

مطالعه بیوشیمیایی و پاتولوژیکی اثر پیشگیرانه مصرف ویتامین C بر عوارض کبدی ناشی از مصرف داروی Azathioprine در موش

بهرام عمواغلی تبریزی^{۱*}، داریوش مهاجری^۲، علی خدادادی^۳، میرهادی خیاط نوری^۴، حسین جدیری^۵، فرزین فرج زاده اهری^۶، ساعد برادران علیزاده^۶

۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز-ایران.

۲- گروه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز-ایران.

۳- دانش آموخته دوره تخصصی کلینیکال پاتولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران-ایران.

۴- گروه فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز-ایران.

۵- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز-ایران.

۶- دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز-ایران.

* نویسنده مسئول: bahram_tabrizi1353@yahoo.com

Biochemical and pathological study of protective effect of Vitamin C in Azathioprine - induced hepatotoxicity in Rat

Amouoghli Tabrizi, B¹., Mohajeri, D.², Khodadadi, A.³, Khayat Nori, H.⁴, Jodeiri, H.¹, Farajzade, F.⁵, Baradaran Alizade, S.⁵

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran. ²Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran. ³Post Graduated of Clinical Pathology, Islamic Azad University, Sciences and Researches Campus, Tehran, Iran. ⁴Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran. ⁵Graduated of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.

Abstract

Azathioprine (AZA) is the widely used immunosuppressive drug for preventing graft rejection and autoimmune disease in medicine and veterinary. However, the therapeutic treatment causes several side effects such as toxicity of bone marrow, gastrointestinal tract, liver, and pancreas. Azathioprine-induced hepatitis was found to be associated with oxidative damage. Vitamin C is a water-soluble vitamin. The major function of vitamin C is acting as a natural antioxidant by scavenging free radicals. Besides, vitamin C is important for preventing peroxidation of unsaturated membrane fatty acids. Noticing to the kind of Azathioprine-induced damage in Liver tissue, we decided to examine the protective effect of Vitamin C against Azathioprine-induced toxicity. In this study, 40 male rats (Wistar_breed) were divided to 4 groups (each group contained 10 rats). Group 1 was control group and only it was given normal salin. Group 2 and 3 got Vitamin C everyday orally for 7 days. Group 4 was administrated with normal salin instead of Vitamin C in same condition with group 2 and 3. In 7th day, group 3 and 4 were administrated with single dose of AZA, 15 mg/kg (IP). After 24 hours, we took blood and tissue samples, then they were examined for biochemical and pathological examination. This study may showed that Azathioprine-induced damage on liver in group 3 is less than group 4 and the function of organ in group 3 was nearly as the same as with control group. The results demonstrated that vitamin C decreased Azathioprine-induced hepatotoxicity in rats. Noticing to the importance of Azathioprine-induced damage, and the results of this study, co-administration of Azathioprine with vitamin C is suggested because of the decreasing the toxicity of this drug. *Vet.J.of Islamic.Azad.Univ., Garmsar Branch. 4,1:39-44,2008.*

Key words: Vitamin C, Azathioprine, Hepatotoxicity, Mice.

چکیده

آزاتیوپرین یک داروی تضعیف کننده سیستم ایمنی می باشد که در علوم دامپزشکی و پزشکی کاربرد وسیعی در جلوگیری از رد عضو پیوندی و درمان بیماری های اتوایمیون دارد. با وجود این استفاده از آزاتیوپرین برای درمان بیماری ها، موجب ایجاد عوارضی چون سمیت مغز استخوان، لوله گوارش، کبد و پانکراس می شود. سمیت کبدی حاصل از این دارو، بواسطه یک ضایعه اکسیداتیو ایجاد می شود. ویتامین C یک ویتامین محلول در آب می باشد و یکی از مهمترین عملکردهای آن، از بین بردن رادیکالهای آزاد و جلوگیری از پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در غشا است. با توجه به نوع عارضه ایجاد شده توسط داروی آزاتیوپرین در بافت کبد، بر آن شدیم تا اثر حفاظتی ویتامین C در مقابل این دارو را بررسی نماییم. در این تحقیق، تعداد ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار را به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم نمودیم. به گروه اول به عنوان گروه شاهد، فقط سالین نرمال داده شد. گروه دوم و سوم روزانه و به مدت ۷ روز به صورت خوراکی ویتامین C دریافت نمودند و گروه چهارم با شرایطی یکسان با ۳ گروه دیگر ۷ روز سالین نرمال دریافت کرد. در روز ۷ به هر دو گروه ۳ و ۴ میزان ۱۵ mg/kg داروی آزاتیوپرین به صورت داخل صفاقی و تک دوز تزریق شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از تزریق دارو، از تمامی حیوانات خونگیری شده و سپس نمونه پاتولوژی از بافت کبد آنها تهیه شد. از نمونه های خونی سرم جدا و از نظر بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت و نمونه های پاتولوژی هم از نظر هیستوپاتولوژی مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که استفاده از ویتامین C می تواند به طور معنی داری عوارض حاصل از تجویز داروی آزاتیوپرین در بافت کبد را کاهش دهد. با توجه به اهمیت ضایعه ایجاد شده توسط این دارو در بافت کبد و با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، بهتر است همراه تجویز داروی آزاتیوپرین به بیمار، مصرف توام ویتامین C نیز توصیه شود. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، ۱۳۸۷، دوره ۴، شماره ۱، ۳۹-۴۴.

