

تأثیر دی متیل ایتاکونیک اسید بر انعقاد خون و پارامترهای خونی در موش صحرایی

کاوه رحیمی^۱، شراره بخت زاد^۲، محمد عباس زاده^۳، زهره قطب الدین^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: دی متیل ایتاکونیک اسید اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی می‌باشد. هدف این مطالعه، بررسی اثر دی متیل ایتاکونیک اسید بر انعقاد خون و پارامترهای خونی در موش صحرایی بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. گروه شاهد: موش‌های سالم که مداخله‌ای صورت نگرفت و تنها روزانه تزریق داخل صفاقی روغن آفتابگردان به مدت ۷ روز انجام شد. گروه آسپرین: روزانه تزریق داخل صفاقی آسپرین ۲۶ mg/ml به مدت ۷ روز انجام شد. گروه‌های دی متیل ایتاکونیک اسید: روزانه تزریق داخل صفاقی دی متیل ایتاکونیک اسید با دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۷ روز انجام شد. تست‌های انعقادی CT، BT، PT و aPTT و همچنین پارامترهای خونی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: مصرف هفت روزه‌ی دی متیل ایتاکونیک اسید در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن سبب افزایش میانگین زمان BT در مقایسه با موش‌های سالم شد ($P < 0/05$). دی متیل ایتاکونیک اسید اثر معنی‌داری بر سایر فاکتورهای مورد بررسی نداشت.

نتیجه‌گیری: دی متیل ایتاکونیک اسید بطور معنی‌داری موجب طولانی شدن زمان BT در موش‌های صحرایی می‌شود. با این حال تغییر معنی‌داری در سایر پارامترهای خونی از جمله تعداد پلاکت‌ها را ایجاد نکرد. همچنین دی متیل ایتاکونیک اسید تأثیر معنی‌داری بر CT، PT و aPTT نداشت.

واژگان کلیدی: دی متیل ایتاکونیک اسید؛ انعقاد خون؛ فاکتورهای خونی؛ موش صحرایی

ارجاع: رحیمی کاوه، بخت زاد شراره، عباس زاده محمد، قطب الدین زهره. تأثیر دی متیل ایتاکونیک اسید بر انعقاد خون و پارامترهای خونی در موش صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۰۴): ۹۵-۱۰۱.

مقدمه

انعقاد خون‌رسانی به ناحیه‌ی بافت یا اندام را مسدود کند (۱، ۲). اسید ایتاکونیک، متابولیتی است که در اثر فعال شدن سلول‌های ایمنی به ویژه ماکروفاژها تولید می‌شود. اثر اولیه اسید بر متابولیسم سلولی در طول فعال‌سازی ماکروفاژها به مهار سوکسینات دهیدروژناز (SDH) نسبت داده شده است (۳، ۴). علاوه بر این، اسید ایتاکونیک آسیب خون‌رسانی مجدد توسط SDH را کاهش می‌دهد و پاسخ استرس آنتی‌اکسیدانی را القا می‌کند (۵). دارای انواع مختلفی از اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده‌ی ایمنی است (۶). اسید ایتاکونیک و مشتقات نفوذپذیر در غشاء آن، دی متیل ایتاکونیک، به طور انتخابی زیر مجموعه‌ای از سیتوکین‌ها (۳)، از جمله IL-6 و IL-12 را مهار می‌کنند. یک مطالعه‌ی اخیر نشان داد که اسید ایتاکونیک، میزان بقا

انعقاد خون شامل مجموعه‌ای از واکنش‌ها است که جریان خون را برای حفظ تعادل در سیستم عروقی به حداقل می‌رساند یا متوقف می‌کند. این واکنش‌ها شامل انقباض خود به خودی عروق، تجمع پلاکت‌ها، لخته شدن خون و فیبرینولیز (حل شدن لخته) است (۱). انعقاد خون، یک فرایند سریع و کارآمد است و نیاز به تنظیم دارد. زیرا تغییر در تعادل بین انعقاد خون و مهار انعقاد به نفع انعقاد یا ضد انعقاد ممکن است منجر به ترومبوامولی یا خونریزی (خونریزی خود به خودی) گردد. کنترل این فرایند در بسیاری از موقعیت‌های بالینی مستلزم مداخلات دارویی است که هدف آن جلوگیری از آسیب بافتی ناشی از کاهش جریان خون می‌باشد و زمانی رخ می‌دهد که فرایند

