مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره سیزدهم، شمارهٔ ۱، دی ۱۳۸۹، صفحه ۲۱-۱۴

تاثیر عصاره متانولی قرص کمر Annacardium Occidentale بر هیستوپاتولوژی و تستهای کبدی و کلیوی موش صحرائی

محمدرضا حیدری (MSc) [۱]، محمودرضا حیدری(Pharm D. PhD) [*۲]، بیژن نقیبی(MD, PhD)[۳]، محمدرضا میرشمسی(MSc) [۳]،
جلال وفازاده(BSc)[۳]، محمد حیدری [۳،۴]، شهریار دبیری(MD, PhD)[۵،۴]، میترا عباسی فرد(MD)[۵،۳]

۱- مرکز تحقیقات نورساینس دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۲- مراکز تحقیقاتی فارماسیوتیکس، نوروساینس و فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۳- مرکز تحقیقات فارماتیونکس دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۴- مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۵- دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دریافت: ۸۸/۱۰/۱ ، اصلاح: ۸۹/۳/۱۲، پذیرش: ۸۹/۹/۱۷

خلاصه

سابقه و هدف: در طب سنتی ایران از قرص کمر برای تسکین درد استفاده می شود. در مطالعات قبلی اثر ضد دردی قابل توجهی از عصاره متانولی قرص کمر مشاهده شد، با توجه به عوارض کبدی و کلیوی داروهای ضد درد موجود، در این مطالعه سمیت احتمالی تجویز خوراکی عصاره متانولی قرص کمر بر کبد و کلیه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی ۳۰ سر رت نر در محدوده وزنی ۱۹۰ تا ۲۷۰ گرم که به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند، انجام گردید. ۳۰ سه گروه ۶ تایی عصاره متانولی قرص کمر با دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg هر ۲۴ ساعت یکبار، بمدت ۷ روز، تجویز گردید. یک گروه کنترل با نرمال سالین به میزان 5ml/kg و یک گروه هم بدون هر نوع درمان تحت بررسی قرار گرفتند. در پایان روز هفتم، ادرار، خون و نمونه های کبد و کلیه حیوانات جمع آوری گردید. سپس آنزیمهای کبدی موجود در سرم شامل: (ALT)، (AST)، (ALP) و کراتینین و (BUN) و همچنین فعالیت آنزیمهای موجود در ادرار: (GGT) و (LDH) و تغییرات وزن کلیه چپ حیوانات بررسی و مطالعات هیستوپاتولوژی بافت کبد و کلیه حیوانات صورت گرفت.

یافته ها: از نظر آزمون های عملکرد کلیه تغییر معنی داری بین گروههای تحت درمان در مقادیر BUN و کراتینین سرم مشاهده نشد و بررسی هیستوپاتولوژی نمایانگر سالم بودن لوله های ادراری کلیه بود، فقط در مورد دوز ۸۰۰ mg/kg مختصری نکروز لوله های ادراری مشاهده گردید. از نظر آزمون های عملکرد کبد، میزان آنزیم AST در گروههای درمان شده با دوزهای ۴۰۰mg/kg و ۸۰۰mg/kg افزایش معنی داری داشته است ($p<0/05$). میزانALT در درمان با دوزهای مختلف عصاره کاهش یافت، که این کاهش در ۴۰۰mg/kg معنی دار می باشد ($p<0/01$). میزان ALP در گروه آزمایشی با دوز ۲۰۰mg/kg عصاره در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی داری یافته است ($p<0/01$). در بررسی هیستوپاتولوژی کبد، لوبولهای کبدی بدون تغییر مانده اند. شواهدی دال بر سمیت کبدی با دوز بالا، یعنی۸۰۰mg/kg مشاهده شد.

نتیجه گیری: نتایج بررسیها، نشانگر عدم وجود آثار سمیت کبدی و کلیوی در تجویز مصرف خوراکی دوزهای۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg عصاره متانولی قرص کمر بوده، اما شواهدی دال بر احتمال سمیت کبدی و کلیوی در دوز بالا، ۸۰۰mg/kg عصاره قرص کمر مشاهده گردید. با توجه به عدم وجود آثار سمیت کبدی و کلیوی در دوز درمانی ضد درد ۲۰۰mg/kg عصاره قرص کمر، به نظر می رسد که عصاره قرص کمر، کاندیدای مناسبی به عنوان داروی ضد درد، برای تحقیقات و مطالعات بالینی بیشتر باشد.

واژه های کلیدی: *قرص کمر، سمیت کبدی، سمیت کلیوی، عصاره متانولی.*

مقدمه

دو دسته دارویی عمده که برای تسکین درد استفاده می شوند شامل داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDS) و داروهای ضد درد اپیوئیدی می باشد. هر دو دسته دارویی دارای عوارض نامساعدی هستند که مصرف آنها را محدود می سازد، داروهای (NSAIDS) از طریق وقفه در سنتز

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۸۷/۵۶ دانشگاه علوم پزشکی کرمان می باشد.
* مسئول مقاله:
آدرس: کرمان، ابتدای بلوار هفت باغ، گروه سم شناسی و فارماکولوژی دانشکده داروسازی، تلفن: ۲-۳۲۰۵۰۰۱-۳۴۱
e-mail:Heidarimr@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.1.2.7]

