## مقاله پژوهشي

## مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره هفتم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۷، ۲۶۹–۲۵۹

# ارزیابی پادزهر بز کوهی بر میزان بقاء و کاهش عوارض ناشی از مسمومیت با سم مار جعفری در موش سوری

محمودرضا حیدری ، غلامرضا سپهری، محمدجواد زاهدی، رضا شیبانی تذرجی

يذيرش مقاله: 47/11/18

دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۷/۱۱/۱۲

ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸٥/٨/١٠

دريافت مقاله: ۸٥/٣/٢١

چکیده

زمینه و هدف: مسمومیت ناشی از مارگزیدگی یکی از مشکلات مطرح در پزشکی و به دلیل عوارض خطرناک آن، از اهمیت ویژهای برخوردار است. در طب سنتی ایران پادزهر بز کوهی در درمان بیماریهای مختلف، از جمله مارگزیدگی، مورد استفاده قرار می گیرد ولی اثر بخشی آن در مسمومیت ناشی از سم مار جعفری به اثبات نرسیده است. در مطالعه حاضر اثر این پادزهر بر عوارض ناشی از مسمومیت با سم مار جعفری در موش سوری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها: در این تحقیق تجربی از ۴۸ موش سوری سفید نر با سن حدود ۴ هفته استفاده شد. سم طبیعی مار جعفری مرحله به مرحله رقیق و غلظتهای ۱۰٪ و ۲٪ سم مورد استفاده قرار گرفت. ۲۰ دقیقه قبل از تزریق داخیل صفاقی غلظت ۲٪ سم مار جعفری، پادزهر بز کوهی با دوزهای ۶، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از طریق داخل صفاقی تزریق و سپس علایم بالینی، میانگین زمان بقاء و علایم کالبد گشایی ثبت گردید و علایم مذکور با گروه کنترل که ۲۰ دقیقه قبل از تزریق سم مار جعفری، سالین نرمال دریافت کرده بودند مقایسه گردید. جهت بررسی اثر غلظت ۱۰٪ سم، از دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پادزهر بز کوهی استفاده گردید.

یافتهها: نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که سم مار جعفری موجب بروز درد، ادم پیشرونده و مرگ در موشها گردید. پادزهر بخ کوهی، با مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم، ۲۰ دقیقه قبل از تزریق سم مار جعفری موجب افزایش معنی دار میانگین مدت زمان بقاء موشها در مقایسه با گروه کنترل گردید. زمان بقاء در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم پادزهر، از  $7/7 \pm 7/7 \pm 7/7$  دقیقه در گروه کنترل به  $7/7 \pm 7/7 \pm 7/7$  دقیقه افزایش یافت (7/6). همچنین پادزهر بز کوهی در مقادیر مذکور علایم پاتولوژیک ناشی از تزریق سم مار جعفری را در موشها به طور چشم گیری کاهش داد.

نتیجه گیری: پیش درمانی با پادزهر بز کوهی موجب افزایش مدت زنده ماندن و کاهش علایم پاتولوژیک (از جمله خونریزی در پرده صفاق، قفسه صدری و سیستم اعصاب مرکزی و همچنین احتقان عروق ریوی) ناشی از سم مار جعفری در موشها گردید. مکانیزم دقیق این اثر بایستی در مطالعات دیگری مشخص شود.

واژههای کلیدی: سم مار جعفری، پادزهر بز کوهی، زمان بقاء، علایم کالبد گشایی

۱- (نویسنده مسؤول) استاد گروه آموزشی سمشناسی - فارماکولوژی دانشکده داروسازی، مراکز تحقیقات فارماسیوتیکس، علوم اعصاب و فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تلفن: ۳۲۰۵۰۰۱ فاکس: ۳۲۰۵۰۰۳، فاکس: ۳۴۱-۳۲۰۵۰۰۳، يست الکترونيکي: heidarimr@yahoo.com

۲- استاد گروه آموزشی فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوزی و علوم و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- دانشیار گروه آموزشی داخلی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۴- دامپزشک، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون

