Physiological , Biochemical and Histological effect of Digoxin on Heart and Liver in male Rabbit

(التأثير الفسلجي والكيموحيوي والنسجي لعقار الديجوكسين (Digoxin) على نسيج القلب والكبد في ذكور الارانب)

غصون غانم كعيم اشواق كاظم عبيد* وفاء كاظم جاسم**
كلية العلوم الطبية التطبيقية-قسم التحليلات المرضية *كلية التربية للعلوم الصرفة-قسم علوم الحياة
** كلية الطب البطري-فرع الفسلجة والادوية

الخلاصة

صممت هذه الدراسة لمعرفة تأثير عقار الديجوكسين على بعض المعايير الوظيفية والكيموحيوية في مصل الدم وتاثيره على نسيج القلب والكبد في ذكور الارانب البالغة من خلال اعطائها عقار الديجوكسين لمدة (60) يوما عن طريق الحقن الوريدي .استخدمت (15) عينة من ذكور الارانب وقسمت عشوائيا الى مجموعتين :المجموعة الاولى كانت مجموعة السيطرة والبالغ عددها(5)أرانب المحقونة وريديا بالماء المقطر،والمجموعة الثانية هي المجموعة المعاملة والبالغ عددها (10) أرانب المحقونة وريديا بعقار الديجوكسين بجرعة 0.02 ملغم / كغم وزن الجسم يوميا لمدة (60 يوم).تم اخذ عينات الدم من كلا المجموعتين لقياس تركيز بعض المعايير الفسلجية والكيموحيوية كتقدير مستوى انزيمي Aspartate Transminase (AST) و أنزيم(ALT) Alanine Transminase وقياس مستوى الكولستيرول (Chol) Cholesterol والدهون الثلاثية (TG) Triglyceride والبروتينات الدهنية عالية الكثافة(HDL) High Density Lipoproteins والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة(LDL) Low Density Lipoproteins والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جدا Very Low Density Lipoproteins (VLDL) في الدم وكذلك معرفة التأثير النسجي للقلب والكبد.

اظهرت نتائج الدراسة حدوث زيادة معنوية ($P < 0.05$) في تركيز انزيمي AST, ALT والكولستيرول والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة LDL والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جدا VLDL والدهون الثلاثية TG بينما اظهرت الدراسة انخفاض معنوي في مستوى البروتينات الدهنية العالية الكثافة HDL مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما اظهرت الدراسة النسجية ان عقار الديجوكسين ادى الى حدوث تغيرات نسجية واضحة على نسيجي القلب والكبد .

Abstract

This study was designed to determine the effect of a drug digoxin on some functional standards and biochemical serum in adult male rabbits. That used (15) of male rabbits and were randomly divided into two groups. The first a group was control group injected with distilled water, and the second group was the group treated with a drug digoxin dose of 0.02 mg / kg body weight per day intravenously for a period (60 days) Done taking blood samples from both groups to measure the concentration of some biochemical parameters and estimate the level of enzymatic Aspartate Transminase (AST) and enzyme Alanine Transminase (ALT), Cholesterol (Chol) Triglyceride (TG) High Density Lipoproteins (HDL) Low Density Lipoproteins (LDL) Very Low Density Lipoproteins (VLDL) in the blood, as well as knowledge of the impact on histological structure on the heart and liver.The results of the study showed significant increase $P < 0.05$)) in the concentration of enzyme ALT, AST, increase in Cholesterol (Cho), Very Low Density Lipoproteins , lipoproteins and a low-density Low Density Lipoproteins, and Triglyceride compared with control group. The study showed a significant decrease $P < 0.05$)) in the level of the high density Lipoproteins compared with control group and the study indicate that drug digoxin have a clear impact on the heart and liver tissue.