پروستاگلاندینها علاوه بر اثرات درمانی ضد تب و ضد درد و ضد التهاب عوارض نامطلوبی همچون اختلال در هموستاز، زخم معده، نارسایی کلیوی و نارسایی کبدی ایجاد می نمایند (۱). داروهای اپیوئیدی موجب تحمل، وابستگی فیزیکی و روانی و همچنین اعتیاد می گردند (۲). لذا یافتن داروهای ضد دردی که، فاقد عوارض جانبی باشند، منطقی و ضروری به نظر می رسد. گزارشاتی دال بر اثر ضد دردی قرص کمر وجود دارد (۴و۳). ولی در مورد عوارض آن تحقیقی صورت نگرفته، بنابرین بررسی عوارض نامطلوب آن دارای اهمیت می باشد. گیاه Annacardium Occidentale درختی است به ارتفاع متوسط و دارای برگهای بیضوی و گلهای پلی گام و مجتمع بصورت پاتیکول که در نواحی جنوبی هند می روید و امروزه در غالب نواحی استوایی پرورش می یابد. میوه آن شکل مخصوص و ظاهری شبیه دانه باقلا دارد. در بعضی مراجع دانه گیاه Annacardium Occidentale را دانه Entada Gigas و بعضی آن را گیاه Entada scadens می دانند که از تیره Leguminosea (نخود) زیر تیره پروانه واران papilionaceae می دانند به این دانه حبه القلب و حب الفهم به علت مشابهت به قلب حیوان نیز می گویند و بعضی آنرا Entada Arborea می نامند (۷-۴).

در منابع متعددی به اثرات ضد دردی قرص کمر (A.O) و کاربرد آن در طب سنتی اشاره شده است (۴و۳). اثر ضد دردی و ضد التهابی عصاره متانولی پرکوله قرص کمر با متدهای کلاسیک فارماکولوژی بررسی و گزارش شده است (۸). همچنین اثرات عصاره متانولی قرص کمر بر معده موش صحرائی مورد مطالعه قرار گرفته و زخم زائی آن بر معده خیلی کمتر از NSAID ها گزارش شده است(۹). با توجه به اینکه در بررسی منابع اطلاعاتی گزارشی دال بر بررسی اثرات سمی کلیوی و کبدی عصاره قرص کمر یافت نشد، لذا در این تحقیق سمیت احتمالی عصاره متانولی قرص کمر بر کبد و کلیه مورد بررسی قرار گرفته، تا مشخص شود که آیا این عصاره نیز مانند داروهای NSAIDs دارای عوارض نامطلوب روی کبد و کلیه هست یا خیر، تا بر اساس یافته های این تحقیق، تحقیقات بعدی در مورد استفاده از قرص کمر بعنوان یک داروی ضد درد پایه گذاری شود.

مواد و روشها

حیوان مورد آزمایش و شرایط نگهداری حیوانات: در این تحقیق از ۳۰ رت نر سفید با وزن ۲۷۰-۱۹۰ گرم استفاده شد. حیوانات در ۵ گروه ۶ تایی قرار داده شده و در اتاق حیوانات مرکز تحقیقات و در قفسهایی از جنس PVC با درپوش توری فلزی که کف آنها با تراشه های تمیز چوب پوشانده شده بود، نگهداری شده و دارای سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی و دمای هوا بین ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتی گراد متغیر بود. غذای مورد استفاده آنها، غذای فشرده و آماده ساخت کارخانه خوراک دام پارس و آب مصرفی، آب تصفیه شده شهری بود که در ظرف آبخوری از جنس PVC در دسترس حیوان قرار داشت.

گیاه مورد استفاده: قرص کمر خریداری شده از عطاریهای شهر کرمان، توسط متخصص گیاه شناسی بخش کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان شناسایی و نامگذاری گردید (۱۱و۱۰و۷ و۶). سپس عصاره گیاه به روش پرکولاسیون با متانول ۸۰٪ مرک آلمان استخراج گردید. یک نمونه از میوه گیاه قرص کمر در هرباریوم دانشکده داروسازی با شماره ۱۴۶۰ ثبت گردیده است.

روش عصاره گیری: ۵۰ گرم پودر قرص کمر را داخل یک بشر بزرگ ریخته و به آن متانول ۸۰ درصد اضافه شد. پس از مدت ۲۴ ساعت محلول به درون پرکولاتور منتقل شده و بر روی آن یک کاغذ صافی همراه با یک قطعه شیشه گذاشته شد. پس از اضافه نمودن متانول ۸۰ درصد به عنوان حلال، شیر پرکولاتور تا حدی که جریان حلال دو تا سه قطره در دقیقه باشد، باز شد. پس از اطمینان از پایان عمل پرکولاسیون (۴۸-۲۴ ساعت) هنگامیکه محلول خروجی شفاف شد، عصاره گیاه با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد و در داخل کوره (Oven) با حرارت ۵۰-۴۰ درجه سانتیگراد به مدت یک تا دو شبانه روز قرار گرفت تا حدی که عصاره کاملاً خشک شد (۱۲).

روش تهیه محلول خوراکی: جهت تهیه محلول خوراکی غلظتهای ۲۰۰ mg , ۴۰۰mg, ۸۰۰ mg عصاره پودر شده در ۵ میلی لیتر نرمال سالین حل کرده و از هر کدام از این محلولها به میزان ۱ml/۲۰۰ g وزن حیوانات به آنها خورانده شد.