۱- استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: کاوه رحیمی؛ استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

عمل شده که نیم سانتی متر از نوک دم حیوان قطع می‌شد و بلافاصله زمان سنج روشن می‌گردید. یک قطره خون بر لام قرار می‌گرفت و بعد از ۱ دقیقه در فواصل زمانی ۳۰ ثانیه با استفاده از یک لانست تشکیل رشته‌های فیبرین بررسی می‌شد. برای این کار هر بار از یک سمت قطره خون را مورد بررسی قرار می‌دادیم. زمانی که رشته‌های فیبرین مشاهده شد زمان متوقف می‌شد.

حیوانات با استفاده از تزریق کامین ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و زایلازین ۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند. خونگیری از قلب انجام شد و بلافاصله با قطع سر توسط گیوتین حیوانات آسان‌کنشی شل شدند. خون در لوله‌های لخته ریخته و بعد از سانتریفیوژ به مدت زمان ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm نمونه‌های پلاسما جدا گردید و بلافاصله در دمای منفی ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. زمان پروترومبین (PT (Prothrombin Time) بر اساس دستورالعمل سازنده معرف PT (دیاژن کلسیم ترومبوپلاستین مغزی) طبق روش براون تعیین شد. معرف ترومبوپلاستین کلسیم مغز خرگوش (۰/۲ میلی‌لیتر) در یک لوله انعقاد قرار داده شده در حمام آب در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد و به مدت ۱ تا ۲ دقیقه انکوبه شد تا به دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد برسد. پلاسما (۰/۱ میلی‌لیتر) سپس اضافه شد و زمان سنج شروع به کار کرد. لوله در فواصل منظم کمی کج شد (بازگشت به حمام آب بین کج شدن) تا تشکیل لخته مشاهده گردد، سپس زمان سنج متوقف شد و زمان ثبت شد.

تعیین زمان رومبوپلاستین فعال شده (Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT طبق دستورالعمل سازنده معرف aPTT انجام شد. بعد از انکوبه معرف در حمام آب در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۰/۱ میلی‌لیتر پلاسما اضافه شد و لوله به آرامی در فواصل زمانی دقیقاً ۲ دقیقه کج شد. کج کردن لوله در فواصل منظم تا زمانی که تشکیل لخته مشاهده شد ادامه پیدا کرد. همچنین نمونه‌های خون برای تعیین پارامترهای خون‌شناسی استفاده شد.

داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) آنالیز گردید. داده‌ها به روش way ANOVA-one و Tukey مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین سطح معنی‌داری P کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج مربوط به BT بدین ترتیب بود که آسپرین در مقایسه با گروه شاهد، بطور معنی‌داری باعث طولانی‌تر شدن BT شد ($P < 0/05$). همچنین دی متیل ایتاکونیک اسید در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجب طولانی‌تر شدن BT در مقایسه

سلول را افزایش می‌دهد، اسید ایتاکونیک سطح سرمی فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- α) و IL-6 را کاهش داد و آسیب ریه را در موش‌های سپتیک بهبود بخشید. اسید ایتاکونیک، همچنین تولید TNF- α ، IL-6 و نیتریک اکسید سنتتاز ۲ ناشی از لیپوپلی ساکارید (LPS) را در ماکروفاژهای مشتق از مغز استخوان (BMDMs) سرکوب کرد (۷). مهار سنتز هم که در التهاب مزمن مشاهده می‌شود، نه تنها با محدودیت آهن، بلکه همچنین با محدودیت سنتز تترایپیرول در نقطه کاتالیز ALAS2 توسط ایتاکونیک انجام می‌شود. بنابراین، پیشنهاد شده است که اسید ایتاکونیک مشتق شده از ماکروفاژها، کم‌خونی را در طی یک پاسخ التهابی در اریتروید افزایش می‌دهد (۸).