المقدمة

الديجوكسين هو عقار يستخدم لعلاج العديد من الامراض القلبية ،يستخرج من النبتة القمعية الصوفية ، و يستخلص من اوراق نبات (Digitalis lanata) وهو نوع نباتي يتبع الى جنس القمعية من الفصيلة الحملية والذي يحتوي على الكثير من المركبات والعناصر الفعالة ومنها انواع الكلايكوسيدات والتي تسمى الكلايكوسيدات القلبية cardiac glycosides والتي تؤثر على العضلة القلبية ، ان التركيب الكيميائي للديجوكسين هو $C_{41}H_{64}O_{14}$ اما وزنه الجزيئي 780.95 (1)

لقد عرف الديجوكسين من القرن الثالث عشر بأسم Digitalis purpured من تشابه ازهاره بالاصبع ،وكذلك لونه الارجواني purple وفي عام1776 م عرفت المادة الفعالة في هذا النبات بأسم Digoxin (2) وعرف الديجوكسين في الطب القديم بكونه مدر للبول وليس مقوي لعضلة القلب .ولكن في الطب الحديث عرف بانه مقوي لعضلة القلب وذلك من خلال اعطاءه قوة وسرعة انقباض عضلة القلب مما يزيد النتاج القلبي(3) .

يعتبر الديجوكسين العلاج الامثل لمرض قصور القلب الاحتقاني Congestive heart failure ،الناتج عن عدم قدرة القلب على ضخ مايكفي من الدم الى انسجة الجسم لامداده بالمواد الغذائية والاوكسجين،ويزداد القصور او الفشل القلبي بزيادة العمر والجنس والاصابة بضغط الدم وداء السكري،وفي اضطرابات الهرمونات الجنسية مما يؤثر على وظيفة الخلايا القلبية (4).

اذ وجد ان نسبة 60% تقريبا من المرضى بارتفاع الضغط الشرياني الذين يشخص لديهم هذا المرض يموتون خلال (5) سنوات بالرغم من العلاجات ، وغالبا مايحدث الموت نتيجة مضاعفات المرض على عضلة القلب (2) ،يتوزع الديجوكسين بشكل واسع ويرتبط بمختلف انسجة الجسم بدرجات مختلفة ، اذ يمتص الديجوكسين المأخوذ عن طريق الفم بنسبة (60-75) % خلال(6-8) ساعات ويمكن ملاحظة الاثار الجانبية للدواء بشكل اسرع اذا اخذ عن طريق الحقن الوريدي (5). وكذلك يمتص الديجوكسين بشكل ضعيف في القناة الهضمية ويتم التخلص من الدواء عن طريق البول حيث ان نسبة %(30) منها يخرج مع الادرار وهذا يعني ان نسبة %(70) من الجرعة المأخوذة تبقى في الجسم لاكثر من (48-72) ساعة وبما ان هذا الدواء يتطلب اعطاءه يوميا وعلى مدى كبير من الوقت،فان المشكلة الاساسية تكمن في تراكمه في الجسم مما يؤدي الى ظهور الاثر السمي له وذلك من خلال ظهور الاعراض على المريض وهي قلة الاكل والقيء والاسهال مع الغثيان،فضلا عن وجود نسبة %(25) من متناولي عقار الديجوكسين يعانون من ظهور اعراض اخرى منها الدوران وعدم اتضاح الالوان والصداع (2).

