

التأثير العلاجي لفيتامين ج على كبد ذكور الجرذان المعاملة بالباراسيتامول

الهالي حسين شيبس¹، وفاء فرج الماطوني¹، أمينة خليل الزيداني¹، فاطمة الحسين بن صالح¹، نسرين محمد الجدي¹، فتحية علي حنيش¹

¹ا قسم الأحياء، شعبة علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة مصراتة، مصراتة، ليبيا

AlhammalysHabash67@gmail.com
elmatonw@sci.misuratau.edu.ly

الملخص:

يعتبر الباراسيتامول أحد المسكنات المستخدمة لتخفيف الآلام وكخافض للحرارة، إلا أن الجرعات العالية منه تسبب تسمماً للكبد، كما يعتبر فيتامين ج أحد مضادات الأكسدة المعروفة، حيث تم استخدامه في هذا البحث لمعالجة السمية الكبدية الناتجة من الجرعات العالية للباراسيتامول. أظهرت نتائج الفحص النسيجي وجود نخر في خلايا الكبد، واحتقان في الأوعية الدموية نتيجة التسمم بالجرعات العالية من الباراسيتامول. بينت الدراسة قدرة الفيتامين ج على التقليل من النخر الكبدية، ورجوع نسيج الكبد نسبياً للشكل الظاهري الطبيعي ذو الأنوية المنتظمة ولاحظ كذلك زوال الاحتقان في بعض الأوعية الدموية إلي حد معين. مما سبق يمكن القول بأن فيتامين ج ساهم في علاج التسمم الكبدية الناتج عن الباراسيتامول.

الكلمات المفتاحية: الباراسيتامول (Paracetamol)، فيتامين ج (Vitamin C)، نسيجية الكبد (Liver Histology).

المقدمة

الكبد (Liver) هو العضو الأكبر والأهم في الجسم و يؤدي العديد من الوظائف الحيوية كإنتاج الصفراء، تخزين الفيتامينات (Vitamins)، المعادن (Minerals)، البروتينات (Proteins)، الدهون (Fats)، وتخزين الجلوكوز (Glucose Storage) من النظام الغذائي [1]. يعتبر الكبد من الأعضاء التي تستطيع تجديد خلاياها وكتلتها الأصلية في أيام قليلة عند التعرض للضرر، ومع ذلك عندما يتجاوز الضرر الخلوي حد معين يحدث فشل للكبد [2]. يعمل الكبد على تصفية المواد السامة (Toxic Substances) من الجسم بما في ذلك الأدوية التي غالباً ما يؤدي تناولها العشوائي إلى حدوث اضطرابات في نسيج الكبد ووفقاً لما تشير إليه الدراسات فإن تناول بعض الأدوية التي تعطى دون وصفة طبية كالباراسيتامول مثلاً يمكن أن يؤدي لتأثيرات سامة في نسيج الكبد [3].

يعتبر الباراسيتامول (Paracetamol) والذي يعرف باسم أسيتامونوفين (Acetamonophen) المسكن الأكثر استخداماً لخفض الحرارة فهو غير ضار عند الجرعات العلاجية المعتمدة والموصى بها، ولكن الجرعة الزائدة من الباراسيتامول تسبب تحطيم الخلايا الكبدية بشكل مميت [4]، حيث يُعد أحد الأدوية التي استعملت مختبرياً لإحداث التسمم الكبدية [5].

تشير الدراسات السابقة إلي أن الجرعات العالية من الباراسيتامول تتسبب في تسمم الكبد بتورم الخلايا الكبدية في منتصف فصيصات الكبد [6]، وظهور مناطق واسعة من النخر الكبدية (Necrosis) مع تغيرات في الأوعية الدموية [7]، كما لوحظ ظهور إحتقان (Congestion) في الأوردة البابية [8]، و امتداد الضرر لغالبية الفصيص الكبدية مع فقدان ملحوظ لنمطها الطبيعي، ويصاحب ذلك وجود تجلط دموي في الأوعية الدموية الكبدية [9].

