**مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی**
سال هفتم، شماره چهارم، پیاپی بیست و هشتم، بهار ۱۳۹۸ (۱۳۴-۱۲۵)

# مقایسه اثر سه داروی ایندومتاسین، سلکوکسیب و آسپرین بر روی آسیب‌های کبدی ناشی از سپسیس در مدل CLP

**فریبا یغموری[۱]، رضا حاجی حسینی[۲*]، سید مهرداد کسایی[۳]، بهرام سیفی زارع[٤]**

۱. دانشجوی دکتری بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، ایران و گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲. استاد، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، تهران، ایران
۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، ایران
٤. پژوهشگر و فوق تخصص بیماری‌های گوارش و کبد همدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۸)

## چکیده

داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی در بسیاری از مدل‌های تجربی سپسیس مورد استفاده قرار می‌گیرند. از این‌رو، در مطالعه حاضر، به بررسی اثرات محافظتی سه داروی ضدالتهابی غیراستروئیدی در برابر آسیب‌های کبدی ناشی از سپسیس پرداخته شده است. تعداد ٦۰ رت نر نژاد ویستار به‌صورت تصادفی به شش گروه آزمایشی تقسیم شدند. رت‌ها با داروهای ایندومتاسین، سلکوکسیب و آسپرین با دوز ۲mg/kgb.w به‌صورت خوراکی برای ٤۸ ساعت بعد از جراحی CLP(Cecal ligation and puncture) تیمار شدند. سپس نمونه-های خون برای اندازه‌گیری میزان سرمی آلانین ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و بیلی روبین جمع‌آوری شد. از بافت کبد برای بررسی پارامترهای بیوشیمیایی [فعالیت مالون دی آلدئید (MDA) و گلوتاتیون (GSH) و میلوپراکسیداز (MPO) و ریل تایم PCR استفاده شد. نتایج نشان داد که تیمارها باعث بهبود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کبدی با کاهش میزان MPO، MDA، AST و ALT و افزایش GSH شده است. علاوه بر این، میزان بیان ژن **سیکلواکسیژناز ۲** (COX-2) در بافت کبد گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه CLP کاهش یافت. در پایان، نتایج نشان داد CLP موجب آسیب اکسیداتیو کبدی شده و استفاده از داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی می‌تواند در جلوگیری و بهبود این آسیب‌ها مؤثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آسیب کبدی، استرس اکسیداتیو، داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی، سپسیس، مدل CLP.

*نویسنده مسئول: رضا حاجی حسینی
E-mail: hosseini.bio.pnu@gmail.com

# Comparison the Effects of Indomethacin, Celecoxib and Aspirin on Sepsis-Induced Liver Injury in the CLP Model

**Fariba Yaghmori[1], Reza Hajihosseini[2*], Seyed Mehrdad Kassaee[3], Bahram Seifizarei[4]**

1. Ph.D. of Biochemistry, Department of Biology, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran and Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
2. Professor of Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran
3. Professor, Department of Biology, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran
4. Researcher, Gastroenterologist and Hepatologist Middle East Liver Disease Center, Hamedan, Iran

(Received: Dec. 23, 2018 - Accepted: Apr. 28, 2019)

## Abstract

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) have beneficial effects in numerous experimental models of sepsis. Therefore, in the present study, we investigated the protective effects of three NSAIDs against sepsis induced liver damages. A total number of 60 male Wistar rats were randomly divided into six experimental groups. Rats were treated with indomethacin, celecoxib and aspirin orally with dose of 2 mg/kg b.w for 48h after CLP (Cecal ligation and puncture) injury. Then, blood samples were collected to determine serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and Bilirubin. The extracted livers were used for biochemical assays [Malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and myeloperoxidase (MPO) activities] and real time PCR studies. The result revealed that treatments significantly improved antioxidant and liver enzymes by reducing MDA, MPO, AST and ALT level and increasing level of GSH. Moreover, cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in the liver tissue was decreased in the treatment group compared to the CLP group. Thus, the results suggest CLP induced oxidative hepatic damage and NSAIDs have the potential for the treatment of liver damage consecutive to chemical intoxication.

**Keywords:** CLP Model, Liver Damage, Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs, Sepsis, Stress Oxidative.

## مقدمه

سپسیس، واکنش سیستمیک بدن به میکروارگانیسم‌های مهاجم از جمله باکتری‌ها و قارچ‌ها است که علت اصلی مرگ و میر در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) را شامل می‌شود (Stearns-Kurosawa *et al*., 2011; Juncal *et al*., 2011). در طول پروسه سپسیس، کبد نقش مهمی در پاسخ‌های دفاعی به از بین بردن باکتری‌ها و ایجاد واسطه‌های التهابی دارد. باکتری‌های مهاجم و محصولات آنها، توسط سلول‌های کبدی گرفته و پاک‌سازی می‌شوند. در همین حال، سلول‌های ایمنی، چندین فاکتور التهابی را آزاد می‌کنند که منجر به آسیب‌های کبدی می‌شود (Yan *et al*., 2014; Marshall, 2012). اختلال عملکرد کبد می‌تواند یک عامل خطرزا در بیماران مبتلا به سپسیس باشد که منجر به از کار افتادن ارگان‌های مختلف و در نهایت، مرگ می‌شود (Canabal & Kramer 2008; Gustot *et al*., 2009). بنابراین، کاهش آسیب کبدی و احیای عملکرد کبد می‌تواند سبب کاهش نرخ مرگ و میر ناشی از سپسیس شود (Yan *et al*., 2014).