المواد وطرق العمل

اجريت الدراسة الحالية على (15) عينة من ذكور الارانب النيوزلندية البالغة من النوع *Oryctolagus Cuniculus* وتراوحت اوزانها مابين (1.30-1.22) كغم ووضعت هذه الحيوانات في اقفاص معدنية نظيفة ومعقمة وتم تربيتها تحت ظروف مسيطر عليها من ماء وتهوية مناسبة وتحت درجة حرارة 25 درجة مئوية ومدة اضاءة (14) ساعة ضوء (10) ساعة ظلام و غذيت طول مدة التجربةعلى عليق الدواجن وتركت الحيوانات لمدة 10 أيام للتاقلم مع الظروف المختبرية بعدهاقسمت الارانب الى مجموعتين المجموعة الاولى اعتبرت مجموعة السيطرة وشملت (5) ارانب المحقونة بالماء المقطر بينما اعتبرت المجموعة الثانية مجموعة التجربة التي حقنت بعقار الديجوكسين بجرعة 0.02 ملغم / كغم وزن الجسم يوميا عن طريق الوريد لمدة (60 يوم). بعد مرور الفترة الزمنية للتجربة خدرت الحيوانات بمادة الكلوروفورم وسحب الدم من القلب مباشرة عن طريق طعنة القلب Heart puncture وذلك بعد تشريحها بفتح التجويف البطني ووضعت عينات الدم في انابيب اختبار معقمة سعة (10) مللتر وذلك لاجراء الاختبارات الفسلجية والكيموحيوية اللازمة وهي قياس مستوى كل من ALT,AST في المصل بالطريقة اللونية وفقا لطريقة(.Reitmans,S. and Frankel ,S) (6) ،وشرحت الحيوانات لاستئصال القلب والكبد حيث وضعت بالفورمالين بتركيز10% لحين اجراء التقطيع النسجي اعتمادا على الطريقة الموصوفة حسب(.Presnell,J) (7) لمعرفة تاثير مادة التجريع لها.

التحليل الاحصائي

اجريت التحليلات الاحصائية للدراسة الحالية باستخدام اختبار T test اد وضعت النتائج بصيغة المعدل ± الخطا القياسي وتم استخدام البرنامج الاحصائي SPSS .(7)

النتائج والمناقشة

A -الدراسة الفسلجية

اظهرت نتائج الدراسة الحالية تأثير عقار الديجوكسين في بعض الدلائل الكيميوحيوية لدى ذكور الارانب، حيث تبين ارتفاعا معنويا $p<0.05$ في مستوى انزيمي ALT وAST (5.10±26.91) و (4.96±22.18) مقارنة بمجموعة السيطرة (8.10±17.9) و (6.49±13.5) ، وكذلك يبين الجدول ارتفاع معنوي في مستويات الدهون .Chol و TG و LDL وVLDL (7.98±289.9)، (6.11±170.812)، (4.51±90.99) و (5.80±30.12) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة كالتالي (5.92±160.8)، (6.91±80.11)، (5.91±31.01)و (6.1±19.81). بينما اوضحت النتائج وجود انخفاضا معنوياً $p<0.05$ عند HDL وفي مستوى الدم (5.91±25.49) مقارنة بمجموعة السيطرة (6.90±68.49). (جدول رقم 1)

حيث على الرغم من استعمال العقار لعلاج الكثير من امراض القلب لكن يعتبر له تاثيرات سمية بالجسم بتاثيره على الجهاز القلبي الوعائي حيث يقوم بزيادة انقباضية عضلة القلب وتقليل قابلية العقدة الاذينية البطينية لتوصيل النبضات العصبية ويتم دلك عن طريق تثبيط عمل مضخة الصوديوم والبوتاسيوم مما يعمل على زيادة تركيز الكالسيوم داخل الخلية العضلية (9).

تم تقييم انزيمي AST و ALT وقد اظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي في مستوى كل من تركيزي الانزيمين في المجاميع المعاملة بالديوجكسين مقارنة مع مجموعة السيطرة ، حيث سجلت الدراسات السابقة ان الديجوكسين يسبب اذى للخلايا قد يكون عن طريق تكوين المركبات الكيميائية المحتوية على الاوكسجين Reactive oxygen species مؤديا الى تحريرهذه الانزيمات (10) وقد يكون تحرر مركبات ROS نتيجة تعرض العضلة القلبية للديجوكسين نتيجة ارتباط انزيم NADPH oxidase مع المايتوكندريا (11) وتعتبر انزيمات ASTو ALT من اكثر العلامات الحيوية دقة في تشخيص اذى الكبد او تنخر الخلية الكبدية (12)

جدول رقم (1) يبين تأثير عقار الديجوكسين على بعض المعايير الفسلجيةو الكيموحيوية في مصل ذكور الارانب بعد حقنها وريديا بعقار الديجوكسين بجرعة 0.02 ملغم / كغم وزن الجسم و لمدة (60 يوم)