روش انجام آزمایش: پس از تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان (با کد ۸۹ / ۸۷ /کا)، ۲۴ ساعت قبل از آزمایش، حیوانات به آزمایشگاه منتقل شده و در آنجا قرار گرفتند و با ترازوی آزمایشگاهی وزن آنها اندازه گیری شد. در این مدت حیوانات به آب و غذا دسترسی داشتند. سپس دوزهای تجربی مختلف شامل ۲۰۰ mg/ kg، دوزی که اثر ضد دردی قابل توجهی ایجاد نموده (۸) و ۲ و ۴ برابر دوز ضد دردی شامل ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg از عصاره هر ۲۴ ساعت یکبار با لوله مخصوص گاواژ به حیوانات خورانده شد (۱۴و۱۳). از دو گروه باقیمانده به ترتیب یکی نرمال سالین بمیزان ۵ml/kg خورانده شده و گروه دیگر بدون هر نوع درمان بعنوان گروه های شاهد در نظر گرفته شدند (۱۵). حیوانات بطور روزانه توزین شدند.

جهت تهیه نمونه های ادرار، در پایان روز هفتم، حیوانات هر گروه جداگانه و به تنهایی در داخل قفس های متابولیک مخصوص جمع آوری ادرار قرار داده شده و ادرار ۱۲ ساعته آنها پس از ۱۲ ساعت جمع آوری گردید. در مرحله بعد، حیوانات به داخل آزمایشگاه منتقل شده و با استفاده از دی اتیل اتر بیهوش گشته و سپس خون آنها از طریق ورید گردن جمع آوری و پس از آن حیوان با استفاده از گیوتین معدوم و بعد از عمل جراحی کلیه چپ حیوان (جهت یکسانی) و قسمتی از کبد آنها، از بدن خارج گشته و جسد حیوان دور انداخته شد (۱۴).

روش اندازه گیری فاکتورهای مورد بررسی: ادرار حیوانات جهت انجام آزمایشات پس از عمل سانتریفوژ با ۴۰۰۰ دور در دقیقه در داخل میکروتیوب ریخته شد و در دمای ۲۱- درجه سانتیگراد فریز گشته و جهت انجام آزمایشات با استفاده از کیت های آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفتند (۱۴). خون حیوانات نیز پس از عمل سانتریفوژ با ۴۰۰۰ دور در دقیقه و جدا شدن سرم خون در داخل میکروتیوب ریخته شد و در دمای ۲۱- درجه سانتیگراد فریز شده و جهت انجام آزمایشات آنزیمی و بیوشیمیایی به آزمایشگاه مربوطه انتقال داده شدند. کلیه چپ حیوان پس از توزین و ایجاد برش طولی و دو تکه شدن در ظرف مخصوص فرمالین قرار داده شد و جهت انجام آزمایشات هیستوپاتولوژی به آزمایشگاه منتقل گردید. قسمتی از کبد جدا شده حیوان نیز پس از قرار گرفتن در فرمالین به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال گردید. جهت اندازه گیری آنزیمهای موجود در سرم از دستگاه اتوآنالیزور بیوشیمی مدل RA1000 استفاده گردید و با استفاده از آن

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.1.2.7]

مقدار دقیق هر کدام از آنزیمهای: ALP , AST , ALT، مقادیر BUN و کراتینین مشخص گردید. مقدار LDH، GGT و کراتینین در ادرار بوسیله کیت های آزمایشگاهی و مطابق دستورالعمل ذکر شده در آنها محاسبه گردید.

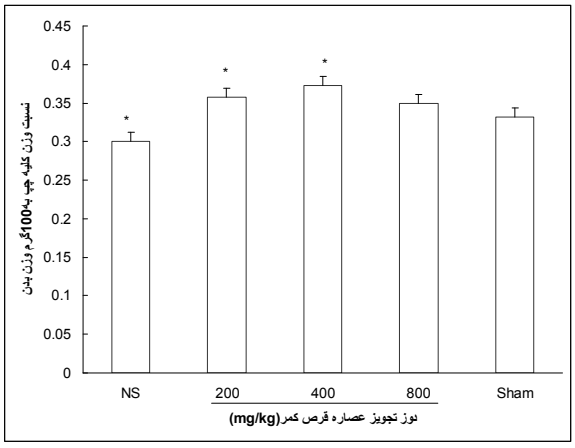
تعیین LD50: با توجه به اینکه در حیواناتیکه دوز ۸۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم را بمدت یک هفته دریافت کرده بودند هیچ عارضه قابل مشاهده ائی ایجاد نشد و با توجه به مطالعات دیگران (۱۶) لذا از دوز ۱۶۰۰ صرفنظر شد و دوزهای بالاتر استفاده شد. به یک گروه از موشها میزان ۳۲۰۰ mg/kg و ۶۴۰۰mg/kg عصاره خورانده شد و تا مدت ۴۸ ساعت تحت نظر قرار گرفتند و میزان مرگ و میر ثبت شد.

سپس اطلاعات با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و به دنبال آن روش Newman-Keuls مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.و از برنامه Sigma state 3.5 جهت آنالیز داده ها استفاده گردید (۱۷).

یافته ها

مقایسه وزن کلیه چپ موشها نسبت به۱۰۰گرم وزن موش:

نسبت وزن کلیه چپ موشها به ۱۰۰گرم وزن آنها در گروههای ۲۰۰ mg/kg (۰/۳۷۳)، ۴۰۰ mg/kg (۰/۳۵۸) با گروه SH (شاهد) (۰/۳۳۲) اختلاف معنی داری داشت ($p<0/05$)، اما در گروه ۸۰۰mg/kg (۰/۳۵) با گروه شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد (نمودار ۱).

