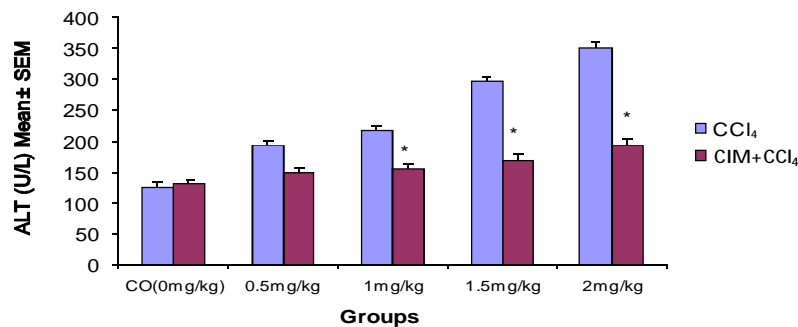
یافته ها

تتراکلرید کربن به صورت وابسته به دوز، موجب افزایش آنزیم های کبدی از جمله آسپارتیت آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسیب در سلول های کبد گردیده است. از نظر هیستوپاتولوژیکی آسیب سلولی عمدتاً در قسمت اطراف ورید مرکزی ملاحظه گردید (تصاویر 1-3). آسیب سلولی به صورت تورم سیتوپلاسم و هسته،



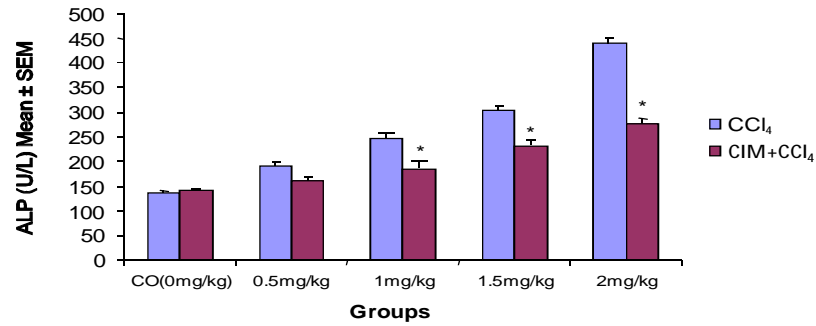
تصویر 1: مقایسه گروه دریافت کننده سایمتدین (120mg/kg) و تتراکلرید کربن (دوزهای مختلف) و حیوانات دریافت کننده حلال سایمتدین و تتراکلرید کربن (دوزهای مختلف) در میزان AST خون موش صحرایی. تعداد حیوانات هر گروه 10 سر است

*تفاوت با گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن (دوزهای مختلف) ($P < 0.05$).



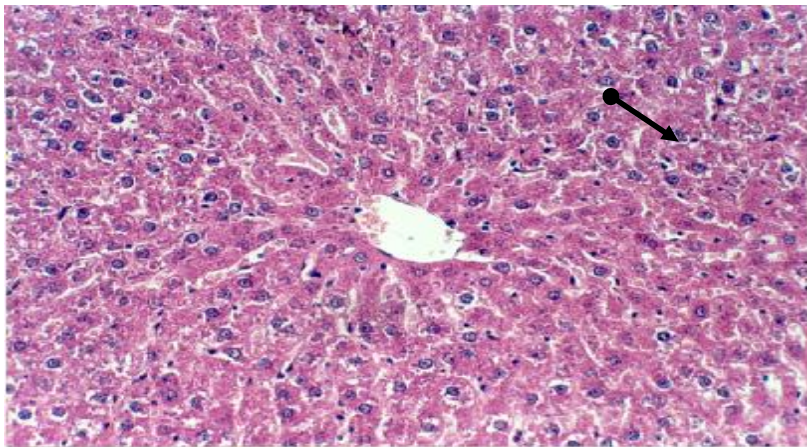
تصویر 2: مقایسه گروه دریافت کننده سایمتدین (129mg/kg) و تتراکلرید کربن (دوزهای مختلف) و حیوانات دریافت کننده حلال سایمتدین و تتراکلرید کربن (دوزهای مختلف) در میزان ALT خون موش صحرایی. تعداد حیوانات هر گروه 10 سر است

*تفاوت با گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن (دوزهای مختلف) ($P < 0.05$).