المعايير المدروسة	Control group n=(5)	Treatment group n=(10)
ALT U/L	17.9±8.10	26.91±5.10**
AST U/L	13.5±6.49	22.18±4.96**
Cholesterol g/dl	160.8±5.92	289.9±7.98**
T.G. g/dl	80.11±6.91	170.812±6.11**
HDL g/dl	68.49±6.90	25.49±5.91*
LDL g/dl	31.01±5.91	90.99±4.51**
VLDL g/dl	19.81±6.1	30.12±5.80**

تمثل القيم ± الانحراف المعياري

**دلالة على الارتفاع المعنوي ($p<0.05$) بين المجموعة المعاملة ومجموعة السيطرة.

*دلالة على الانخفاض المعنوي ($p<0.05$) بين المجموعة المعاملة ومجموعة السيطرة.

اما بالنسبة لمستوى الدهون بالدم نلاحظ ارتفاعا معنويا($p<0.05$) لتركيز (CHO,LDL,VLDL,TG)في المجاميع المعاملة بالديجوكسين مقارنة مع مجموعة السيطرة ، إن ارتفاع مستويات هده الدهون جاء نتيجة لوجود خلل في الكبد مما يؤدي الى عدم قدرته على الافادة من الكولستيرول لتحويله الى HDL, LDL (13)

ان ارتفاع مستوى تركيز LDL- C يؤدي إلى زيادة التصلب و دور الكوليسيترول HDL- C في إزالة الكوليسيترول LDL- C وبذلك فهو يقلل من تصلب الشرايين التاجية و إن التغير في مستوى الدهون من خلال زيادة تركيز HDL بعد عملية قسطرة الشريان التاجي يقلل من عودة حدوث التضيق مرة أخرى (14).

كذلك أظهرت الدراسة انخفاضاً معنوياً في مستوى HDL الذي يساعد في ارتفاع نسبة الإصابة بمرض CHD وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره (18 17 16 15)إن الزيادة في نسبة LDL و TG هي التي أدت إلى انخفاض مستوى HDL وبالتالي زيادة خطر الإصابة بمرض تصلب الشرايين التاجية. وبينت الدراسة تأثير التقدم في العمر في مستوى HDL اذ تقل نسبة HDL مع تقدم العمر وبالتالي زيادة نسبة الإصابة بمرض CHD. إن سبب انخفاض HDL يرجع إلى *مرض يصيب الكبد أو نتيجة خلل في نشاط غدة البنكرياس، أو نتيجة *ارتفاع في نسبة .CHOL أو ارتفاع LDL أو TG (19)

B /الدراسة النسجية

اولا/التغيرات النسجية في القلب

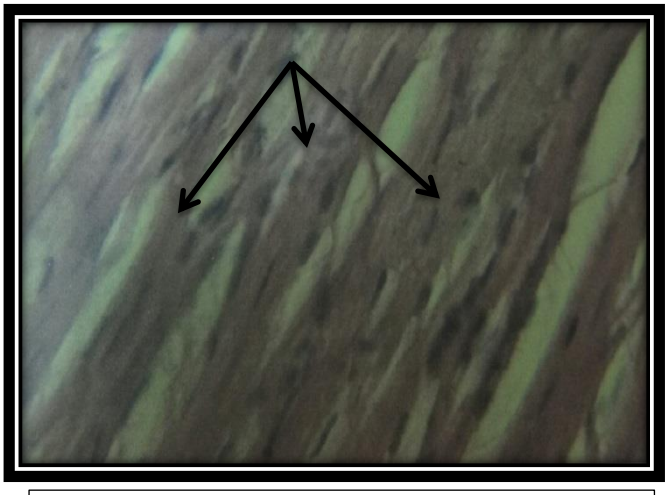
تمثل الصورة رقم (1) نسيج قلب ارنب يعود لمجموعة السيطرة ويلاحظ فيها الطبقات الثلاث الطبقة الداخلية وهي بطانة الشريان والطبقة الوسطى مكونة من الياف مرنة والطبقة الخارجية