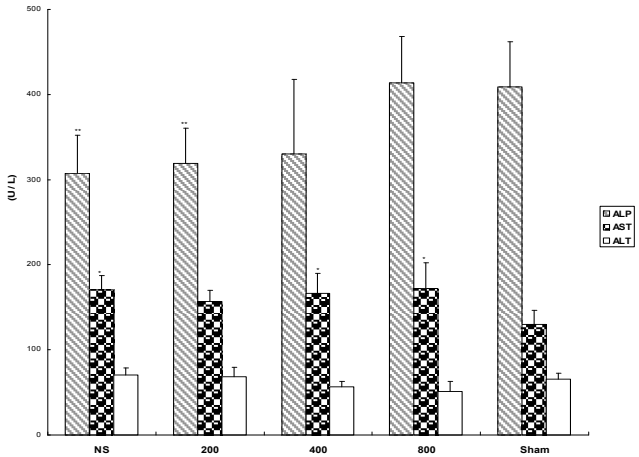


نمودار شماره ۱. مقایسه وزن کلیه چپ نسبت به ۱۰۰ گرم وزن موش در روز هفتم درگروههای کنترل و درمان شده با عصاره قرص کمر (A.O)

در هر گروه از موشها، نرمال سالین ۵ml/kg، دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰mg/kg عصاره قرص کمر بصورت خوراکی تجویز شده است. گروه Sham هیچگونه درمانی دریافت ننموده و صرفا در شرایط آزمایشگاه قرار داشتند. در هر گروه وزن کلیه چپ، نسبت به ۱۰۰ گرم وزن حیوان محاسبه گردیده و سپس بصورت mean±SEM نشان داده شده است. N=6

$p<0.05$* اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد (Sham دوز تجویزعصاره قرص کمر (mg/kg)

مقایسه میزان آنزیم کبدی AST و ALT در سرم خون در گروه های مختلف: میزان آنزیم AST در گروههای درمان شده با دوزهای ۴۰۰mg/kg (۱۷۲u/l) mg/kg۸۰۰ (۱۶۶/۱۷u/l) در مقایسه با گروه شاهد (۱۳۰ u/l) افزایش معنی داری داشته است ($p<0/05$). درمان حیوانات با دوزهای مختلف عصاره قرص کمر باعث کاهش میزان آنزیم ALT گردید، که این کاهش در دوز ۸۰۰ mg/kg (۵۱/۱۶ u/l) معنی دار می باشد ($p<0/01$) (نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه میزان آنزیم ALT,AST,ALP کبدی در سرم گروههای کنترل و درمان شده با عصاره قرص کمر(A.O)

در هر گروه از موشها، نرمال سالین ۵ml/kg، دوزهای ۲۰۰،۴۰۰ و ۸۰۰mg/kg عصاره قرص کمر بصورت خوراکی تجویز شده است. گروه Sham هیچگونه درمانی دریافت ننموده و صرفا در شرایط آزمایشگاه قرار داشته است. میزان آنزیم در هر گروه بصورت mean±SEM محاسبه گردید. N= ۶

$p<0.01$** اختلاف معنی داری نسبت به گروه شاهد (Sham)

$p<0.05$* اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد (sham)

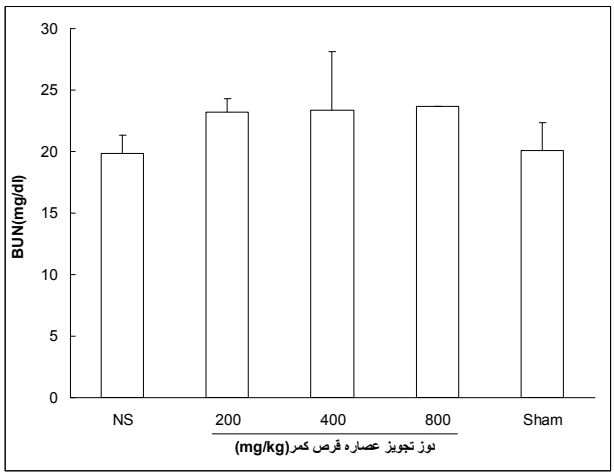
مقایسه میزان آنزیم های سرم خون در گروههای مختلف: مقدار این آنزیم در گروه ۲۰۰ mg/kg (۳۱۹/۳ u/l) در مقایسه با گروه شاهد (۴۰۸/۶u/l) کاهش معنی دار یافته است ($p<0/01$) (نمودار شماره ۲). تفاوت معنی دار بین مقادیر BUN و کراتنین در گروه های مختلف مشاهده نشد (نمودار شماره ۳و۴).

تغییرات وزن حیوانات در روزهای مختلف: میانگین وزن حیوانات در گروههای درمان شده با دوزهای مختلف قرص کمر در روز هفتم نسبت به روز اول کاهش داشت که بیشترین آن مربوط به دوز ۴۰۰ و تا حد ۱۲/۱۱ درصد می باشد (جدول شماره ۱).

