

بررسی اثرات ترجیبین بر بیلی رویین خون در موش‌های مبتلا به هیپریلی رویینی تجربی

احمدرضا بندگی*

دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی

خلاصه

سابقه و هدف: از زمان‌های قدیم، گیاهان دارویی کاربرد فراوانی در طب سنتی ایران داشته‌اند و در حاضر نیز ترجیبین که صمغ گیاه خار شتر می‌باشد به عنوان یک داروی گیاهی جهت درمان زردی نوزادان استفاده می‌شود. در این مطالعه، اثرات ترجیبین بر بیلی رویین خون در موش‌های مبتلا به هیپریلی رویینی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: نوزادان موش سفید آزمایشگاهی از تزاد ویستار با وزن ۱۹-۲۱ گرم در این مطالعه استفاده در شدند. موش‌ها با تزریق داخل صفاقی دلتا-آمینولولوئینیک اسید (Delta amino levulinic acid,ALA) یک دوره زمانی خاص بعد از تولد، مبتلا به هیپریلی رویینی شده و به ۳ گروه تقسیم شدند و ترجیبین با غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد توسط لوله دهانی - حلقی در چند مرتبه به آنها خوراند: شد. سپس در ساعات مختلف با خونگیری و اندازه‌گیری بیلی رویین توتال، منحنی تغییرات بیلی رویین تا ۷۲ ساعت بعد از اولین تزریق ALA رسم گردید. یک گروه هم به عنوان شاهد منفی (موش‌های سالم) انتخاب شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که پس از تزریق ALA، غلظت بیلی رویین پلاسما به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش یافت. تجویز خوراکی ترجیبین، بیلی رویین موش‌های یرقانی را نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: ترجیبین می‌تواند به عنوان یک داروی کاهش دهنده بیلی رویین پلاسما مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: یرقان فیزیولوژیک، بیلی رویین، ترجیبین، داروهای گیاهی

مقدمه

یرقان، زرد شدن پوست و ملتحمه به علت رسوب بیلی رویین است که در هنگام افزایش غلظت بیلی رویین در خون ایجاد می‌شود [۱۰، ۱۱]. یرقان یک مشکل شایع در نوزادان است و هر ساله حدود ۶۰-۷۰ درصد شیرخواران متولدشده به طور کلینیکی یرقان می‌گیرند [۱۶]. غلظت بیلی رویین در روزهای ۱-۷ بعد از تولد به بالاترین مقدار می‌رسد. هیپریلی رویینی بیش از

رطوبت و در حدود ۵٪ خاکستر و مابقی خردنهای گیاهی است [۱]. در طب سنتی، از محلول ترنجین جهت درمان زردی نوزادان به صورت خوراکی استفاده می‌شود [۱۵]. با توجه به این نکته، هدف از پژوهش حاضر بررسی علمی تأثیر خوراکی محلول ترنجین بر کاهش بیلی روبيین در نوزادان موش سفید آزمایشگاهی مبتلا به هیپریلی روبيینی تجربی است. بدیهی است که نتایج مثبت حاصل از این مطالعه با توجه به عوارض جانبی کم داروهای گیاهی می‌تواند در مورد انسان نیز سودمند باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات. این مطالعه مداخله‌ای - تجربی روی نوزادان موش سفید آزمایشگاهی نژاد ویستار ۱۰ روزه با وزن ۲۱-۱۹ گرم انجام گرفت. نوزادان به همراه والدشان در قفس جداگانه در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی سمنان با درجه حرارت ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد و نور طبیعی نگهداری می‌شدند.

روش تهیه محلول ترنجین. ترنجین را در آب حل نموده و پس از گذراز صافی در پژوهش مورد استفاده قرار دادیم. برای تعیین غلظت ترنجین در محلول، ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه شده، در حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شود، ماده خشک شده را وزن کرده که غلظت آن در محلول‌هایی که با غلظت‌های متفاوت تهیه گردیده بود (گرم بر دسی‌لیتر) بود. از محلول‌های فوق در حجم‌های ۱۰۰ میکرولیتری در ساعت‌های مختلف با توجه به گروه آزمایشی به موش‌ها خورانده شد.

