

# بررسی سمیت تحت حاد داروی طبیعی MS14 در موش صحرائی (Rat)

دانشور  
ر  
پزشکی

نویسندگان: دکتر ولی<sup>۱</sup>، حاج‌هاشمی<sup>۱</sup>، دکتر تقی قفقازی<sup>۲</sup> و دکتر امراله احمدی<sup>۳</sup>

۱. دانشیار گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۲. استاد گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۳. متخصص چشم

## چکیده

در این تحقیق سمیت تحت حاد داروی MS14 که برای کنترل بیماری مولتیپل اسکلروز (MS) تهیه شده مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش‌ها از موش‌های صحرائی نژاد ویستار و از هر دو جنس استفاده شد. حیوانات به مدت ۲۸ روز دوزهای ۶۲۵، ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ mg/kg از داروی MS14 را از راه خوراکی و به صورت روزانه دریافت کردند. گروه کنترل حامل (محلول ۱ درصد کربوکسی متیل سلولز) دریافت کرد. در پایان این دوره، نمونه‌های خونی و سرمی برای آزمایش هماتولوژی و بیوشیمیایی و نمونه‌های بافتی برای مطالعه هیستوپاتولوژیک تهیه شد. نتایج نشان داد که هیچ‌کدام از دوزها در طول مدت ۲۸ روز باعث مرگ و میر و یا تغییرات رفتار و علائم اتونومیک حیوانات نشده است. پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک نیز در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنادار نداشت. نتایج بررسی هیستوپاتولوژیک نیز بیانگر عدم تأثیر سوء دارو بر بافت‌ها بود. هر چند که نتایج این تحقیق، ایمنی بالای این فرآورده را در این مدل آزمایشگاهی نشان می‌دهد با این حال انجام سایر آزمایش‌های سمیت نیز ضروری به نظر می‌رسد.

**واژه‌های کلیدی:** MS14، سمیت تحت حاد، پارامترهای بیوشیمیایی، پارامترهای هماتولوژی، هیستوپاتولوژی

دوماهنامه علمی -  
یژومشی

## مقدمه

مولتیپل اسکلروز (MS) یک بیماری التهابی مزمن محسوب می‌شود که با از بین رفتن میلین اعصاب در سیستم اعصاب مرکزی همراه است. این بیماری در مراحل اولیه الگوی عود و بهبودی مکرر نشان می‌دهد.

دوز بالای گلوکوکورتیکوئیدها اغلب به عنوان درمان استاندارد حملات MS محسوب می‌شود [۲۰] و ایترفرون بتا (IFN $\beta$ ) نیز آثار سودمندی در کنترل عود و پیشرفت MS دارد [۴۳]. این بیماری به طور کلی جزء بیماری‌های اتوایمیون طبقه‌بندی می‌گردد؛ ولی شواهدی

شدند و خون آن‌ها برای آزمایش‌های هماتولوژی و نیز تهیه سرم جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون به مدت تقریباً ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شدند. سپس با کمک سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سرم جدا گردید و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

غلظت سرمی گلوکز، اوره، کراتینین، آلبومین، گلوبولین و فعالیت آنزیمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) با کمک دستگاه اتوآنالیزور (RA-1D00, USA) تعیین گردید.

### آزمایش‌های هماتولوژی

پارامترهای هماتولوژی، شامل تعداد گلبول‌های قرمز، سفید و پلاکت و نیز هماتوکریت و غلظت هموگلوبین با کمک دستگاه H-1 (آمریکا) تعیین گردید.

### اتوپسی و هیستوپاتولوژی

در حین اتوپسی، تمام اعضا از نظر ماکروسکوپی معاینه شدند. بافت‌هایی مثل مغز، قلب، کلیه، طحال، معده و ریه و همچنین بافت روده بزرگ، روده کوچک، پوست و عضله مخطط در فرمالین ۱۰ درصد فیکس (ثابت) شد. برش‌هایی از این بافت‌ها تهیه و با کمک هماتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شد و مورد بررسی هیستولوژیک قرار گرفت.

### آنالیز آماری

مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده است. میانگین گروه‌ها با گروه کنترل با کمک آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست دانست (Dunnett's test) مقایسه و  $P < 0.05$  به عنوان اختلاف معنادار در نظر گرفته شد.

نیز وجود دارد که استرس اکسیداتیو در بروز و تشدید بیماری MS دخالت دارد [۵]. داروی MS14 که یک داروی طبیعی با منشأ دریایی و گیاهی و برگرفته از تجارب دانشمندان ایرانی و طب سنتی ایران است در مطالعه اولیه‌ای که بر روی تعداد محدودی از بیماران داوطلب مبتلا به MS صورت گرفته با نتایج رضایت‌بخشی همراه بوده است [۶]. از آن‌جا که سمیت این دارو بررسی نشده، مطالعه حاضر به بررسی سمیت تحت حاد آن در موش صحرایی می‌پردازد.

### مواد و روش‌ها

#### حیوانات

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نژاد ویستار با وزن  $180 \pm 20$  گرم و از هر دو جنس استفاده شد. این حیوانات از انستیتو پاستور تهران خریداری و در اتاق حیوانات دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری شدند. حیوانات در دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند.

