جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

ارزیابی عملکرد ان - استیل سیستئین با برخی فاکتور های کبدی و کلیوی موجود در پلاسما در مسمومیت با استامینوفن

آرمین سالک مقصودی[1]؛ محمدرضا ستاری[2و3]*؛ علی استادی[4]؛ زینب مظلومی[1]؛ محمد شکرزاده[1]

چکیده

زمینه: مسمومیت با استامینوفن هر ساله باعث بروز نارسایی‌های حاد کبدی و کلیوی احتمالی در جوامع مختلف می‌شود. ان- استیل سیستئین که اولین‌بار در سال 1970 به‌عنوان آنتی دوتی تأثیرگذار برای مقابله با مسمومیت با استامینوفن پیشنهاد شد، از باند شدن NAPQI به سلول‌های کبدی جلوگیری می‌کند.

روش‌ها: در این مطالعه تعداد 30 نفر از افرادی که با میانگین سنی 27 سال در طول یک سال به‌دلیل مسمومیت با استامینوفن به بخش مسمومیت بیمارستان سینای تبریز مراجعه نموده بودند شرکت کردند. در طول 24 ساعت حضور در بخش درمانی، نمونه خون نمونه‌ها تهیه و در لوله‌های هپارینه جمع آوری شد. پس از سانترفیوژ پلاسمای خون جدا شده و تا زمان آنالیز با روش کروماتوگرافی با کارایی بالا و کیت‌های آزمایشگاهی سنجش آنزیم‌های کبدی و گلوتاتیون پراکسیداز در دمای C °70- نگه‌داری شد.

یافته‌ها: اختلاف سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بین افراد سالم و بیماران در ابتدا معنادار بود (P<0/05) اما در ادامه درمان این اختلاف معنادار از بین رفت. در مدت 24 ساعت پس از درمان تفاوت معناداری بین سطح اوره در افراد بیمار و کنترل سالم دیده شد (P<0/05) درحالی‌که در بدو معالجه و قبل از تجویز ان- استیل سیستئین تفاوت معناداری بین سطوح پلاسمایی اوره مشاهده نشد (P>0/05).

نتیجه‌گیری: سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز قبل ازتغییر محسوس سطح آنزیم‌های روتین کبدی تغییر کرد. سطح اوره پس از گذشت 24 ساعت از درمان با وجود اتصال سرم و احتمالاً وجود هیدراتاسیون،افزایش یافت.

کلیدواژه‌ها: ان- استیل سیستئین، استامینوفن، اوره، آلانین ترانس آمیناز، آسپارتات آمینوترانسفر، گلوتاتیون پراکسیداز

«دریافت: 1393/2/22 پذیرش: 1393/7/15»

1. گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
2. مرکزتحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
3. گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
4. گروه طب داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

* **عهده‌دار مکاتبات:** تبریز، خیابان دانشگاه، دانشکده داروسازی، تلفن: 04133341315

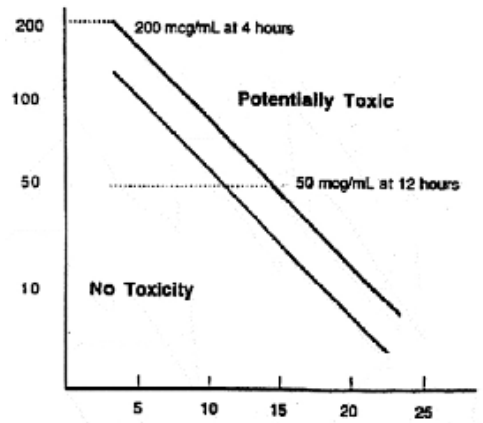
Email: mrgsuk@yahoo.com

مقدمه

مسمومیت با استامینوفن یکی از علل اصلی آسیب کبدی است که طبق تحقیق لارسون و همکاران در سال 2005، حدود 50-40 درصد تمامی نارسایی‌های حاد کبد در ایالات متحده را شامل می‌شود. آسیب کبدی در صورت عدم درمان مناسب باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز کبد شامل آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) تا بالاتر از 1000U و آزاد شدن آن‌ها به پلاسما می‌شود (1 و 2). همچنین سمیت استامینوفن باعث تغییر پارامترهای کلیوی موجود در پلاسما مانند کراتینین و اوره می‌شود و در بررسی و درمان این مسمومیت باید هر دو مورد