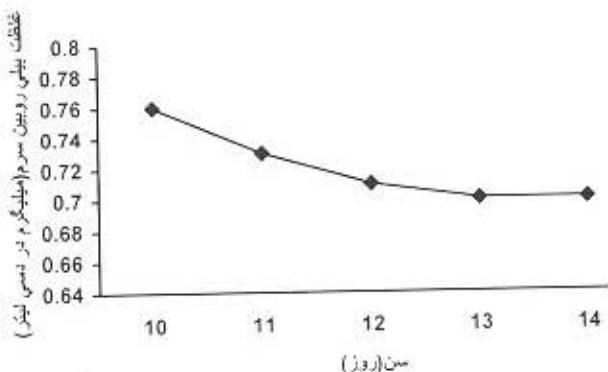
روش ایجاد هیپریلی روبيینی. یک مدل آزمایشگاهی هیپریلی روبيینی بعد از تولد در موش‌ها، تجویز AIA به عنوان پیش‌ساز هم (Heme) برای ایجاد برقان در طی یک دوره زمانی خاص بعد از تولد است. این دوره زمانی بین روزهای ۷ تا ۲۱ بعد از تولد است، چون روز هفتم بعد از تولد زمانی است که تغییرات اولیه بعد از تولد در غلظت بیلی روبيین سرم و متابولیسم

مغز ایجاد می‌شود. در فاز حاد، نوزادان با زردی نسبتاً شدید، چهار ضعف عضلانی، هیپوتونی و ضعف در مکیدن می‌شوند. اگر هیپریلی روبيینی درمان نشود، نوزاد هیپرتونیک می‌شود و شاید باعث تب گردد. نوزادان مبتلا به کرنیکتروس شدید در دوران نوزادی می‌میرند و نوزادانی که زنده می‌مانند در آینده ممکن است دچار کری عصبی، فلج مغزی عقب ماندگی ذهنی شوند [۴، ۱۴].

در حال حاضر، از فتوترایس جهت درمان برقان فیزیولوژیک نوزادی استفاده می‌شود که طی آن پیوندهای هیدروژنی داخل مولکولی بیلی روبيین شکسته شده و به ایزومرهای غیرسمی پایدار تبدیل می‌شود [۱۶]. طی سالیان متمادی گیاهان دارویی اساس و حتی در برخی موارد تنها طریق درمان محسوب می‌شود و در همین حال مواد اولیه موجود در آنها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می‌گرفت. امروزه گرایش مجددی به مصرف گیاهان دارویی به خاطر کم بودن عوارض سوء جانبی، گوناگونی ترکیبات مؤثر موجود در گیاهان، توسعه صنایع وابسته به کشت گیاهان دارویی، جلوگیری از خروج ارز به خارج از کشور، ایجاد کار مفید و خصوصاً پیشنهاد استفاده از گیاهان دارویی توسط سازمان جهانی بهداشت (WHO) و بسیاری از دلایل دیگر بوجود آمده است [۲].

ترنجین رزینی است که به صورت شبیم بر روی شاخه و برگ‌های خارشتر (Camel's thorn) از خانواده پرونده آسا ظاهر می‌گردد. خارشتر گیاهی است چند ساله با ریشه چوبی ضخیم، ساقه خاردار و پرانتشعاب و دارای برگ‌های ساده و کوچک می‌باشد، که در مناطق خشک و بیابانی نواحی مختلف ایران می‌روید. برای جمع آوری ترنجین، ساقه‌های خشک گیاه را که حاوی قطرات خشک شده ترنجین است تکان داده و محصول حاصله را به بازار عرضه می‌کنند. ترنجین به صورت قطعات بسیار کوچک، محلول در آب با طعم شیرین و مطبوع می‌باشد و حاوی $\frac{47}{44}$ درصد ملزیتوز، $\frac{26}{44}$ درصد ساکارز، $\frac{11}{5}$ درصد قند احیاکننده فروکتوز، ۰.۵٪

پلاسما (به عنوان شاهد منفی)
 جهت آزمایش از موش‌های ۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۳ روزه (از هر گروه سنی ۱۰ سر) استفاده شد که نتایج در شکل ۱ نشان داده شده است و اختلاف معنی‌داری در غلظت بیلی روبین بین روزهای دهم و سیزدهم مشاهده نشد ($P < 0.05$).



شکل ۱. منحنی تغییرات طبیعی غلظت بیلی روبین پلاسما در موش‌های ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴ روزه ($n=10, 11, 12, 13, 14$ در هر گروه سنی).