با وجود انجام مطالعات گسترده در سال‌های اخیر بر روی دی متیل ایتاکونیک اسید، تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر دی متیل ایتاکونیک اسید بر انعقاد خون و فاکتورهای خونی گزارش نشده است. بنابراین هدف مطالعه‌ی حاضر، تعیین تأثیر دی متیل ایتاکونیک اسید بر انعقاد خون و پارامترهای خونی در موش صحرائی بود.

روش‌ها

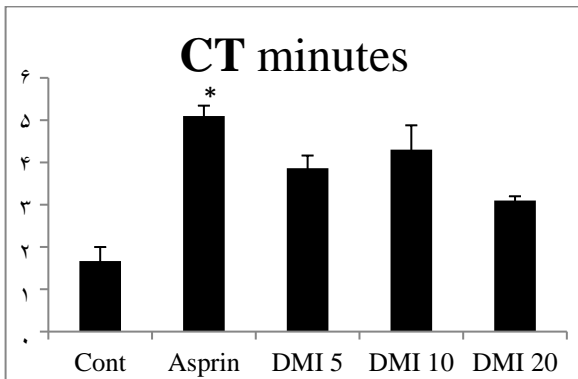
در این مطالعه، از ۳۰ سر موش صحرائی نژاد ویستار با محدوده وزنی 250 ± 20 گرم استفاده شد. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شدند و در شرایط ۱۲ ساعت نور/ ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. همچنین آب و غذا بطور آزادانه در دسترس حیوانات قرار گرفت.

موش‌های صحرائی با محدوده‌ی وزنی ۲۵۰ تا ۲۷۰ گرم در پنج گروه هر گروه شامل ۶ حیوان مورد بررسی قرار گرفتند. گروه شاهد: موش‌های سالم که مداخله‌ای صورت نگرفت و تنها روزانه تزریق داخل صفاقی روغن آفتابگردان به مدت ۷ روز انجام شد. گروه آسپرین: روزانه تزریق داخل صفاقی آسپرین ۲۶ mg/ml (۹) به مدت ۷ روز انجام شد. گروه‌های دی متیل ایتاکونیک اسید: روزانه تزریق داخل صفاقی دی متیل ایتاکونیک اسید (شرکت سیگما، آمریکا) با دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۱۰) به مدت ۷ روز انجام شد.

در روز آزمون یعنی در روز هفتم ۴۵ دقیقه بعد از آخرین تزریق‌های داخل صفاقی تست‌های خون‌شناسی انجام شد. برای بررسی مدت زمان خونریزی یا Bleeding Time ابتدا موش‌های صحرائی در رسترینر مقید شدند و سپس با استفاده از یک قیچی تیز حدود ۱ الی ۲ میلی‌متر از نوک دم قطع شد بلافاصله زمان سنج روشن شد و در بازه‌های زمانی ۳۰ ثانیه با استفاده یک تکه کاغذ به محل بریدگی تماس داده شد. زمانی که با تماس کاغذ دیگر اثری از خون روی کاغذ مشاهده نمی‌شد، زمان متوقف می‌شد.