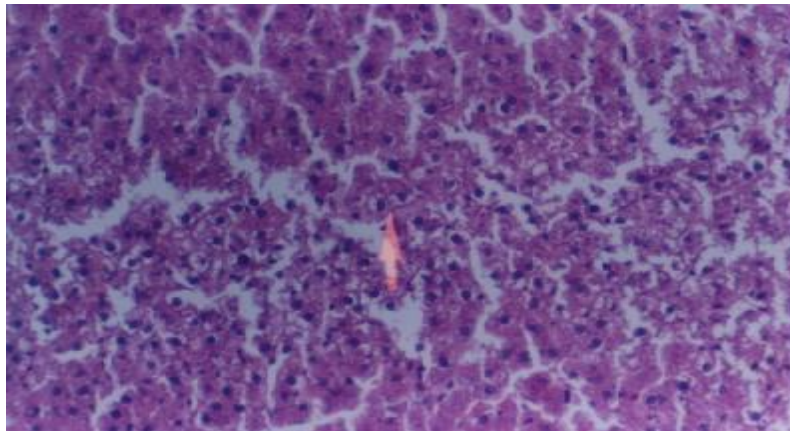


تصویر 3: مقایسه گروه دریافت کننده سایمتیدین (120mg/kg) و تتراکلرید کربن (دوزهای مختلف) و حیوانات دریافت کننده حلال سایمتیدین و تتراکلرید کربن (دوزهای مختلف) در میزان ALP خون موش صحرائی. تعداد حیوانات هر گروه 10 سر است

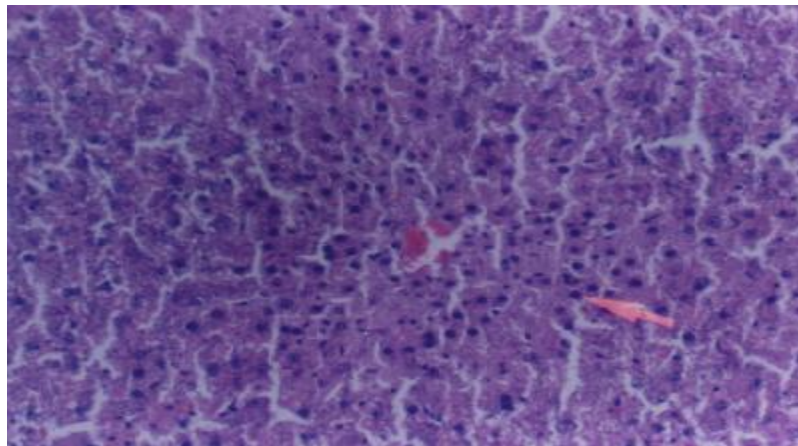
* تفاوت با گروه دریافت کننده تتراکلرید کربن (دوزهای مختلف) ($P < 0.05$).



تصویر 4: بافت کبد گروه کنترل دریافت کننده روغن ذرت (حلال تتراکلرید کربن). سلول های کبد (پیکان) بصورت دست نخورده و فاقد آسیب سلولی می باشند (H & E x200)



تصویر 5: بافت کبد از گروه حیوانات دریافت کننده تتراکلرید کربن (2mg/kg). آسیب سلولی شامل تورم سیتوبلاسم و هسته، ایجاد واکوئل و کاهش قدرت رنگ پذیری (پیکان) در سلول های کبده ملاحظه می گردد (H &E x200)



تصویر 6: بافت کبد از گروه حیوانات دریافت کننده سایمتیدین و تتراکلرید کربن (2mg/kg). آسیب سلولی در مقایسه با حیواناتی که فقط تتراکلرید کربن (2mg/kg) دریافت نموده (تصویر 5) در سلول های کبد (پیکان) کمتر ملاحظه می شود (H &E x200).