#### مقدمه

مسمومیت ناشی از مارگزیدگی یکی از معضلات حائز اهمیت در پزشکی بوده و به علت عوارض خطرناک آن، از جایگاه ویژهای برخوردار است [۱]. مار جعفری (Echis Carinatus) یکی از معروفترین مارهای سمی در منطقه خاورمیانه و از جمله ایران است که به وفور در مناطق وسیعی از منطقه جنوب و جنوب شرقی کشور یافت می شود [۲]. از علایم مسمومیت با سم مار جعفری پیدایش ورم، درد و نکروز در محل گزش است. افزایش ضربان قلب، بزرگی و دردناک شدن غدد لنفاوی و پیدایش طاول در اطراف محل گزش جزء علایم بالینی قابل مشاهده هـستند. شـوک زودرس به ندرت دیده می شود. اختلالات انعقادی در طی ۶ ساعت پس از گزش با علایم خونریزی هنگام سرفه زدن، خونریزی از بینی، وجود خون در ادرار و مدفوع بروز می کند. مواردی از مرگ به علت خونریزی داخلی تا ۳ هفته پس از گزش هم گزارش شده است و با وجود مراقبتهای بیمارستانی ممکن است ۵ تا ۱۰٪ بیماران تلف شوند [۵–۳]. در حال حاضر تنها درمانی که در موارد مارگزیدگی انجام می شود تزریق داخل وریدی سرم ضد سم مار یا Antivenom است [۶].

این سرمها طی روندی کاملاً تخصصی از خون حیوانات (خصوصاً اسب) که با دوز مشخصی از سم مار مسموم شدهاند به دست میآید و حاوی آنتیبادیهای مؤثر بر ضد سم مار میباشند [۷-۶]. به دلیل ماهیت پروتئینی سرم ضد سـم مـار تجویز آن به فرد مار گزیده، ممکن است موجب بروز واکنشهای ازدیاد حساسیت و حتی وقوع شوک آنافیلاکتیک گردد که نهایتاً بسته به شدت واکنش، منجر به از کار افتادن ارگانهای داخلی مثل کلیهها و حتی مرگ شود [۹-۷]. بنابراین یافتن جایگزینی مناسب برای سرمهای ضد مار گزیدگی و یا موادی که به عنوان درمان کمکی در درمان مارگزیدگی استفاده شوند می تواند ارزشمند باشد. پادزهر بز کوهی مادهای است گرد و صیقلی که از دستگاه گوارش بز کوهی به دست میآید و در طب سنتی و عشایر جنوب شرق ایران به عنوان داروی شفابخش در درمان مارگزیدگیها، مسمومیتها و حتی درمان بسیاری از بیماریهای صعبالعلاج مورد استفاده قرار می گیرد. با توجه به این که هـسته مرکـزی

پادزهر برز کوهی را گیاهان موجود در مناطق کوهستانی تشکیل میدهند، لذا به نظر میرسد که اثر پادزهر برز کوهی میتواند به علت وجود گیاهان خاص موجود در پادزهر باشد. بر این اساس پادزهرهای به دست آمده از کوهستانهای مناطق مختلف ایران میتوانند اثرات متفاوتی را ایجاد کنند. تاکنون گزارشی مستند دال بر اثربخشی ماده مذکور در موارد فوق وجود ندارد و در مورد مواد متشکله آن نیز مطالعهای صورت نگرفته است لذا مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر تجویز پادزهر برز کوهی بر زمان بقاء و همچنین علایم پاتولوژیک، پس از تزریق سم مار جعفری در موش سوری پاتولوژیک، پس از تزریق سم مار جعفری در موش سوری مانجام شد تا پایه علمی برای قضاوت در مورد ادعاها و باورهای عشایر جنوب شرق ایران مبنی بر مؤثر بودن پادزهر بز کوهی در درمان مارگزیدگیها باشد.

## مواد و روشها

حیوانات و شرایط آزمایش: در این مطالعه تجربی، ۴۸ سر موش سوری سفید نر male albino mice در محدوده سنی ۴ موش سوری سفید نر ۳۰–۲۵ گرم از مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. دمای اطاق حیوانات ۲± ۲۲ درجه سانتی گراد ثابت و حیوانات در سیکل ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و به جز زمان آزمایش، دسترسی کافی به آب و غذا داشتند. بر اساس مطالعات مشابه حیوانی، در هر گروه آزمایشی حداقل ۶ سر موش سوری استفاده گردید [۱۰].

داروها: پادزهر بـز کـوهی از عـشایر منطقـه سـیرجان خریداری گردید. به علت عدم امکان تهیه سم مـار از مؤسـسه واکـسن و سـرمسـازی رازی، سـم مـار جعفـری از مارهـای (Echis Carinatus) زنـده صـید شـده از روسـتاهای اطـراف کازرون تهیه و بلافاصله درون یک محفظه حاوی یخ قـرار داده شد و سپس با حفظ زنجیره سرد بـه آزمایـشگاه سـمشناسـی دانشکده داروسازی کرمان منتقل گردید.

تهیه محلولهای تزریقی: پادزهر بز کوهی پس از کوبیدن در هاون چینی به صورت پودر در آمد و غلظتهای مختلف و مناسبی از پادزهر در سالین تهیه و به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. در هر آزمایش به گروه کنترل حجم مشابهی از

سالین (۰/۱ میلی لیتر به ازای هر ده گرم وزن موش) تزریق گردید.