آزمایش ۲. اثر ALA بر غلظت بیلی روبین پلاسما (شاهد مثبت یرقانی)

۸۰ میکرومول ALA در هر یک از ساعت ۰، ۴ و ۸ تزریق گردید و جهت اندازه‌گیری بیلی روبین، در ساعت ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ نمونه‌گیری به عمل آمد. همان‌طور که در شکل ۲ دیده می‌شود، بعد از تزریق ALA، غلظت بیلی روبین پلاسما افزایش یافت که بیشترین افزایش غلظت بیلی روبین در ساعت ۱۶ بعد از اولین تزریق است که اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و تقریباً در روز دوم به حد طبیعی برگشت.

آزمایش ۳. اثر ترنجین ۱۰٪ و ۳۰٪ بر غلظت بیلی روبین پلاسما

بعد از تزریق ALA (۳۰ میکرومول) در ساعت ۰، ۴ و ۸ موش‌ها به سه گروه تقسیم شدند و به آنها ترنجین با غلظت‌های ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ و به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر در هر یک از ساعت ۰، ۴، ۸ و ۱۶ خورانده شد و جهت تعیین غلظت بیلی روبین در ساعت ۱۶ و ۲۴ نمونه‌گیری به عمل آمد. نتایج در شکل ۳ نشان

Heme متوقف می‌شود و روز ۲۱ زمانی است که مکانیسم کنثوگه شدن بیلی روبین در کبد جهت دفع در صفراء کامل می‌شود. تجویز ALA در این دوره زمانی منجر به افزایش سریع، ثابت و وابسته به دوز قابل توجهی در غلظت بیلی روبین سرم در نوزادان موش‌ها می‌شود و ALA بین روزهای ۷ تا ۱۵ بعد از تولد بیشترین اثر را دارد [۱۳]. در پژوهش حاضر، به دلیل حجم کم خون در موش‌های ۷ روزه، از موش‌های ۱۰ روزه استفاده گردید که ALA (۳۰ تا ۱۰۰ میکرومول) به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) و با حجم‌های ۱۰۰ میکرولیتری به صورت داخل صفاتی تزریق گردید. تعداد تزریق‌ها با توجه به گروه آزمایشی و ساعت مورد نظر تعیین گردیده است.

گروه‌های آزمایشی. موش‌های مبتلا به هیپربیلی روبینی به ۳ گروه تقسیم شدند و ترنجین با غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد توسط لوله دهانی - حلقی در چند مرتبه به آنها خورانده شد. یک گروه هم به عنوان شاهد منفی (موش‌های سالم) انتخاب شد.

روش خون‌گیری و اندازه‌گیری بیلی روبین. با قطع کردن ورید ژوگولار و با استفاده از لوله‌های هماتوکریت هپارینه، خون وریدی جمع آوری و سپس توسط میکروساتریفوژ، پلاسما تهیه گردید و تا زمان اندازه‌گیری بیلی روبین در تاریکی و در دمای ۲۰-درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت اندازه‌گیری بیلی روبین توتال از روش Jendrassik and Grof استفاده گردید [۶]. جهت اجتناب از خطا، از نمونه‌های همولیز و لیپمیک صرف نظر شد. از کنترل لیوفلیزه Randox جهت انجام کنترل کیفی استفاده گردید.

آنالیز آماری. نتایج با آزمون آماری آنالیز واریانس و ا تست مورد بررسی قرار گرفت و اختلاف $P < 0.05$ بین گروه‌های مورد آزمایش از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شده است.

آزمایش‌ها و نتایج

آزمایش ۱. تعیین دامنه طبیعی غلظت بیلی روبین

متاپولیسم بیلی‌روبین در طی دوره نوزادی، گردش روده‌ای - کبدی است، که طی آن بیلی‌روبین کترنگوگه توسط آنزیم بتا-گلوکورونیداز در شیر مادر و در روده کوچک، دکترنگوگه شده و بیلی‌روبین مجددأ وارد گردش خون می‌شود [۱۲]. ممکن است ترجیبین با کاهش فعالیت آنزیم بتا-گلوکورونیداز از گردش روده‌ای - کبدی جلوگیری کرده و باعث دفع بیلی‌روبین از طریق مدفعه بشود. آگار، یک ملین پلی‌ساقاریدی کلوئیدی است که در معده به بیلی‌روبین غیرکترنگوگه متصل می‌شود و از بازجذب آن جلوگیری می‌کند، با تجویز آگار، ۲۰ ساعت بعد از تولد نوزادان و به مدت ۴ روز، از افزایش بیلی‌روبین مورد انتظار در سومین تا پنجمین روز زندگی جلوگیری شده است [۱۵]. شاید ترجیبین نیز با اتصال به بیلی‌روبین موجود در روده از بازجذب آن جلوگیری نماید.