واژه های کلیدی: ویتامین C، آزاتیوپرین، سمیت کبدی، موش.



جدول شماره ۱: جدول مربوط به تغییرات وزن بدن

گروه‌ها	وزن ابتدایی	وزن نهایی
شاهد	۱۵ ^a ± ۳	۱۶ ^a ± ۱
آزاتیوپرین	۱۵ ^a ± ۱/۵	۱۵ ^b ± ۱
ویتامین C	۱۵ ^a ± ۱	۱۶ ^b ± ۳
آزاتیوپرین + ویتامین C	۱۴ ^a ± ۱	۱۵ ^b ± ۲

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار ($P < 0.05$) است.

مقدمه

آزاتیوپرین یک داروی تضعیف کننده سیستم ایمنی است (۶،۱) و در پزشکی و دامپزشکی جهت درمان بیماری‌های نظیر IBD (۱۷،۱۴)، لوسمی لنفوبلاستی حاد (۱۵)، آرتريت روماتوئید (۱۱)، کولیت اولسراتیو (۱۸،۹) و... مورد استفاده قرار می‌گیرد. استفاده از این دارو همراه با کورتیکواستروئیدها، بهترین انتخاب برای جلوگیری از رد عضو پیوندی می‌باشد (۷). علیرغم استفاده وسیع از این دارو، این نکته به اثبات رسیده است که آزاتیوپرین، علاوه بر ایجاد سایر نسلفوسیتی در بیمار (۲)، باعث ایجاد سمیت در مغز استخوان، دستگاه گوارش و کبد و... می‌شود (۱۲،۵). مشخص شده است که این دارو با ایجاد یک ضایعه اکسیداتیو، موجب سمیت کبدی می‌شود (۲۰،۱۵،۱۲). این دارو موجب تولید رادیکال آزاد در اندام‌ها و بافت‌های بدن می‌گردد که یکی از مهمترین عوامل ایجاد کننده سمیت در ارگان‌ها می‌باشد (۲۰،۱۰). واتان آبه و همکارانش در سال ۱۹۷۹ ثابت کردند که مصرف خوراکی آزاتیوپرین موجب افزایش آلکالین فسفاتاز و گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز در کبد گشته و همچنین از لحاظ پاتولوژی مصرف این دارو موجب نکروز مکز لوبولی و پرولیفراسیون میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی خشن می‌شود (۲۰). سون سی و همکارانش در سال ۱۹۹۶ نشان دادند که استفاده از داروی آزاتیوپرین موجب تغییر در میزان آنزیم‌های کبدی و افزایش آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز مانویل دی آلد هیدو کاهش میزان گلو تاتیون می‌شود (۱۹). کسار منور و همکارانش در سال ۲۰۰۴ برای کاهش عوارض داروی فوق در بافت کبد، از N-Acetyl-L-Cysteine استفاده کردند که در پایان به این نتیجه رسیدند که این ترکیب قادر است نقش محافظتی در بافت کبد داشته باشد (۵). آمین آ در سال ۲۰۰۵ از امارات متحده عربی تاثیر Rosmarinus Salvia و Hibiscus را در مقابل عوارض کبدی حاصل از داروی آزاتیوپرین بررسی کرد که نشان داد این گیاهان قادرند عوارض دارو در کبد را کاهش دهند (۲).