تبين أن النخر الحاد الناتج عن سمية الباراسيتامول يمتد في جميع أنحاء منطقة منتصف نسيج الكبد نحو المنطقة الطرفية مع إزالة الخلايا الكبدية الميتة تاركة مسافات خالية داخل النسيج [10]. يصاحب النخر الشديد في خلايا الكبد عند التسمم بالباراسيتامول اختفاء أنوية الخلايا الكبدية المتضررة [11]، وظهور فجوات واضحة داخل سيتوبلازم الخلايا الكبدية [12]، كما لوحظ خروج الخلايا الليمفاوية من الوعاء الدموي إلي المكان المتضرر [13,14].

يُعد فيتامين ج (Vitamin c) الذي يعرف أيضا باسم حمض الأسكوربيك (Ascorbic Acid) أحد مضادات الأكسدة القابل للذوبان في الماء، حيث يوجد هذا الفيتامين بشكل رئيسي في الفواكه، والخضروات [15]. أوضحت العديد من الدراسات الدور العلاجي لفيتامين ج لنسيج الكبد فتبين أنه يقلل من التغير الشكلي للخلايا الكبدية، حيث يبدو أن النخر في الخلايا في انخفاض ملحوظ خاصة في المنطقة حول الوريد المركزي (Central Vein)، وذلك عند معاملة الجرذان بجرعات عالية من الباراسيتامول [16]. لوحظ أن لفيتامين ج دور في علاج الآثار الجانبية على نسيج الكبد لدواء ميثوتريكسات (Methotrexate) المستخدم لعلاج الأورام حيث يعمل فيتامين ج على التقليل من احتقان الأوعية الدموية، والتقليل أيضا من التوسع الذي يحدث في

المنطقة البوابية (Portal Area) [17]، بالإضافة لذلك اتضح أن فيتامين ج يعمل على علاج النخر الكبدي ويقلل من احتقان الخلايا الكبدية للجرذان المعاملة بدواء الديثيل تيوكرباميت المستخدم لعلاج الأورام [18]، كما لوحظ أن لفيتامين ج دور في علاج جدار الوريد المركزي المتهتك (Damaged Wall) لنسيج الكبد نتيجة التسمم بالمبيد العشبي الباركووات (Paraquat) حيث يساعد فيتامين ج على استعادة الكبد لشكلها الطبيعي [19].

تهدف الدراسة الحالية إلى توضيح التأثير السمي للجرعات العالية من الباراسيتامول على نسيج الكبد في الجرذان البيضاء وإمكانية معالجة الآثار الضارة للباراسيتامول باستخدام فيتامين ج.

المواد وطرق العمل

الكيمويات المستخدمة (Chemicals)

تحصل على الباراسيتامول (Paracetamol) من كلية الصيدلة/جامعة مصراتة، وأعطى للجرذان فمويًا بعد إذابته في الماء المقطر، كذلك تم الحصول على فيتامين ج (Vitamin C) من كلية الصيدلة/جامعة مصراتة (Ascorbic Acid 95% Granulation, Roche Company) وأعطى للجرذان فمويًا بعد إذابته في الماء المقطر.

حيوانات التجربة (Experimental Animals)

استخدم في هذه الدراسة 32 ذكر من الجرذان البيضاء (Albino Wistar) ذات الأوزان ما بين 110-125 جرام، والتي تم الحصول عليها من بيت الحيوان التابع لقسم علم الحيوان بكلية العلوم / جامعة مصراتة وتمت تغذيتها بعليقة خليط من قمح، شعير وذرة. تم تربية الجرذان في أقفاص بلاستيكية خاصة بأبعاد (22x26 x36) حيث هينت لها كافة الظروف المختبرية من ضوء (إضاءة طبيعية؛ 13 ساعة ضوء: 11 ساعة ظلام)، ودرجة حرارة 20 ± 2 °م، وكان الماء والغذاء متاحًا لها طوال فترة التجربة.

تصميم التجربة (Experimental designs)

قُسمت حيوانات التجربة إلى أربع مجموعات عشوائية، بواقع ثمانية جرذان لكل مجموعة، و بعد فترة تأقلم لمدة أسبوعين تم معاملتها كالتالي:

المجموعة الأولى (المجموعة الضابطة Control): وهي غير معاملة.