در یک مطالعه [۱۵] به نوزادان سالم ترم انسان، ترجیبین با غلظت‌های مختلف داده شده است ولی باز هم در بعضی از نوزادان هیپربیلی‌روبینی مشاهده گردید. با توجه به اختلاف نتایج پژوهش حاضر با مقاله فوق می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: اولاً، شاید به علت حجم کم نمونه (نوزادان) در آن مطالعه، نمی‌توان نتیجه دقیقی در مورد اثر ترجیبین گرفت. ثانياً، ممکن است مقدار ترجیبین تجویز شده جهت کاهش غلظت بیلی‌روبین کافی نبوده است و باید براساس وزن نوزادان، ترجیبین تجویز گردد.

در مجموع، بررسی حاضر نشان داد که ترجیبین باعث کاهش بیلی‌روبین در نوزادان موش سفید آزمایشگاهی می‌شود و این تأییدی بر این است که استفاده آن در طب سنتی ایران برای این هدف با ارزیابی ما، همخوانی دارد، البته قبل از مصرف آن در انسان، کارآزمایی بالینی ضروری است.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان که بودجه این پژوهش را تأمین کردند و

هیپربیلی‌روبینی، از نوزادان موش سفید استفاده شد که به طور آزمایشگاهی در آنها هیپربیلی‌روبینی ایجاد شده بود [۷]. بعد از تزریق ALA، همراه با افزایش بیلی‌روبین سرم، فعالیت هم‌اکسیژناز کبدی هم افزایش می‌باید که احتمالاً به دلیل افزایش Heme مشتق از ALA است [۳]. بنابراین قسمتی از افزایش بیلی‌روبین سرم بعد از تجویز ALA در روزهای ۷ تا ۱۴ بعد از تولد، به علت افزایش سرعت اکسیداسیون Heme به پیگمان صفواید در کبد است که این همراه با ظرفیت محدود کبد جهت کترنگوگاسیون مقدار زیاد بیلی‌روبین تشکیل شده است [۷]. همزمان با تزریق داخل صفاری ALA محلول ترجیبین نیز با غلظت‌های مختلف خورانده شد، غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد ترجیبین باعث کاهش غلظت بیلی‌روبین پلاسمائگردید که در غلظت ٪۳۰، اختلاف معنی‌دار بود. توانایی ترجیبین برای مهار هیپربیلی‌روبینی ایجاد شده توسط ALA، ثابت و پایدار و وابسته به دوز بود.

در چند مطالعه از ترکیبات سنتیک Sn-پرتوپورفیرین [۸،۹] و Zn-پرتوپورفیرین [۱۳] جهت کاهش غلظت بیلی‌روبین در موش‌های یرقانی استفاده شده است، چون این ترکیبات، مهارکننده قوی هم‌اکسیژناز هستند، با تجویز آنها به موش، بیلی‌روبین کاهش یافته است. پس ترجیبین نیز ممکن است باعث کاهش فعالیت هم‌اکسیژناز شود و بدین وسیله منجر به کاهش بیلی‌روبین سرم گردد.

مکانیسم اثر ترجیبین مشخص نیست. سه مسیر متابولیک و دفعی برای بیلی‌روبین وجود دارد که عبارتند از: کترنگوگاسیون با اسید گلوکورونیک، فتوایزومریزاسیون و اکسیداسیون [۱۲]. ممکن است ترجیبین با تحریک این مکانیسم‌ها، باعث کاهش بیلی‌روبین سرم شود. برای مثال ممکن است با افزایش فعالیت آنزیم -GDP-

گلوکورونیل ترانسکراز، مسیر کترنگوگاسیون با اسید گلوکورونیک را تحریک نماید. شاید ترجیبین در تبدیل بیلی‌روبین به ایزومرهای محلول در آب مؤثر باشد که به راحتی از طریق صفرا یا ادرار دفع شود. مسیر دیگر

همچنین از آقایان دکتر راہب قربانی، دکتر عباسعلی وفایی، حسن صادقی، بیژن نجاتی و خانم پریسا کوهساریان که همکاری صمیمانه‌ای داشته‌اند صمیمانه تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

