Faculty Of Medicine **Sohag University**

EVALUATION OF THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECT OF CAPTOPRIL AND VALSARTAN ON METHOTREXATE INDUCED HEPATOTOXICITY IN RATS

(Thesis)

Submitted for partial fullfiment of the master degree in pharmacology

By

Mayada Mohamed Ahmed tammam

Administrator of pharmacology

Under supervision of

Professor.

Alaa Eldin Ahmed El-kussi

Professor of pharmacology

Faculty of medicine

Assiut University

Dr.

Wafaa Abd El-Aziz Abd Allah

Lecture of pharmacology

Faculty of medicine

Sohag University

2016

INTRODUCTION

Renin angiotensin system has protective role in methotrexate induced hepatotoxicity **(MINA et al., 2016).**

Methotrexate is afolic acid antagonist. It is widely used as a cytotoxic chemotherapeutic agent for leukemia and other malignancies. Low dose of methotrexate has been used for treatment of inflammatory diseases such as psoriasis and rheumatoid arthritis. **(HERSH et al., 1966)**. Adverse effects of medication with Methotrexate includes anemia, neutropenia, stomatitis and oral ulcers **(Henghetian et al., 2007).** A toxicity study on Methotrexate highlights its role in inducing oxidative stress as a cause of toxicity on the liver. **(Jabovic et al., 2003).**

Captopril is an angiotensin converting enzyme inhibitor which is a derivative of amino-acid proline. it contains a sulphydryl group so it is likely to be a free radical scavenger. **(CHOPRA et al., 1989).** angiotensin converting enzyme inhibitors are popular drugs in treatment of hypertension and congestive heart failure. **(Abd El-Aziz et al., 2001).** It has other pharmacological effects such as free radical scavenger, reduction of oxidant stress and anti-fibrotic effect (**MC Cord et al., 1969).**

Valsartan is a non-peptide tetrazole derivative and selectively inhibits angiotensin II receptor type I which causes reduction in blood pressure and is used in treatment of hypertension**. (Elesch et al., 1997).**

As the previews studies showed that the Methotrexate had important clinical uses; it also had serious adverse effects and the most common is liver affection. Thus in this study we will try to use captopril and valsartan as

protective drugs to overcome the hepatotoxicity induced by Methotrexate in rats.

Aim of the Work:-

In this research we propose that captopril and valsartan can be used as an adjunct therapy with Methotrexate to prevent or even minimize the serious side effects of Methotrexate on liver functions.

Martial, methods:-

Animals:-

70 male albino rats weighting (150 – 250) grams at age of (3 – 4) months will be used in the study

Drugs:-

Methotrexate 5 mg/kg intraperitoneal route single dose **(Bulyami et al., 2013).**

Captopril 100 mg/kg/day orally by gastric tube for successive 28 days **(HRENAK et al., 2013).**

Valsartan 10 mg/kg/day orally by gastric tube for successive 28 days **(Kalina et al.,2011).**

Methods:-

We will divide the animals into 7 groups each containing 10 rats

1- first group (control group) will be administered saline (0.9 Nacl) orally for successive 28 days .

2- Second groups (control group) will be administered saline (0.9 Nacl) intraperitoneal single dose.
3- Third group will be administered Methotrexate 5 mg/kg intraperitoneal single dose **(Bulyami et al., 2013).**
4- Forth groups will be administered captopril 100 mg/kg/day orally for successive 28 days **(HRENAK et al., 2013).**
5- Fifth group will be administered Valsartan 10 mg/kg/day orally for successive 28 days **(Kalina et al., 2011).**
6- Sixth group will be administered captopril 100 mg/kg/day orally for successive 28 days followed by Methotrexate 5 mg/kg intraperitoneal route single dose **(MINA et al., 2016).**
7- Seventh group will be administered Valsartan 10 mg/kg/day orally for successive 28 days followed by Methotrexate 5 mg/kg intraperitoneal route single dose **(MINA et al., 2016).**

After the period of treatment all animals will be sacrificed then the blood and the liver of animals will be collected to evaluate liver function and liver pathology and antioxidant enzymes.

Measurement:-

Liver function tests:

This will include measuring the following substances :

- Bilirubin.
- Total protein.
- Albumin.
- Aspartate aminotransferase (AST).
- Alanine aminotransferase (ALT).

Liver pathology:

- Liver specimens will be collected and stained with hematoxylin and eosin for histopathological examination.

Oxidative stress parameters:-

- Lipid peroxide.
- Superoxide dismutase.
- Nitric oxide.