بحث و نتیجه گیری

در ارگان های مختلف انسان و حیوانات ایجاد می نماید. کبد یکی از ارگان های اصلی بدن می باشد که تحت تاثیر آثار مخرب CCl_4 قرار میگیرند. نتایج این تحقیق نشان داد تزریق داخل صفاقی CCl_4 موجب افزایش آنزیم های کبدی از جمله ALT, ALP, AST می گردد. از نظر

تتراکلرید کربن یک ماده شیمیایی صنعتی است که مصرف وسیعی به عنوان حلالهای صنعتی، مواد پاک کننده روغن و مواد تمیز کننده یافته است و از عوامل ایجاد کننده ی مسمومیت کبدی است.(1). مطالعات نشان داده اند این ترکیب آثار نامطلوب قابل ملاحظه ای

عمدتا در اطراف ورید مرکزی بیشترین فعالیت را دارند (13). بنابراین آسیب سلولی حاصل از تتراکلرید کربن کبد به علت زیست گرگو نی توسط آنزیم های سیتوکروم p450 ایجاد می گردد. مطالعات نشان داده سایمتیدین باعث مهار آنزیم های سیتوکروم p450 از طریق اتصال با سیتوکروم p450 و وقفه در فعالیت NADP و سیتوکروم ردوکتاز می شود. مهار آنزیم های سیتوکروم p450 موجب تداخل داروئی می شود. بسیاری از زینوبیوتیک ها از جمله دارو ها و بیشتر ترکیبات شیمیائی که در صنایع کاربرد دارند تحت تاثیر این گروه از آنزیم ها قرار می گیرند. گزارشات وسیعی در زمینه تداخل داروئی ارائه گردیده است. سایمتیدین موجب تغییر در آثار فارماکولوژیکی بسیاری از ترکیبات داروئی از جمله سیکلوفسفامید، دکسترومتورفان، تئوفیلین، دیازپام، نیفیدپین می شود (14-16). تداخل سایر زینوبیوتیک ها به صورت محدود مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعات نشان داده سایمتیدین موجب کاهش آثار سمی حاصل از تری کلرواتیلن و الکل گردیده است (17-19). نتایج تحقیق ما نشان داده سایمتیدین موجب کاهش آثار نامطلوب تتراکلرید کربن گردیده است. بنابراین به نظر می رسد در حضور ترکیبات وقفه دهنده های آنزیم های میکروزومال کبدی زیست دگرگونی تتراکلرید کربن کاهش می یابد. در نتیجه آثار سمی حاصل از ترکیبات واسطه ائی سمی کمتر ملاحظه می شود. در حالیکه فرم اصلی به علت کاهش زیست دگرگونی موجب تضعیف بیشتر سیستم اعصاب مرکزی می شود. بنابراین با توجه به ژیشرف صنعت و افزایش بیماری های ناشی از کار نیاز به مطالعه بیشتر در زمینه تداخل زینوبیوتیک ها به خصوص داروها و آلاینده های صنعتی بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