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

عملکرد کلیوی و کبدی را در نظر گرفت. استامینوفن متحمل متابولیسم گسترده کبد شده و به‌طور کلی حدود 85 درصد دارو در واکنش‌های کنژوگاسیون فاز 2 کبدی به‌صورت گلوکورونید و سولفاته متابولیزه و در نهایت از راه کلیه دفع می‌شود. از این دو مسیر، گلوکورونیداسیون در بزرگسالان و سولفاتاسیون در کودکان حدود 12 سال غالب است. حدود 10 درصد از استامینوفن تجویزی توسط واکنش‌های فاز 1 اکسیداسیون به متابولیت واکنشی به نام N- استیل – P- بنزوکینونئین (NAPQI) تبدیل می‌شود که در حالت معمول به‌صورت کنژوگه با گلوتاتیون به سیستئین غیرسمی و متابولیت مرکاپتورات تبدیل شده و از راه کلیه دفع می‌شود. نسبت کوچک‌تری از دارو (حدود 4%) بدون تغییر از طریق ادرار و با اکسیداسیون حلقه و تشکیل مشتق کاتکول حذف می‌شود (3). واکنش اکسیداسیون توسط نوع خاصی از سیتوکروم P450 به نام CYP1A2 و CYP3A4 که مسئول متابولیزاسیون استامینوفن است انجام می‌شود. در دوزهای درمانی NAPQI تشکیل شده توسط گلوتاتیون کونژوگه شده و از بین می‌رود. با این حال در مصرف بیش از حد استامینوفن، NAPQI باعث تخلیه منابع گلوتاتیون تا 70 درصد می‌شود که به استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری و مرگ سلولی منجر می‌گردد (4 و 5). مرگ سلولی هپاتوسیت‌ها در کبد از نوع نکروز سنتزی لوبولار است و ان-استیل سیستئین (NAC) که اولین بار در سال 1970 به‌عنوان آنتی دوتی تأثیرگذار برای مقابله با مسمومیت با استامینوفن پیشنهاد شد، از باند شدن NAPQI به سلول‌های کبدی جلوگیری می‌کند (6 و7). در سال 1977 پرسکات و همکاران پیشنهاد استفاده از ان-استیل سیستئین را به‌صورت خوراکی دادند که دلیل آن عبور بیشترین دوز دارو در گذر اول کبدی بود که باعث اثرگذاری بیشتر دارو می‌شد. در سال 1991 نیز اسمیلک و همکاران پیشنهاد استفاده از تزریق وریدی را دادند که در آن زمان به‌طور خاص مورد توجه واقع نشد. تجویز خوراکی اکثراً در ایالات متحده و استرالیا مورد استفاده است و تجویز وریدی در بقیه کشورها استفاده می‌شود، در هر دونوع تجویز خوراکی و وریدی نوموگرام Rumack-Matthew (شکل 1) به عنوان مرجع برای تشخیص مسمومیت با استامینوفن و زمان استفاده از ان-استیل سیستئین مورد استفاده قرار می‌گیرد (7-9). برخی از محققان با توجه به عوارض جانبی استفاده از ان-استیل سیستئین بر این باورند که مسیر مطلوب استفاده از این آنتی دوت بستگی به فاصله زمانی بین مصرف و تظاهرات بالینی ناشی از مسمومیت دارد، بنابراین نظر تجویز وریدی N-استیل‌سیستئین بلافاصله پس از مسمومیت و تجویز خوراکی آن در صورت تأخیر در زمان مصرف و بروز علایم مؤثر است (10). موارد تجویز NAC تنها به‌عنوان آنتی دوت برای مقابله با سمیت استامینوفن نیست. NAC در دفع سمیت فلزات سنگینی مانند سرب نیز مؤثر است. سرب در غیرفعال‌سازی عملکرد آنتی‌اکسیدانی و تخلیه گلوتاتیون بدن با توجه به میل ترکیبی بالای گروه‌های تیول‌دار با سرب نقش دارد (11). تجویز NAC همچنین در طب داخلی برای درمان فیبروزایدیوپاتیک ریه (12) و به‌عنوان ماده‌ای که واجد اثرات ضدمیکروبی و گشادکننده رگ‌ها می‌باشد استفاده



شکل 1- نوموگرام Rumack-Matthew و بررسی سطح سمیت کبدی در طول زمان[9]

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

می‌شود (13). از این دارو برای پیشگیری از آسیب کلیه در طول عکس‌برداری با ماده حاجب و پیشگیری از ناشنوایی احتمالی پس از مصرف جنتامایسین به‌خصوص در کودکان و نوزادان نیز استفاده می‌شود (14). یکی از فاکتورهایی که به‌طور غیرمستقیم می‌توان با استفاده از آن عملکرد گلوتاتیون تغییر یافته در مسمومیت با استامینوفن را سنجید اندازه‌گیری فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بدن می‌باشد که نقش فعالی در فرآیند احیای گلوتاتیون برعهده دارد. 4 نوع GPX در بدن شناخته شده است که نوع پلاسمایی آن GPX3 در مسمومیت با استامینوفن مهم‌ترین نقش را ایفا می‌کند و منشأ ساخت آن در توبول پروکسیمال کلیه است (15).