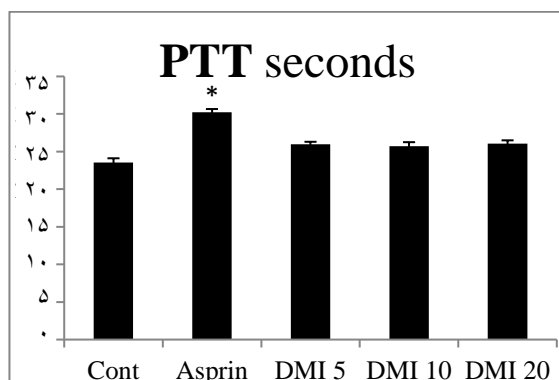
برای بررسی زمان لخته شدن یا Clotting Time بدین ترتیب

نتایج مربوط به PT بدین ترتیب بود که آسپرین در مقایسه با گروه شاهد، بطور معنی داری باعث طولانی تر شدن PT نشد. همچنین دی متیل ایتاکونیک اسید در هیچ کدام از دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجب طولانی تر شدن PT در مقایسه با گروه شاهد نشد. طولانی تر شدن PT بین دی متیل ایتاکونیک اسید در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجب در مقایسه با گروه آسپرین اختلاف معنی داری نداشت (شکل ۳).



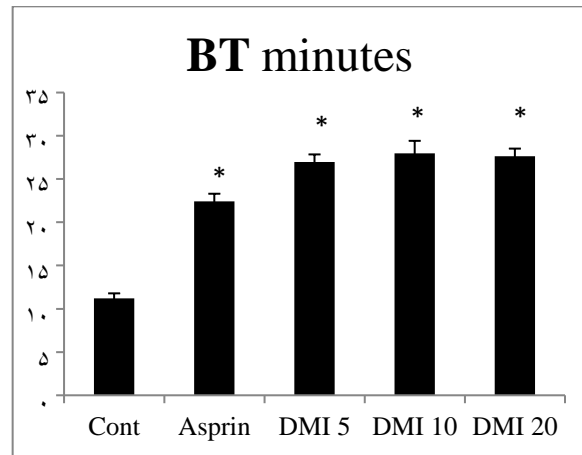
شکل ۳. نتایج مربوط به PT در گروه‌های مورد مطالعه (سطح معنی داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد).

نتایج مربوط به aPTT به نشان داد که آسپرین در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی داری باعث طولانی تر شدن aPTT شد ($P < 0/05$). دی متیل ایتاکونیک اسید در هیچ کدام از دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجب تغییر معنی داری در طولانی تر شدن aPTT در مقایسه با گروه شاهد نشد. طولانی تر شدن aPTT بین دی متیل ایتاکونیک اسید در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجب در مقایسه با گروه آسپرین اختلاف معنی داری نداشت (شکل ۴).



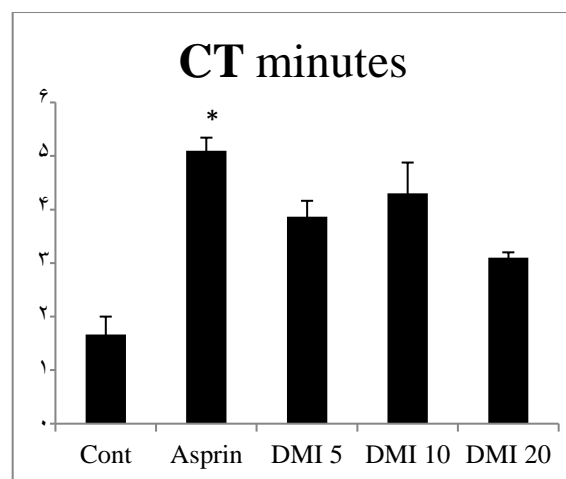
شکل ۴. نتایج مربوط به PTT در گروه‌های مورد مطالعه (سطح معنی داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد).

با گروه شاهد شد ($P < 0/05$). با این حال طولانی تر شدن BT بین دی متیل ایتاکونیک اسید در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجب در مقایسه با گروه آسپرین اختلاف معنی داری نداشت (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج مربوط به BT در گروه‌های مورد مطالعه. (سطح معنی داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد)

بررسی‌های آماری نشان داد که بین میانگین زمان CT در گروه شاهد در مقایسه با گروهی که آسپرین دریافت نمودند در روز هفتم مطالعه، اختلاف آماری معنی دار وجود دارد ($P < 0/05$). اما بین میانگین زمان CT موش‌های صحرایی گروه‌های دریافت کننده دی متیل ایتاکونیک اسید در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند اختلاف آماری معنی داری با گروه آسپرین وجود ندارد (شکل ۲).