اظهرت نتائج المقاطع النسجية للارانب في نسيج القلب وللمدة 60 يوما من الحقن بعقار الديجوكسين حدوث تغيرات نسجية حيث يلاحظ بالصورة رقم (2) احتقان الاوعية الدموية في المقطع العرضي لنسيج القلب بالمجموعة المعاملة بعقار الديجوكسين ويلاحظ من الصورة رقم (3) التغيرات الدهنية في نسيج القلب وفي الصورة رقم (4) وجود نزف خارج الوعاء الدموي بالمجموعة المعاملة بالعقار مقارنة بمجموعة السيطرة لصورة رقم(1) حيث كان لعقار الديجوكسين تاثير واضح على النسيج حيث ان التغيرات النسجية الحاصلة في عضلة القلب في المجاميع المعاملة بالديجوكسين قد يكون سببه هو ارتفاع الجهد التاكسدي الحاصل نتيجة وجود مركبات ROS وهو في نفس الوقت سببا لارتفاع مستوى انزيم AST في نفس المجاميع (10)

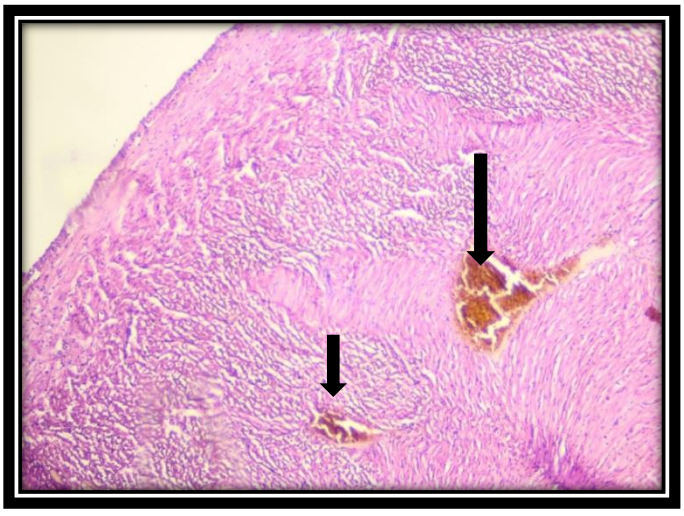
ثانيا/التغيرات النسجية في الكبد

تمثل الصورة رقم (6) نسيج كبد ارنب يعود لمجموعة السيطرة يوضح الوريد الكبدي محاط بخلايا الكبد بترتيب شعاعي بينما اظهرت نتائج المقاطع النسجية للارانب في نسيج الكبد وللمدة 60 يوما من الحقن بعقار الديجوكسين حدوث تغيرات نسجية حيث نلاحظ ارتشاح الخلايا التهابية وحدوث تنخر الخلايا الكبدية necrosis of hepatocytes وارتشاح الخلايا الالتهابية وظهور حويصلات دهنية صغيرة وحدوث احتقان بالاوعية الدموية في الصورة رقم (7)وحدوث احتقان بالاوعية الدموية والتفجي داخل الخلايا الكبدية في الصورة رقم (8) مقارنة مع مجموعة السيطرة في الصورة رقم(6)حيث كان لعقار الديجوكسين تاثير واضح على النسيج ، حيث يعتبر الكبد العضو الرئيسي لايض وازالة سمية مركبات Xenobiotic والدي يعتبر الدايجوكسين احد هده المركبات (20)