امروزه استفاده از آنتی اکسیدانها جهت جلوگیری از ابتلا به بیماریهایی همچون سرطان یا بیماری‌های پروستات، بیماری‌های قلبی عروقی و... همواره توصیه می‌شود. ویتامین C یکی از ویتامین‌های محلول در آب می‌باشد که دارای اثر آنتی اکسیدانی مطلوبی بوده (۱۶،۱۳) و نتایج بدست آمده از تحقیقات پژوهشگران بیانگر این نکته است که استفاده از این دارو می‌تواند نقش بسیار مناسبی در کاهش و از بین بردن رادیکال‌های آزاد داشته باشد (۸،۴،۳).

Lee Wy و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که اسید اسکوربیک یا ویتامین C می‌تواند آسیب میتوکندری در حین ضایعه اکسیداتیو بعد از ایسکمی و رپرفیوژن را کاهش دهد (۱۳). پژوهشگران دانشگاه مکزیک در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که ویتامین‌های E و C قادرند آسیب‌های اکسیداتیو حاصل از مصرف اتانول در کبد موش را کاهش دهند (۴). به علت اینکه سمیت کبدی ایجاد شده توسط داروی آزاتیوپرین اکسیداتیو بوده و ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد بر آن شدیم تا اثر ویتامین C در مقابل سمیت کبدی حاصل از تجویز داروی آزاتیوپرین را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش کار

در این تحقیق ۴۰ سررت نر نژاد ویستار به ظاهر سالم را انتخاب و آنها را به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم کرده و بعد از وزن کشی هر گروه توسط ترازوی دیجیتالی، آنها را به مدت یک هفته جهت عادت کردن به محیط در ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری کردیم و سپس از حیوانات تمامی گروه‌ها به میزان ۱/۵ سی سی وار طریق ورید نمی نمونه خونی اخذ شد و آنها را مشابه با آنچه در ادامه مطلب توضیح داده خواهد شد مورد ارزیابی قرار دادیم. به گروه اول به عنوان گروه شاهد، فقط سالی‌ن نرمال داده شد. گروه دوم و سوم روزانه و به مدت ۷ روز با دوز ۱۰۰ mg/kg و به صورت خوراکی و با استفاده از لوله گاو و ویتامین C دریافت نمودند و گروه چهارم با شرایطی یکسان با ۳ گروه دیگر ۷ روز سالی‌ن نرمال دریافت کرد. در روز ۷ به هر دو گروه ۳ و ۴ میزان ۱۵ mg/kg داروی آزاتیوپرین به صورت داخل صفاقی و تک دوز تزریق شد و به دو گروه دیگر با شرایطی یکسان با این دو گروه، سالی‌ن نرمال به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

بعد از گذشت ۲۴ ساعت از تزریق داروی آزاتیوپرین، بعد از وزن کشی، حیوانات توسط اتر بیهوش و از آنها از طریق ورید می خونگیری انجام شده و سپس نمونه پاتولوژی از کبد اخذ شد. از نمونه‌های خونی بعد از لخته شدن، سرم جدا شده و پارامترهای بیوشیمیایی شامل بیلی روبین تام، آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز، پروتئین تام، آلومین، لاکتات دهیدروژناز، کلسترول توسط کیت تشخیصی زیست شیمی و با دستگاه اسپکترو فوتومتری Biowave اندازه گیری شدند. نمونه‌های بافتی را در فرمالین ۱۰ درصد فیکس کرده و سپس از آنها کوپ پاتولوژی تهیه شد که بعد از انجام رنگ آمیزی هماتوکسین و اوژین، از لحاظ آسیب‌های سلولی از جمله تغییرات دژنراتیو، مرگ سلولی و تغییرات آماسی با هم مقایسه شدند. برای مقایسه میانگین پارامترهای بیوشیمیایی در بین گروه‌ها از آزمون آماری ANOVA و T-test و با استفاده از آمار SPSS و ویرایش ۱۳ تحت ویندوز XP استفاده شد.