یکی از بهترین راه‌ها برای درمان سپسیس و یا کاهش عوارض ناشی از آن، پایین آوردن سطح بار میکروبی، کاهش سایتوکین‌های پیش التهابی و ضد التهابی، عوامل استرس اکسیداتیو و عوامل التهابی هستند. در مطالعات مختلف استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، داروهای NSAID[1] دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی پیشنهاد شده‌اند (Victor *et al*., 2004). یکی از این داروها، ایندومتاسین است که با کاهش بیان ژن COX-2 و مهار تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی باعث کاهش عوارض ناشی از سپسیس می‌شوند (Strong *et al*., 2000). سلکوکسیب یکی دیگر از داروهای NSAID و مهارکننده اختصاصی COX-2 است (Ricciotti & FitzGerald, 2011).

علاوه بر این، آسپرین به‌عنوان یکی از مؤثرترین داروهای NSAID، در درمان بیماری‌های مختلف نقش دارد. مکانیسم عمل اصلی آسپرین مهار سنتز پروستانوئیدها (پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها) است که این عمل خود را از طریق مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز (COX-1 و COX-2) اعمال می‌کند (Dovizio *et al*., 2012; Martin-Loeches *et al*., 2015).

امروزه استفاده از داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) نقش بسیار مهمی در درمان سپسیس و التهاب ایفاء می‌کنند. تاکنون مطالعه‌ای بر روی آسیب‌های اکسیداتیو و بیان ژن COX-2 در بیماری سپسیس طی استفاده از دزهای درمانی داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی انجام نشده است. ازآنجاکه کبد یکی از اعضای تأثیرپذیر از عوارض داروهای شیمیایی است، بررسی کارایی این داروها و کاهش آسیب‌های کبدی در سپسیس ضروری به نظر می‌رسد.

## مواد و روش‌ها

### تیمار حیوانات و نمونه‌گیری

در این تحقیق، از ۶۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۱۸۰-۱۵۰ گرم استفاده شد که از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. حیوانات به ۶ گروه تقسیم شدند: ۱) گروه کنترل: بدون عمل جراحی و تیمار دارویی، ۲) گروه Lapratomy: انجام جراحی لاپاراتومی (شوک جراحی، بدون بستن سکوم و سوراخ کردن)، ۳) گروه CLP: جراحی (CLP پس از بیهوش کردن رت‌ها، در دیواره شکمی آنها به اندازه ۲ سانتی‌متر برش ایجاد شد. سپس، سکوم خارج شده و بخش سکوم تا زیر دریچه ایلئوسکال بخیه زده شده و در سکوم آنها ۲

1. Nonsteroidal anti-inflammatory drug

سوراخ توسط نیدل G20 ایجاد شد. بعد از این مرحله، روده به داخل محفظه شکمی برگردانده شده و پوست و صفاق بخیه زده شد)، ۴) گروه تیمار با داروی ضد التهابی ایندومتاسین: جراحی CLP و بلافاصله تیمار رت‌ها با داروی ایندومتاسین در دوز ۲ mg/kg bw به صورت خوراکی روزی یکبار به مدت دو روز، ۵) گروه تیمار با داروی ضد التهابی سلکوکسیب: جراحی CLP و بلافاصله تیمار رت‌ها با داروی سلکوکسیب در دوز ۲ mg/kg bw به صورت خوراکی روزی یکبار به مدت دو روز و ۶) گروه تیمار با داروی ضد التهابی آسپرین. جراحی CLP و بلافاصله تیمار رت‌ها با داروی آسپرین در دوز ۲mg/kg bw به‌صورت خوراکی روزی یکبار به مدت دو روز. تمامی گروه‌ها در این مدت، دسترسی به آب و غذای کافی داشتند.

میزان دوز داروی مصرفی در رت‌ها براساس میزان مصرف دارو به‌صورت (قرص‌های ۵۰ و ۷۰ میلی‌گرم) و به میزان سه بار در روز در انسان ۷۰ کیلوگرم سنجیده شده است (Rubin *et al*., 2004). رت‌ها ۴۸ساعت پس از جراحی CLP و تیمار بیهوش و از قلب آنها خون‌گیری شد. در مرحله بعدی، حیوانات کشته شده و بافت کبد آنها به‌منظور بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی و بیوشیمیایی جدا شد.

**اندازه‌گیری پارامترهای دخیل در آسیب اکسیداتیو بافت کبد**

اندازه‌گیری آنزیم میلوپراکسیداز (MPO) بر اساس کیت سنجش MPO شرکت نوند سلامت (Nampox$^{TM}$) (ایران) انجام شد.

میزان مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها بر اساس کیت سنجش MDA شرکت طب‌پژوهان رازی (TPR) (تهران، ایران) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری سطح گلوتاتیون احیاء (GSH) به ۲۰۰ میلی‌گرم بافت کبد، ۸ میلی‌لیتر EDTA ۰/۰۲ مولار اضافه و هموژن شد. جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۲nm قرائت شد (Seldak & Limdsay, 1986).