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تحلیلی (analytic) براساس مطالعه ستاری و همکاران در سال 2008، تعداد 30 نفر از بیماران با میانگین سنی 27 سال از بخش مردان بیمارستان سینا انتخاب شدند. حجم نمونه بر اساس مطالعه ستاری و همکاران (16) 30 نفر در نظر گرفته شد. نمونه‌ها در طول یک سال بر اساس پرونده پزشکی و تأیید پزشکان معالج که به‌دلیل مسمومیت حاد با استامینوفن به بخش مسمومیت بیمارستان سینای تبریز مراجعه کرده بودند جمع آوری شد. از این تعداد 22 نفر بر اساس معیارهای ورود به مطالعه که عدم سابقه بیماری‌های جانبی کبدی و کلیوی و عدم مصرف استامینوفن با داروی دیگر بود تأیید شد. پس از دریافت رضایت کتبی از بیماران و تأییدیه کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز در طول 24 ساعت حضور در بخش درمانی، 5ml نمونه خونی از بیماران گرفته شد.بعد از جمع آوری نمونه‌های خونی در لوله‌های آزمایشی هپارینه، به‌منظور جداسازی پلاسما به‌مدت 5 دقیقه با سرعت 3000 دور بر دقیقه سانتریوفیوژ شده و تا زمان آنالیز در دمای 70- درجه سانتی‌گراد در لوله‌های هپارینه نگه‌داری شد. اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی بلافاصله بعد از نمونه‌گیری به وسیله دستگاه آنالایزر HITACHI درآزمایشگاه بیوشیمی بیمارستان سینا انجام گرفت. برای اندازه‌گیری سطح ان- استیل سیستئین پلاسما از دستگاه HPLC (CECIL1110) ساخت کشور انگلستان و ستون 25Cm×4.6mm HIchrom Lichrosorb ساخت کشور انگلستان استفاده شد. نمونه پلاسمایی 22 نفر افراد کنترل سالم که بر اساس اطلاعات رضایت‌نامه‌ای تهیه شده، فاقد هرگونه بیمارهای کبدی و کلیوی بوده‌اند؛ همچنین قبل از ثبت اطلاعات مربوطه، به‌صورت تصادفی بیومارکرهای روتین کبدی و کلیوی پلاسمایی تعدادی از این افراد بامنابع مرجع مورد استفاده در آزمایشگاه های بالینی مقایسه شد و پس از صحت اطمینان از اطلاعات مربوط به گروه کنترل سالم،این نمونه‌ها به‌ترتیب ذکر شده آماده‌سازی و بیومارکرهای کبدی و کلیوی اشاره‌شده در این آزمایش اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری پروترومبین تایم نیز توسط دستگاه کوآگلومتر تک‌کاناله مدل 2201c و با استفاده از کیت pascific hemostasis انجام گرفت. اندازه‌گیری GPX در نمونه‌های پلاسمای مورد مطالعه به‌صورت دستگاهی و با استفاده از کیت enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (CAYMAN® Plasma GPx Enzyme Immuno assayi) و دستگاه microplate reader (Model State fax-2100; Awareness Technology Inc. Palm City, USA) انجام شد.

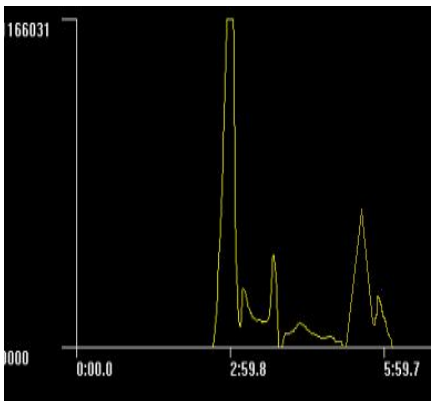
مواد شیمیایی شامل ان- استیل سیستئین Parvolex® [ampoule produced by CELLTECH®,(20% W/V)]، 1-اکتان سولفونیک اسید، پرکلریک اسید، هیدروکلریک اسید، اورتوفسفریک اسید و استونیتریل، همگی ساخت شرکت MERCK (آلمان) و دی‌اتیلن‌تری آمین پنت استات (DTPA)، سدیم نیتریت و 5-سولفوسالیسیلیک اسید ساخت شرکت Sigma Aldrich (ایالات متحده) استفاده شد.

روش مشتق‌سازی

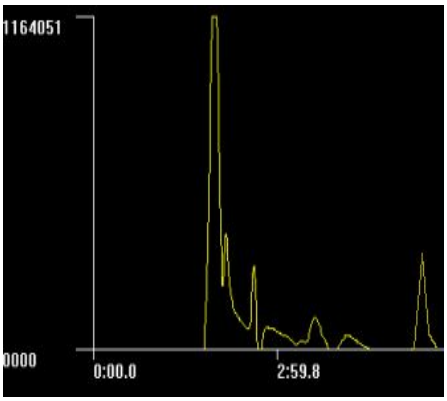
نمونه‌های خون وریدی دارای مقدار معلوم ان-استیل سیستئین در تیوب‌های لیتیم هپارینه شده سانترفیوژ شد. پروتئین‌های پلاسما در 1 میلی‌لیتر پلاسما به‌وسیله پرکلریک اسید 2 مولار با سرعت 1000 دور در 3 دقیقه سانتریوفیوژ شد. محلول شناور در دمای 70- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد و نمونه فریزشده بدون پروتئین، آب شده و200 میکرولیتر از نمونه با غلظت معلوم با 50 میکرولیتر از محلول آبی تازه تهیه‌شده DTPA و 50 میکرولیتر محلول آبی تازه تهیه‌شده سدیم نیتریت مشتق‌سازی شد. بعد از اضافه نمودن 50 میکرولیتر هیدروکلریک اسید، نمونه به‌مدت 5 دقیقه برای مشاهده مقدار بیشینه مشتق‌سازی کنار گذاشته شد. پس از این زمان20 میکرولیتر از هر نمونه به دستگاه HPLC تزریق شد.

فاز متحرک مورد استفاده در این آزمایش از سدیم هیدروژن فسفات و معرف جفت‌کننده کاتیون 1- اکتان سولفونیک اسید در محلول استونیتریل و آب با درصد حجمی (10:90V/V) تشکیل شده است. با استفاده از اورتو فسفریک اسید PH محلول روی 2 و فرکانس دستگاه UV روی 330 نانومتر برای مشاهده خروجی بالا تنظیم شد. نمودار استاندارد روی نرم‌افزار Excel 2010 برای غلظت‌های 100، 50، 25، 12، 5 و 1 میکروگرم بر میلی‌لیتر رسم شد (شکل 2 و 3). معادله استاندارد به‌صورت $y=758113x+736508$ و$r^2=0.9981$ و زمان بازداری حدود 5/30 دقیقه به‌دست‌آمد، در نهایت نمونه‌های پلاسمایی دارای مقدار مجهول NAC به‌ترتیب اشاره‌شده در مشتق‌سازی، آماده‌سازی و به دستگاه تزریق شد. انتگرال زیر پیک منحنی به‌دست آمده توسط نرم‌افزار HPLC محاسبه شده و با قرار دادن در فرمول نمودار استاندارد، مقدار مجهول به‌دست آمد. با توجه به نزدیک بودن r^2 به‌دست‌آمده برای محلول‌های استاندارد به عدد 1 که نشان‌دهنده دقت بالای این روش در اندازه‌گیری ان-استیل سیستئین موجود در نمونه‌های مجهول می‌باشد نیازی به استفاده از سایر روش‌های استانداردسازی نیست.