المجموعة الثانية (المعاملة بالباراسيتامول Paracetamol): عوملت بالباراسيتامول بتركيز (400 ملجم/كجم) يوميًا لمدة أسبوعين خلال فترة التجربة [14، 16، 20].

المجموعة الثالثة (المعاملة بالباراسيتامول وفيتامين ج Paracetamol and Vitamin C): أعطيت هذه المجموعة من الجرذان باراسيتامول بتركيز (400 ملجم/كجم) يوميًا خلال الأسبوعين الأولين ثم بعد ذلك تم إعطاؤها فيتامين ج بتركيز (200 ملجم/كجم) يوميًا خلال الأسبوعين الآخرين [16، 20].

المجموعة الرابعة (المعاملة بالفيتامين ج Vitamin C): هذه المجموعة أعطيت فيتامين ج بتركيز (200 ملجم/كجم) يوميًا لمدة أسبوعين فقط [16، 20].

أعطيت جميع المعاملات فمويًا بواسطة أنبوب التجريب (Gastric Tube) كما حضرت محاليل الباراسيتامول وفيتامين ج بشكل يومي.

الدراسة النسيجية (Histological Study)

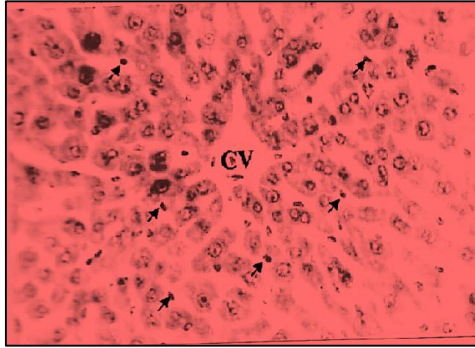
بعد انتهاء المعاملة لكل مجموعة ذبحت الجرذان بعد تخديرها بالدايثيل إيثر ثم تم تشريح الحيوان واستئصال الكبد منه ثم وزن ونظف بالمحلول الفسيولوجي (Normal Saline) وحفظ في الفورمالين (10%) لتثبيت العينة. أخذت قطاعات عرضية من النسيج بسلك 2 ملم، ثم وضعت العينة في فورمالين 10% لمدة 24-48 ساعة، ثم مررت العينة بسلسلة تصاعديّة من الكحول الإيثيلي، وبعد ذلك تمت إزالة الكحول باستخدام الزابيلين، ثم طمرت العينة في الشمع.

حضر القالب الشمعي الذي يحتوي على العينة وقطعت بواسطة جهاز التقطيع الرحوي (Microtome, Rotary Slee, Type: CUT5062, SN: B130110) بسلك 5 مايكرون، وحملت العينة على شريحة زجاجية، ثم مررت في الزابيلين، وبعد ذلك مررت في سلسلة تنازلية من الكحول الإيثيلي، ثم صبغت العينة بصبغتي الأيوسين والهيماتوكسالين.

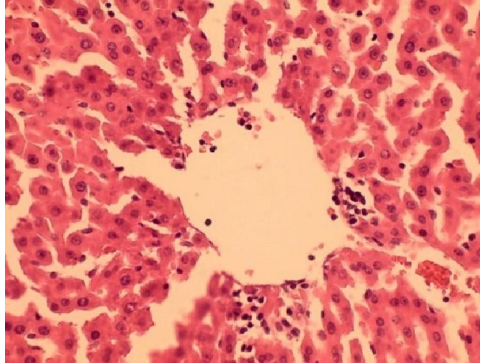
وضعت قطرة من مادة التحميل DPX على العينة لتثبيتها، ثم وضع الغطاء على الشريحة وتم فحصها تحت المجهر الضوئي [21، 22].