**اندازه‌گیری فعالیت مارکرهای بیوشیمیایی دخیل در آسیب کبدی**

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های ALT، AST، ALP و بیلی‌روبین در پلاسما توسط کیت شرکت پارس آزمون (ایران) انجام شد.

**بررسی بیان ژن سیکلواکسیژناز ۲ در بافت کبد**

استخراج RNA بر اساس کیت استخراج GeneAll ساخت کشور کره انجام شد. میزان RNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ ۲۰۰۰ سنجیده شد. میزان معینی از RNA استخراج شده برای سنتز cDNA (کیت PrimeScript $^{TM}$ RT reagent شرکت تاکارا (ژاپن)) استفاده شد. سپس Real-Time PCR با استفاده از کیت سایبر گرین مستر میکس (Amplicon) و دستگاه Rotor-Gene Q-QIAGEN انجام شد. تمامی نمونه‌ها به صورت سه‌تایی و با کنترل منفی خوانده شدند. به‌منظور انجام واکنش Real time PCR، از پرایمرهای اختصاصی ژن COX-2 (Forward: 5-ACCTCTGCGATGCTCTTC-3; Reverse: 5-AGGAATCTCGGCGTAGTAC 3) و GAPDH (Forward: 5) TGCCAGCCTCGTCTCATAG - 3; Reverse: 5-ACTGTGCCGTTGAACTTGC-3) استفاده شد. به‌منظور محاسبه میزان تغییرات بیان ژن COX-2 از روش ΔΔCT استفاده شد. در این روش، اختلاف CT ژن مورد نظر و CT ژن کنترل داخلی در نمونه‌های مورد نظر محاسبه شد ($\Delta CT_2$ ,$\Delta CT_1$). در نهایت، دو ΔCT از هم کم شد و برای محاسبه میزان بیان ژن (RQ) در فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ قرار داده شد.

**بررسی هیستوپاتولوژیکی بافت کبد**

پس از CLP حیوانات، بیهوش شده و بافت کبد برای بررسی هیستوپاتولوژیک برداشته شده و در بافر فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند. برش‌های نازکی به ضخامت ۶-۵ میکرون از بافت بلوک‌شده در پارافین تهیه و به‌روش H&E رنگ‌آمیزی شدند. سپس، لام‌ها به منظور مقایسه تغییرات بافتی توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفته و عکسبرداری شدند.

**آنالیز آماری**

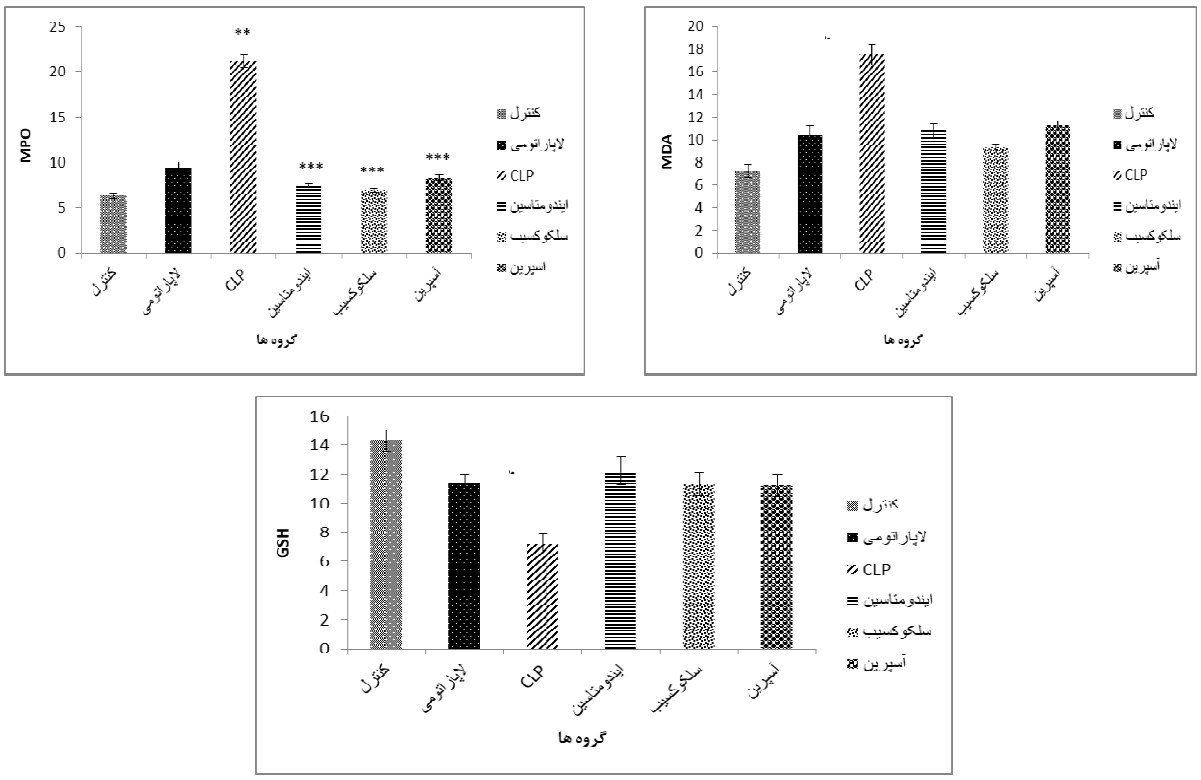
تفاوت‌های بین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۹و تست ANOVA تعیین شد. با استفاده از این نرم‌افزار P-value داده‌ها محاسبه و P<۰/۰۵ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

**تأثیر داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی**

گروه CLP نسبت به گروه لاپاراتومی و کنترل افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز در بافت کبد را نشان داد (P<۰/۰۵) تیمار رت‌ها با داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی، فعالیت این آنزیم‌ها را به سطح نرمال بازگرداند (P<۰/۰۵).