نتایج

نتایج این مطالعه در جداول ۱، ۲ و اشکال ۵-۱ ذکر شده است. جدول شماره ۱ مقایسه میانگین وزن حیوانات در گروه تیمار با داروی



جدول شماره ۲: تغییرات مربوط به پارامترهای بیوشیمیایی کبد (Mean ± SD)

آزاتیوپرین + ویتامین C	ویتامین C	آزاتیوپرین	شاهد	
a-۲۲±۰/۰۲	a-۲۳±۰/۰۳	b-۲۸±۰/۰۲	a-۲۲±۰/۰۵	Total Bilirubin
a۱۴/۰۰±۲/۹۴	a۱۵/۵۰±۱/۱۵	b۳۹/۰۰±۰/۰۰	a۱۹/۵۰±۱/۲۹	ALT
a۲۹/۵۰±۵/۸۰	a۳۳/۵۰±۲/۵۵	b۴۹/۰۰±۳/۴۶	a۳۸/۰۰±۱/۲۹	AST
A۶/۹۶±۰/۶۰	a۶/۲۵±۰/۲۵	a۶/۶۱±۰/۶۰	a۶/۲۶±۰/۱۷	Total Protein
A۴/۲۲±۰/۳۸	a۳/۸۸±۰/۴۵	a۴/۰۸±۰/۵۶	a۳/۹۵±۰/۵۶	Albumin
a۷۳۱/۱۰±۷/۹۰	a۷۲۰/۷۷±۹	a۷۲۸/۲۵±۳/۱۵	a۷۰۷/۷۲±۳۹/۱۴	LDH
A۶۵/۱۶±۶/۴۴	a۵۶/۶۵±۷/۵	a۷۷/۸۷±۲۲/۴۵	a۵۶/۴۵±۸/۷۰	Cholesterol

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار ($P < 0.05$) است.

اشکال ۱ تا ۴ مطالعه هیستوپاتولوژیکی بافت کبد را در گروه های مورد مطالعه نشان می دهد. پارامترهای هیستولوژیکی در این ارگان در گروه شاهد نرمال بودند. مطالعات هیستوپاتولوژیکی در گروه مورد تجویز داروی آزاتیوپرین، طیفی از تغییرات را نشان داد که می توان آنها را از آسیب بافتی متوسط تا شدید به صورت زیر طبقه بندی کرد:

۱) نقاط تصادفی دژنره شده و نکروتیک، ۲) احتقان و دیلاته شدن عروق، ۳) دژنراسیون و نکروز ناحیه پری پورتال، ۴) نکروز و تخریب شدن دیواره های عروق، ۵) انباشته شدن سلول های کوپفر با فعالیت فاگوسیتی در اطراف فضاهای پری پورتال، ۶) نواحی وسیع از نکروز تجزیه ای در بخش های مرکزی لوبول های کبدی، ۷) نفوذ لنفوسیت ها و گرانولوسیت ها در نواحی پورتال، ۸) پراکندگی وسیع نکروز تجزیه ای و خونریزی (شکل های ۱ تا ۴).
مطالعات هیستوپاتولوژیکی بافت کبد در گروه تیمار شده با ویتامین C همراه با داروی آزاتیوپرین، تغییرات مشخصی را در رابطه با آسیب ناشی از داروی آزاتیوپرین در بافت کبد نشان نداد (شکل ۵).

در بررسی آسیب های کبدی در گروه داروی آزاتیوپرین به همراه ویتامین C، از لحاظ میکروسکوپی تغییرات مشخصی از آسیب هپاتوسیت ها به جز نواحی با دژنراسیون نیمه کانونی، فقدان جزئی آرایش و ترتیب معمول هپاتوسیت ها، دیلاتاسیون جزئی سینوزوئید ها و دیلاتاسیون خفیف عروق مرکزی کبد، مشاهده نشد (شکل ۵).

بحث و نتیجه گیری

امروزه بیماری هایی از قبیل سرطان و بیماری های خود ایمنی در جهان شایع شده و رو به افزایش است. برای مقابله با این بیماری ها لازم است از داروهایی استفاده شود که علاوه از جلوگیری از پیشرفت بیماری، تاثیرات سوء کمتری در عملکرد طبیعی اندام ها و سلول های مختلف بدن فرد بیمار داشته باشد.