النتائج

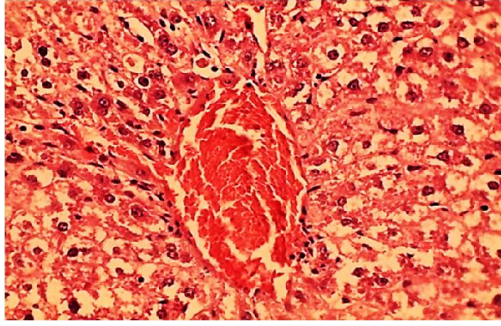
أشارت النتائج النسيجية للمجموعة الضابطة التركيب الطبيعي للخلايا الكبدية، حيث تبدو الخلايا الكبدية متعددة السطوح شعاعية الشكل من الوريد المركزي (Central Vein (CV) مع نواة مركزية. (الشكل 1) وغالبا ماتظهر الجيوب الدموية مع خلايا كويفر البلعمية (Kupffer Cells).
يوضح قطاع الكبد المعامل بفيتامين ج فقط المظهر الطبيعي للخلايا الكبدية مع أنويتها وكذلك الشكل الطبيعي للوريد المركزي (CV) (الشكل 2).
قطاع الكبد المعامل بالباراسيتامول فقط يظهر الوعاء الدموي بشكل متسع ومحتقن مع وجود خلايا الكبد بشكل متغلظ (متسع)، وتجمع لخلايا الإلتهاب (الشكل 3)، يظهر الشكل (A 4) تعافي نسيج الكبد للجرذان المعاملة بالباراسيتامول مع فيتامين ج ، حيث تبدو الخلايا الكبدية ذات شكل طبيعي و أنويتها منتظمة الشكل، مع رشح بعض الخلايا الليمفاوية (Lymphocytic Infiltration) من خلال طلائية بعض الأوعية الدموية.
أظهرت نتائج الفحص المجهرى لعينات الدراسة بداية زوال الإحتقان في الأوعية الدموية (شكل B4 و C)، مع ظهور نخر خلوي (Cellular Degeneration) في بعض الخلايا الكبدية (شكل D4).



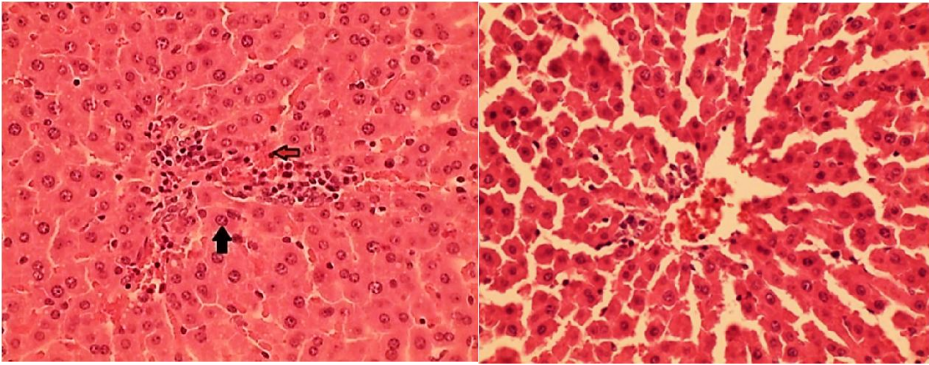
شكل 1: قطاع نسيجي لكبد جرذان المجموعة الضابطة، cv: الوريد المركزي (400x)(H&E)



شكل 2: قطاع نسيجي لكبد الجرذان المعاملة بفيتامين ج (400x)(H&E)

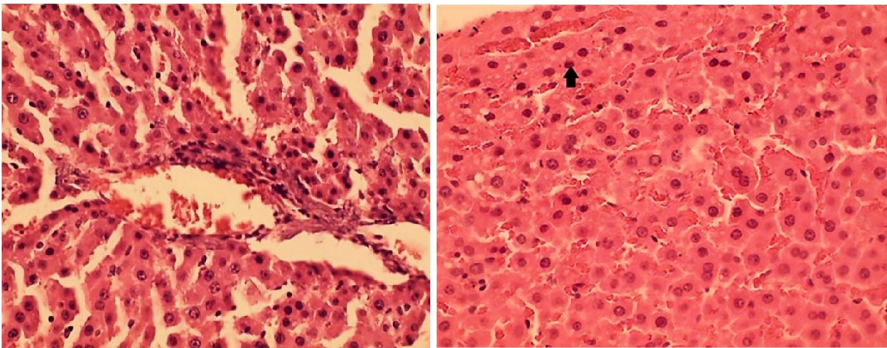


شكل 3: قطاع نسيجي لكبد الجرذان المعاملة بالباراسيتامول (H&E)(400x)