علاوه بر این، سطح گلوتاتیون (GSH)، در رت‌های سپتیکی (CLP) نسبت به هر دو گروه (لاپاراتومی و کنترل) کاهش معنی‌داری داشته (P<۰/۰۵) و تیمار رت‌ها با هر سه داروی NSAID، سبب افزایش آنزیم و بازگشت آن به سطح گروه کنترل شد (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).




**نمودار ۱.** فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ۴۸ ساعت پس از تیمار

علامت * نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه لاپاراتومی بوده که با گروه کنترل معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

علامت ** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه CLP بوده که با گروه لاپاراتومی معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

علامت *** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه‌های تیمار بوده که با گروه CLP معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار (mean± SEM) بیان شده است.

**تأثیر داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی بر روی آنزیم‌های کبدی**

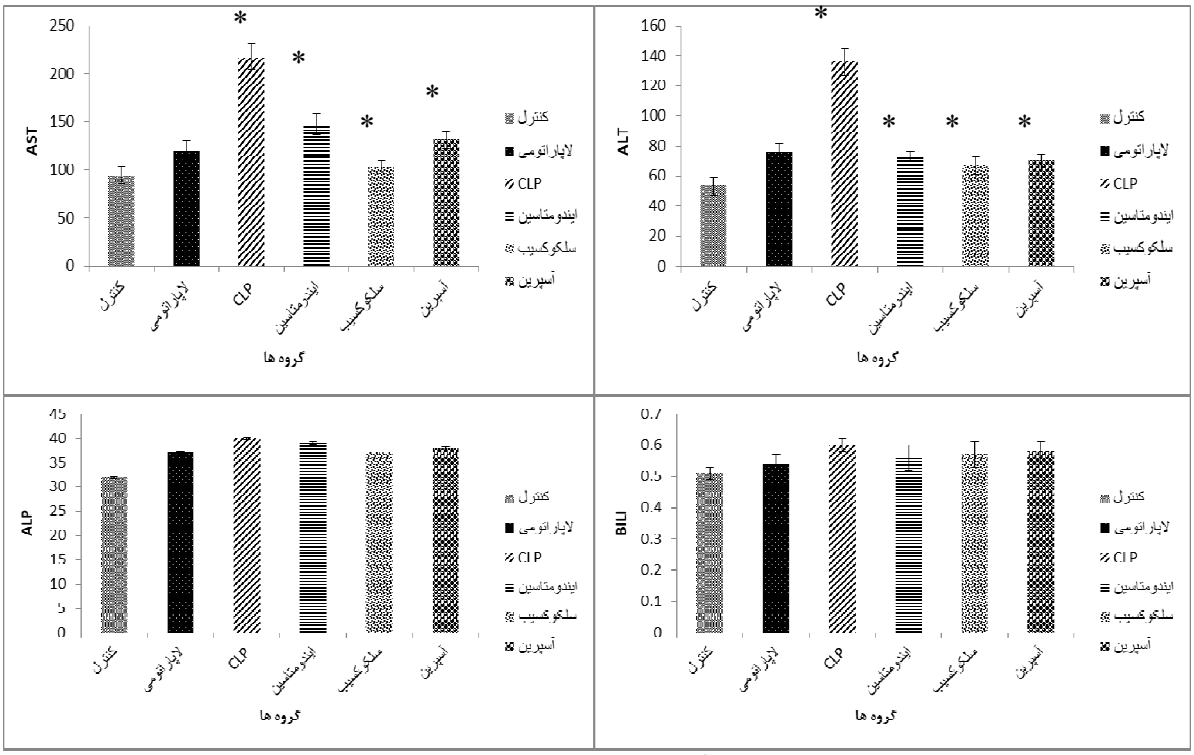
القای سپسیس، باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های AST و ALT نسبت به دو گروه کنترل و لاپاراتومی شد (P<۰/۰۵) و مصرف داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی باعث برگشت میزان این آنزیم‌ها به میزان نرمال شد (P<۰/۰۵) (نمودار ۲). همچنین، فعالیت آنزیم‌های بیلی‌روبین و ALP در پلاسما تحت تأثیر CLP و تیمارها تغییر نکرد (P<۰/۰۵) (نمودار ۲).

**تأثیر داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی بر روی بیان ژن سیکلواکسیژناز ۲**

نتایج، نشان‌دهنده افزایش میزان بیان ژن COX-2 در بافت کبد پس از القای سپسیس بود که گروه‌های تیمار نیز نتایج مشابهی را در تعدیل بیان این ژن نشان دادند و میزان بیان این ژن را به‌صورت معنی‌داری به سطح کنترل رساندند (P<۰/۰۵) (نمودار ۳).