این حیوانات با پلت‌های مخصوص حیوانات آزمایشگاهی تغذیه می‌شدند و آب نیز به میزان دلخواه در دسترس آن‌ها بود. درست قبل از نمونه‌گیری و قربانی کردن، حیوانات به مدت یک شب فقط از غذا محروم بودند [۷]. در هر گروه ۵ موش صحرایی نر و ۵ موش صحرایی ماده وجود داشت.

حیوانات گروه اول به عنوان کنترل، حامل (محلول آبکی ۱ w/v درصد کربوکسی متیل سلولز با حجم ۵ ml/kg)، و گروه دوم، سوم و چهارم به ترتیب دوزهای ۶۲۵، ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ mg/kg را روزانه از راه خوراکی و به مدت ۲۸ روز دریافت کردند.

در طول این مدت، حیوانات از نظر مرگ و میر، هوشیاری، تحریک CNS، وضعیت بدن، تونوس عضلانی، رفلکس‌ها و علائم اتونومیک هر روز کنترل شدند.

همچنین وزن حیوانات هر هفته یک بار اندازه‌گیری و ثبت شد [۸]. در پایان این دوره، حیوانات قربانی

**نتایج**

این تحقیق، تأثیری بر وزن حیوانات نداشت که این امر نشان می‌دهد دارو باعث تغییر اشتها و تغییر فرایندهای گوارشی نمی‌شود. نتایج تأثیر دارو بر پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی در جداول ۱ و ۲ آورده شده است. این دارو در هیچکدام از پارامترهای فوق تغییر معنادار ایجاد نکرد. نتایج پاتولوژیک نیز در مورد گروه کنترل و گروه‌های آزمایش تفاوتی را نشان نداد.

تجویز روزانه MS14 به مدت ۲۸ روز و با دوزهای ۶۲۵، ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ mg/kg باعث مرگ و میر حیوانات نشد و هیچ تغییری نیز در وضعیت حرکتی، تونوس عضلات، علائم اتونومیک و سطح هوشیاری حیوانات ایجاد نکرد. اثر دارو بر وزن حیوانات در نمودار ۱ آورده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود این دارو حتی با حداکثر دوز به کار رفته در

جدول ۱ اثر تجویز ۲۸ روزه دوزهای مختلف MS14 بر پارامترهای هماتولوژیک موش صحرایی

گروه	دوز (mg/kg)	هموگلوبین (g/dl)	هماتوکریت (%)	تعداد گلبول قرمز (Cell x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	تعداد گلبول سفید (Cell x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	تعداد پلاکت (Cell x 10 <sup>5</sup> /mm <sup>3</sup> )
کنترل MS14	۰	۱۳/۵±۱/۴	۴۸/۵±۲/۶	۴/۶±۰/۶	۴/۴±۰/۳	۸/۶±۰/۳
	۶۲۵	۱۳/۹±۱/۰	۵۰/۲±۳/۷	۵/۱±۰/۸	۴/۲±۰/۳	۸/۸±۰/۷
	۱۲۵۰	۱۳/۳±۱/۱	۴۶/۶±۲/۸	۴/۷±۰/۸	۴/۰±۰/۶	۹/۱±۰/۴
	۲۵۰۰	۱۳/۷±۰/۸	۴۹/۲±۴/۳	۵/۲±۰/۵	۴/۲±۰/۴	۸/۸±۰/۶

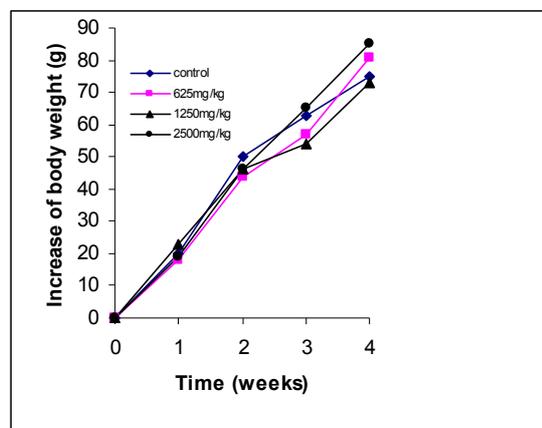
مقادیر میانگین ± انحراف معیار مربوط به ۱۰ موش صحرایی در هر گروه است.