از جمله داروهایی که امروزه مصرف زیادی دارد، داروی آزاتیوپرین

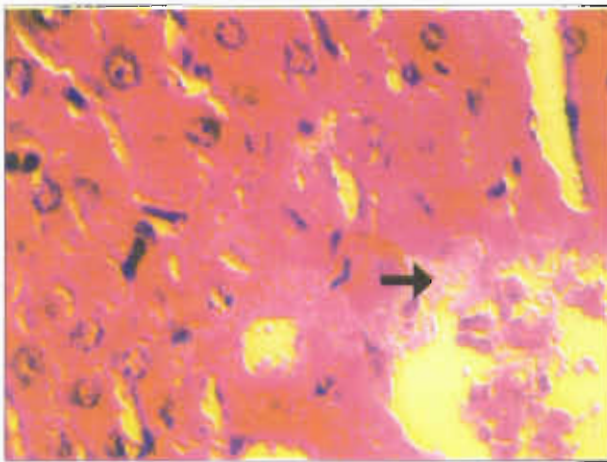
آزاتیوپرین، بعد از تجویز دارو در مقایسه با قبل از تجویز در همان گروه از لحاظ آماری کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$) به عبارت دیگر دارو باعث کاهش وزن در این گروه شده است. در حالیکه مقایسه میانگین وزن حیوانات در گروه تیمار با داروی آزاتیوپرین به همراه ویتامین C و گروه دریافت کننده تنها ویتامین C و گروهی که اصلاً دارو دریافت نکرده بود، بعد از تجویز دارو در مقایسه با قبل از تجویز، از لحاظ آماری افزایش معنی داری نشان می دهد ($P < 0.05$).

جدول شماره ۲ میانگین پارامترهای بیوشیمیایی سرم شامل بیلی روبین تام، آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز، پروتئین تام، آلبومین، لاکتات دهیدروژناز، کلسترول را در گروه های شاهد و گروه دریافت کننده داروی آزاتیوپرین و همچنین گروه دریافت کننده ویتامین C و گروه دریافت کننده ویتامین C همراه با داروی آزاتیوپرین نشان می دهد. میانگین سرمی بیلی روبین تام در گروه آزاتیوپرین نسبت به گروه شاهد افزایش آماری معنی داری را نشان می دهد ($P < 0.05$) در صورتی که میانگین سرمی بیلی روبین تام در گروه آزاتیوپرین همراه با ویتامین C اختلاف آماری معنی داری با گروه شاهد نشان نمی دهد و در مقایسه گروه ویتامین C با گروه شاهد، اختلاف آماری معنی داری مشاهده نمی شود.

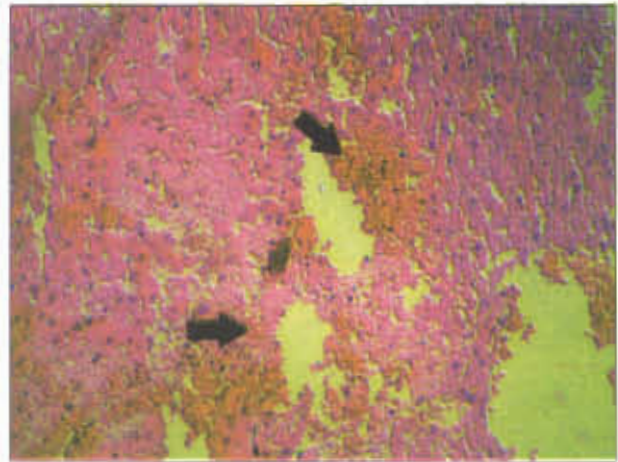
در بررسی آنزیم های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز سرم در گروه آزاتیوپرین نسبت به گروه شاهد، افزایش آماری معنی داری مشاهده می شود ($P < 0.05$) در حالیکه در بررسی میانگین سرمی آنزیم های ALT و AST در گروه شاهد با گروه های دریافت کننده ویتامین C به تنهایی و گروه تیمار شده با آزاتیوپرین همراه با ویتامین C، اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد.

در بررسی میانگین سرمی پارامترهای بیوشیمیایی پروتئین تام، آلبومین، لاکتات دهیدروژناز و کلسترول در بین گروه های تیمار شده با آزاتیوپرین، آزاتیوپرین بعلاوه ویتامین C و ویتامین C به تنهایی با گروه شاهد، اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد.