شکل ۲. نتایج مربوط به CT در گروه‌های مورد مطالعه (سطح معنی داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد).

جدول ۱. یافته‌های هماتولوژیک.

RDW (fL)	MCH (pg)	MCV (fL)	MCHC (g/dL)	Hct (%)	Hb (g/dL)	cells/ μ L	RBC (\times)	
11/36 \pm 0/75	19/47 \pm 0/35	52/23 \pm 0/53	38/71 \pm 0/43	34/89 \pm 1/22	13/39 \pm 0/51	5/64 \pm 0/21		شاهد
10/84 \pm 0/46	19/64 \pm 0/51	51/11 \pm 0/68	42/69 \pm 0/35*	30/36 \pm 1/64	11/11 \pm 0/55*	5/47 \pm 0/18		آسپرین
11/49 \pm 0/11	19/35 \pm 0/57	50/75 \pm 0/71	40/80 \pm 0/81	32/83 \pm 0/72	11/74 \pm 0/31	4/89 \pm 0/15		5DMI
11/08 \pm 0/68	19/26 \pm 0/04	50/67 \pm 0/88	39/60 \pm 0/21	33/43 \pm 1/21	11/84 \pm 0/32	4/84 \pm 0/24		10DMI
11/60 \pm 0/51	19/00 \pm 0/21	51/03 \pm 0/75	39/38 \pm 0/21	33/43 \pm 1/23	12/93 \pm 0/48	4/71 \pm 0/34		20DMI

* سطح معنی داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

RBC: Red Blood Cell; HB: Hemoglobin; HCT: Hematocrit; MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV: Mean corpuscular volume; MCH: Mean corpuscular hemoglobin; RDW: Red cell distribution width.

با گروه شاهد گردید اما این اثر از لحاظ آماری معنی دار نبود. نتایج آنالیز خون‌شناسی نشان داد آسپرین موجب کاهش هموگلوبین در مقایسه با گروه شاهد شد. اما اثر دی متیل ایتاکونات بر کاهش هموگلوبین معنی دار نبود. همچنین آسپرین توانست موجب افزایش MCHC در مقایسه با گروه شاهد شود، اما اثر دی متیل ایتاکونات اثر معنی داری بر افزایش MCHC نداشت. در سایر پارامترهای مورد بررسی تغییرات معنی داری در رابطه با اثر آسپرین و یا دوزهای مختلف دی متیل ایتاکونات مشاهده نشد.

مکانیسمی که توسط آن داروهایی مانند آسپرین باعث اختلال در هموستاز می‌شود را می‌توان با همبستگی تغییرات ناشی از دارو در نتیجه آزمایش‌های آزمایشگاهی با تغییرات در تست عملکرد هموستاتیک، مانند زمان خونریزی، بررسی کرد. با این حال، اگر محرک مورد بررسی تنها یکی از چندین عامل مرتبط با هموستاز باشد، اگر قدرت نامناسبی از محرک در آزمایشات آزمایشگاهی استفاده شود، اگر قدرت محرک مورد استفاده برای آزمایش آزمایشگاهی در طول دوره بررسی متفاوت باشد و اگر پاسخ آزمودنی به محرک تحت تأثیر عواملی غیر از داروی مورد آزمایش قرار گیرد. سرکوب فارماکولوژیک عملکرد پلاکت نیز ممکن است در درمان ترومبوز مهم باشد و احتمالاً این ملاحظات در ارزیابی اثرات ضد ترومبوتیک داروهایی که عملکرد پلاکت‌ها را سرکوب می‌کنند نیز مرتبط باشد (۱۱).