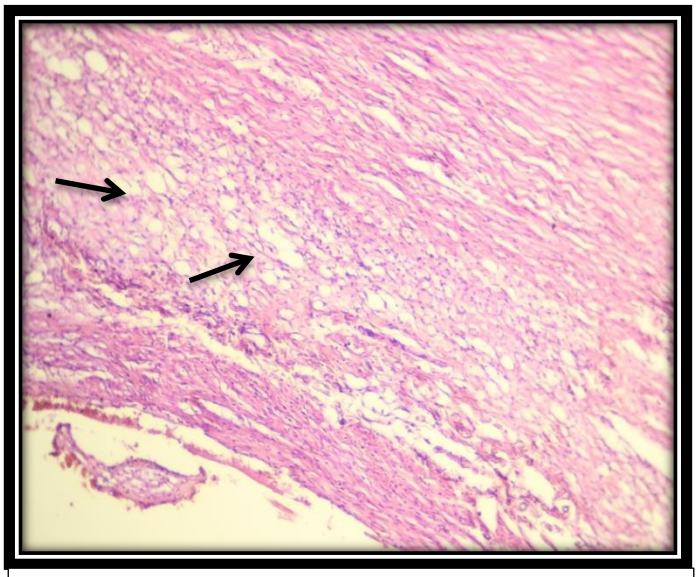
لدلك عند تعرض الكبد للدايجوكسين سبب تسمما خلويا مؤديا الى حصول تغيرات نسدية في خلايا الكبد (10)



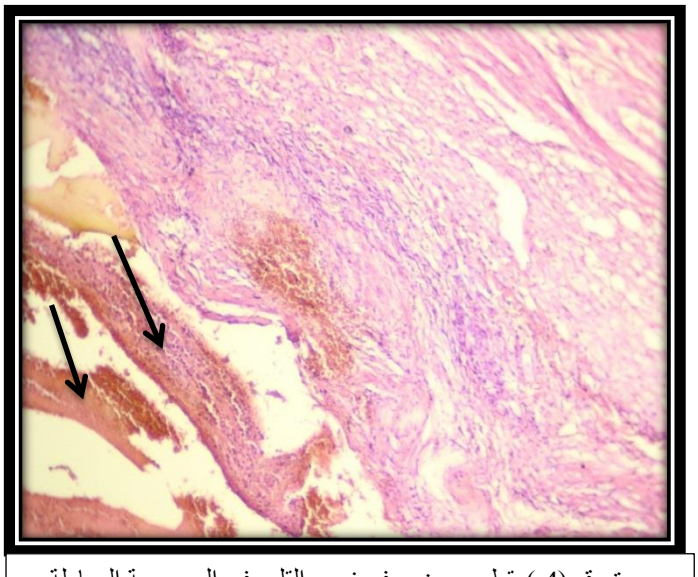
صورة رقم (1) مقطع عرضي في نسيج القلب في مجموعة السيطرة يوضح الترتيب الطبيعي للخلايا العضلية (السهم) (H.& E.40 X)



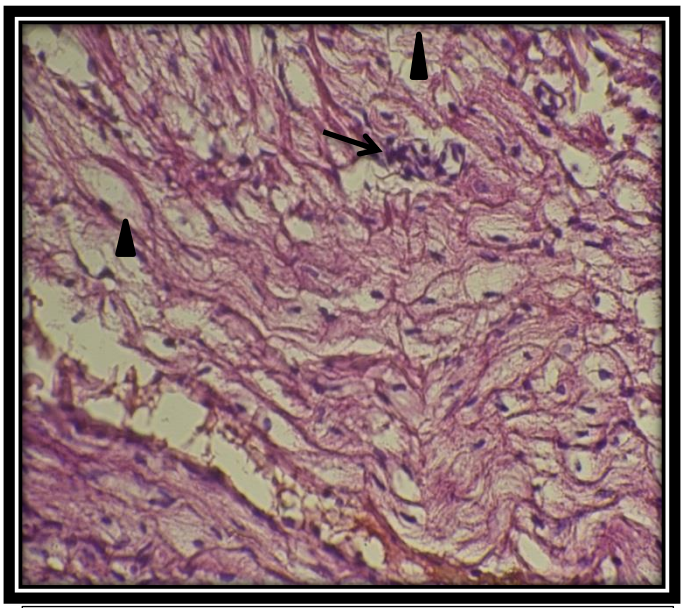
صورة رقم (2)مقطع عرضي في نسيج القلب في المجموعة المعاملة بالديجوكسين لمدة (60)يوم نلاحظ احتقان الاوعية دموية (السهم الاسود) (H&E 10X)