طبق پرونده پزشکی بیماران تجویز ان-استیل سیستئین به‌صورت وریدی طبق پروتکل استاندارد اروپایی به بیماران طی مدت 20 ساعت به‌صورت دوز اولیه 150 میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت 15 دقیقه، دوز دوم 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم طی 4 ساعت و دوز سوم 100 میلی‌گرم برگیلوگرم طی 16 ساعت در بخش مسمومیت بیمارستان سینای تبریز انجام گرفته است. داده‌های به‌دست‌آمده وارد نرم‌افزار SPSS 18 شده و جدول فراوانی داده‌ها تهیه شد و با استفاده از Independent samples Ttest تجزیه و تحلیل شدند.



شکل 2 - کروماتوگرام بدست آمده برای ان-استیل سیستئین استاندارد با غلظت 50μg/ml



شکل 3 - کروماتوگرام به‌دست آمده برای یکی از نمونه‌های مجهول مورد آزمایش برای تعیین سطح ان-استیل سیستئین

یافته‌ها

غلظت پلاسمایی بر حسب میکرو گرم بر میلی‌لیتر پلاسما NAC در بدو ورود بیماران **3/8±75/4** و **24** ساعت بعد از بستری **1/2±47/8** بودکه در طول **24** ساعت با وجود پروتوکل اروپایی **24** ساعته تجویز ان-استیل سیستئین کاهش سطح فاحشی را نشان می‌دهد. با توجه به این که رنج نرمال تغییرات AST بین **5-37**IU/L و برای ALT بین **5-41**IU/L به‌دست آمد تفاوت معناداری بین سطح AST و ALT بین گروه کنترل سالم و گروه بیمار در بدو ورود مشاهده نشد (P>**0/05**). در مورد زمان پروترومبین تفاوت معناداری بین گروه کنترل سالم و بیمار مشاهده نشد. تفاوت معناداری بین سطح AST در بدو ورود و **24** ساعت بعد از مراجعه مشاهده نشد. در مدت **24** ساعت پس از درمان تفاوت معناداری بین سطح اوره در افراد بیمار و کنترل سالم مشاهده شد (P<**0/05**)، درحالی‌که در بدو معالجه تفاوت معناداری در سطح اوره بین افراد کنترل و سالم مشاهده نشد (P>**0/05**). سطح فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT و AST در افراد بیمار و در روند کلی مطالعه در پلاسما افزایش می‌یابد. سطح اوره در طول روند درمانی افزایش تدریجی داشت که P value به‌دست آمده این نتیجه را ثابت می‌کند. زمان پروترومبین نیز تقریباً در این مطالعه در ادامه درمان ثابت است (جدول**1** و **2**). در ادامه با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 نمودار رگرسیون بین سطح NAC تجویزی موجود در پلاسما و سطح ALT و AST و PT در افراد مورد مطالعه رسم شد و ارتباط معناداری بین سطح NAC تجویزی وریدی و ALT، AST و PT دیده نشد (شکل**4**)و.میزان فعالیت GPX در افراد کنترل سالم **7/2±229/1** به‌دست آمد. با توجه به این که سطح گلوتاتیون در مسمومیت با استامینوفن روند کاهشی دارد سطح فعالیت GPX3 در طول مطالعه اندازه‌گیری شد

جدول1- مقایسه میانگین سطح سرمی ALT,AST و زمان پروترومبین در گروه درمانی با NAC در بدومطالعه بین بیماران و افراد کنترل سالم

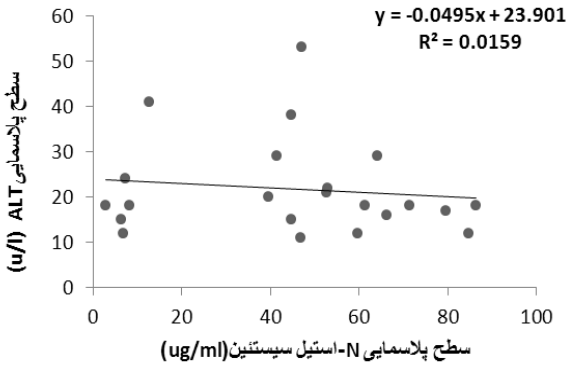
	میانگین(کنترل)	میانگین(بیماران)	انحراف معیار	*pvalue
سطح NAC وریدی تزریقی در بدو مراجعه(ug/ml)	-	75/4	3/8	-
سطح پلاسمایی AST در بدو مراجعه(u/l)	20/67	22/66	1/39	0/38
سطح پلاسمایی ALT در بدو مراجعه(u/l)	22/46	23/95	4/7	0/71
سطح پلاسمایی اوره در بدو مراجعه(mg/dl)	20/72	23/28	2/8	0/30
زمان پروترومبین در بدو مراجعه(s)	13/24	13/71	0/43	0/77