روش انجام آزمایش: با توجه به اینکه سم مار جعفری به صورت طبیعی تهیه شده بود، لذا غلظتهای مختلفی از سم رقیق شده (به میزان ۰/۱ میلیلیتر به ازای هـر ده گـرم وزن موش) به گروههای شش تایی موش سوری تزریـق گردیـد تـا غلظتی از سم که بتواند موشها را ظرف یک ساعت و ۳ ساعت از پای در آورد مشخص شود. در نهایت غلظت ۱۰٪ سم موجب مرگ موشها در عرض یک ساعت و غلظت ۲٪ سم موجب مرگ موشهای سوری در عرض ۳ ساعت پس از تزریق گردید. لذا جهت بررسی اثر پادزهر بز کوهی بر زمان بقاء پس از تزریـق سـم مـار جعفـری، از غلظـتهـای ۱۰٪ و ۲٪ سـم استفاده گردید. ابتدا دوزهای تجربی مختلف پادزهر (۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۶ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخــل صفاقی به موشها تزریق گردید. بیست دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی پادزهر و جذب و توزیع آن در بافتها، محلول ۲٪ سم مار جعفری به گروههای شش تایی موشهای سوری به صورت داخل صفاقی تزریق و نتایج ثبت گردید.

در مرحله بعدی آزمایش، با توجه به محدویتهای مختلف، صرفاً از مؤثرترین دوز حاصل از نتایج تجربه با غلظت ۲٪ سـم مار یعنی دوز ۱۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم پادزهر استفاده شد و بیست دقیقه بعد، سم مار با غلظت ۱۰٪ به حیوانات تزریـق و نتایج ثبـت گردیـد. تزریـق پـادزهر بـز کـوهی بـا دوز ۱۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم بلافاصله پس از تزریق سم مار جعفری با غلظت ۲٪ نیز مـورد بررسـی قـرار گرفـت. در یـک مرحلـه از آزمایش، به طور تجربـی محلـول ۲٪ از سـم مـار جعفـری بـا پـادزهر مخلـوط و ۳۰ دقیقـه پـس از اخـتلاط، بـا دوز ۱۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم به صورت تؤام به موشها تزریق گردید تا اثر خنثیکنندگی مـستقیم پـادزهر [۱۷] مـورد آزمـون قـرار گیرد.

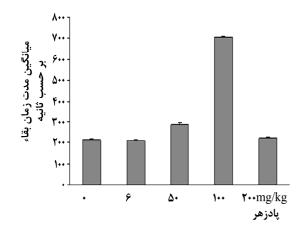
معیارهای مورد بررسی در این تحقیق در مرحله اول شامل علایم بالینی مسمومیت و مدت زمان بقاء متعاقب تزریق سم در موشها بود. در مرحله بعد موشها پس از مرگ ناشی از سم مارجعفری، کالبد گشایی شده و علایم پاتولوژیک توسط پاتولوژیست ثبت و با گروه کنترل که سم مار جعفری را

دریافت نکرده بودند مورد مقایسه قرار گرفت. علایم پاتولوژیک بر اساس شدت عارضه به صورت بسیار شدید، شدید، متوسط و خفیف طبقهبندی و ثبت گردیدند.

آنالیز آماری: داده ها به صورت میانگین $\pm$  انحراف معیار مربوط به حداقل ۶ سر موش سوری در هر گروه می باشند. میانگین زمان بقاء در موشهای سوری در گروههای مختلف در مقایسه با گروه کنترل با استفاده از آزمون T-Test و p<-./0 با برنامه SPSS مورد آنالیز قرار گرفت و مقادیر ./0 معنی دار در نظر گرفته شد.

### نتايج

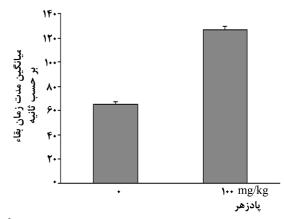
اثر پادزهر بز کوهی بر میانگین زمان بقاء متعاقب تجویز سم مار جعفری: همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می شود، پادزهر بز کوهی با مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب افزایش معنی داری در میانگین زمان بقاء پس از تزریق غلظت ۲٪ سم مار جعفری در مقایسه با گروه کنترل گردید. حداکثر اثر پادزهر مربوط به مقدار ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم است که زمان بقاء را تا حد ۷۰۵ دقیقه افزایش داده است (p<۰/۰۱). میانگین زمان بقاء در گروهی که ۶ میلی گرم بر کیلوگرم از پادزهر را دریافت کرده بودند، تفاوت معنی داری را با گروه کنترل نشان نداد. همچنین میانگین زمان بقاء متعاقب تجویز ۲۰۰ میلی گرم متعاقب تجویز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پادزهر تفاوت