- [9] Drummond, G.S. and Kappas, A., Chemoprevention of neonatal jaundice: potency of tin-protoporphyrin in an animal model, *Science*, 217 (1982) 1250-1252
- [10] Frank, B.B., Clinical evaluation of jaundice - a guideline of the patient care committee of the american gastroenterological association, *JAMA*, 262 (1989) 3031-3034
- [11] Hope, S., Newman, T.B. and Stevenson D.K., Direct bilirubin measurements in jaundiced term new-born infant, a reevaluation, *Am. J. Dis. Child.*, 145 (1991) 1305-1309.
- [12] Itoh, S., Kondo, M., Imai, T. and Kusaka, T., Relationships between serum ZZ-bilirubin, its subfractions and biliverdin concentrations in infants at 1-month check-ups, *Ann. Clin. Biochem.*, 38 (2001) 323-327.
- [13] Maines, M.D., Zinc-protoporphyrin is a selective inhibitor of heme oxygenase activity in the neonatal rat, *Biochim. Biophys. Acta*, 633 (1981) 339-350.
- [14] Maisels, M.J., Baltz, R.D., Bhutani, V.K. and Newman, T.B., Neonatal jaundice and Kernicterus, *Pediatrics*, 108 (2001) 763-765.
- [15] Panjavani, Z., Kharrazi-Sabet H., Tawakkoli, S., Ramazani, M.R. and Sarraf, M.T., Is Taranjebin a prophylactic agent for neonatal jaundice? *Med. J. IRI*, 9 (1995) 27-32.
- [16] Schwoebel, A. and Sakraida, S., Hyperbilirubinemia, new approaches to an old problem, *J. Perinatal. Neonatal. Nurs.*, 11 (1997) 78-97.
- [1] آیینه‌چی، ا. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، سال ۹۸، ص ۱۳۷۰
- [2] خاکساری، م.، رضوانی، م.ا. سجادی، م.ع. و سلیمانی، ع. بررسی اثر مصرف موضعی عصاره آبی Rhazya stricta بر ترمیم زخم پوستی موش سفید بزرگ آزمایشگاهی، *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان*, جلد ۱، شماره ۳، ۱۳۷۹، ۱-۱۰.
- [3] Anderson, K.E., And, D. and Rummond, G.S., Porphyrogenic effects and induction of heme-oxygenase in vivo by ALA, *Biochim. Biophys. Acta*, 676 (1981) 289-299
- [4] Anonymous, Kernicterus in full-term infants, united states, *JAMA*, 286 (2001) 299-300.
- [5] Behram, R., Kliegman, R. and Jenson, H.B., Nelson textbook of pediatrics, 16th Edition, W.B.Saunders Co., USA, 2000 pp:513-559
- [6] Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., Tietz textbook of clinical chemistry. Third Edition, W.B.Saunders Co., USA, 1999, pp:1151-1169
- [7] Drummond, G.S. and Kappas, A., An experimental model of postnatal jaundice in the suckling rat, *J. Clin. Invest.*, 74 (1984) 142-149.
- [8] Drummond, G.S. and Kappas, A., Prevention of neonatal hyperbilirubinemia by tin-protoporphyrin IX, a potent competitive inhibitor of heme oxidation, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 78 (1981) 6466-6470.

Effects of Taranjebin on serum bilirubin in hyperbilirubinemic suckling rats

A. R. Bandegi* (M.Sc)

Dept. of Biochemistry, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

Introduction: In the past, medicinal herbs had enormous application in traditional medicine in Iran. At present, Taranjebin a gum of Alhagi herb (*Alhagi Mannifera*) is used as a medical herb for treatment of jaundice in infants. Thus, the purpose of present study was to investigate the possible therapeutic effects of Taranjebin on a scientific basis.

Materials and Methods: Taranjebin solution was made by dissolving Taranjebin in distilled water and then filtered. Wistar offspring rats (body weight: 19-21 gr) were used. Animals were divided into four groups: group one as a negative control, other three groups were injected intraperitoneal (ip) aminolevulinic acid (ALA) at a specific time after birth, which causes hyperbilirubinemia. Of these three groups, one group was used as a positive control, and the other two as experimental group received Taranjebin and distilled water by gavage, respectively. At different interval times blood samples were drawn and total bilirubin was measured.

Results: Results showed that after injection of ALA, plasma bilirubin concentration increased significantly ($P<0.05$). Oral administration of Taranjebin led to a significant decrease in the level of bilirubin in rats with jaundice as compared with control groups ($P<0.05$).

Conclusion: Thus, a decrease in plasma bilirubin concentration could be due to the degradation or increased bilirubin excretion by this plant resin (Taranjebin).

Keywords: Physiologic jaundice; Taranjebin; Bilirubin; Medicinal herbs.

* Fax: 0231-3331551; Tel: 0231-3332080