**تأثیر داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی بر روی بافت کبد**

مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی‌شده به روش هماتوکسیلین و ائوزین، در شکل‌های زیر ارائه شده است (شکل ۱). مطالعات بافت‌شناسی بر بیوپسی کبد نشان داد که ساختار کبد در گروه کنترل طبیعی است (شکل A-۱). ارتشاح ملایم و ضعیف نوتروفیل‌ها در پارانشیم و پورتال کبد در گروه لاپاراتومی دیده شد (شکل B-۱). بیشترین آسیب بافتی در گروه CLP مشاهده شد (شکل C-۱). دریافت دوزهای درمانی سه دارو قادر است در مدت کوتاهی آسیب حاد کبدی (نکروز سلول‌های کبدی، ضایعات هیستوپاتولوژیک و آسیب هپاتوسلولار) را مهار کند (شکل D, E , F-۱).



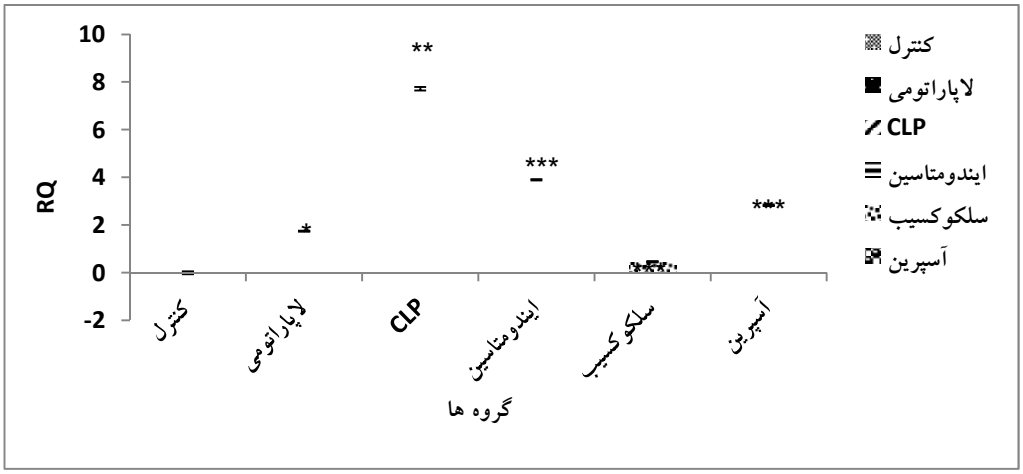

**نمودار ۲.** فعالیت آنزیم‌های کبدی ۴۸ ساعت پس از تیمار

علامت * نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه لاپاراتومی بوده که با گروه کنترل معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

علامت ** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه CLP بوده که با گروه لاپاراتومی معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

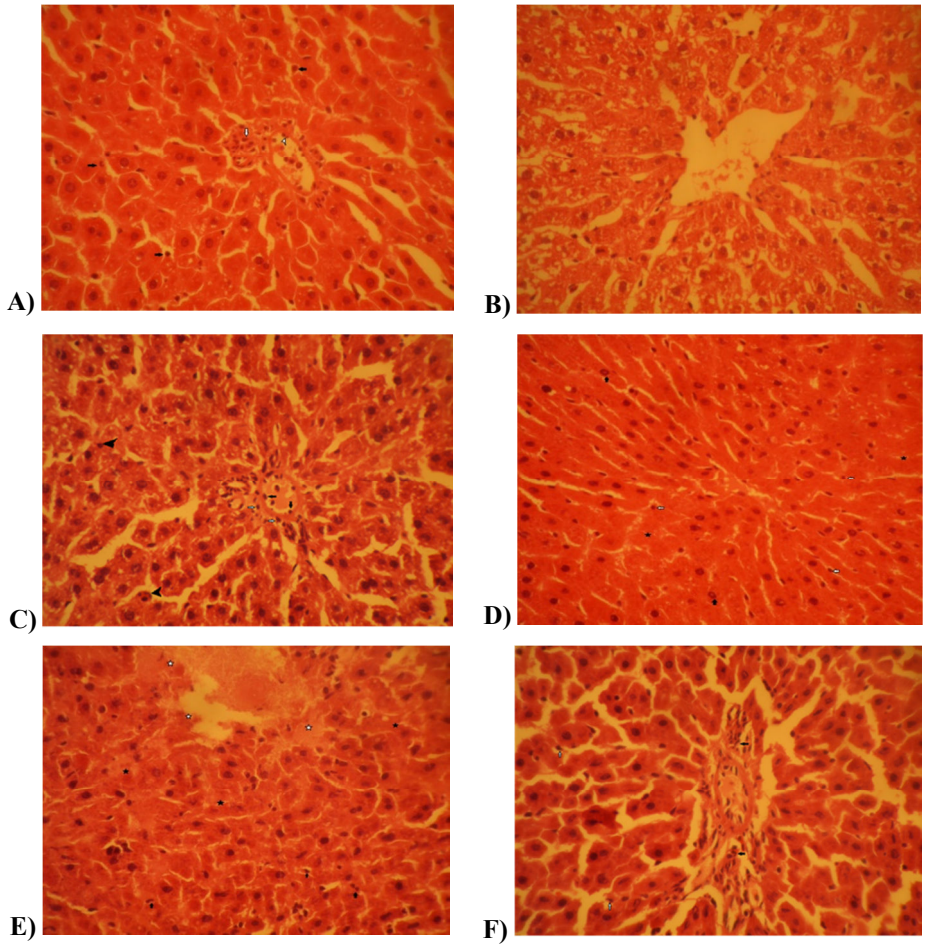
علامت *** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه‌های تیمار بوده که با گروه CLP معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار (mean± SEM) بیان شده است.




