Ministry of Higher Education &
Scientific Research
University of Mosul
College of Pharmacy
Department of Pharmacology and
Toxicology

The Potential Role of Milk of Thistle in Prevention of Liver Damage Induced by Paracetamol Overdose in Male Albino Rats

A thesis

Submitted to the Council of

College of Pharmacy/University of Mosul

As a Partial Fulfillment of the Requirements for Master Degree in Pharmacy

By

Noor Ahmed Abed Mohammed

(B.Sc. Pharmacy 2014)

Supervised by

Supervisor

Dr. Musab Mohammed Khalaf

Assist. prof. in Pharmacology

Co-Supervisor

Dr. Mohammed Khalid Alnori

Lecturer in Clinical Biochemistry

November 2022 A.D

Rabi- Al-Thani 1444 A.H

Abstract

This research aimed to assess the protective impact of standardized milk thistle extract (silymarin, SIL) on hepatotoxicity based on acute paracetamol intoxication in rats in comparison with N-acetylcysteine (NAC).

To do so, a randomized controlled experimental study on male albino rats was achieved at the Animal Laboratory House in the College of Veterinary Medicine, the University of Mosul.

A total of 48 rats weighed 191 to 245 g and were randomly divided into 8 groups, (6 rat group):

1. **Control group:** The rats received normal saline 5 mL/kg BW (body weight) orally, once daily for 7 consecutive days.
2. **paracetamol intoxicated group**: The rats were left untreated and on the 7th day, the animals received a single paracetamol dose (2000 mg/kg BW).
3. **SIL group**: The rats received SIL dose (200 mg/kg BW/day) for 7 consecutive days.
4. **NAC group:** The rats received NAC (250 mg/kg BW/day) for 7 consecutive days.
5. **paracetamol + SIL group**: On the 1st day the rats received a single paracetamol dose (2000 mg/kg BW) then after 1.5 hours, the animals have post-treated with a SIL dose (200 mg/kg BW/day) for 7 consecutive days.
6. **SIL + paracetamol group**: The rats were pretreated with SIL (200 mg/kg BW/day) for 7 consecutive days. On the 7th day, after 2 hours of giving a SIL, animals received a single paracetamol dose (2000 mg/kg BW).

7. **paracetamol + NAC group:** On the 1st day animals received a single paracetamol dose (2000 mg/kg BW) then after 1.5 hours, the animals were post-treated with a NAC dose (250 mg/kg BW/day) for 7 consecutive days.
8. **NAC + paracetamol group:** The rats were pretreated with NAC (250 mg/kg BW/day) for 7 consecutive days. On the 7th day, after 2 hours of giving NAC, animals received a single paracetamol dose (2000 mg/kg BW).

All substances are freshly prepared and given by oral gavage. On the 8th day, serum was separated for estimation of serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC), and tumor necrosis factor-alpha (TNF-α). Furthermore, a histological examination of the liver sections with hematoxylin and eosin staining was performed.

This study established that paracetamol acute intoxication resulted in a considerable escalation of blood levels of liver damage indicators (AST, ALT, and ALP serum levels), oxidative status alterations (reflected by significant increasing serum MDA content and decreasing serum TAC levels), and activation of an inflammatory response (indicated by a significant elevation in serum TNF-α levels) compared to the normal control group.

Post and pre-SIL treatment result in significant attenuation of paracetamol toxicity explained by a significant decrease in serum liver enzyme levels, alleviation of oxidate stress by a noticeable decrease in serum MDA content, and significant elevation of serum TAC. Moreover, decrease serum TNF-α levels, compared to paracetamol hepatotoxic group.

Similarly, NAC post and pretreatment result in a significant alleviation of hepatotoxic effect of paracetamol, exposed by the significant decline in serum liver enzymes levels, improvement of antioxidant status with significant inhibition of serum MDA and elevation TAC, and decreasing the inflammation represented by low serum TNF-α levels compared to the hepatotoxic group.

Additionally, histopathological changes in liver histo-architecture provided substantial support for the serum biochemical results that were previously described. The representative derangement in liver architecture observed in paracetamol intoxicated animals was improved in animals treated with either SIL or NAC. Silymarin exhibits considerable regeneration activity and fewer disorganized hepatocytes, which are almost identical to the normal hepatic architecture. Likewise, NAC treatment revealed a marked regeneration and improvement in hepatocytes, near the normal histologic architecture.