روش بیوسنتزی برای تهیه اسید ایتاکونیک شامل تخمیر گلوکز یا ساکارز توسط آسپرژیلوس ترئوس در محیط‌های هوادهی و اسیدی است. محصولات تخمیر عبارتند از: میسلیم کپک، دی اکسید کربن، اسید ایتاکونیک (۵۵ تا ۵۹ درصد وزنی قند مصرفی)، و مقداری اسید مالیک (۱۲). قبلاً نشان داده شده است که مشتقات دی متیل ایتاکونات تنظیم کننده ایمنی، دارای اثرات ضد التهابی، ضد اکسیداتیو و تعدیل کننده ایمنی است (۱۳). مطالعه‌ی حاضر، اولین گزارشی از اثر دی متیل ایتاکوناید بر روی انعقاد خون و پارامترهای خون‌شناسی بود. بنابراین پیشنهاد می‌شود، مکانیسم‌های احتمالی درگیر در اثرات

سایر نتایج مربوط به آزمایش‌های خون‌شناسی بصورت میانگین انحراف معیار در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج آنالیز خون‌شناسی، نشان داد آسپرین موجب کاهش هموگلوبین در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0/05$). اما دی متیل ایتاکونات در هیچ‌کدام از دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن اثر معنی داری بر کاهش هموگلوبین نداشت. همچنین آسپرین توانست موجب افزایش MCHC در مقایسه با گروه شاهد شود ($P < 0/05$), اما اثر دی متیل ایتاکونات در هیچ‌کدام از دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن اثر معنی داری بر افزایش MCHC نداشت. در سایر پارامترهای مورد بررسی از جمله شمارش تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، MCV، MCH و RDW تغییرات معنی داری در رابطه با اثر آسپرین و یا دوزهای مختلف دی متیل ایتاکونات مشاهده نشد.

بحث

مصرف ۷ روزه‌ی دی متیل ایتاکونیک اسید در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، سبب افزایش میانگین زمان BT در مقایسه با موش‌های سالم شد. این تأثیر به گونه‌ای بوده که اثر دی متیل ایتاکونیک اسید بر طولانی شدن میانگین زمان BT بیشتر از اثر آسپرین مشاهده شد. در مطالعه‌ی حاضر، آسپرین، باعث طولانی شدن زمان CT در مقایسه با گروه شاهد شد. دی متیل ایتاکونیک اسید نیز باعث طولانی شدن زمان CT در مقایسه با گروه شاهد گردید اما این اثر به اندازه‌های که باعث بسو وجود آمدن اختلاف آماری معنی دار بین گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده‌ی دی متیل ایتاکونیک اسید شود، نبود.

در این مطالعه دوز ۲۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و همچنین دی متیل ایتاکونیک اسید در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، تأثیری بر تغییر زمان PT نداشتند. در مطالعه‌ی حاضر، آسپرین، باعث طولانی شدن زمان aPTT در مقایسه با گروه شاهد شد. دی متیل ایتاکونیک اسید نیز باعث طولانی شدن زمان aPTT در مقایسه

سایر عفونت‌های روده است، بر انعقاد خون بررسی شد. مشخص گردید که عصاره‌ی برگ ماهون هندی زمان انعقاد APTT، PT و TT را به روشی وابسته به دوز طولانی‌تر کرده و به طور قابل توجهی تجمع پلاکتی ناشی از ترومبین را مهار می‌کند (۱۶). عصاره‌ی برگ مورینگا اولیفر می‌تواند روند انعقاد خون انسان را در مقایسه با کنترل مثبت تسریع کند (۱۷).

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که دی متیل ایتاکونیک بطور معنی‌داری موجب طولانی شدن زمان BT در موش‌های صحرایی می‌شود. با این حال تغییر معنی‌داری در سایر پارامترهای خونی از جمله تعداد پلاکت‌ها را ایجاد نکرد. همچنین دی متیل ایتاکونیک تأثیر معنی‌داری بر CT، PT و aPTT نداشت.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه شهید چمران اهواز به منظور حمایت مالی از این مطالعه با شماره پژوهانه: SCU.VB1401.50857 تشکر و قدردانی می‌شود.