* با آنالیز واریانس Independent samples سطح معناداری به دست آمده است

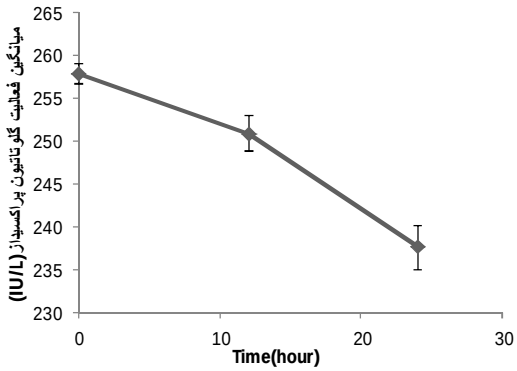
جدول 2- مقایسه سطح سرمی ALT,AST و زمان پروترومبین در گروه درمانی باسطح NAC **24** ساعت پس از درمان بین بیماران و افراد کنترل سالم

	میانگین(کنترل)	میانگین(بیماران)	انحراف معیار	*P value
سطح NAC وریدی تزریقی **24** ساعت بعد از درمان(ug/ml)	-	47/8	3/2	-
سطح پلاسمایی **24AST** ساعت بعد از درمان(u/l)	24/87	29/04	6/2	0/20
سطح پلاسمایی **24ALT**ساعت بعد از درمان(u/l)	35/97	36/04	2/5	0/9
سطح پلاسمایی اوره **24** ساعت پس از درمان(mg/dl)	23/56	37/9	2/6	0/03
زمان پروترومبین **24** ساعت پس از درمان(s)	13/09	13/86	0/33	0/42

* با آنالیز واریانس Independent samples سطح معناداری به دست آمده است



شکل 4 - ارتباط بین سطح پلاسمایی N-استیل سیستئین تجویزشده و سطح پلاسمایی ALT در طول درمان



شکل 5 - تغییرات میانگین سطح پلاسمایی گلوتاتیون پراکسیداز در طول زمان بستری

(شکل **5**) که نشان‌دهنده اختلاف معنادار سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بین بدو ورود و سطح آن در افراد کنترل می‌باشد (P<**0/05**) که این روند در طول ادامه روند درمان کاهش یافته و در نهایت تفاوت معناداری بین سطح آن در افراد کنترل سالم و بیماران مشاهده نشد (P>**0/05**).

بحث

لوئیس و همکاران در سال **1984** NAC کل شامل مقدار اکسیدی و احیایی و باندشده به پروتئین‌ها را اندازه‌گیری نمودند که محدودیت اندازه‌گیری روش در حد **0/5** میلی‌گرم بود، درحالی‌که در این مطالعه محدودیت اندازه‌گیری NAC پلاسما حدود **1** میکروگرم می‌باشد **(17)**. آنالیز NAC در پلاسما و نمونه‌های بیولوژیکی انسان توسط ارکال و همکاران در سال **1996** به‌وسیله HPLC و مشتق‌سازی به‌وسیله N-(1-pyrenyl) maleimide انجام شد **(18)** که در مورد NAC موجود در پلاسما به‌علت کوچک بودن پیک اندازه‌گیری‌شده نمی‌توان از این روش بهره برد و برای نمونه‌های بافتی مناسب است. در اکثر مطالعات قبلی مانند مطالعه‌ای که توسط شکرزاده و همکاران در سال **1392** بر روی اثر حفاظتی NAC بر سطح گلوتاتیون کبد و استیل کولین استراز در موش سوری **(19)** انجام گرفته است اثرات حفاظتی بر روی فرایندهای اکسیداتیو بدون در نظر گرفتن سطح NAC پلاسمایی مدنظر بوده‌اند. دراین مطالعه سطح پلاسمایی NAC که اصلی‌ترین کاربرد آن در ایران پروتکل مسمومیت با استامینوفن و تجویز آن به‌صورت وریدی و به‌عنوان آنتی دوت می‌باشد، مورد توجه قرار گرفته است. مازر و همکاران **(20)** در سال **2008** در مطالعه روی یک زن **47** ساله که دچار مسمومیت شدید با استامینوفن شده و اعتیاد به مواد مخدر داشت سطح بیومارکرهای کبدی مانند ALT و AST و بیلی‌روبین کل را در طول روز سوم پس از بلع تا ترخیص بیمار مورد توجه قرار دادند که نشان‌دهنده سطح فعالیت بالاتر از U**1000** برای ALT و AST بود. درحالی‌که در مطالعه حاضر بیماران، اکثراً بین **10-15** ساعت پس از بلع دارو به بیمارستان مراجعه نموده بودند، سطح ALT و AST نرمال گزارش شده و در طول بستری در بیمارستان سیر صعودی نشان داد. نقش NAC در جلوگیری از نکروز سلول‌های کبدی در مطالعه مازر مورد تأکید قرار گرفته است اما نقش NAC در کاهش سمیت کلیوی و کاهش سطح اوره پلاسمایی مورد تردید بوده است. در این مطالعه نیز سطح اوره به‌گونه‌ای تغییر پیدا کرد که تفاوت معنادار بین سطح اوره در بیماران و افراد کنترل در طول درمان به جای کاهش، افزایش پیدا کرد و در **24** ساعت پس از درمان تفاوت معنادار بین سطح اوره در افراد کنترل و بیمار