Conclusions: Acute high oral dose of paracetamol adversely disrupt liver functioning, evidenced by alteration in hepatic serum-biochemical indices, oxidative/anti-oxidative state parameters, inflammatory response, and liver histo-architecture alterations. The current research showed that SIL might act as a shield for rats' livers against acute hepatic damage caused by large doses of paracetamol. In a way similar to well-known hepatic defender NAC, the conferred therapeutic effects of SIL against paracetamol-related hepatotoxicity seem through its anti-oxidative and anti-inflammatory qualities cause it to have hepatoprotective effects and then maybe can replaced for NAC therapy of paracetamol intoxication in an experimental animal model.

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة
قسم الادوية و السموم

الدور المحتمل لحليب الشوك في الوقاية من تلف الكبد الناجم عن جرعة زائدة من الباراسيتامول في ذكور الجرذان البيضاء

رسالة

قُدمت الى مجلس

كلية الصيدلة / جامعة الموصل

و هي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في الصيدلة

من قبل الطالبة

نور أحمد عبد محمد

(بكالوريوس صيدلة ٢٠١٤)

بإشراف

المشرف

الدكتور

مصعب محمد خلف

استاذ مساعد في علم الادوية

مشرف مشارك

الدكتور

محمد خالد النوري

مدرس في الكيمياء الحياتية
السريرية

الخلاصة

يهدف هذا البحث إلى تقييم التأثير الوقائي لمستخلص حليب الشوك المعياري (السيليمارين) على السمية الكبدية بناءً على تسمم الباراسيتامول الحاد في الجرذان بالمقارنة مع دواء ان اسيتايل سيستين.

للقيام بذلك ، تم إجراء دراسة تجريبية عشوائية محكومة على ذكور الجرذان البيضاء في مختبر بيت الحيوان التابع لكلية الطب البيطري بجامعة الموصل.

المجموع الكلي للجرذان ٤٨ جرذًا يتراوح وزنها بين ١٩١ و ٢٤٥ جرامًا وتم تقسيمها عشوائيًا إلى ٨ مجموعات (٦ جرذ مجموعة):

١. **مجموعة السيطرة:** تلقت الجرذان محلول ملحي ٥ مل كغم من وزن الجسم عن طريق الفم ، مرة واحدة يوميًا لمدة ٧ أيام متتالية.
٢. **مجموعة الباراسيتامول المتسممة:** تركت الجرذان دون علاج وفي اليوم السابع ، تلقت الحيوانات جرعة واحدة من الباراسيتامول ٢٠٠٠ ملغم كغم من وزن الجسم.
٣. **مجموعة السيليمارين:** تلقت الجرذان جرعة ٢٠٠ ملغم كغم من وزن الجسم يوم من السيليمارين لمدة ٧ أيام متتالية.
٤. **مجموعة ان اسيتايل سيستين:** تلقت الجرذان ٢٥٠ ملغم كغم من وزن الجسم يوم من ان اسيتايل سيستن لمدة ٧ أيام متتالية.
٥. **مجموعة الباراسيتامول + السيليمارين:** في اليوم الأول ، تلقت الجرذان جرعة واحدة من الباراسيتامول (٢٠٠٠ ملغم كغم من وزن الجسم) ثم بعد ١.٥ ساعة من إعطاء جرعة الباراسيتامول ، عولجت الحيوانات لاحقًا بجرعة سيليمارين ٢٠٠ ملغم كغم من وزن الجسم يوم و لمدة ٧ أيام متتالية.
٦. **مجموعة السيليمارين + الباراسيتامول** تمت معالجة الجرذان مسبقًا بـالسيليمارين (٢٠٠ ملغم كغم من وزن الجسم يوم) لمدة ٧ أيام متتالية. في اليوم السابع ، بعد ساعتين من إعطاء السيليمارين ، تلقت الحيوانات جرعة واحدة من الباراسيتامول (٢٠٠٠ ملغم كغم من وزن الجسم).
٧. **مجموعة الباراسيتامول + ان اسيتايل سيستين:** تلقت الحيوانات في اليوم الأول جرعة واحدة من الباراسيتامول (٢٠٠٠ملغم كغم) ثم بعد ١.٥ ساعة من إعطاء جرعة الباراسيتامول ، عولجت الحيوانات بعد ذلك بجرعة ان اسيتايل سيستين (٢٥٠ملغم كغم من وزن الجسم يوم) لمدة ٧ أيام متتالية.

٨. **مجموعة ان اسيتايل سيستين + الباراسيتامول:** تمت معالجة الجرذان بـ ان اسيتايل سيستين (٢٥٠ ملغم كغم من وزن الجسم يوم) لمدة ٧ أيام متتالية. في اليوم السابع ، بعد ساعتين من إعطاء ان اسيتايل سيستين ، تلقت الحيوانات جرعة واحدة من الباراسيتامول (٢٠٠٠ ملغم كغم من وزن الجسم).