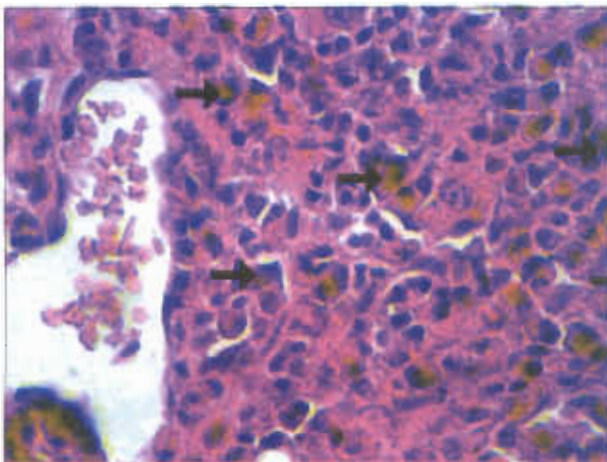




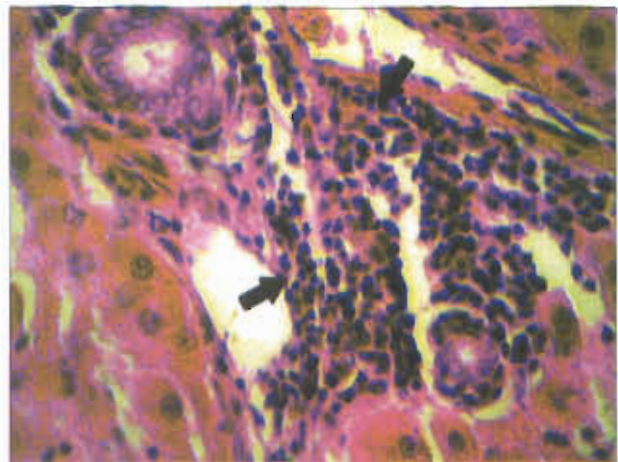
شکل ۱) بررسی دقیق تر شکل ۱. فلش تخریب نکروتیک انبساطی ورید مرکزی در لوپول کبد و نشان می دهد. (هماتوکسیلین - انوزین درشت نمایی ۴۰۰×)



شکل ۲) تصویری از بافت کبد حیوانات گروه مورد تجویز داروی آزاتیوپرین - فلش ها نواحی وسیع نکروز تجزیه ای و شویریزی را در قسمت مرکزی لوپول کبد نشان می دهند. به دیلاتاسیون غیر نرمال ورید مرکزی و تخریب دیواره های آن دقت شود. (هماتوکسیلین - انوزین، درشت نمایی ۶۰×)



شکل ۳) تصویر بافت شناسی از کبد حیوانات گروه مورد تجویز داروی آزاتیوپرین که تغییرات نکروتیک، هیپاتوسیت ها و تراکم سلول های کوپفر با فعالیت فاگوسیتی در فضای پورتال (فلش ها) و نشان می دهد (هماتوکسیلین - انوزین، درشت نمایی ۴۰۰×).



شکل ۴) تصویر میکروسکوپی از کبد حیوانات گروه مورد تجویز داروی آزاتیوپرین که نفوذ لنفوسیت ها و گرانولوسیتها را به فضای پورتال (فلش ها) نشان می دهد (هماتوکسیلین - انوزین، درشت نمایی ۴۰۰×).

می باشد که در بیماری هایی نظیر IBD، لوسمی لنفوبلاستی حاد، آرتریت روماتوئید، کولیت اولسراتیو، Autoimmune hepatitis، nephropathy، IgA، Dermatologic disease و... تجویز می شود. داروی آزاتیوپرین دارویی است که می تواند از سنتز مجدد بازهای پورینی جلوگیری کرده و مانع همانند سازی در سلول ها گردد که این عمل به واسطه عدم سنتز DNA و RNA می باشد. سمیت ایجاد شده به دنبال استفاده از این دارو در ارگان هایی از جمله مغز استخوان و کبد و دستگاه گوارشی و پانکراس به اثبات رسیده است (۱۵، ۱۲). سمیت این دارو بیشتر در اثر تولید رادیکال های آزاد در بدن و ارگان های بیمار است.

افزایش وزن در گروه شاهد و گروه تیمار درمان شده با داروی آزاتیوپرین و گروه تیمار درمان شده با آزاتیوپرین توام با ویتامین C، نشان دهنده سلامت جسمی و کاهش اثرات سمی دارو توسط ویتامین C بوده و در نتیجه آن، رشد



شکل ۵) تصویر میکروسکوپی از کبد حیوانات گروه داروی آزاتیوپرین همراه با ویتامین C که یک بافت کبد تقریباً نرمال را نشان می دهد. هیچگونه آسیب هیپاتوسلولی مشخص به جز فزونی سلول های هیپروپیک، ناپدید شدن هیپاتوسیت ها (فلش های نازک) و انقباض جزئی در ورید مرکزی (فلش ضخیم) مشاهده نمی شود. (هماتوکسیلین - انوزین، درشت نمایی ۱۰۰×).