جدول ۲ اثر تجویز ۲۸ روزه دوزهای مختلف MS14 بر پارامترهای بیوشیمیایی موش صحرایی

گروه	دوز (mg/kg)	گلوکز (mg/dl)	اوره (mg/dl)	کراتینین (g/dl)	آلبومین (g/dl)	گلبوبلین (IU/ml)	AST (IU/ml)	ALT (IU/ml)	ALP (IU/ml)	LDH (IU/ml)
کنترل MS14	۰	۸۷±۶	۳۶±۶	۰/۴۶±۰/۰۶	۴/۲۵±۰/۲۰	۲/۱±۰/۱۱	۱۰۲±۱۲	۳۲±۳/۴	۳۵/۳±۶/۳	۱۷۸۲±۱۱۰
	۶۲۵	۸۰±۴	۳۸±۷	۰/۳۸±۰/۰۷	۴/۱۲±۰/۳۸	۱/۹۰±۰/۰۶	۹۴±۱۶	۲۸±۶/۳	۳۹/۴±۳/۷	۱۶۶۵±۱۴۲
	۱۲۵۰	۷۶±۵	۴۲±۴	۰/۴۵±۰/۰۳	۴/۱۸±۰/۲۵	۲/۲±۰/۱۹	۱۰۵±۲۱	۲۶±۵/۲	۳۳/۲±۳/۱	۱۷۰۳±۲۲۳
	۲۵۰۰	۸۳±۵	۴۰±۵	۰/۴۰±۰/۰۵	۴/۲۳±۰/۳۲	۱/۹±۰/۱۷	۹۸±۱۷	۲۹±۶/۱	۳۷/۶±۴/۵	۱۴۶۵±۲۱۶

مقادیر میانگین ± انحراف معیار مربوط به ۱۰ موش صحرایی در هر گروه است.

موش‌های صحرایی نژاد ویستار از هر دو جنس در گروه‌های ۱۰ تایی از راه خوراکی حامل (گروه کنترل) و یا دوزهای مختلف MS14 را به مدت ۴ هفته دریافت کردند و وزن حیوانات هر هفته کنترل شد. مقادیر فوق، میانگین افزایش وزن در هر گروه را نشان می‌دهد.



نمودار ۱ اثر دوزهای مختلف MS14 بر تغییرات وزن موش صحرایی

**بحث**

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، دارو با حداکثر دوز ۲۵۰۰ mg/kg و به مدت ۲۸ روز هیچ اثر سمی نداشته و هیچ عارضه قابل ملاحظه‌ای ایجاد نکرد.

3. The IFN  $\beta$  multiple sclerosis study group. Interferon beta-1b is effective in relapsing remitting multiple sclerosis: I. Clinical results of a multicenter, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 1993; 43: 655-661.
4. Patythe DW. UBC MS/MRI study group, the IFN  $\beta$  multiple sclerosis study group. *Neurology* 1993; 43: 662-667.
5. Toshnival PK, Zarling E.J. Evidence for increased lipid peroxidation in multiple sclerosis. *Neurochem Res* 1992; 17: 205-207.
6. Report of preliminary study of changes of EDSS in MS Patients Under Treatment with MS14. K. Gharahgozli MD. Shahid Beheshti, University of Medical Sciences 2003 Tehran. Iran.
7. Ford DJ. Nutrition and feeding. In: Poole T, editor. The care and management of laboratory animals UK: Longman; 1987. pp. 35, 189.
8. Dorato MA. Voracnik M. The toxicologic assessment of Pharmaceutical and biotechnologic products. In: Hayes W, editor. Principles and methods of toxicology. 3rd ed. New York: Raven Press; 1994. pp. 189-219.
9. Schimmer BP. Parker KL. Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. Tenth ed. New York: McGraw-Hill; 2001. 1649-1677.
10. Zivadinov R, Zorzon M, Tommasi MA, et al. A longitudinal study of quality of life and side effects in patients with multiple sclerosis treated with interferon beta-la. *J Neurol Sci* 2003; 216: 113-118.
11. Tarner IH, Slavin AJ, McBride J. et al. Treatment of autoimmune disease by adoptive cellular gene therapy. *Ann NY Acad Sci* 2003; 998: 512-519.

به نظر می‌رسد که این دارو ایمنی خوبی برای استفاده در بیماران MS دارد؛ در حالی که داروهایی چون متیل پردنیزولون عوارض متعددی نظیر اختلالات خلقی، هیپوکالمی، ادم، افزایش فشار خون، تضعیف محور هیپوفیز-آدرنال و... ایجاد می‌کنند [۹]. دارویی نظیر ایتترفرون نیز عوارضی چون تب، لرز، علائم شبه انفولانزا، سردرد، درد عضلانی، طپش قلب، تهوع، دیس پنه، عوارض تزریق، بی‌خوابی و افسردگی ایجاد می‌کند [۱۰].

به نظر می‌رسد که چنانچه اثر بخشی دارو برای این بیماری در مطالعات وسیع‌تر به اثبات برسد امید تازه‌ای برای بیماران MS ایجاد کند. این که دارو به علت داشتن خواص آنتی‌اکسیدان اثر می‌کند و یا این که با تعدیل سیستم ایمنی و با توجه به ماهیت خود ایمنی بیماری MS [۱۱] عمل می‌کند، مشخص نیست و مستلزم انجام تحقیقات گسترده‌تری است.

#### منابع

1. Thompson AJ, Kennard C, Swash M, et al. Relative efficacy of intravenous methyl- prednisolone and ACTH in the treatment of acute relapse in MS. *Neurology* 1989; 39: 969-971.
2. Milligan NM, Newcombe R, Compston DAS. A double-blind controlled trial of high dose methylprednisolone in patients with multiple sclerosis: 1. Clinical effects. *J Neurol Neurosurg psychiatry* 1987; 50: 511-516.