هیستوپاتولوژی آسیب سلولی در سلول های هیپاتوسیت در موشهای صحرائی دریافت کننده تتراکلرید کربن بصورت وابسته به دوز مشاهده گردید. مطالعات گسترده در این زمینه نشان داده هیپاتوتوکسیسیتی حاصله از CCl_4 بعلت ایجاد پر اکسیداسیون اسید های چرب غیر اشباع در کبد موش صحرائی می باشد (4-8). سایمتیدین بعنوان وقفه دهنده آنزیم های سیتوکروم P450 باعث تداخل داروئی با دیگر داروئی می شود که تحت تاثیر آنزیم های میکروزومال زیست دگرگونی می یابند (9-12). نتایج تحقیق ما نشان داده سایمتیدین در دوز 120 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن آثار نامطلوبی بر روی آنزیم های کبدی ایجاد نموده و میزان آنزیم های کبدی مشابه گروه کنترل ملاحظه گردید. این نتایج با مطالعات گزارش شده توسط Landriault و همکاران همخوانی (9) دارد. تتراکلرید کربن به عنوان حلال در صنایع مختلف کار برد دارد. تتراکلرید کربن ترکیبی با ساختمان ساده است. این ترکیب از طریق آنزیم های سیتوکروم p450 زیست دگرگونی می یابد و تبدیل به ترکیب واسطه ای سمی تری کلرومتیل می شود. فرم اصلی این ترکیب عمدتا موجب تضعیف سیستم اعصاب مرکزی و فرم حاصل از زیست دگرگونی (تری کلرومتیل) از طریق پراکسیداسیون اسید های چرب غیر اشباع و یا اتصالات کوالانتهی و یا با هردو مکانیزم موجب آسیب در اورگان های مختلف بدن می شوند (5). تتراکلرید کربن به صورت وابسته به دوز افزایش آنزیم های کبدی از جمله آسپارتیت آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسیب در سلول های کبد گردیده است. از نظر هیستوپاتولوژیکی آسیب سلولی عمدتا در قسمت اطراف ورید مرکزی ملاحظه گردید. با توجه به اینکه آنزیم های سیتوکروم p450

منابع

- 1-Jayakumar T, Sakthivel M, Thomas PA, Geraldine P. Pleurotus ostreatus, an oyster mushroom, decreases the oxidative stress induced by carbon tetrachloride in rat kidneys, heart and brain . Chem Biol Interact.2008;25;176(2-3): 108-20.
- 2-Szymonik-Lesiuk S, Czechowska G, Stryjecka-Zimmer M, Stomka M, Madro A, Celinski K, Wielosz M. Catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. J Hepatobiliary Pancreat Surg 2003; 10 (4):309-15

- 3-Zeashan H, Amresh G, Singh S, Rao CV. Hepatoprotective and antioxidant activity of *Amaranthus spinosus* against CCl₄ induced toxicity. *J Ethnopharmacol.* 2009 ;125(2):364-6.
- 4-Murugesan GS, Sathishkumar M, Jayabalan R, Binupriya AR, Swaminathan K, Yun SE. Hepatoprotective and curative properties of Kombucha tea against carbon tetrachloride-induced toxicity. *J Microbiol Biotechnol.* 2009 (4):397-402.
- 5-Mohammadi M, Yazdanparast R. Methoxy VO-salen complex: in vitro antioxidant activity, cytotoxicity evaluation and protective effect on CCl₄-induced oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(4):716-21.
- 6- El BK, Hashimoto Y, Muzandu K, Ikenaka Y, Ibrahim ZS, Kazusaka A, Fujita S, Ishizuka M. Protective effect of *Pleurotus cornucopiae* mushroom extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Jpn J Vet Res.* 2009 Aug;57(2):109-18.
- 7-Meera R, Devi P, Kameswari B, Madhumitha B, Merlin NJ. Antioxidant and hepatoprotective activities of *Ocimum basilicum* Linn. and *Trigonella foenum-graecum* Linn. against H₂O₂ and CCl₄ induced hepatotoxicity in goat liver. *Indian J Exp Biol.* 2009 Jul;47(7):584-90.
- 8-Mochizuki M, Shimizu S, Urasoko Y, Umeshita K, Kamata T, Kitazawa T, Nakamura D, Nishihata Y, Ohishi T, Edamoto H. Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in pregnant and lactating rats. *J Toxicol Sci.* 2009;34(2):175-81.
- 9-Landriault H, Sirois G, Chakrabarti S, Cote MG. Effect of cimetidine on hepatic biochemical changes, liver toxicity and major urinary metabolite excretion of trichloroethylene in rats. *J Appl Toxicol.* 1989;9(2):75-81.
- 10-Pelkonen O, Puurunen J. The effect of cimetidine on *in vitro* and *in vivo* microsomal drug metabolism in the rat *Biochemical Pharmacology*,1980;29(22) : 3075-80
- 11-Boralli VB, Coelho EB, Lanchote VL. Influence of quinidine, cimetidine, and ketoconazole on the enantioselective pharmacokinetics and metabolism of metoprolol in rats. *Chirality.* 2009 (10):886-93.
- 12-Furuta S, Kamada E, Suzuki T, Sugimoto T, Kawabata Y, Shinozaki Y, Sano H. Inhibition of drug metabolism in human liver microsomes by nizatidine, cimetidine and omeprazole. *Xenobiotica.* 2001;31(1):1-10.
- 13-Ahmadzadeh M. Cytochemical evidence on the presence of cytochrome P450 in rat hepatic and extrahepatic tissues. *Biochem.Cell.Arch.* 2006; 6(1):169-75.
- 14-Taheri E, Afshari R, Nazemian L. Population-based severity, onset and type of drug-drug interactions in prescriptions. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2010;32(4):237-42.
- 15-Madeira M, Levine M, Chang TK, Mirfazaelian A, Bellward GD. The effect of cimetidine on dextromethorphan O-demethylase activity of human liver microsomes and recombinant CYP2D6. *Drug Metab Dispos.* 2004 Apr;32(4):460-7.
- 16-Dorr RT, Soble MJ, Alberts DS. Interaction of cimetidine but not ranitidine with cyclophosphamide in mice. *Cancer Res.* 1986;46(4 Pt 1):1795-9.
- 17-Khan A, Langley ST, Mulins FG. The pharmacokinetics and pharmacokinetics of nifedipine at steady state during concomitant administration of cimetidine or high dose ranidine. *B.J.clin.pharmacol.* 1991 ; 32 (4) :519-22.
- 18-Bachmann K, Sullivan IJ, Mauro Is. comparative investigation of the influence of nizatidine, ranitidine, and cimetidine on the steady. State pharmacokinetics of theophylline in COPD patiently. *Clin. Pharmacol* 1992 ; 32(5): 476-82.
- 19-Messiha Fs. Behavioral and metabolic aspects of cimetidine-ethanol interaction. *Brain. Res-Bull* 1989 ; 23 (4-5) :273-6.