C نسبت به گروه داروی آزاتیوپرین بسیار کمتر بوده و بیشتر نزدیک به گروه شاهد می باشد. به طور کلی یافته های آسیب شناسی بافتی کبد در توافق با نشانه ها و شواهد حاصل از آزمایشات بیوشیمیایی همخوانی دارد.

References

1. Aarbakke, J., Janka-Schaub, G., Elion, G.B. (1997) Thiopurine biology and pharmacology. Trends Pharmacol Sci, **18**: 3-7.
2. Amin, A., Hamza, A.A. (2005) Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats. Life Sci, **77**(3):266-278.
3. Ate, B., Batç oğlu, K., Gul, M., Selimoglu, M. A. (2006) Antioxidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein-induced pancreatitis and associated liver injury in rats, World J Gastroenterol, **12**(2):259-264.
4. Carlett, R., Eduardo, M., José, G., Nidia, R., Maricela, M., Ilse, V., Igrid, G., Alejandra, H., José, A. (2008) Protective effect of some vitamins against the toxic action of ethanol on liver regeneration induced by partial hepatectomy in rats. World J Gastroenterol, **14**(6):899-907.
5. César, M., María, D., Fernández, M., Jesús, A., Oscar, E., Tomás, O., Encarna, A., Carlos, C., Michele, L., Marco, D., Irene, D., Luis, G. (2004) Azathioprine Acts upon Rat Hepatocyte Mitochondria and Stress-Activated Protein Kinases Leading to Necrosis: Protective Role of N-Acetyl-L-cysteine, Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics Fast Forward, **104**:269-286.
6. Czaja, A. (1999) Drug therapy in the management of type 1 autoimmune hepatitis. J.Drugs, **57**:48-49.
7. Di landro, D., Sarzo, G., Marchini, F. (2000) New immunosuppressive treatment in kidney transplantations. J.Clin.Nephrol, **53**:23-32.
8. El-Sokkary, G.H. (2008) Melatonin and vitamin C administration ameliorate diazepam-induced oxidative stress and cell proliferation in the liver of rats. J.Cell Prolif, **41**(1):168-176.
9. Kader, H., Mascarenhas, M., Piccoli, D. (1998) Experiences with 6-Mercaptopurine and azathioprine therapy in pediatric patients with severe ulcerative

حیوانات به صورت طبیعی انجام گرفته است در حالیکه کاهش وزن در گروهی که داروی آزاتیوپرین به تنهایی استفاده شده، می تواند ناشی از اثرات سمی دارو در کبد و سایر ارگانها باشد که نتیجه آن به صورت کاهش در وزن ظاهر شده است. استفاده از داروی آزاتیوپرین، سبب افزایش مقادیر آنزیم های ALT و AST گردید. ALT یا آلانین آمینو ترانسفراز یک آنزیم سیتوپلاسمی است که بررسی مقدار آن در بیماری های کبدی ارزش تشخیصی زیادی نسبت به سایر ارگان ها دارد. افزایش این آنزیم می تواند دلیلی بر آسیب کبدی متعاقب تجویز دارو باشد. افزایش آنزیم ALT بعد از تجویز داروی آزاتیوپرین، توسط سون سی در سال ۱۹۹۶ گزارش شده است (۱۹). در استفاده همزمان ویتامین C توام با دارو، تغییرات معنی داری در میزان ALT نسبت به گروه شاهد مشاهده نگردید که می تواند ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی و محافظتی این دارو در برابر اثرات سوء داروی آزاتیوپرین باشد. AST یا آسپارات آمینو ترانسفراز دارای ایزو آنزیم های مختلفی از قبیل عضلانی، کبدی، پانکراسی و... می باشد در نتیجه افزایش مقادیر این آنزیم می تواند در بیماری های مختلفی وجود داشته باشد. در تجویز داروی آزاتیوپرین، مقدار این آنزیم در سرم افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان داد. با اینکه این میزان در رنج طبیعی ذکر شده در منابع است اما می تواند ناشی از آسیب ایجاد شده توسط داروی آزاتیوپرین در بدن باشد ولی از آنجا که آنزیم لاکتات دهیدروژناز که در آسیب های عضلانی بیشتر مورد توجه قرار می گیرد در این بررسی تغییر معنی داری نداشته است و توام با آنزیم AST میزان آنزیم ALT نیز افزایش نشان می دهد، پس می توان به آسیب کبدی بیشتر مشکوک شد. در تجویز همزمان ویتامین C، مقادیر این آنزیم تغییرات معنی داری با گروه شاهد نشان نداد که می تواند ناشی از خاصیت آنتی اکسیدانی این دارو در برابر داروی آزاتیوپرین باشد. افزایش این آنزیم نیز در سال ۱۹۹۶ توسط سون سی گزارش شده است (۱۹).