تم تحضير جميع المواد انياً وتم إعطاؤها بالتزقيم عن طريق الفم. في اليوم الثامن، تم فصل المصل لتقدير مصل خميرة الالنين ناقل الامين و، خميرة اسبارتات ناقل الامين ، و خميرة الفوسفاتيز القلوي، ومالونديالديهيد ، السعة الكلية المضادة للأكسدة ، وعامل نخر الورم-ألفا. بالإضافة ، تم إجراء الفحص النسيجي لأقسام الكبد باستخدام صبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين.

أثبتت هذه الدراسة أن التسمم الحاد للباراسيتامول ـ أدى إلى تصعيد كبير في مستويات الدم في مؤشرات تلف الكبد (مستويات مصل خميرة الالنين ناقل الامين و خميرة اسبارتات ناقل الامين، و خميرة الفوسفاتيز القلوي) ، وتغيرات حالة الأكسدة (تنعكس من خلال زيادة محتوى مالونديالديهيد في الدم بشكل كبير وانخفاض مستويات السعة الكلية المضادة للأكسدة في المصل) ، والتنشيط استجابة التهابية (يُشار إليها بارتفاع كبير في مستويات عامل نخر الورم-ألفا في الدم) مقارنة بمجموعة السيطرة العادية.

ينتج عن العلاج اللاحق وما قبل بالسيليمارين توهين كبير في سمية الباراسيتامول موضحاً بانخفاض كبير في مستويات إنزيم الكبد في الدم ، وتخفيف إجهاد الأكسدة عن طريق انخفاض ملحوظ في محتوى المصل مالونديالديهيد ، وارتفاع كبير في السعة الكلية المضادة للأكسدة في المصل. علاوة على ذلك ، قام بتقليل مستويات عامل نخر الورم-ألفا في الدم ، مقارنة بمجموعة الباراسيتامول السامة للكبد.

وبالمثل يؤدي العلاج اللاحق و المسبق بال ان اسيتايل سيستن، إلى تخفيف كبير للتأثير السام للكبد بالباراسيتامول ، ويتعرض للانخفاض الكبير في مستويات إنزيمات الكبد في الدم ، وتحسين حالة مضادات الأكسدة مع تثبيط كبير لمصل مالونديالديهيد وارتفاع السعة الكلية المضادة للأكسدة ، وتقليل الالتهاب الذي يمثله انخفاض المصل مستويات عامل نخر الورم-ألفا مقارنة بالمجموعة الباراسيتامول السامة للكبد.

بالإضافة إلى ذلك، قدمت التغيرات النسيجية المرضية في بنية نسيج الكبد دعمًا كبيرًا للنتائج البيوكيميائية في المصل التي تم وصفها مسبقًا. تم تحسين الاختلال التمثيلي في بنية الكبد الذي لوحظ في الحيوانات المتسممة بالباراسيتامول عند المعالجة إما بـالسيليمارين أو ان اسيتايل سيستين حيث يُظهر سيليمارين نشاطًا تجديدًا كبيرًا وعددًا أقل من خلايا الكبد غير المنظمة، والتي تكاد تكون متطابقة مع الهندسة

الكبدية السليمة. وبالمثل، أظهر علاج ان اسيتايل سيستين تجددًا وتحسنًا ملحوظًا في خلايا الكبد، بالقرب من البنية النسيجية الطبيعية.

الاستنتاجات: الجرعات الفموية العالية الحادة من الباراسيتامول تعطل أداء الكبد بشكل سلبي ، ويتضح ذلك من خلال التغيير في مؤشرات الكيمياء الحيوية في مصل الكبد، ومعايير الحالة المؤكسدة المضادة للأكسدة ، والاستجابة الالتهابية ، وتغييرات بنية نسيج الكبد. أظهر البحث الحالي أن السيليمارين قد يكون بمثابة درع لأكباد الجرذان ضد التلف الكبدي الحاد الناجم عن الجرعات الكبيرة من الباراسيتامول. بطريقة تشبه المعالج الكبدي المعروف ان اسيتايل سيستين. يبدو أن التأثيرات العلاجية الممنوحة للسيليمارين ضد السمية الكبدية المرتبطة بالباراسيتامول من خلال خواصه المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات و التي تجعل للسيليمارين تأثيرات وقائية للكبد ومن ثم ربما يمكن أن يحل محل العلاج ان اسيتايل سيستين لتسمم الباراسيتامول في الدراسات الحيوانية التجريبية.