(B)

(A)



(C)

(D)

الشكل 4: قطاع نسيجي لكبد الجرذان المعاملة بالباراسيتامول + فيتامين ج. A: توضح أنوية منتظمة (السهم الأسود) ، وتوضح تسلل الخلايا الليمفاوية من الوعاء الدموي (السهم الأحمر). C,B: توضح بداية زوال الإحتقان. D: توضح تنكس خلوي في بعض الخلايا الكبدية (السهم الأسود).

المناقشة

أظهرت هذه الدراسة النخر الكبدي الشديد الذي يتميز بوجود خلايا الإلتهاب حول الوريد المركزي حيث اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج الدراسة [22] ، أما التغلظ في أنوية الخلايا وغياب الشكل الظاهري الطبيعي لنسيج الكبد عند معاملة الجرذان بالباراسيتامول فقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل إليه الباحثون في الدراستين [16,6]، بينما اختلفت نتائج الدراسة الحالية مع النتائج التي توصلت إليها الدراسة [11] التي أثبتت أن هناك إختفاء نهائي لأنوية الخلايا الكبدية و يحتتمل أن يكون سبب هذا الإختلاف في النتائج يرجع إلى الإختلاف في كمية الجرعة المرتفعة (750 ملجم/كجم) وزمن التعريض (مرة واحدة فمويًا).

يظهر الوعاء الدموي لكبد الجرذان المعاملة بالباراسيتامول في هذه الدراسة بشكل أكثر اتساعا مع وجود الإحتقان (Congestion) بشكل واضح، و الذي اتفقت مع نتائج الدراستين [9,8]. أشارت الدراسة الحالية إلى وجود ترشح في الخلايا الليمفاوية (Lymphocytic Infiltration) من الوعاء الدموي للمنطقة المتضررة بالنسيج كما بينتها الدراستين [14,13].

أثبتت إحدى الدراسات أن الباراسيتامول يعمل على التقليل من مستوى فيتامين ج لدى الجرذان [23]، حيث تم الربط بين فيتامين ج وتجدد خلايا الكبد في الدراسة [24]، فيمكن تفسير نتائج هذه الدراسة أن إعطاء فيتامين ج فمويًا عوض نقص فيتامين ج الناتج عن التعريض للباراسيتامول مما ساهم في التقليل من النخر الكبدي بشكل ملحوظ وظهور الأنوية بشكل منتظم، مع بقاء بعض مظاهر النخر الكبدي (Cellular Degeneration)، حيث اتفقت هذه النتائج مع نتائج الدراسة [16].

بينت هذه الدراسة الشكل الطبيعي لخلايا الكبد، وكذلك الشكل الطبيعي للوريد المركزي في الجرذان المعاملة بفيتامين ج اتفاقا مع الدراسة [25]، ولكنها تختلف مع نتائج الدراسة [17] التي كشفت عن وجود مستويات منخفضة من الإحتقان في الأوعية الدموية، والقليل من ترشح الخلايا الليمفاوية من الوعاء الدموي، ويحتتمل أن يكون سبب الإختلاف يرجع إلى الإختلاف في زمن التجربة والجرعة المعطاة.

الخلاصة

بينت نتائج هذه الدراسة الآثار السمية التي تسببها الجرعات العالية من الباراسيتامول موضحة النخر الشديد في الخلايا الكبدية والإحتقان في الوريد المركزي وتسلسل الخلايا الليمفاوية من الوعاء الدموي، كما أوضحت النتائج إلى أن فيتامين ج يعمل على إصلاح الضرر في النسيج الكبدي، و يقلل من النخر، ويعمل على إزالة الإحتقان ورجوع المظهر النسيجي نسبيا لوضعه الطبيعي.