صورة رقم (3)مقطع عرضي في نسيج القلب في المجموعة المعاملة بالديجوكسين لمدة (60)يوم نلاحظ وجود Fatty changes (السهم الاسود)(H.& E. , 10 X)

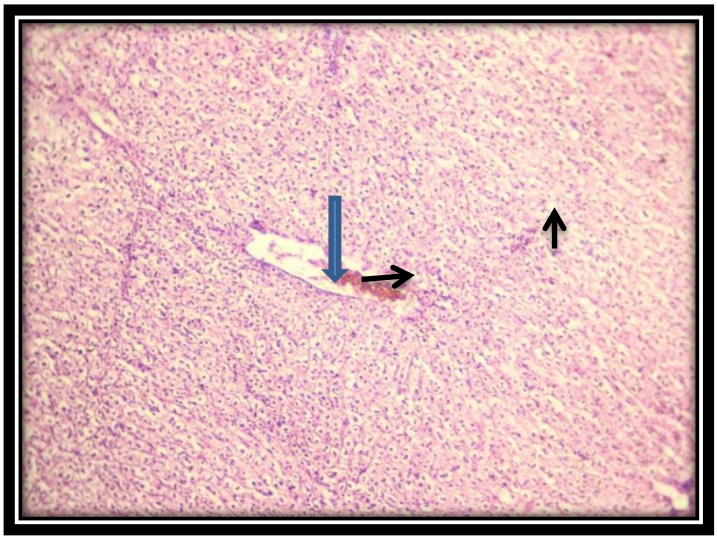


صورة رقم (4)مقطع عرضي في نسيج القلب في المجموعة المعاملة بالديجوكسين لمدة (60)يوم نلاحظ حدوث نزف خارج الوعاء الدموي (H.& E. , 10 X)

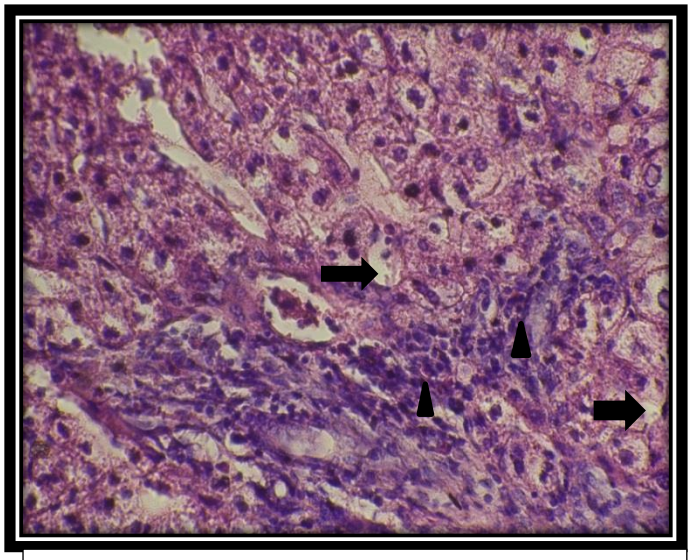


صورة رقم (5)مقطع عرضي في نسيج القلب في المجموعة المعاملة بالديجوكسين لمدة (60)يوم نلاحظ ارتشاح الخلايا التهابية (السهم الاسود) وحدوث التنخر necrosis(راس السهم)(H.&)

صورة رقم (6) مقطع عرضي في نسيج الكبد في مجموعة السيطرة يوضح الوريد المركزي (السهم)محاط بخلايا الكبد بترتيب شعاعي (راس السهم) مع وجود الجيبانيات (النجمة) (.H.& E)



صورة رقم (7)مقطع عرضي في نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالديجوكسين لمدة (60)يوم نلاحظ حدوث احتقان بالاوعية الدموية(السهم الازرق) والتفجي داخل الخلايا الكبدية(السهم الاسود) (H&E 10X)



صورة رقم (8)مقطع عرضي في نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالديجوكسين لمدة (60)يوم نلاحظ ارتشاح الخلايا الالتهابية (رأس السهم)وتنخر الخلايا الكبدية(السهم الاسود) necrosis (H.& E. , 40 X

المصادر

1- Hollman ,A. (1996) .Digoxin comes from Digitalis Lanata .J., Brit. Med. 312 (7035) : 912.