مقایسه میزان فعالیت آنزیم های ادراری GGT، LDH نسبت به کراتینین: میزان فعالیت آنزیم LDH نسبت به غلظت کراتینین با افزایش دوز تا ۴۰۰mg/kg باعث افزایش فعالیت آنزیم، اما در دوز ۸۰۰mg/kg در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم شد. میزان فعالیت آنزیم GGT در ادرار نسبت به غلظت کراتینین، میانگین

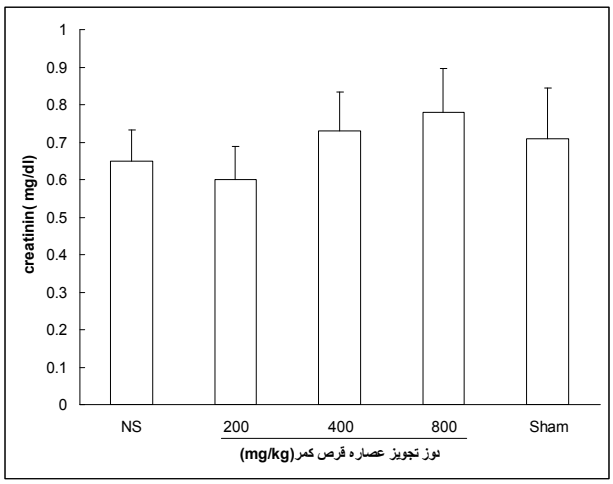
[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.1.2.7]

فعالیت در دوز ۲۰۰mg/kg بطور جزیی کاهش، اما در دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg این مقدار، نسبت به مقدار میانگین گروه کنترل افزایش یافت (جدول شماره ۲).



نمودار شماره ۳. مقایسه میزان BUN در سرم گروههای کنترل و درمان شده با عصاره قرص کمر(A.O)

در هر گروه از موشها، نرمال سالین 5ml/kg ، دوزهای ۲۰۰،۴۰۰ و ۸۰۰mg/kg عصاره قرص کمر بصورت خوراکی تجویز شده است. گروه Sham هیچگونه درمانی دریافت ننموده ا ند و صرفادر شرایط آزمایشگاه قرار داشته اند. میزان BUN در هر گروه بصورت mean±SEM محاسبه گردید. N=6

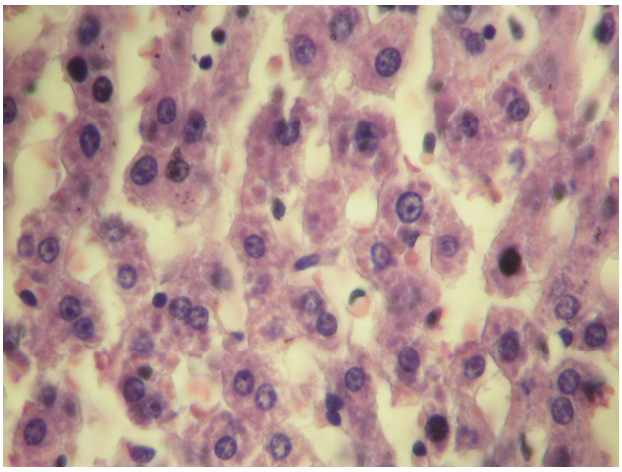


نمودار شماره ۴. مقایسه میزان کراتینین (Cr) در سرم گروههای کنترل و درمان شده با عصاره قرص کمر(A.O)

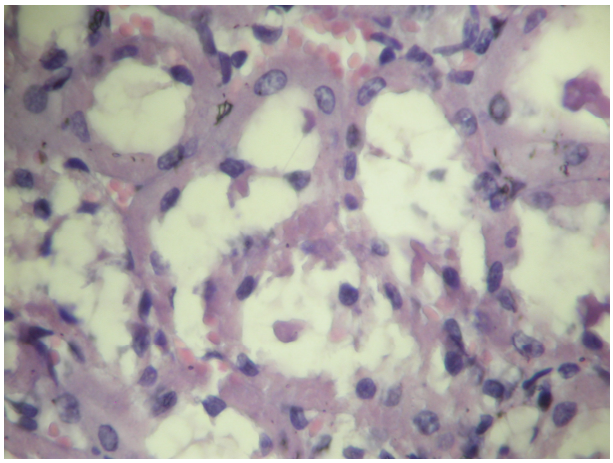
در هر گروه از موشها، نرمال سالین 5ml/kg، دوزهای ۲۰۰،۴۰۰ و ۸۰۰mg/kgعصاره قرص کمر بصورت خوراکی تجویز شده است. گروه Sham هیچگونه درمانی دریافت ننموده اند و صرفا در شرایط آزمایشگاه قرار داشته اند. میزان کراتینین در هر گروه بصورت mean±SEM محاسبه گردید. N =6

مطالعات هیستوپاتولوژی: در بررسی عکسها و نمونه های هیستوپاتولوژی، لوله های ادراری کلیه و لوبولهای کبدی بدون تغییرات ماندند و ساختمان خود را حفظ کردند، فقط در مورد دوز ۸۰۰mg/kg در کلیه مختصری نکروز لوله های ادراری و در کبد تخریب هپاتوسیتها مشاهده گردید و از طرفی با افزایش دوز، کاهش ذخیره گلیکوژن در کبد مشاهده شد. اما با توجه به پایدار بودن ساختمان بافت در کبد و کلیه در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg اثر سمی مشاهده نگردید (تصاویر ۲و۱).