مشاهده شد. ظفرالله و همکاران در 2003 مکانیسم عملکرد مولکولی NAC در بیماری‌های مختلف را که قبلاً مطالعه شده بود مورد بررسی قرار دادند (21). همچنین در سال 1989 بروگندر و همکاران (22) اثر N-استیل سیستئین خوراکی را بر سطح گلوتاتیون و سیستئین پلاسما بررسی نمودند که نشان‌دهنده یک افزایش مشخص در سطح سیستئین در گردش پلاسما بود. همچنین در همین مطالعه NAC اثر مشخصی روی سطح گلوتاتیون پلاسما در شرایطی که افزایش نیاز به گلوتاتیون باعث تخلیه منابع گلوتاتیون شده نداشت. با این حال پس از تجویز پاراستامول هر زمان که استفاده از گلوتاتیون افزایش یافته NAC از سنتز گلوتاتیون پشتیبانی و از تخلیه منابع آن جلوگیری کرده است. در مطالعه‌ای که روی فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک دوز تجویزی NAC در بیماران مبتلا به ESRD (End stage Renal Disease) توسط نولین و همکاران در سال 2010 انجام شد (23)، تجویز NAC منجر به کاهش قابل‌توجهی در غلظت هموسیستئین پلاسما در این بیماران و در افراد کنترل سالم شد و کلیرانس NAC تا 90 درصد در بیماران ESRD کاهش یافت اما روی دیگر مارکرهای استرس اکسیداتیو تأثیری مشاهده نشد. در سال 2003 Efrati و همکاران (24) اثرات NAC را در عملکرد کلیوی و سطح نیتریک اکساید و استرس اکسیداتیو پس از آنزیوگرافی بررسی کردند. در این مطالعه عملکرد NAC به‌عنوان یک گشادکننده عروق کلیوی از طریق چندین مکانیسم از قبیل کاهش کراتینین و اوره سرم بررسی و افزایش در کلیرانس کراتینین به احتمال زیاد به‌عنوان نشان‌دهنده افزایش فیلتراسیون گلومرولی ناشی از اثر NAC معرفی شد. در سال 2011 پیزون و همکاران (25) اثر NAC روی زمان پروترومبین نمونه‌های پلاسما را بررسی کردند که نشان‌دهنده افزایش زمان پروترومبین در طول افزایش غلظت NAC تجویزی بود، در مطالعه اخیر نیز زمان پروترومبین با افزایش سطح NAC، افزایش کمی را نشان داد. تجویز NAC به مسمومین با استامینوفن در مراکز درمانی بهتر است بعد از ارزیابی تمامی فاکتورهای مؤثر در مسمومیت مانند فاکتورهای کبدی و کلیوی انجام گیرد. تجویز وریدی NAC باعث ایجاد واکنش آلرژیک می‌شود و اکثر این واکنش‌های آلرژیک شامل کهیر و آنژیو ادم است. دوز خوراکی زیاد NAC معمولاً در مسمومیت با استامینوفن تجویز می‌شود که می‌تواند باعث تهوع و استفراغ، اختلالات گوارشی، بثورات جلدی، خارش، برنکواسپاسم، تاکی‌کاردی، افت فشارخون و یا فشارخون بالا شود هرچند احتمال وقوع نادر است (26 و 27). برای عملکرد بهتر دارو بهتر است تداخلات دارو با داروهای دیگر مانند داروهای ضدافسردگی بررسی شود چون اکثر افرادی که دچار مسمومیت شدید استامینوفن می‌شوند به‌صورت عمدی و به قصد خودکشی اقدام به مصرف مقدار بالای استامینوفن می‌کنند و احتمالا پیشینه دریافت داروهای ضدافسردگی را دارند. با توجه به این‌که در اکثر موارد بررسی میزان مسمومیت با استامینوفن، تغییرات بیومارکرهای کبدی مدنظر قرار می‌گیرد در این مطالعه مشخص شد سطح اوره بین افراد سالم وکنترل و بیماران در اوایل درمان و انتهای آن تفاوت معناداری نشان می‌دهد. لازم است در بررسی مسمومیت با استامینوفن بیومارکرهای کبدی و کلیوی هم‌زمان مدنظر قرار گیرند. در این مطالعه با توجه به عدم تغییر معنادار سطح ALT و AST بین افراد بیمار و سالم به‌علت این که در ساعات اولیه مسمومیت اندازه‌گیری‌ها انجام شده است، ارتباط معناداری بین سطح ALT و AST در بیماران مورد بررسی در طول درمان با NAC دیده نشد. طبق نوموگرام Rumack-Matthew، سطح سرمی استامینوفن با توجه به زمان بعد از مصرف طبقه‌بندی شده و میزان ریسک‌پذیری آسیب کبدی و مسمومیت مشخص شده و در نتیجه میزان تجویز ان- استیل سیستئین برای جلوگیری از نکروز کبدی و اثرات کلیوی مسمومیت معلوم می گردد،این نوموگرام برای مسمومیت ناشی از