**نمودار ۳.** بیان ژن COX-2 ۴۸ ساعت پس از تیمار

علامت * نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه لاپاراتومی بوده که با گروه کنترل معنی‌دار است (P<۰/۰۵).
علامت ** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه CLP بوده که با گروه لاپاراتومی معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).
علامت *** نشان‌دهنده نتیجه حاصل از آنالیز آماری گروه‌های تیمار بوده که با گروه CLP معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).
نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار (mean± SEM) بیان شده است.




**شکل ۱.** تصاویر میکروسکوپی مربوط به بررسی پاتولوژیک بافت کبد.
A) گروه کنترل، B) گروه لاپاراتومی، C) گروه CLP، D) گروه ایندومتاسین، E) گروه سلکوکسیب، F) گروه آسپرین.
ارتشاح نوتروفیل‌ها (فلش مشکی) و نکروز کبدی (فلش سفید) نشان داده شده است.

## بحث و نتیجه‌گیری

سپسیس، پاسخ سیستمیک میزبان به عفونت، پس از تهاجم پاتوژن‌های میکروبی به جریان خون است که تولید بیش از حدّ گونه‌های اکسیژن همراه با التهاب ایجاد شده در پی سپسیس، منجر به وضعیت استرس اکسیداتیو می‌شود که عامل مهمی در افزایش مرگ و میر بیماران مختلف است (Prasad *et al*., 2017).

در این مطالعه به‌منظور بررسی اثرات حفاظتی، آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی دوزهای درمانی داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی بر روی بیماری سپسیس از یک مدل تجربی التهابی در رت (CLP) که نسبت به سایر مدل‌های التهابی برتری دارد، استفاده شد. در این مدل، جنبه‌های مختلف سپسیس و شوک حاصل از آن قابل بررسی است (Hubbard *et al*., 2005).

نتایج حاصل از بررسی پارامترهای دخیل در آسیب اکسیداتیو در بافت کبد رت‌های مبتلا به سپسیس نشان داد که افزایش LP همراه با افزایش فعالیت آنزیم MPO و کاهش سطح گلوتاتیون (GSH) پس از القای سپسیس رخ داده است (P<۰/۰۵) (نمودار ۱). علاوه‌براین، نتایج نشان می‌دهند که تیمارهای دارویی باعث مهار تغییر پارامترهای فوق در رت‌های مبتلا به سپسیس در ۲۴ ساعت پس از CLP می‌شوند (نمودار ۱). این پارامترها (آنزیم میلوپراکسیداز، مالون‌دی‌آلدئید و گلوتاتیون) از شاخص‌های وضعیت سیستم استرس اکسیداتیو هستند که در سپسیس به دلیل نقص در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی دچار اختلال می‌شوند (Cherian *et al*., 2007). در مطالعه‌ای، اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی MPO به‌عنوان بیومارکر در پاسخ التهابی در بیماران با SIRS و سپسیس گزارش شده است (Kothari *et al*., 2011). همچنین مطالعات متعددی ثابت کرده‌اند که میزان محصولات پراکسیداسیون لیپیدها در بیماران مبتلا به سپسیس افزایش می‌یابد (Kharb *et al*., 2000; Ortoloni *et al*., 2000). این گزارش‌ها تأییدی بر نتیجه به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر است و همچنین نشان‌دهنده نزدیک بودن شرایط بالینی بیماران به مدل به‌کار رفته در این تحقیق است.

از سوی دیگر، برای بررسی بیومارکرهای آسیب کبدی، شاخص‌های بیوشیمیایی آسیب کبدی در پلاسما اندازه‌گیری شدند. آنزیم‌های AST و ALT درون سیتوپلاسم سلول‌های کبدی هستند که بعد از آسیب سلولی وارد گردش خون می‌شوند و آنزیم ALP نیز که یک پروتئین داخل غشایی است پس از آسیب مجاری صفراوی وارد گردش خون می‌شود (Hyder *et al*., 2013). وقتی کبد دچار آسیب شود آنزیم ALT را به جریان خون وارد می‌کند و میزان آن در خون بالا می‌رود که نتایج ما نشان‌دهنده افزایش ALT در پلاسمای رت‌های سپسیسی (نمودار۲) بود. همچنین، نمودار ۲ نشان می‌دهد که CLP در رت‌ها تغییر معنی‌داری در سطوح بیلی‌روبین و ALP ایجاد نمی‌کند. معمولاً سطح بیلی‌روبین، در آسیب‌های کبدی که منجر به تخریب یا انسداد مجاری صفراوی می‌شوند افزایش می‌یابد. همچنین، آنزیم ALP یک پروتئین داخل غشایی در مجاری صفراوی است که در صورت آسیب یا انسداد این مجاری به سرم خون وارد می‌شود (Sabina *et al*., 2013). عدم تغییر سطح بیلی‌روبین و ALP پس از CLP، احتمالاً حاکی از آن است که سپسیس منجر به آسیب یا انسداد مجاری صفراوی نمی‌شود.