نمودار ۱ - مقایسه میانگین مدت زمان بقاء موشهای سوری تحت تـأثیر مقادیر مختلف پادزهر بز کوهی پس از تزریق غلظت 1٪ سم مار جعفری  $(n=7) p < \cdot / \cdot 1$ 

تزریق پادزهر بـز کـوهی (۱۰۰ میلـیگـرم بـر کیلـوگرم) بلافاصله پس از تزریق سم مار جعفری با غلظت ۲٪ نیز موجب

افزایش در زمان بقاء موشهای سوری (۳/۵±۲۲۳ دقیقه) در مقایسه با گروه کنترل گردید. تزریق مخلوط سم مار جعفری با غلظت ۲٪ و پادزهر، ۳۰ دقیقه پس از اختلاط، با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، باعث افزایش مختصری در زمان بقاء گردید (۶±۲۴۲ دقیقه). مقدار ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پادزهر بـز کـوهی موجـب افزایش معنـیداری (۱۰/۰۱) در میانگین زمان بقاء (۴/۲±۱۲۷/۱ دقیقه) مـوشهـای سـوری متعاقب تزریق غلظت ۱۰٪ سم مار جعفری گردید (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه میانگین مدت زمان بقاء موش های سوری تحت تأثیر پادزهر بز کوهی و پس از تزریق غلظت ۱۰٪ سم مار جعفری \* ۱۰/۰۱: p<۰/۰۱)

اثر پادزهر بز کوهی بر علایم پاتولوژیک ناشی از سم مار جعفری: جدول ۱ علایم کالبد گشایی در گروههای کنترل و گروههای درمانی پس از تزریق سم مار جعفری را نشان میدهد. همانطور که مشاهده می شود تزریق سم مار جعفری

در غلظتهای ۱۰٪ و ۲٪ موجب خونریزی شدید در پرده صفاق، ایجاد لخته خون در اطراف رودهها، پر خونی عروق مزانتر و عروق مغزی، خونریزی اکیموتیک در پرده صفاق و دیافراگم، وجود خونابه در قفسه سینه و پر خونی ریهها گردید. شدت علایم فوق با غلظت سم مار جعفری نسبت مستقیم داشت. بدین معنی که شدت خونریزی در غلظت ۱۰٪ سم بیشتر از غلظت ۲٪ سم بود. شدت علایـم فـوق در گروهـی از حیوانات که مقدار ۶ میلی گرم بر کیلوگرم پادزهر بز کوهی را دریافت کرده بودند مشابه گروه کنترل بود ولی متعاقب تزریق مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پادزهر بـز کـوهی بـه طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کمتر بود. معهذا شدت علایم فوق در گروهی که ۲۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم پادزهر را دریافت نمودند مشابه گروه کنترل بود. بدین معنی که تنها مقدار ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم پادزهر قادر بود که شدت علائم پاتولوژیک ناشی از تزریق سم مار جعفری را کاهش دهد. مقدار ۱۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم از پادزهر قبل از تزریق سم با غلظت ۱۰٪ نیز تا حد زیادی در کاهش علایم

تزریق پادزهر بـز کـوهی (۱۰۰ میلـیگـرم بـر کیلـوگرم) بلافاصله پس از تزریق سم مار جعفری با غلظت ۲٪ نیز موجب کاهش علایم پاتولوژیک ناشی از تزریـق سـم مـار جعفـری در مقایسه با گروه کنترل گردید.

پاتولوژیک مؤثر بود (جدول ۱).

جدول ۱ - مقایسه علایم کالبد گشایی متعاقب تزریق سم مار جعفری در موشهای سوری تحت درمان با پادزهر بز کوهی و گروههای کنترل

افتەھاى كالبدگشايى	لخته خون اطراف روده ها	پر خونی عروق مزانتر	خونریزی اکیموتیک در پرده صفاقی و دیافراگم	خونابه در قفسه سینه	پر خونی عروق مغز
روههای کنترل و درمان شده با پادزهر	22	7 7 627	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	<del>.</del>	, 0,,
ننترل ۱: تزریق سرم فیزیولوژی + سم مار ۲٪	+++	+++	+++	+++	++
کنترل ۲: تزریق سرم فیزیولوژی + سم مار ۱۰٪	++++	++++	++++	++++	+++
ادزهر ۶ میلیگرم بر کیلوگرم + سم مار ۲٪	+++	+++	+++	+++	++
ادزهر صفر میلیگرم بر کیلوگرم + سم مار ۲٪	++	++	++	++	+
ادزهر ۱۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم + سم مار ۲٪	++	++	++	++	+
ادزهر ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم + سم مار ۲٪	+++	+++	+++	+++	++
ادزهر ۱۰۰ میلی گرم برکیلو گرم + سم مار ۱۰٪	+++	+++	++	++	++