2- حجاوي،غسان ; الصوص , اديب عبد الفتاح ; المسيحي،حياة حسين ; قاسم،رولا محمد .(2007).علم الدواء.الطبعة الاولى، المجلد 1 ، دار الثقافة للنشر والتوزيع.

3- McMurray,J ; Pfeffer, M .(2005).Heart failure. J.Lancet .,(9474) : 1877-89.

4-Rathore,S.; Wang,Y.; Krumholz,H. (2002).Sex-Based Difference in the effect of digoxen for the treatment of heart failure.J.,Med .347 (18): 1403-11

5-Ong , H .; Ch ng , S.; Masduki , A. ; Chandrasekharan , N .(1989) .Digoxin Toxicity : clinical and laboratory assessment . J., Malaysia , 44 :296- 301.

6- Reitmans,S. and Frankel ,S.(1957).Measurement of GOT and GPT.Amer.J.Clin.pat.,11:28-56.

7-Presnell, J.(1997).Humason's animal tissue techniques.sth.ed.Jon Hopkins university press.Ballfimore.

8-SPSS Statistical Packages for the Social Sciences. (2001). Statistical software for windows version 13.0 Micrisoft. SPSS, Chicago, IL, USA.

9- Nathan , J. (2000).The Effect of digoxin on the recovery rate of the herat after exercise in mice.Cantaurs, 8 :6-11.

10-Tahervand ,A.; Mahmoodi , M. ; Mohammadi ,R. (2016).Digoxin Effectively Decreased Proliferation Of Liver Cancer Cell Line.Focus Sci.2(1) Doi: 10-20286.

11-Hsiang-Ting , M. (2013). The Role of Reactive Oxygen Species in Arrhythmogenicity of Cardiac Glycoside.PH-Dissertation –The Ohio State University.

12- Zilva,J .; Pannall,P .and Mayne,D .(1988).Clinical Chemistry In Diagnosis and Maagement .Edward Arnold.London Robson ,A.M.,Aschcroft,R.,Clarkson.

13-Owen ,R.; Giacosa ,A. ;Hull ,W.;Haubner ,R.; Spiegelhalder , B. and Bartsch ,H.(2000). Olive-oil consumption and health : the possible role pf an tioxidants .Lancet-oncol.1:107-12.

14- Shah, P.and Amin, J. (1992). Low HDL Level is associated with increased Restenosis Rate after Coronavy Angioplasty. Circul. 85: 1279- 1285.

15- Miettinen, T. (2oo1). cholesterol absorption inhibition: a strategy for cholesterol- Lowering therapy. Int- J- clin- pract. 55 (10): 710- 6.
16- Nyman, J. ; Martinson, M. ; Nelson, D. ; Nugent, S. ; Collins, D. ; Wittes, J. ; Fye, C.; Wilt, T. ; Robins, S. and Bloomfield, R. (2002). Cost- effectiveness of gemfibrozilfor CHD patients with Low Levels of HDL chdesterol: the department of veterans affairs HDL chdesterol intervention trial. Arch- Intern- Med. 162 (2): 177-82.
17- Paunio, M ; Olli,P. ; Jarmo, V.; Michael, J. ; Vesa, M. ; Demetrius, A. and George, W. (1994): HDL cholesterol and Mortality in Finnish Men with special Reference to Alcohol Intake. Circul. 90(6) : 2909- 2918.
18- Desmond, G. (1983): Cardiology. Ed4. London.
19-Andersson, P. and Leppert, J. (2001). Men of low Socio- economic and educational Level possess pronounced deficient knowledge about the riskfactors related of CHD. J- cardiovas- Risk. 8 (6): 371- 7.
20 -Henry , J. and Peter , T.(2013). Developing a metagenomic view of xenobiotic metabolism . Phrmcol Res. 69(1): 21-31.