میزان LD50: پس از تجویز دوزهای ۳۲۰۰ mg/kg و ۶۴۰۰ mg/kg از عصاره قرص کمر به گروهی از حیوانات، پس از گذشت ۴۸ ساعت هیچگونه مرگی مشاهده نگردید و لذا LD50 عصاره بالاتر از ۶۴۰۰ mg/kg می باشد.



عکس شماره ۱. بافت کبد موش گروه درمان شده با دوز ۸۰۰ mg/kg عصاره قرص کمر بمدت ۷ روز با بزرگنمایی ۴۰ برابر



عکس شماره ۲. بافت کلیه موش گروه درمان شده با دوز ۸۰۰mg/kg عصاره قرص کمر بمدت ۷ روز با بزرگنمایی ۴۰ برابر

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.1.2.7]

جدول شماره ۱. میزان تغییرات وزن روزانه حیوانات در گروههای مختلف درمان شده باعصاره متانولی قرص کمر(A.O) نسبت به روز اول در ۶ رت

گروههای درمانی	میانگین درصد تغییرات وزن در روزهای مختلف	میانگین وزن در روز اول (گرم)	روز دوم	روز سوم	روزچهارم	روز پنجم	روزششم	روز هفتم
Normal Saline 5ml/kg		۲۴۲/۵	-۰/۸۹	۰/۰۷	۱/۵۷	۱/۹۹	۱/۱۶	۲،۶۸
200 mg/kg (A.O)		۲۱۷/۶۶	-۳/۳	-۵/۲	-۶/۹۹	-۷/۸۳	-۷/۸۳	-۸/۷۵
400 mg/kg (A.O)		۲۲۵/۶	-۳/۵۴	-۶/۸۷	-۸/۲۷	-۹/۶	-۱۰/۷۸	-۱۲/۱۱
800 mg/kg (A.O)		۲۱۳/۶	-۰/۵۴	-۴/۶	-۷/۷۲	-۷/۸۹	-۷/۷۲	-۹/۳۹
Sham (No Treatment)		۲۲۹	۰/۱۴	-۰/۶۵	۱/۳۸	۵/۹۶	۶/۲۵	۵/۶

جدول شماره ۲. میزان فعالیت آنزیم های ادراری GGT , LDH نسبت به کراتینین، در گروههای کنترل و گروه های درمان شده با دوز های مختلف عصاره قرص کمر در ۶ رت

مقادیر	تجویز	Normal Saline Mean±SEM	200mg/kg Mean±SEM	400mg/kg Mean±SEM	800mg/kg Mean±SEM
$\frac{LDH}{Creatin}\left(\frac{Iu}{mg}\right)$		۰/۰۰۷۵±۰/۰۰۷۵	۰/۰۳۰۹±۰/۰۱۳۷	۰/۰۳۸۴±۰/۰۲۸۳	۰/۰۰۳۸±۰/۰۰۳۸
$\frac{GGT}{Creatin}\left(\frac{Iu}{mg}\right)$		۰/۰۰۳۵±۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۳۲±۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۵۸±۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۸۰±۰/۰۰۰۸

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه نشان داد که تجویز عصاره خوراکی قرص کمر با هیچگونه سمیتی با دوز ۲۰۰mg/kg برکبد و کلیه رت ندارد. در بررسی تغییرات وزن کلیه حیوانات نسبت به ۱۰۰ گرم وزن آنها، با توجه به اینکه دوزهای۲۰۰ mg/kg ۴۰۰ باعث تغییرات اندک این نسبت در مقایسه با گروه شاهد بود اما نشانه ایی از سمیت نمی باشد. این اندکس در مواردیکه سمیت کلیوی مطرح باشد مانند تحقیقات مشابه صورت گرفته می بایست چندین برابر باشد و نسبت وزن کلیه به۱۰۰ گرم بدن دو تا سه برابر کم یا زیاد گردد، پس این تغییرات کم، نشانه ای از سمیت نمی باشند (۱۸و۱۴).

اثر عصاره گیاه فوق الذکر بر روی آنزیم AST در مقایسه با گروه شاهد بصورت افزایش آنزیم دیده شد. از آنجا که آنزیم AST شاخص خیلی اختصاصی برای آسیب کبدی نیست (۱۸) ارتباط ضعیف تری با سمیت گیاه بر روی بافت کبدی می تواند داشته باشد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که گیاه قرص کمر آسیب پارانشیمی کبدی قابل ملاحظه ای بصورت افزایش آنزیم های AST,ALT ایجاد نمی کند. اثر گیاه Anacardium Occidentale بر روی آنزیم ALT بصورت کاهش مقدار این آنزیم می باشد و این نشانگر عدم سمیت دوزهای فوق بر کبد موش صحرایی است. از آنجا که آنزیم ALT نشانگر اختصاصی تر برای آسیب کبدی است (۱۹) می توان نتیجه گرفت که عصاره این گیاه با دوزهای مذکور فاقد اثرات سمی بر روی پارانشیم و سلولهای کبدی می باشد. اما در مورد کاهش مقدار آنزیم ALT در گروه با دوز ۸۰۰mg/kg، علل گوناگونی می تواند وجود داشته باشد از جمله وجود ماده ای در عصاره قرص کمر که می تواند باعث جلوگیری از سنتز ALT گشته یا علل دیگر که احتیاج به تحقیقات تکمیلی می باشد (۷و۵و۳).