+++: بسيار شديد +++: شديد ++: متوسط +: خفيف

# بررسى علايم باليني ناشي از تزريق سم مار جعفري:

در عرض ۲ دقیقه پس از تزریق سم مار جعفری سیخ شدن دم، درد احشایی به صورت کشیده شدن حیوان بر روی سطح زمین و علایم writhing reflex بروز کرد. در عرض ۲۵ دقیقه پس از تزریق سم، ادم پیشرونده در ناحیه سر و صورت و پوزه و پلکها که منجر به بسته شدن پلکها شد، مشاهده گردید.۱۲۰ دقیقه پس از تزریق سم گیجی، عدم تعادل، خواب آلودگی، لرزشهای متناوب، سختی تنفس، سیانوز شدن لبها و بروز خونریزی در اندامهای مختلف و در نهایت مرگ بروز کرد.

#### بحث

نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که تزریـق داخـل صفاقی غلظتهای ۱۰٪ و ۲٪ سم مار جعفری موجب بروز درد حاد در محل تزریق (درد شکم)، ادم پیشرونده در ناحیه سر و صورت (ادم لبها و پلکها)، بروز خونریزی در انـدامهای مختلف و نهایتاً مرگ گردید که با علایم مشاهده شده در سایر منابع همخوانی دارد [۱۱، ۵]. علـت بـروز ادم متعاقب تزریـق سـم وجود آنزیم فسفولیپاز A2 در سم مار جعفری است [۱۲].

تزریق داخل صفاقی پادزهر استخراج شده از دستگاه گوارش بز کوهی ایرانی، ۲۰ دقیقه قبل از تزریق سم طبیعی مار جعفری موجب تأخیر در زمان بـروز مـرگ ناشـی از سـم گردید. این اثر، وابسته به مقدار بود بدین معنی که مقدار ۶ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن از پادزهر بـز کـوهی اثـری بـر زمان بقاء پس از تزریق سم مار جعفری نداشت ولی ماده مذکور در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم توانست زمان بقاء پس از تزریق سم مار جعفری را به صورت  $(p<\cdot/\cdot\Delta)$  معنی داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش دهد بدین معنی که مقدار ۱۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم پادزهر زمــان بقاء را از ۲/۷± ۲۱۳/۸ دقیقه در گروه کنتـرل بـه ۴/۳±۷۰۵ دقیقه افزایش داد. همچنین تزریق مقادیر مذکور موجب كاهش علايم ياتولوژيک متعاقب تزريق سم مار جعفري گرديد. مکانیسم اثر بروز اختلالات انعقادی در اثر سم مار جعفری به طور دقیق مشخص نشده است ولی گزارشاتی وجود دارد که نشان میدهد سم مار جعفری از طریق فعال شدن کمپلمان از

طریق مسیرهای کلاسیک و یا مسیرهای جایگزینی موجب بروز اختلالات عروقي مي شود [۱۱، ۵]. مطالعات متعددي كه بر روی اثرات مواد موجود در سم مار جعفری بر سیستم انعقادی خون صورت گرفته است نشان دهنده این مطلب است که سم مار جعفری حاوی مواد فعال کننده و مهار کننده تجمع پلاکتے است [۱۴-۱۳]. بـه طـور مثـال Echistatin يـک مهار کننده قوی تجمع پلاکتی است که در سم مار جعفری وجود دارد و از طریق اثر بر مسیر ADP موجب مهار تجمع پلاکتها میشود. هم چنین ماده مذکور چسبندگی پلاکتی ناشی از ترومبین، اپینفرین، کلاژن و فاکتور فعال کننده پلاکتی را مهار میکند [۱۵]. محققین دیگری گزارش کردهاند که سم مار جعفری حاوی مادهای بنام Echicetin است که به طـور اختـصاصى بـه گليكـوپروتئينهـاى پلاكـت GP) Ib مي چسبد و موجب افزايش چسبندگي پلاكتها مي شود [۱۶]. از طرفی Preda و همکاران گزارش کردهاند که سم مار جعفری موجب فعال شدن پروترومبین و در نتیجه موجب کاهش زمان انعقاد خون و بروز coagulopathy می گردد [۱۷].