مصرف حاد استامینوفن مناسب است و برای مسمومیت ناشی از مصرف مزمن مورد استفاده نمی باشد(28 و 29). سطح پلاسمایی NAC تجویزی در طول حضور در مرکز درمانی نشان‌دهنده تجویز NAC در بدو ورود بیمار (Loding dose) است. این تجویز در بدو ورود احتمالاً بدون توجه به پارامترهای ناشی از آسیب کبدی و فاصله زمانی بین مصرف و زمان بروز علایم بالینی مسمومیت می‌باشد و برای جلوگیری از تخلیه بیشتر منابع گلوتاتیون کبدی و جلوگیری از نکروز سلول‌های کبدی و آسیب کلیوی انجام می‌گیرد. در مطالعات گذشته (30 و 31) و بررسی اولیه آزمایشات بیماران در موارد مسمومیت حاد با استامینوفن با توجه به این‌که در اکثر موارد سطح سرمی استامینوفن اندازه‌گیری نمی‌شود و بیماران تمایل دارند میزان مصرف را بیش از حد واقعی و یا کم‌تر از آن ابراز کنند، این میزان با اختلالات کبدی مورد انتظار، هماهنگی ندارد و از طرفی تفاوت‌های ژنتیکی در عملکرد کبد و سیتوکروم p450 و آنزیم‌های موردنظر، باعث اختلاف فاحش در عملکرد بدن افراد در مواجهه با مسمومیت استامینوفن می‌شود. در موارد متعددی ناتوانی در تعیین زمان دقیق مصرف و یا گذشتن بیشتر از 24 ساعت از زمان مصرف (32) و یا مصرف مواد مخدر و سیگار و استفاده از داروهای تأثیرگذار در عملکرد آنزیم‌های مربوط به فارماکوکینتیک دارو (33 و 34) گزارش شده است. بر اساس نتایج مطالعه‌ای که فلانگان و همکاران در سال 1991 انجام داده‌اند (35) در افرادی که داروی ضدتشنج مصرف می‌کنند القای آنزیم‌های مؤثر در متابولیزاسیون استامینوفن توسط این داروها باعث تولید بیشتر NAPQI در مدت‌زمان کوتاه‌تری می‌شود و می‌تواند باعث تخلیه سریع‌تر منابع گلوتاتیون بدن شود در نهایت نحوه استفاده از نوموگرام استامینوفن و شروع پروتکل درمانی را با مشکل مواجه می‌سازد. تعیین سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در مطالعات مختلفی انجام شده است برای مثال در مطالعه‌ای که نگهدار و همکارانش (36) در سال 1386 برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اریتروسیتی در افراد سیگاری و غیرسیگاری انجام دادند، سطح این آنزیم در افراد سیگاری در مقایسه با افراد غیرسیگاری کاهش قابل ملاحظه‌ای داشته است، در مطالعه دیگری توسط Forman و همکارانش در سال 2009، سطح گلوتاتیون پراکسیداز کبدی و برخی آنزیم‌های دیگر در مسمومیت با کلرفنوینپوس به‌عنوان یک ارگانو فسفات بررسی شد که نشان‌دهنده افزایش معنادار سطح آنزیم در ابتدای مسمومیت و سپس کاهش آن در طی ساعات بعدی به کم‌تر از مقدار کنترل در رت‌های مورد آزمایش می‌باشد (37).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه ارتباط دقیقی بین سطح NAC تجویزی و سطح آنزیم‌های کبدی آزادشده در پلاسما و زمان پروترومبین مشاهده نشد. اختلاف معنادار سطح اوره در 24 ساعت پس از درمان بین افراد سالم و بیماران و عدم مشاهده این اختلاف معنادار در در ابتدای درمان بین بیماران و افراد کنترل در حضور ان-استیل سیستئین به عنوان مهمترین آنتی دوت مؤثر در مسمومیت با استامینوفن می‌تواند به همراه فاکتورهای دیگر مؤثر در تغییرات اوره در مسمومیت با استامینوفن در مطالعات بعدی مورد توجه قرار گیرد چراکه سطح اوره بعد از گذشت 24 ساعت از درمان در حضور سرم متصل شده احتمالاً باید کاهش یافته و به حدود طبیعی برسد درحالی‌که در عمل افزایش سطح اوره مشاهده می‌شود، همچنین تغییرات مشاهده شده در سطح گلوتاتیون پراکسیداز بیماران مورد بررسی نشان داد سطح این آنزیم قبل از سطح بیومارکرهای روتین کبدی موجو در پلاسما تغییر می کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود

را نسبت به پرسنل محترم آزمایشگاه قلب و عروق دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و بخش مسمومیت بیمارستان سینا تبریز و گروه محترم فارماکولوژی و سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و ساری که در اجرای این مطالعه کمال همکاری را داشته‌اند ابراز می‌دارند.