References

Abd el-Aziz, M.A, AJ.Othman, M.Amer and M.A, El-Missray. (2001):

Potential protective role of angiotensin converting enzyme inhibitors captopril and enalapril against Adriamycin induced acute cardiac hepatic toxicity in rats. Journal of applied toxicology. 21: 469 – 473 .

Bunyami Ozogul, Abdullah Kisaoglu, Mehmet Ibrahim Turan and Burdu Altuner . (2013):

The effect of mirtazapine on Methotrexate induced toxicity in rat liver . scienceasia . 39 : 356 – 362 .

CHOPRA ,M. , SCOTT , M., MCMURRAY, J. MCLH, J., BRIDGES , A. and SMITH, W.E. (1989):

Captopril free radical scavenger . 27 : 396 – 399 .

Elesch G ., Muller ph . and Lioydp . (1997):

Absolute bioavability and pharmacokinetics of valsartan and angiotensin II receptor antagonist in man . Eur J clin pharmacol . 52 : 115 – 120 .

Henghtien , M.D and Bruce N. and cronstein , M. D. (2007) :

Understanding the mechanism of action of Methotrexate implication for treatment of rheumatoid arthritis . Bull Nyu Hospital Jt dis . 65 (3) :168 – 173 .

HERSH EM, WONG VG, HENDERSON ES and FREIRICH EJ . (1966) :

Hepatotoxic effect of Methotrexate . cancer. 19 : 600 – 606 .

HRENAK, J., ARENDASONA, K., RAJKOVICOVA, R., AZIRIOVA, S. and REBOVAT, K. (2013) :

protective effect of captopril, olmesarten and melatonin and compound 21 and doxorubicin induced hepatotoxicity in rats . physiol. Res. 62 (1): 181 - 189

Jabobic N,civik H, schirl Ao, Yegen Bc and Sener G. (2003) :

Melatonin prevent Methotrexate induced hepatorenal oxidative injury in rats . J Pineal Res. 34 :282 – 287 .

Kalina Gjorgjievska, majaslanika – miceska and Gordana Petrusevska. (2011):

Protective effect of aliskiren, enalapril and valsartan in hypertension target organs in spontaneously hypertensive rats. Macedonian journal of medical science . 4 (2): 152 – 157 .

MC cord, J.M and I.Fridovich (1969) :

Superoxide dismutase an enzymatic function for erthrocuberein . the journal of biological chemistry . 244 : 6049 – 6055 .

Mina T Kelleni, Salwa A Ibrahem and Ali M Abdelrahman (2016) :

Effect of captopril and telmisartan in Methotrexate induced hepatotoxicity in rats. Toxicology mechanism and methods . 5(26) : 371 – 377

جامعة سوهاج

كلية الطب

تقييم التأثير الوقائي المحتمل لعقار الكابتوبريل والفالسارتان في الحد من القصور في وظائف الكبد الناتج عن استخدام عقار الميثوتريكسات في الجرذان

الباحث

ميـــادة محمد أحـمد تـمـام

معيده بقسم الفارماكولوجى

تحت إشراف :

أ. د علاء الدين احمد القوصى

استاذ الفارماكولوجى

كلية الطب

جامعة اسيوط

د. وفاء عبد العزيز عبد اللاه

مدرس الفارماكولوجى

كلية الطب

جامعة سوهاج

الملـخص الـعربى

مـقدمه

لقـد ثبـت دور ادويـة جهـاز الـرينين انجيوتنسـين فـى الحـد مـن اثـار عقـار الميثوتريكسـات الضـاره على الكبد .

يعـد عقـار الميثوتريكسـات عقـار مضـاد لحمـض الفوليـك ويسـتخدم بكثـره كعـلاج كيميـائى سـام للخلايـا . فهـو يسـتخدم فـى عـلاج سـرطان الـدم وبعـض الأورام الاخـرى وتسـتخدم جرعـه مصـغره منـه فـى عـلاج الامـراض الالتهابيـه مثـل الصـدفيه والتهـاب المفاصـل الروماتيودى . ويوجـد لعقـار الميثوتريكسـات اعـراض جانبيـه مثـل الانميـا ونقـص عـدد كـرات الـدم البيضـاء والتهـاب المعـده وقـرح الفـم والتـى تحـدث بسـبب انهـا مضـاد لحمـض الفوليـك . اثبتـت الدراسـات دور عقار الميثوتريكسات فى تسببه للاكسده على خلايا الكبد .