مکانیسم اثر پادزهر بز کوهی در به تعویق انداختن زمان وقوع مرگ و کاهش اختلالات انعقادی (خونریزی در پرده صفاق و دیافراگم، پر خونی ریوی و عروقی مغزی و ....) ناشی از سم مار جعفری به درستی مشخص نیست ولی واکنشهای ایمونولوژیک و اثرات متقابل بین اجزاء تشکیل دهنده یادزهر بز کوهی با اجزاء پروتئینی سم مار جعفری می تواند در به تأخير انداختن مرگ ناشي از سم دخيل باشند [١٩-١٧]. بـه طور مثال Guerranti و همكاران گزاش كردهاند كه عصاره آبي دانههای گیاه Mucuna pruriens از طریق یک مکانیسم ایمونولوژیک موجب خنثی شدن اثر سم مار جعفری گردیده است. بدین معنی که پروتئینهای موجود در گیاه مذکور با IgG ایجاد شده بر علیه سم مار جعفری واکنش متقابل داشته و موجب بیاثر شدن آنها می گردد [۹]. همچنین پادزهر بـز کوهی ممکن است از طریق اثر بر سیستم انعقاد خون موجب کاهش علایم پاتولوژیک ناشی از تزریـق سـم مـار جعفـری در موش سوری شود [۱۷–۱۳].

در مرحلهای از این تحقیق، سم مار جعفری و پادزهر بنز کوهی به مدت ۳۰ دقیقه با هم آمیخته و سپس تزریق شدند که باعث افزایش مختصری در زمان بقاء حیوانات گردید و تأثیری بر مرگ و میر موشها نداشت. در تحقیقی که توسط Abubakar و همکاران صورت گرفت تجویز عصاره گیاه Guiera senegalensis با سم مار جعفری موجب کاهش قابل ملاحظهای در مرگ و میر موشها گردید [۱۰]. لذا چنین میتوان نتیجهگیری کرد که پادزهر بز کوهی قادر نیست اثر سمی مار جعفری را به صورت مستقیم خنثی نماید.

تغییر در اختلالات انعقادی ناشی از سم مار جعفری توسط سایر محققین نیز گزارش شده است. Houghton و همکاران گزارش کردند که پوست و برگ بعضی از گیاهان موجود در غرب آفریقا موجب تأخیر در انعقاد خون ناشی از سم مار جعفری (Echis Carinatus) میشود [۲۰]. همچنین محققین دیگری گزارش کردهاند که مواد شیمیایی موجود در پوست، برگ و ریشه درختان مختلف موجب کاهش اثر سم مار جعفری می شوند [۲۲-۲۱، ۱۹، ۱۰].

علی رغم مصرف گسترده پادزهر بز کوهی در بین عشایر استان کرمان و سایر مناطق ایران، در مورد اجزاء تشکیل دهنده و خواص دارویی پادزهر بز کوهی ایرانی تاکنون گزارشی منتشر نشده است و تحقیق حاضر نخستین گزارش در مورد توانایی پادزهر بز کوهی در به تعویق انداختن زمان بروز مرگ ناشی از سم مار جعفری میباشد.

پادزهر بز کوهی با مقدار ۲۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم، تغییر معنی داری در میانگین زمان بقاء متعاقب تزریق سم مار جعفری در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. به علاوه مقدار فوق موجب بروز آثار نامساعد از جمله تحریک شدید سیستم

اعصاب مرکزی و نهایتاً مرگ حیوانات گردید. این امر نیشاندهنده ضرورت بررسی منحنی دوز \_ پاسخ لیشاندهنده ضرورت بررسی منحنی دوز \_ پاسخ LD50, ED50, ED50 و تعیین (dose- response) پادزهر بز کوهی و تعیین مقایسه اثر آن با حریم امنیت پادزهر بز کوهی و همین طور مقایسه اثر آن با آنتی سرمهای معمول که به صورت رایج استفاده میشوند، می باشد. با توجه به محدودیت دسترسی به مقادیر کافی سم مار و کمبودهای دیگر، امکان ادامه این تحقیق فراهم نشد. هم چنین با توجه به این که پادزهر بز کوهی موجب کاهش اختلالات انعقادی و هموراژیک ناشی از تزریق سم مار جعفری گردید، لذا مطالعات گسترده تری لازم است تا اثر دقیق پادزهر بز کوهی بر سیستم انعقادی خون نیز مشخص گردد.