میانگین سرمی بیلی روبین در گروهی که تنها داروی آزاتیوپرین را دریافت کرده است نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان می دهد. از آنجائیکه این دارو در کبد متابولیزه و سپس دفع می شود و می تواند روی سیستم آنتی اکسیدانی بدن و به خصوص بافت کبد اثر بگذارد، شاید دلیل افزایش میزان بیلی روبین و آنزیم های کبدی شامل ALT و AST ناشی از آسیب بافت کبد باشد. مصرف همزمان ویتامین C با داروی آزاتیوپرین می تواند تا حدی این افزایش را جبران کند چرا که این ویتامین آنتی اکسیدان قوی بوده و با مصرف همزمان آن، میانگین سرمی بیلی روبین در این گروه ها نسبت به گروه شاهد، اختلاف آماری معنی داری را نشان نداد. میانگین مقادیر سرمی کلسترول، LDH، پروتئین تام و آلبومین در این تحقیق تغییرات معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان نداد.

نتایج بدست آمده از مطالعات هیستوپاتولوژیکی نیز نشان داد که مصرف همزمان ویتامین C با داروی آزاتیوپرین، عوارض کبدی ناشی از استعمال دارو را به نسبت زیادی کاهش می دهد. بر طبق این مطالعات میزان نواحی نکروتیک و از بین رفتن سلول های کبدی در گروه داروی آزاتیوپرین و ویتامین



- colitis. *J Pediatric Gastroenterol. Nutr*, **28**:54-58.
10. Kaplowitz, N. (1997) Interaction of azathioprine and glutathione in the liver of the rat. *J.Pharmacol Exp Ther*, **200**:479-486.
 11. Kerstens, P.J., Boerbooms, A.M., Jeurissen, M.E. (2000) Radiological and clinical results of long-term treatment of rheumatoid arthritis with methotrexate and azathioprine. *J Rheumatol*, **27**:1148-1155.
 12. Lee, A.U., Farrell, G.C. (2001) Mechanism of azathioprine induced injury to hepatocytes: roles of glutathione depletion and mitochondrial injury. *J. Hepatol*, **35**:756-764.
 13. Lee, W.Y., Lee, J.S., Lee, S.M. (2007) Protective effects of combined ischemic preconditioning and ascorbic acid on mitochondrial injury in hepatic ischemia/reperfusion. *J. Surg Res*, **142**(1):45-52.
 14. Ludwig, D., Stange, E.F. (1999) Efficacy of azathioprine in the treatment of chronic active Crohn's disease. *J. Gastroenterol*, **37**:1085-1091.
 15. Raza, M., Ahmad, M., Gado, A., Al-Shabanah, O. A. (2003) A comparison of hepatoprotective activities of aminoguanidine and N-acetylcysteine in rat against the toxic damage induced by azathioprine. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, **134**(4):451-456.
 16. Park, S.W., Lee, S.M. (2008) Antioxidant and prooxidant properties of ascorbic acid on hepatic dysfunction induced by cold ischemia/reperfusion. *Eur J Pharmacol*, **580**(3):401-406.
 17. Pearson, D.C., May, G.R., Fick, G. (2000) Azathioprine for maintaining remission of Crohn's disease. *Cochrane. Database. syst. Rev*.
 18. Sood, A., Midha, V., Sood, N. (2000) Role of azathioprine in severe ulcerative colitis: one year, placebo controlled, randomized trial. *Indian J Gastroenterol*, **19**:14-16.
 19. Sun, C., Chen, D., Qu, Z., Hao, J., Wang, J. (1996) Protective effects of radix *Salviae miltiorrhizae* on azathioprine hepatotoxicity in rats, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **21**(8):496-498, 512.
 20. Watanabe, A., Hobara, N., Tobe, K., Endo, H., Nagashima, H. (1979) Biochemical and morphological study on hepatotoxicity of azathioprine in rat, *Acta Med Okayama*, **33**(1):5-14.