بررسی آنزیم ALP (ALKP) نشان داد، که مقدار این آنزیم در مقایسه با گروه شاهد با دوز ۲۰۰mg/kg و گروه NS بطور معنی داری کم شده است ولی با سایر دوزها ۴۰۰mg/kg و ۸۰۰mg/kg این کاهش معنی دار نبود. دوز ۲۰۰mg/kg تغییری در میزان این آنزیم در مقایسه با نرمال سالین ایجاد نکرد. با افزایش دوز به ۴۰۰ و۸۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن افزایش میزان این آنزیم مشاهده شد ولی این افزایش معنی دار نبود. لذا علیرغم تفاوت قابل توجه میزان این آنزیم در گروه شاهد و نرمال سالین، با توجه به اینکه این تغییرات بسیار کمتر از سه برابر است لذا بحث سمیت کبدی عصاره قرص کمر با دوزهای فوق منتفی است (۱۴) و نشانگر عدم سمیت عصاره این گیاه بر روی اپی تلیوم مجاری صفراوی و ایجاد کلستاز می باشد (۱۹). در مورد مقدار BUN و کراتینین که نمایانگر عملکرد کار کلیه می باشند، هیچگونه اختلافی در مقدار این پارامترها در گروه های مورد آزمایش با گروه شاهد مشاهده نگردید که نشان دهنده عدم ایجاد سمیت کلیوی توسط عصاره قرص کمر و عدم ایجاد تغییر در عملکرد کلیه می باشد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.1.2.7]

با توجه به نتایج و مشاهدات صورت گرفته دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg عصاره قرص کمر فاقد سمیت کبدی و کلیوی بوده و در مورد دوزهای بالاتر نیاز به تحقیقات بیشتر و کاملتر می باشد. برای بررسی میزان LD50 عصاره دانه گیاه قرص کمر، پس از تجویز دوزهای ۳۲۰۰, ۶۴۰۰mg/kg به یکسری از موشها، به مدت ۴۸ ساعت، هیچگونه مرگی مشاهده نگردید که نشان دهنده قابل تحمل بودن دوز بالای عصاره برای حیوان می باشد و LD50 عصاره متانولی قرص کمر بیشتر از ۶۴۰۰ mg/kg می باشد.

تحقیقات مشابه صورت گرفته، برای سایر قسمتهای گیاه قرص کمر از جمله برگ آن نیز نشانگر عدم ایجاد آثار سمی در کلیه و کبد موشها تا دوز ۲۰۰۰ mg/kg می باشد (۱۶) و تحقیقاتی هم در مورد اثرات فارماکولوژی مانند آنتی اکسیدان، کاهش دهنده قند خون، ضد التهابی انجام شده است (۲۲-۲۰). در بررسی منابع اطلاعاتی تحقیقی در مورد بررسی اثرات دوزهای مختلف عصاره متانولی قرص کمر بر کبد و کلیه صورت نگرفته که نتایج آن با نتایج این تحقیق مقایسه شود. در مجموع با توجه به تحقیقات قبلی (۹و۸) و نتایج این تحقیق که بیانگر عدم سمیت کبدی وکلیوی عصاره متانولی قرص کمر با دوزاژ ضددردی می باشد، بنظر می رسد که قرص کمر کاندید مناسبی برای ادامه تحقیقات جهت دستیابی به یک ترکیب ضد درد و ضد التهاب جدید باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، بخاطر تامین بخشی از هزینه‌های این تحقیق، تشکر و قدردانی می شود.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.1.2.7]

Effects of Anacardium Occidentale Extract on Histopathology and Hepato- Renal Function Tests in Rats

M.R. Heidari (MSc) [1], M.R. Heidari (Pharm.D, PhD) [2*], B. Naghibi (MD, PhD) [3], M.R. Mirshamsi (MSc) [3], J. Vafazadeh (BSc) [3], M. Heidari [3, 4], S. Dabiri (MD, PhD) [4, 5], M. Abbasifard (MD) [3, 5]

1. Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Pharmaceutics, Neuroscience and Physiology Research Centers, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3. Pharmaceutics Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
4. Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
5. Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

J Babol Univ Med Sci;13(1); Jan 2011

Received: Dec 22nd 2009, Revised: Jun 2nd 2010, Accepted: Dec 8th 2010.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: In Iranian traditional medicine, the core of the fruit of Anacardium occidentale (A.O) was used for relief of pain. Significant analgesic effect of A.O methanolic extract was reported previously. By considering the hepato-renal adverse effects of common analgesic drugs, therefore the hepatorenal toxicity of percolated extract of A.O were investigated in this study.

METHODS: In this experimental study, 30 male rats between 190-270 g weight (five groups of six male rats in each group) were used. The extract was administered orally to three groups of 6 male rats with doses of 200, 400 and 800mg/kg every 24 hours for 7 days. Normal saline was administered 5ml/kg, in control group. One other control group was used without any treatment (Sham). At the end of 7th day, urine, blood and tissue specimen were collected for analysis. In second phase of the experiment, the blood enzymes including; Alanin transpherase (ALT), Aspartate transpherase (AST), Alkalin phosphatase (ALP), and the serum creatinin (Cr), and the Blood Urea Nitrogen (BUN) and urinary enzymes activity including; gama-glutamil transpherase (GGT), and lactate dehydrogenase (LDH), changes in the left kidney weight were determined. In third phase of the experiment, histopatological study in kidney and liver were evaluated.