## نتيجهگيري

به طور خلاصه مطالعه حاضر نشان داد که تجویز پادزهر بز کوهی ۲۰ دقیقه قبل از تزریق سم مار جعفری به صورت وابسته به مقدار (۱۰۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی) موجب افزایش میانگین زمان بقاء و کاهش علایم پاتولوژیک ناشی از تزریق سم مار جعفری از جمله کاهش اختلالات هموراژیک در موشهای سوری سفید گردید. معهذا مکانیسم آثار فوق به درستی مشخص نشده است و نیاز به مطالعات گسترده تری دارد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت مرکز تحقیقات علوم اعصاب در تأمین بخشی از هزینههای این تحقیق (۲۹-۸۶) و دکتر محمود لطیفی، پیشکسوت علم مار شناسی در ایران و هم چنین پروفسور Steven پیشکسوت علم مار شناسی در ایران و هم چنین پروفسور C. Anderson استاد دانشگاه pacific کالیفرنیا به خاطر پژوهشهای ارزشمندشان پیرامون مارهای ایران و دکترعلی میرزازاده برای کمک در آنالیز آماری نتایج، سپاسگزاری میشود.

#### References

[1] Gold B. Snake venom poisoning. In: Rakel R (Editor), Conn's Current Therapy: W.B.Saunders Company; USA, 2000: 1139-41. [2] Latifi M. Snakes of Iran. 3rd edition, Environmental Protection Organization of Iran Press; Tehran, Iran: 2000: 215-30.

- [3] Hantson P, Verhelst D, Wittebole X, El Gariani AW, Goossens E, Hermans C. Defibrination and systemic bleeding caused by an imported African snakebite. Eur J Emerg Med, 2003; 10(4): 349-52.
- [4] Pugh RN, Theakston RD, A clinical study of viper bite poisoning. *Ann Trop Med Parasitol*, 1987; 81(2): 135-49.
- [5] Warrell DA, Davidson NMcD, Green Wood BM, Ormerod LD, Pope HM, Watkins BJ, et al. Poisoning by bites of the saw-scaled or carpet viper (Echis carinatus) in Nigeria. Q J Med, 1977; 46(181): 33-62.
- [6] Theakston RD, Warrell DA, Griffiths E, Report of a WHO workshop on the standardization and control of antivenoms. *Toxicon*. 2003; 41(5): 541-57.
- [7] Vijeth SR, Dutta TK, Shahapurkay J, Sahai A. Dose and frequency of anti-snake venom injection in treatment of Echis carinatus (saw-scaled viper) bite. J Assoc Physicians India, 2000; 48(2): 187-91.
- [8] Al-Saleh SS, Ghneim HK, Haddad HY, Khan SU. Separation and purification of Echis coloratus venom and some biological and biochemical effects of the proteins. *Cell Biochem Funct*, 2002; 20(2): 153-62.
- [9] Guerranti R, Aguiyi JC, Neri S, Leoncini R, Pagani R, Marinello E. Proteins from Mucuna pruriens and enzymes from Echis carinatus venom: characterization and crossreactions. *J Biol Chem*, 2002; 277(19): 17072-8.
- [10] Abubakar MS, Sule MI, Pateh UU, Abdurahman EM, Haruna AK, Jahun BM. In vitro snake venom detoxifying action of the leaf extract of Guiera senegalensis. J Ethnopharmacol, 2000; 69(3): 253-7.
- [11] Warrell DA, Pope HM, Prentice CR. Disseminated intravascular coagulation caused by the carpet viper (Echis carinatus): trial of heparin. *Br J Haematol*, 1976; 33(3): 335-42.
- [12] Kemparaju K, Prasad BN, Gowda VT, Purification of a basic phospholipase A2 from Indian saw-scaled viper (Echis carinatus) venom: characterization of antigenic, catalytic and pharmacological properties. *Toxicon*. 1994; 32(10): 1187-96.