رقیق‌کنندگی خون دی متیل ایتاکونیک و دوزهای دیگر این ترکیب مورد بررسی قرار گیرد.

در یک مطالعه گزارش شده است که یک اختلال خونریزی شدید در ۸ بیمار پیوند کلیه مبتلا به آسپرژیلوزیس مهاجم ایجاد شده است. دیاتز هموراژیک با تراوش زخم، خونریزی شدید دستگاه گوارش فوقانی و تحتانی و خونریزی مخاطی در سایر نقاط مشخص شد. این انعقاد غیرعادی با زمان طولانی ترومبین مشخص شد. در این مطالعه پیشنهاد شد، احتمال اختلال انعقاد ناشی از ناشی از ترکیبات تولید شده توسط آسپرژیلوس باشد. ایتاکونیک اسید، یکی از ترکیباتی است که توسط میکروارگانیسرها ایجاد می‌شود و ممکن است اختلال در انعقاد خون را موجب شود (۱۴). در مطالعه‌ی حاضر، دی متیل ایتاکونیک بطور معنی‌داری موجب طولانی شدن زمان BT شد.

اثر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بر روی انعقاد خون نشان داده شده است. عصاره‌ی هیدرو الکلی گیاه یونجه از طریق افزایش میزان فیبرینوژن خون بر انعقاد خون مؤثر بوده و این اثر احتمالاً ارتباطی با تغییر میزان پلاکت خون ندارد (۱۵). اثر ماهون هندی که یک عامل مقوی، ضد دوره‌ای، ضد روماتیسمی و ضد ترومبوتیک در چین و هند و یک قابض و مقوی برای درمان اسهال، اسهال خونی و

References

1. Ayodele OO, Onajobi FD, Osoniyi OR. Modulation of Blood Coagulation and Hematological Parameters by Crassocephalus crepidioides Leaf Methanol Extract and Fractions in STZ-Induced Diabetes in the Rat. *TheScientificWorldJournal*. 2020;2020:1036364.
2. Tarandovskiy ID, Rajabi AA, Karnaukhova E, Buehler PW. Contradictory to its effects on thrombin, C1-inhibitor reduces plasmin generation in the presence of thrombomodulin. *J Thromb Thrombolysis* 2019; 48(1): 81-7.
3. Lampropoulou V, Sergushichev A, Bambouskova M, Nair S, Vincent EE, Loginicheva E, et al. Itaconate links inhibition of succinate dehydrogenase with macrophage metabolic remodeling and regulation of inflammation. *Cell Metab* 2016; 24(1): 158-66.
4. Cordes T, Wallace M, Michelucci A, Divakaruni AS, Sapcaru SC, Sousa C, et al. Immunoresponsive gene 1 and itaconate inhibit succinate dehydrogenase to modulate intracellular succinate levels. *J Biol Chem* 2016; 291(27): 14274-84.
5. Li R, Zhang P, Wang Y, Tao K. Itaconate: a metabolite regulates inflammation response and oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* 2020; 2020: 5404780.
6. Kuo PC, Weng WT, Scofield BA, Paraiso HC, Brown DA, Wang PY, et al. Dimethyl itaconate, an itaconate derivative, exhibits immunomodulatory effects on neuroinflammation in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroinflammation* 2020; 17(1): 138.
7. Zhang S, Jiao Y, Li C, Liang X, Jia H, Nie Z, et al. Dimethyl itaconate alleviates the inflammatory responses of macrophages in sepsis. *Inflammation* 2021; 44: 549-57.
8. Marcero JR, Cox JE, Bergonia HA, Medlock AE, Phillips JD, Dailey HA. The immunometabolite itaconate inhibits heme synthesis and remodels cellular metabolism in erythroid precursors. *Blood Adv* 2021; 5(23): 4831-41.
9. Shvartsur R, Agam G, Uzzan S, Azab AN. Low-dose aspirin augments the anti-inflammatory effects of low-dose lithium in lipopolysaccharide-treated rats. *Pharmaceutics* 2022; 14(5): 54-62.
10. Lin J, Ren J, Zhu B, Dai Y, Gao DS, Xia S, et al. Dimethyl itaconate attenuates CFA-Induced inflammatory pain via the NLRP3/IL-1 β signaling pathway. *Front Pharmacol* 2022; 13: 938979.
11. Hirsh J, Street D, Cade JF, Amy H. Relation between bleeding time and platelet connective tissue reaction after aspirin. *Blood* 1973; 41(3): 369-77.
12. Larsen H. [72] Itaconic acid and related compounds. *Methods in Enzymology*. 3: Academic Press; 1957; 3: 437-44.
13. Vidal I, Fernández-Flórida E, Marrero AD, Castilla L, R. Quesada A, Martínez-Poveda B, et al. The immunomodulator dimethyl itaconate inhibits several key steps of angiogenesis in cultured endothelial cells. *Int J Mol Sci* 2022; 23(24): 15972.
14. Teleky BE, Vodnar DC. Recent advances in biotechnological itaconic acid production, and application for a sustainable approach. *Polymers (Basel)* 2021; 13(20): 3574.