Effects of cimetidine on CCl₄-induced hepatotoxicity

Ahmadi Zadeh M^{*} , Amir Gholami F^{**}

Abstract

Introduction: Cimetidine (CIM) is used for treatment of ulcers and hyperacidity. This drug also is used as inhibitor of the microsomal monooxygenase system activity. Carbon tetrachloride (CCL₄) is widely used as an industrial solvent as well as a cleaning agent. This chemical is biotransformed by cytochrome p450 to trichloromethyl radical, which binds irreversibly to the essential macromolecules induced toxicity. The purpose of the present study was to investigate the effect of CIM on CCL₄ produced liver injury in the rats.

Methods: The animals were given 120 mg/kg (ip) of CIM . Control rats were received vehicle only. The animals were given CCL₄ at doses of 0, 0.5, 1, 1.5 or 2 mg/kg 12 h later. The rats were killed with over dose of sodium pentobarbital 24 h later. The blood was collected to determine of ALT, AST, ALP changes .The liver tissues were removed, fixed and processed to light microscopy, using H&E staining method.

Results: The results of this study revealed that CCL₄ had induced a dose- dependent injury in the liver of rat tissues. Statistical analysis showed a significant increase in all of biochemical parameters in CCL₄-treated rats when compared to the control groups (P<0.05). The findings of this study also showed that CIM had no adverse effect on the rat liver and this agent protected cells against CCL₄ toxicity.

Conclusion: The results of this study support the view that CIM has ability to reduce CCL₄ – induced hepatotoxicity. Our findings suggest that in the presence of CIM , parent form of CCL₄ could induce more adverse effects than its toxic reactive metabolite(s).

Keywords: cimetidine, CCl₄, liver of rat, hepatotoxicity.

^{**} professor in Ahwaz university of medical sciences-school of health-Department of Occupational health (Correspond Author)

^{**} school of Pharmacy