- [13] Ouyang CH, Ma YH, Jih HC, Teng CM. Characterization of the platelet aggregation inducer and inhibitor from Echis carinatus snake venom. *Biochim Biophys Acta*, 1985; 841(1): 1-7.
- [14] Teng CM, Ma YH, Ouyang CH, Action mechanism of the platelet aggregation inducer and inhibitor from Echis carinatus snake venom. *Biochim Biophys Acta*, 1985; 841(1): 8-14.
- [15] Gan ZR, Gould RJ, Jacobs JW, Friedman PA, Polokoff MA. Echistatin. A potent platelet aggregation inhibitor from the venom of the viper, Echis carinatus. J Biol Chem, 1988; 263(36): 19827-32.
- [16] Navdaev A, Dormann D, Clemetson JM, Clemetson KJ. Echicetin, a GPIb-binding snake C-type lectin from Echis carinatus, also contains a binding site for IgMkappa responsible for platelet agglutination in plasma and inducing signal transduction. Blood. 2001; 97(8): 2333-41.
- [17] Preda L, Figini S, Rossi E, A new global test for the evaluation of the activated factor II-antithrombin system. Blood Coagul Fibrinolysis, 2001; 12(5): 405-10.
- [18] Alam MI, Gomes A. Snake venom neutralization by Indian medicinal plants (Vitex negundo and Emblica officinalis) root extracts. *J Ethnopharmacol*, 2003; 86(1): 75-80.
- [19] Alam MI, Gomes A. Viper venom-induced inflammation and inhibition of free radical formation by pure compound (2hydroxy-4-methoxy benzoic acid) isolated and purified from anantamul (Hemidesmus indicus R. BR) root extract. *Toxicon*. 1998; 36(1): 207-15.
- [20] Houghton PJ, Skari KP. The effect on blood clotting of some west African plants used against snakebite. *J Ethnopharmacol*, 1994; 44(2): 99-108.
- [21] Asuzu IU, Harvey AL. The antisnake venom activities of Parkia biglobosa (Mimosaceae) stem bark extract. *Toxicon*, 2003; 42(7): 763-8.
- [22] Girish KS, Mohanakumari HP, Nagaraju S, Vishwanath BS, Kemparaju K. Hyaluronidase and protease activities from Indian snake venoms: neutralization by Mimosa pudica root extract. *Fitoterapia*. 2004; 75(3-4): 378-80.

## Evaluation the Effects of Bezoar on Survival Duration and Attenuation of

# Complications of Echis Carinatus Snake Venom Poisoning in Mice

M.R. Heidari<sup>1</sup> Gh.R. Sepehri<sup>2</sup>, M.J. Zahedi<sup>3</sup>, R. Sheibani Tezerji<sup>4</sup>

Received: 11/06/06 Sent for Revision: 01/11/06 Received Revised Manuscript: 31/01/09 Accepted: 02/02/09

**Background and Objectives:** Snakebite treatment is one of the major difficulties in medicine due to its dangerous side effects. Bezoar, a stone found in the stomach of wild goat, is widely reputed against various diseases, including snakebite, in traditional medicine among the tribes in southeast of Iran. But its efficacy against snakebite poisoning has not been determined, yet. This study was performed to evaluate the Bezoar effect on the clinical signs, mean survival duration and the autopsy findings (pathologic signs) of experimental mice receiving various doses of crude Echis carinatus snake venom.

Material and Methods: This experimental study was performed on 48, 4 week old mice. The natural crude snake venom was serially diluted and 10% & 2% concentrations of the venom were used. Various experimental doses of Bezoar (6, 50, 100 & 200 mg/kg/i.p) were injected, 20 min before 2% snake venom intra peritoneal administration. The clinical signs, mean survival duration and autopsy findings were recorded and compared with control mice which received saline, 20 min before snake venom administration. In case of using 10% concentration snake venom, mice received only 100 mg/kg/ i.p of Bezoar, 20 min before snake venom administration.

**Results:** The results of this study showed that Echis carinatus snake venom caused pain, progressive edema and death in mice. The Bezoar (50 & 100 mg/kg) increased the survival duration of mice receiving 2% dilution of Echis carinatus snake venom significantly as compared to controls (p<0.01). The dose of 100 mg/kg of Bezore increased the survival duration from 213.8±2.7 to 705±4.3 min in comparison to control group (p<0.01). Also the Bezoar significantly antagonized the pathologic signs induced by Echis carinatus snake venom in mice.

**Conclusion:** Pretreatment of mice with Bezoar increased the survival duration of mice and decreased the pathologic signs (such as bleeding in the retroperitoneal space, thoracic cavityand CNS and lung vascular congestion) induced by Echis carinatus snake venom in mice. The exact mechanisms must be elucidated in other investigations.

Key words: Echis Carinatus Venom, Bezoar, Survival Time, Autopsy Finding

Funding: This research was financially supported by Kerman Neuroscience Research Centre (KNRC).

Conflict of interest: None declared.

**Ethical approval:** The Ethic Committee of Vice Chancellor of Kerman University of Medical Sciences approved the study (Ethical code 86-29-NEC).

<sup>1-</sup> Prof. of Toxicology-Pharmacology, Pharmacy School, Pharmaceutics, Neuroscience and rhysiology Kesearch Centers, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>(</sup>Corresponding Author) Tel: (0341) 3205001, Fax: (0341) 3205003, E-mail: heidarimr@yahoo.com

<sup>2-</sup> Prof. of Pharmacology, Neuroscience and Physiology Research Center, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>3-</sup> Associated Prof., Dept. of Internal Medicine Medical School, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>4-</sup> Veterinarian, Kazeroon Azad University, Kazeroon, Iran