15. Servatyari K, Ahmadi A, Kashefi H, Manbari MN, Rostami A, Moulodi MR. The effect of hydroalcoholic extract of *Medicago sativa* on liver function tests, blood biochemical factors and coagulation system in male rats [in Persian]. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci* 2017; 21(6): 16-26.
16. Chen H, Jin M, Wang YF, Wang YQ, Meng L, Li R, et al. Effect of *Toona microcarpa* Harms leaf extract on the coagulation system. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 615363.
17. Sander Y, Ariesanti Y, Roeslan MO, editors. Effect of *Moringa oleifera* Leaves on Human Blood Coagulation Process. [14-16 July 2021] 2021 IEEE International Conference on Health, Instrumentation & Measurement, and Natural Sciences (InHeNce).

The Effects of Itaconic Acid on Blood Coagulation and Hematological Parameters in Rats

Kaveh Rahimi¹, Sharareh Bakhtazad², Mohammad Abbaszadeh², Zohreh Ghotbeddin³

Original Article

Abstract

Background: Itaconic acid has anti-inflammatory, antioxidant, and immune system-modulating effects. This study aimed to investigate the effect of itaconic acid on blood coagulation and blood parameters in rats.

Methods: In this experiment, a total of 30 rats were examined. The control group consisted of healthy rats, for whom no intervention was performed, and they only received daily intraperitoneal injections of sunflower oil for 7 days. The aspirin group received a daily intraperitoneal injection of 26 mg/ml aspirin for 7 days. The itaconic acid group received daily intraperitoneal injections of itaconic acid with doses of 5, 10, and 20 mg per kilogram of body weight for 7 days. Coagulation tests such as CT, BT, PT, and aPTT, as well as hematological factors, were investigated.

Findings: Rats were given 5, 10, or 20 mg per kg of itaconic acid per body weight. As a result, there was an increase in the mean BT time compared to healthy rats ($P < 0.05$). No significant effects were observed on other investigated factors.

Conclusion: Itaconic acid did not cause significant changes in blood parameters, including platelet count, but significantly prolonged BT time in rats. It also had no significant effect on CT, PT, and aPTT.

Keywords: Itaconic acid; Blood coagulation factors; Rats

Citation: Rahimi K, Bakhtazad Sh, Abbaszadeh M, Ghotbeddin Z. **The Effects of Itaconic Acid on Blood Coagulation and Hematological Parameters in Rats.** J Isfahan Med Sch 2025; 43(804): 95-101.

1- Assistant Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- MSc Student, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- Associated Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Kaveh Rahimi, Assistant Professor, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Email: k.rahimi@scu.ac.ir