المراجع

1. Bhakun, G.; Bedi, O.; Bariwai, J.; Deshmukh, R. and Kumar, P. (2015): Animal Models of Hepatotoxicity. Inflammation Research; Doi 10.1007/S00011-015-0883-0.
2. Malhi, H.; Gores, G. and Lemasters, J.(2006): Apoptosis and Necrosis in The Liver: ATale of Two Deaths. Hepatology; (43):S31-S44.
3. زيدان، نور، وعيسى، فوزي. (2012): السمية الكبدية والكلى لبعض الملوثات البيئية وكيفية الوقاية منها. مجلة أسبوط للدراسات البيئية؛ العدد السادس والثلاثون: ص63.
4. Lebda, M.; Taha, N.; Korshom, M.; Mandour, A. and Goda, R.(2013): Ginger (Zingiber Officinale) Potentiate Paracetamol Induced Chronic Hepatotoxicity in Rats. J. Med. Plant. Res; Vol 7 (42): 3164- 3170
5. Tunon,M.;Alvarez,M.; Culebras,J.and Gallego,J. (2009): An Overview of Animal Models for Investigating the pathogenesis and Therapeutic Strategies in Acute Hepatic failure. World J Gastroenterol ;15(25): 3086-3098.
6. Yousef,M.;Omar,S.; Guendi,M.and Abdelmegid,L. (2010): Potential Protective Effects of Quercetin and Curcumin on Paracetamol-Induced Histological Changes, Oxidative Stress, Impairedliver and Kidney Functions and Haematotoxicity in Rat. Food and Chemical Toxicology; Vol(48): 3246–3261.
7. Anbarasu ,C.; Rajkapoor,B .and Kalpana, J.(2011): Protective Effect of Pisonia Aculeata on Paracetamol Induced Hepatotoxicity in Rats. Journal of Experimental and Integrative Medicine; 1(3):167-172.



8. El-Maddawy, Z. and El-Sayed, Y. (2017): Comparative Analysis of The Protective Effects of Curcumin and N-Acetyl Cysteine Against Paracetamol-Induced Hepatic, Renal, and Testicular Toxicity in Wistar Rats. *Environmental Science and Pollution Research*.
9. Galal,R, ;Zakii, H.; Seif El-Nasr, M. and Agha,A. (2012):Potential Protective Effect of Honey Against Paracetamol-Inducedhepatotoxicity. *Arch Iranmed*; 15(11): 674– 680.
10. El-Bakry, H.; El-Sherif, G. and Rostom, R.(2017): Therapeutic Dose of Green Tea Extract Provokes Liver Damage and Exacerbates Paracetamol-Induced Hepatotoxicity in Rats Through Oxidative Stress and Caspase 3-Dependent Apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy* ,Vol.(96): 798–811.
11. Dash, D.; Yeligar, V.; Nayak, S.; Ghosh, T.; Rajalingam, D.; Sengupta, P.; M Aiti, B. and Maity, T. (2007): Evaluation of Hepatoprotective and Antioxidant Activity of *Ichnocarpus Frutescens* (Linn.) R.Br. on Paracetamol-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*; 6 (3): 755-765.
12. Majeed,S.; Ramadhan, M. and Monther,W. (2011): Long-Term Toxicological Effects of Paracetamol In Rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*;27(1): 65-70.
13. Soliman, M.;Nassan,M.and Ismail,T.(2014):Immunohistochemical and Molecular Study on the Protective Effect of Curcumin Against Hepatic Toxicity Induced by Paracetamol in Wistar Rats. *Complementary and Alternative Medicine*; Vol.14(457): 457-468.
14. Salem,G.; Shaban,A.; Diab, H.; Elsaghayer,W.; Mjedib,M.; Hnesh,A.and Sahu,R.(2018): Phoenix *Dactylifera* Protects Against Oxidative Stress and Hepatic Injuryinduced by Paracetamol intoxication In Rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*; 104 (2018): 366–374.
15. Adikwu,E.and Deo ,O (2013) : Hepatoprotective Effect of Vitamin C (Ascorbic Acid). *Pharmacology & Pharmacy*; 4: 84-92.
16. Hassanin, K.; Hashem, K. and Abdel-Kawi, S. (2013): Hepatoprotective Effects of Vitamin C and Micronized Vitamin C Against Paracetamol Induced Hepatotoxicity in Rats: A Comparative Study. *International Journal of Biochemistry and Biotechnology*; 2 (7): 474-483.
17. Savran,M.; Cicek, E.; Doguc,Dk.; Asci,H.; Yesilot,S.; Candan,Ia.; Dagdeviren,B.;Cankara,Fn.;Oncu,M.;U˘guz,Ac.and Ozer,Mk. (2017): Vitamin C Attenuates Methotrexate-Induced Oxidativestress in Kidney and Liver of Rats. *Physiology International*; 104 (2): 139–149.
18. Gaafa , K.; Badawy, M.and Hamza, A. (2011): The Protective Effects of Ascorbic Acid, Cimetidine, Andnifidipine on Diethyldithio carbamate-Induced Hepatic Toxicityin Albino Rats. *Drug and Chemical Toxicology*; 34(4): 405–419.
19. Awadalla,E.(2012): Efficacy of Vitamin C Against Liver and Kidney Damage Induced by Paraquat Toxicity. *Experimental and Toxicologic Pathology*; (64): 431–434.
20. Saheed,S.; Hendrik,O.and Tom,A.(2016): Zea Mays,Stigma Maydis Prevents and Extenuates Acetaminophen-Perturbed Oxidative Onslaughts In Rat Hepatocytes. *Pharmaceutical Biology*;54 (11): 2664–2673.
21. Kanchana,N.and Sadiq,A. (2011): Hepatoprotective Effect of *Plumbago Zeylanica* on Paracetamol Induced Liver Toxicity in Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 3(1): 151-154.