References

1. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, Davern TJ, Lalani E, Hynan LS, et al. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. Hepatology. 2005;42(6):1364-72.
2. Bajt ML, Knight TR, Lemasters JJ, Jaeschke H. Acetaminophen-induced oxidant stress and cell injury in cultured mouse hepatocytes: protection by N-acetyl cysteine. Toxicol Sci. 2004;80(2):343-9.
3. Prescott LF. Paracetamol overdosage: Pharmacological considerations and clinical management. Drugs. 1983;25: 290-314.
4. Glazenburg EJ, Jekel-Halsema I, Scholtens E, Baars AJ, Mulder GJ. Effects of variation in the dietary supply of cysteine and methionine on liver concentration of glutathione and" active sulfate"(PAPS) and serum levels of sulfate, cystine, methionine and taurine: relation to the metabolism of acetaminophen. J Nutr. 1983;113(7):1363-73.
5. Waters E, Wang JH, Redmond HP, Wu QD, Kay E, Bouchier-Hayes D. Role of taurine in preventing acetaminophen-induced hepatic injury in the rat. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2001;280(6):G1274-G9.
6. Lauterburg BH, Corcoran GB, Mitchell JR. Mechanism of action of N-acetylcysteine in the protection against the hepatotoxicity of acetaminophen in rats in vivo. J Clin Invest. 1983; 71:980-91.
7. Slattery JT, Wilson JM, Kalhorn TF, Nelson SD. Dose-dependent pharmacokinetics of acetaminophen: evidence of glutathione depletion in humans. Clin Pharmacol Ther. 1987; 41:413-8.
8. Heard KJ. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. N Engl J Med. 2008;359(3):285-92.
9. Rumack BH, Peterson RC, Koch GG, Amara IA. Acetaminophen overdose: 662 cases with evaluation of oral acetylcysteine treatment. Arch Intern Med. 1981;141(3):380.
10. Gupta AK, Su MK, Greller HA, Lee DC, Chan GM. IV versus Oral N-acetylcysteine. Ann Emerg Med. 2009;54(6):857-8.
11. Wang L, Wang Z, Liu J. Protective effect of N-acetylcysteine on experimental chronic lead nephrotoxicity in immature female rats. Hum Exp Toxicol. 2010;29(7):581-91.
12. Demedts M, Behr J, Buhl R, Costabel U, Dekhuijzen R, Jansen HM, et al. High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. N Engl J Med. 2005;353:2229-42.
13. Dodd S, Dean O, Copolov DL, Malhi GS, Berk M. N-acetylcysteine for antioxidant therapy: pharmacology and clinical utility. Expert Opin Biol Ther. 2008; 8: 1955-62.
14. Millea PJ. N-acetylcysteine: multiple clinical applications. Am Fam Physician. 2009;80:2659.
15. Mirochnitchenko O, Palnitkar U, Philbert M, Inouye M. Thermosensitive phenotype of transgenic mice overproducing human glutathione peroxidases. Proc Natl Acad Sci USA. 1995;92(18):8120-4.
16. Ghandforoush-Sattari M, Mashayekhi S. Evaluation of taurine as a biomarker of liver damage in paracetamol poisoning. Eur J Pharmacol. 2008;581(1):171-6.
17. Lewis P, Woodward A, Maddock J. Improved method for the determination of N-acetylcysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr A. 1985;327:261-7.
18. Ercal N, Oztezcan S, Hammond TC, Matthews RH, Spitz DR. High-performance liquid chromatography assay for N-acetylcysteine in biological samples following derivatization with N-(1-pyrenyl) maleimide. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 1996;685(2):329-34.
19. Shokrzade M, Pakravan N, Sheikholeslamian S. [The Protective Effect of N-Acetyl Cysteine on Glutathione Levels and Serum Cholinesterase in Acute Poisoning of Diazinon, in mice (Persian)]. J Mazandaran Univ Med Sci 2013;22(2-3):2-11.
20. Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. J Med Toxicol. 2008;4(1):2-6.
21. Zafarullah M, Li W, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. Cell Mol Life Sci. 2003;60(1):6-20.
22. Burgunder J, Varriale A, Lauterburg B. Effect of N-acetylcysteine on plasma cysteine and glutathione following paracetamol administration. Eur J Clin Pharmacol.1989;36(2):127-31.
23. Nolin TD, Ouseph R, Himmelfarb J, McMenamin ME, Ward RA. Multiple-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of N-acetylcysteine in patients with end-stage renal disease. Clin J Am Soc Nephrol. 2010;5(9):1588-94.

24. Efrati S, Dishy V, Averbukh M, Blatt A, Krakover R, Weisgarten J, et al. The effect of N-acetylcysteine on renal function, nitric oxide, and oxidative stress after angiography. Kidney Int. 2003;64(6):2182-7.
25. Pizon AF, Jang DH, Wang HE. The in vitro effect of N-acetylcysteine on prothrombin time in plasma samples from healthy subjects. Acad Emerg Med. 2011;18(4):351-4.
26. Tenenbein M. Hypersensitivity-like reactions to N-acetylcysteine. Vet Hum Toxicol. 1984;26 Suppl 2:3-5.
27. Jones AL, Jarvie DR, Simpson D, Hayes P, Prescott L. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine are altered in Patients with chronic liver disease. Aliment Pharmacol Ther. 1997;11:787-791.
28. Rumack BH. Acetaminophen Hepatotoxicity: The First 35 Years 1. Clin Toxicol. 2002;40(1):3-20.
29. Bizovi KE, Aks SE, Paloucek F, Gross R, Keys N, Rivas J. Late increase in acetaminophen concentration after overdose of Tylenol Extended Relief. Ann Emerg Med. 1996;28(5):549-51.
30. Shnaps Y, Halkin H, Dany S, Tirosh M. Inadequacy of reported intake in assessing the potential hepatotoxicity of acetaminophen overdose. Isr J Med Sci. 1980;16(11):752-5.
31. Bond GR, Wiegand CB, Hite LK. The difficulty of risk assessment for hepatic injury associated with supratherapeutic acetaminophen use.Vet HumToxicol. 2003;45(3):150-3.
32. Feranchak AP, Tyson RW, Narkewicz MR, Karrer FM, Sokol RJ. Fulminant Epstein-Barr viral hepatitis: orthotopic liver transplantation and review of the literature. Liver Transpl Surg. 1998;4(6):469-76.
33. Artnak KE, Wilkinson SS. Fulminant hepatic failure in acute acetaminophen overdose. Dimens Crit Care Nurs. 1998;17(3):135-44.
34. Zwiener J, Kurt TL, Ghali F, Day LC, Timmons CF. Potentiation of acetaminophen hepatotoxicity in a child with mercury poisoning. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1994;19(2):242-5.
35. Flanagan RJ, Meredith T. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. Am J Med. 1991;91(3):S131-S9.
36. Negahdar M, Esmaeilnasab N, Jalali mahmoud, Samadi toudar N. [Survey of the activities of erythrocyte super-oxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in smoker and non-smoker men working in Kurdistan University of Medical Sciences (Persian)]. Scientific journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2007;12(3):1-7.
37. Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. Mol Aspects Med. 2009;30(1):1-12.