يعـد عقـار الكابتوبريـل انـزيم محـول للانجيوتنسـين وهـو مشـتق مـن الحمـض الامينـى البـرولين وكـذلك يحتـوى علـى مجموعـة السـالفهيدريل لـذا فهـو يعتبـر زبـال الجـذور الحـره . تعـد الانزيمـات المحولـه للانجيوتنسـن ادويـه مسـتحبه فـى عـلاج امـراض ضـغط الـدم المرتفـع وفشـل القلـب الاحتقـانى . توجـد لعقـار الكابتوبريـل اثـار دوائيـه اخـرى فهـو مـن مضـادات الاكسـده ولـه تأثير مضاد للتليف .

يعـد عقـار والفالسـارتان عقـار مشـتق غيـر ببتايـدى ربـاعى فهـو يمنـع عمـل مسـتقبل الانجيوتنسـن II المستقبل النوع الاول لذا فهو يقلل ضغط الدم ويستخدم فى علاج ضغط الدم المرتفع .

وبنـاءا علـى ذلـك تقـوم هـذه الدراسـه بمحاولـة اسـتخدام عقـار الكابتوبريـل وعقـار والفالسـارتان مع عقار الميثوتريكسات لمنع او على الاقل تقليل الاعراض الجانبيه الخطيره المصاحبه له.

الهدف من البحث :

اسـتخدام عقـار الكابتوبريـل وعقـار والفالسـارتان مـع الحـالات التـى يـتم علاجهـا بعقـار الميثوتريكسات للحد من تأثير الضرر على الكبد .

المواد والطرق المستخدمه :

الحيوانات : 70 فأر تجارب ابيض .

المـواد المسـتخدمه : عقـار الميثوتريكسـات 5 مجـم/ كجـم يحقـن فـى الغشـاء البريتـونى جرعـه واحده .

عقـار الكابتوبريـل 100 مجـم / كجـم / يـوم يعطـى عـن طريـق الفـم بواسـطة انبـوب المعـده لمـدة 28 يوم متتاليه .

عقـار والفالسـارتان 10 مجـم / كجـم / يـوم يعطـى عـن طريـق الفـم بواسـطة انبـوب المعـده لمـدة 28 يوم متتاليه .

الطرق المستخدمه :

تقسم الفئران الى سبعة مجموعات كل مجموعه تحتوى على 10 فأر .

1- المجموعه الاولى : (الضابطه) سوف تأخذ محلول ملح (0.9 %) يحقن فى الغشاء البريتونى لمرة واحدة .
2- المجموعه الثانيه : (الضابطه) سوف تأخذ محلول ملح (0.9 %) عن طريق الفم لمدة 28 يوم متتاليه .
3- المجموعه الثالثه : سوف تأخذ عقار الميثوتريكسات 5 مجم / كجم يحقن فى الغشاء البريتونى جرعه واحده .
4- المجموعه الرابعه : سوف تأخذ عقار الكابتوبريل 100 مجم / كجم / يوم عن طريق الفم لمدة 28 يوم متتاليه .
5- المجموعه الخامسه : سوف تأخذ عقار الفالسارتان 10 مجم / كجم / يوم عن طريق الفم لمدة 28 يوم متتاليه .
6- المجموعه السادسه : سوف تأخذ عقار الكابتوبريل 100 مجم / كجم / يوم عن طريق الفم لمدة 28 يوم متتاليه ثم عقار الميثوتريكسات 5 مجم / كجم يحقن فى الغشاء البريتونى جرعه واحده .
7- المجموعه السابعه : سوف تأخذ عقار والفالسارتان 10 مجم / كجم / يوم عن طريق الفم لمدة 28 يوم متتاليه ثم عقار الميثوتريكسات 5 مجم / كجم يحقن فى الغشاء البريتونى جرعه واحده .

بعد مدة العلاج يتم ذبح الجرذان وتجمع عينات الدم والكبد من المجموعات السته وتقييم وظائف الكبد ودلائل الأكسده الشديه.

القياسات:

وظائف الكبد :

وذلك عن طريق المواد الاتيه :

- البيليروبين .
- البروتين الكلى فى الدم .
- الالبيومين .
- إنزيمات الكبد .

باثولوجيا الكبد :-

- تجمع عينات الكبد ويتم فحصها بعد صبغها بواسطة صبغة الهيماتكسولين والايوسين

دلائل الأكسده الشديده :-

- ليبد بيراوكسيد .
- سوبر اوكسيد ديسميوتيس .
- نيترك اوكسيد .