FINDINGS: Renal function tests showed, there were no significant differences in BUN and creatinin levels of the control and extract treated groups, and histopathological studies showed no changes in tubules of kidneys, but there was little changes at doses of 800mg/kg. There were significant increases in AST levels at doses of 400 and 800mg/kg ($p<0.05$) but there was a significant decrease in ALT levels only at doses of 400mg/kg ($p<0.01$). There was a significant decrease in ALP levels in 200mg/kg group in comparison to Sham groups ($p<0.01$). The histopathologic studies of liver showed evidence of hepatotoxicity with high dose of 800mg/kg.

CONCLUSION: The results showed no hepatorenal toxicity after oral administration of 200 and 400mg/kg methanolic extract of (A.O). But there were some evidences for hepatorenal toxicity with higher doses of extract, 800mg/kg (A.O). Since therapeutic analgesic dose (200 mg/kg) of A.O did not induce any hepatorenal toxicity, therefore it seems that the A.O is a suitable plant for further investigation for introducing as analgesic drug for clinical use.

KEY WORDS: *Anacardium Occidental, Hepatotoxicity, Renal toxicity, Methanolic extract.*

*Corresponding Author;
Address: Pharmaceutics, Neuroscience and Physiology Research Centers, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Haft Bagh Blvd., Kerman, Iran
Tel:+98 341 3205001-2
E-mail: Heidarimr@yahoo.com, Heidarimr@kmu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.1.2.7]

References

1. Ivey KJ. Gastrointestinal intolerance and bleeding with non narcotic analgesics. Drugs 1986;32(Suppl 4):71-89.
2. Dehpor A, Moosazadeh K. Pharmacology basics in adverse effects. 2nd ed. Tehran, Razi1991; pp: 127-9. [in Persian]
3. Amin GH. Popular medicinal plants of Iran. 1st ed. Tehran, Iranian Research Institute of Medical Publication 1995; p: 125. [in Persian]
4. Farnia F, Jahanghiri A. The source plant drug production technology. 1st ed. Tehran, Jahanghiri Publication 1995; p:134. [in Persian]
5. Aeinechi Y. Medicinal plants, 1st ed, Tehran, Tehran University Publications 1991; pp: 1054. [in Persian]
6. Mirheidari H. The plants' knowledge. 3rd ed. Tehran, Cultural Islamic Publication 1996; pp: 47-472. [in Persian]
7. Mirheidari H. The treasure of plants' mysteries. 1st ed. Tehran, Vahid Publication 1985; pp: 77-472. [in Persian]
8. Heidari MR, Sepehri GH, Asadi poor A, Karimian J. The analgesic effect of methanolic extract of anacardium occidental in mice. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2000;8(1):65-72.[in Persian]
9. Heidari MR, Behravan E, Heidari M, Fatemi G, Etemad L. Comparison of gastric ulcerogenicity of percolated extract of anacardium occidental (cashew nut) with indometasin in rats. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences 2011.[in Process]
10. Zargari A. Herbal medicine. 6th ed. Tehran, Tehran University Publication 1992; pp: 574-576-588-608-610. [in Persian]
11. Lesley B. Herbs. 3rd ed. London, Dorling Kindersley 1994; p: 36.
12. Samsam Shaariat H. Selected herbal medicine. 1st ed. Isfahan, Mani Publication 2005; p: 283. [in Persian]
13. Heidari M, Mirshamsi M, Naghibi B, Heidari M, Vafazade J, Heidari M. Evaluation of hepatoxicity and renal toxicity of methanolic extract of Capparis Spinosa in rats. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci Health Serv 2010;18(1):47-55.[in Persian]
14. Naghibi B, Ghafghazi T, Hajhashmi V, Talebi A, Taheri D. The effect of 2, 3 dihydroxybenzoic acid and tempol in prevention of vancomycin induced nephrotoxicity in rats. Toxicology 2007;232(3):192-9.
15. Zahedi MJ, Heidari MR, Mohajeri M. Study of the effect of valerian officinalis and echium amoenum on the liver and renal function tests in rat. J Kerman Univ Med Sci 2004;11(1):22-7. [in Persian]
16. Konan NA, Bacchi EM, Lincopan N, Varela SD, Varanda EA. Acute, subacute toxicity and genotoxic effect of a hydroethanolic extract of the Cashew (Anacardium occidental L). J Ethnopharmacol 2007;110(1):30-8.
17. Kazem M. Statistical methods and health indices. 1st ed. Tehran, Moallefin Publication 1983; pp: 118-121, 289. [in Persian]
18. Corman B, Michel JB. Glomerular filtration, renal blood flow, and solute excretion in conscious aging rats. Am J Physiol 1987;253(4):555-60.
19. Oates JA. Principles of drug therapy. In: Faucia AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, eds. Harrison's principles of internal medicine. 14th ed. MC Graw Hill 1998; pp: 1663-7.
20. Singh B, Kale RK, Rao AR. Modulation of antioxidant potential in liver of mice by kernel oil of cashew nut (Anacardium occidentale) and its lack of tumour promoting ability in DMBA induced skin papillomagenesis. Indian J Exp Biol 2004;42(4):373-7.
21. Ojewole JA. Laboratory evaluation of the hypoglycemic effect of Anacardium occidentale Linn (Anacardiaceae) stem-bark extracts in rats. Methods Find Exp Clin Pharmacol 2003;25(3):199-204.
22. Mota ML, Thomas G, Barbosa Filho JM. Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of Anacardium occidental L. J Ethnopharmacol 1985;13(3):289-300.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1389.13.1.2.7]