از طرفی مهار ژن COX-2 به‌عنوان یک راهکار درمانی مؤثر برای پیشگیری از التهاب و آسیب‌های بافتی حاصل از آن معرفی شده است. COX-2 نقش مهمی در پاتوژنز التهاب بازی می‌کند و به طور قابل توجهی توسط محرک‌های التهابی که منجر به افزایش سنتز پروستانوئیدها (واسطه‌های التهابی قوی) در بافت‌های التهابی می‌شود، تشدید می‌شود (Zhao *et al*., 2014; Huang *et al*., 2008). بررسی پارامتر دخیل در فرایند التهاب در گروه CLP

نشان‌دهنده افزایش بیان ژن COX-2 در رت‌های سپتیکی است که در نهایت، منجر به آسیب بافتی در کبد می‌شود (نمودار ۳). مطالعات نشان می‌دهند که القای ژن COX-2 با تشدید استرس اکسیداتیو در گسترش آسیب‌های بافتی ناشی از التهاب، بویژه در کبد، نقش مهمی دارند (Esmaeili *et al*., 2011; Rasooli *et al*., 2018). همچنین نتایج حاصل از بررسی بیان ژن COX-2 در بافت کبد نشان می‌دهد که تیمارهای دارویی باعث تعدیل بیان این ژن در رت‌های مبتلا به سپسیس می‌شود. داروهای NSAID با مهار سنتز پروستانوئیدها (پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها) از طریق مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز۱ و سیکلواکسیژناز ۲ عمل می‌کنند (Dovizio *et al*., 2012). مهار از طریق استیلاسیون مستقیم و انسداد پروتئین فعال آنزیم ناشی می‌شود. این مهار از تبدیل فسفولیپید مشتق شده غشای آراشیدونیک اسید به ترومبوکسان (TXA2) و پروستاگلاندین‌ها از قبیل پروستاگلاندین پیش‌التهابی E2 جلوگیری می‌کند (Eliopoulos *et al*., 2002). آسپرین به‌طور قابل توجهی در مهار COX-1، بخصوص در دوز پایین‌تر از ۷۵ mg مؤثر است. COX-1 مسئول پروسه‌های هموستاتیک نرمال شامل فعال‌سازی پلاکت و تجمع از طریق تولید ترومبوکسان A2 است که ویژگی سپسیس و ARDS است. پروستاگلاندین‌ها از مهمترین واسطه‌های التهاب هستند و ایندومتاسین با مهار ساخت آنها موجب کاهش التهاب می‌شود (Meamarbashi & Rajabi, 2015; Tartibian & Derafshi, 2009; Rasooli *et al*., 2018).

همان‌طورکه نتایج این تحقیق نشان داده است، استفاده از سلکوکسیب نسبت به دو داروی دیگر، تأثیر بیشتری داشته است؛ به‌طوری‌که باعث تعدیل بیشتر بیان ژن COX-2 در بافت کبد رت‌های مبتلا به سپسیس شده است. سلکوکسیب، یک مهارکننده اختصاصی آنزیم COX-2 برای درمان آرتریت روماتوئید است. COX-2 توسط محرک‌های التهابی القاء شده و مسئول تولید پروستاگلاندین‌ها (PGE2) در محل التهاب است (Ricciotti *et al*., 2011). در طول عفونت، عملکردهایی مانند فاگوسیتوز و کشتار باکتریایی به وسیله تولید بیش از اندازه پروستاگلاندین E2 مهار می‌شود. بنابراین، به کارگیری مهارکننده اختصاصی COX-2 مثل سلکوکسیب ممکن است تولید پروستاگلاندین E2 و التهاب را کاهش دهد و فاگوسیتوز را تحریک کند (Aydın *et al*., 2016).

به‌طور کلی بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان این‌گونه برداشت کرد که تیمار با داروهای آسپرین، ایندومتاسین و سلکوکسیب منجر به مهار ایجاد پاسخ‌های التهابی و در نتیجه باعث کاهش آسیب‌های بافت کبدی ناشی از سپسیس می‌شود. این نتایج با مشاهده‌های هیستوپاتولوژی نیز تأیید شده است.

## REFERENCES


Aydın, S.; Şahin, T.T.; Bacanlı, M.; Taner, G.; Başaran, A.A.; Aydın, M.; Başaran, N. (2016). Resveratrol protects sepsis-induced oxidative DNA damage in liver and kidney of rats. Balkan Medical Journal; 33(6): 594.

Canabal, J.M.; Kramer, D.J. (2008). Management of sepsis in patients with liver failure. Curr Opin Crit Care; 14: 189-197.

Cherian, S.; Jameson, S.; Rajarajeswari, C.; Helena, V.; Latha, L.; Anu Rekha, M.R.; Nagamma, T.; Subba Raju, V.; Kini, P.G.; Rao, A. (2007). Oxidative stress in sepsis in children. Indian J Med Res; 125(2): 143-8.

Dovizio, M.; Tacconelli, S.; Sostres, C.; Ricciotti, E.; Patrignani, P. (2012). Mechanistic and pharmacological issues of aspirin as an anticancer agent. Pharmaceuticals; 5(12): 1346-1371.

Eliopoulos, A.G.; Dumitru, C.D.; Wang,

C.C.; Cho, J.; Tsichlis, P.N. (2002). Induction of COX-2 by LPS in macrophages is regulated by Tpl2-dependent CREB activation signals. The EMBO Journal; 21(18): 4831-4840.