22. Wilhelm, E.; Jesse, C.; Leite, M. and Nogueira, C. (2009): Studies on Preventive Effects of Diphenyl Diselenide on Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Pathophysiology*; (16): 31–37.
23. Ojo, O.; Kabutu, R.; Bello, M. and Babayo, U. (2006): Inhibition of Paracetamol-Induced Oxidative Stress in Rats by Extracts of Lemongrass (*Cymbopogon Citratus*) and Green Tea (*Camellia Sinensis*) In Rats. *African Journal Of Biotechnology*; 5(12): 1232-1227.
24. Maldonado, M.; Inostroza, E.; Peña, E.; Moncada, N.; Mardones, L.; Medina, J.; Muñoz, A.; Gatica, M.; Villagrán, M.; Escobar, E.; Mendoza, P.; Roa, F.; González, M.; Guzmán, P.; Gutiérrez-Castro, F.; Sweet, K.; Muñoz-Montesino, C.; Vera, J. and Rivas, C. (2017) : Sustained Blockade of Ascorbic Acid Transport Associated with Marked SVCT1 Loss in Rat Hepatocytes Containing Increased Ascorbic Acid Levels after Partial Hepatectomy. *Free Radical Biology and Medicine*.
25. Ozturk, I.; Ozturk, F.; Gul, M.; Ates, B. and Cetin, A. (2009): Protective Effects of Ascorbic Acid on Hepatotoxicity and Oxidative Stress Caused by Carbon Tetrachloride In The Liver of Wistar Rats. *Cell Biochem Funct*; Vol:(27): 309–315.



The Therapeutic Effect of Vitamin C on The Liver of Albino Rats (Albino Wistar) Treated with Paracetamol

Alhammaly Hussein Shabash¹, Wafa Farag El Matoni¹, Amina Khalil Alzedani¹, Fatima Alhussein ben Saleh¹, Nesrin Mohamed Eljadi¹, Fathia Ali Ahnish¹

¹Biology department, zoology branch, faculty of science, Misurata university, Libya

Alhammalyshabash67@gmail.com

elmatonw@sci.misuratau.edu.ly

Abstract:

Paracetamol is a pain reliever used as an antihypertensive agent. However, high doses of paracetamol cause hepatotoxicity. Vitamin C is an antioxidant used to treat hepatotoxicity caused by high doses of paracetamol. Here, histological examination showed liver necrosis and vasoconstriction due to high paracetamol toxicity. The study also showed the ability of vitamin C to reduce hepatic necrosis, and the return of the liver tissue to the natural phenotype with regular nuclei. From the above it can be said that vitamin C has contributed to the treatment of hepatotoxicity caused by paracetamol.