Esmaeili, B.; Rezaee, S.A.R.; Layegh, P.; Tavakkol Afshari, J.; Dye, Ph.; Ghayoor Karimiani, E.; Kalalinia, F.; Rafatpanah, H. (2011). Expression of IL-17 and COX2 Gene in Peripheral Blood Leukocytes of Vitiligo Patients. Iran J Allergy Asthma Immunol; 10(2): 81-89.

Gustot, T.; Durand, F.; Lebrec, D.; Vincent, J.L.; Moreau, R. (2009). Severe sepsis in cirrhosis. Hepatology; 50: 2022-2033.

Huang, Y.H.; Tsai, P.S.; Huang, C.J. (2008). Bupivacaine inhibits COX-2 expression, PGE2, and cytokine production in endotoxin-activated macrophages. Acta Anaesthesiol Scand; 52: 530-535.

Hubbard, W.J.; Choudhry, M.; Schwacha, M.G.; Kerby, J.D. (2005). Cecal ligation and puncture. Shock; 24(1): 52-57.

Hyder, A.M.; Hasan, M.; Mohieldein, H.A. (2013). Comparative Levels of ALT, AST, ALP and GGT in Liver associated Diseases. Euro J Exp Bio; 3(2): 280-284.

Juncal, V.R.; Neto, L.A.D.; Camelier, A.A.; Messeder, O.H.C.; Farias, A.M.D.C. (2011). Clinical impact of sepsis at admission to the ICU of a private hospital in Salvador, Brazil. J Bras Pneumol; 37(1): 85-92.

Kharb S, Singh V, Ghalaut PS, Sharma A, Singh GP. Role of oxygen free radicals in shock. J Assoc Physicians India 2000; 48(10): 956-7.

Kothari, N.; Keshari, R.S.; Bogra, J.; Kohli, M.; Abbas, H.; Malik, A.; *et al*. (2011). Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis. J Crit Care; 26(4): 435.e1-7.

Marshall, J.C. (2012). New translational research provides insights into liver dysfunction in sepsis. PLoS Med; 9: e1001341.

Martin-Loeches, I.; Levy, M.M.; Artigas, A. (2015). Management of severe sepsis: advances, challenges, and current status. Drug Des Devel Ther; 9: 2079.

Meamarbashi, A.; Rajabi, A. (2015). Preventive effects of 10-day supplementation with saffron and indomethacin on the delayed-onset muscle soreness. Clin J Sport Med; 25(2): 105-112.

Ortolani, O.; Conti, A.; De Gaudio, A.R.; Moraldi, E.; Cantini, Q.; Novelli, G. (2000). The effect of glutathione and N-acetylcysteine on lipoperoxidative damage in patients with early septic shock. Am J Respir Crit Care Med; 161(6): 1907.

Prasad, S.; Gupta, S.C.; Tyagi, A.K. (2017). Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. Cancer Lett; 387: 95-105.

Rasooli, A.; Fatemi, F.; Hajihosseini, R.; Vaziri, A.; Akbarzadeh, K.; Mohammadi Malayeri, M.R.; Anti-inflammatory and anti-oxidant properties of deuterium depleted water with and without *Mentha longifolia* essential oils. Pharm Biol. (in Press)

Ricciotti, E.; FitzGerald, G.A. (2011). Prostaglandins and inflammation. Arterioscler Thromb Vasc Biol.; 31: 986-1000.

Sabina, E.P.; Rasool, M.; Vedi, M.; Navaneethan, D.H.; Ravichander, M.; Parthasarthy, P.; Thella, S.R. (2013). Hepatoprotective and antioxidant potential of withania somnifera against paracetamol-induced liver damage in rat. Int J Pharm Pharm Sci; 5(2): 648-651.

Seldak, J.; Limdsay. (1986). Estimation of total protein bound and non-protein sulfidryl groups in tissue with Elman, s reagent. Anal Biochem; 25: 192-205.

Stearns-Kurosawa, D.J.; Osuchowski, M.F.; Valentine, C.; Kurosawa, S.; Remick, D.G. (2011). The pathogenesis of sepsis. Annu Rev Pathol-Mech; 6: 19-48.

Strong, V.E.M.; Mackrell, P.J.; Concannon,

E.M.; Naama, H.A.; Schaefer, P.A.; Shaftan, G.W.; Stapleton, P.P.; Daly, J.M. (2000). Blocking prostaglandin E2 after trauma attenuates pro-inflammatory cytokines and improves survival. Shock; 14: 374-9.

Tartibian, B.; Derafshi, B. (2009). The effect of Indomethacin on the biochemical, functional and visual appearance of delayed muscular tachycardia due to eccentric contractions in non-athlete men. J Sports Sci.; 3: 110-93. (in Persian)

Victor, V.M.; Rocha, M.; Fuente, M.D. (2014). Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. Int Immunopharmacol; 4: 327-347.

Yan, J.; Li, S.; Li, S. (2014). The role of the liver in sepsis. Int Rev Immunol; 33: 498-510.

Zhao, H.; Luo, F.; Li, H.; Zhang, L.; Yi, Y.; Wan, J. (2014). Antinociceptive effect of tetrandrine on LPS-induced hyperalgesia via the inhibition of IKKβ phosphorylation and the COX-2/PGE2 pathway in mice. PLoS One; 9: e94586.