

## بررسی اثر دانازول بر آنزیم ها و تکوین کبد نوزادان موش صحرایی نر متولد شده از مادران تحت تیمار

فروغ معصومی<sup>۱</sup>، مهرداد شریعتی<sup>۲</sup>، اکبر زراعت پیشه<sup>۳</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیولوژی، کازرون، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، دانشیار گروه بیولوژی، کازرون، ایران. [mehrdadshariati@hotmail.com](mailto:mehrdadshariati@hotmail.com)

۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، استادیار گروه بیولوژی، کازرون، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۷

### چکیده

زمینه و هدف: به علت اهمیت نقش کبد در ارتباط با متابولیسم داروهای شیمیایی و سنتز پروتئین های پلاسما و استفاده زیاد از داروی دانازول در درمان بیماری های مختلف، این مطالعه با هدف بررسی اثر این دارو بر فعالیت آنزیم های کبدی و فاکتورهای بیوشیمیایی خون تکوین کبد نوزاد موش نر انجام گرفت.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۴۰ سرنوزاد موش صحرایی نر از نژاد ویستار به ۵ گروه ۸ تایی از مادرانی که قبلاً با دوزهای مشخصی در گروه های تجربی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب مقادیر ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ mg/kg دارو در دوره بارداری دریافت کرده بودند، تقسیم شدند. بعد از پایان دوره ۲۲ روزه نوزادی تمام گروه ها وزن کشی، ارزیابی میزان آنزیم های کبدی، آلبومین، پروتئین انجام گردید. بررسی بافت شناسی پس از گذر از مراحل نمونه و تهیه لام، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین انجام شد.

یافته ها: مقایسه نتایج آزمون آماری وزن نوزادان نشان دهنده این بود که گروه های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف دارو نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را در سطح  $P \leq 0/05$  نشان می دهند و بین گروه های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف دارو و گروه کنترل افزایش معنی داری در میزان آنزیم های کبدی، ALT، AST، ALP مشاهده گردید. تغییرات وزن کبد و آلبومین و پروتئین در گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود. در نمونه های بافتی تهیه شده با افزایش مقدار دارو تکرور بیشتر مشاهده گردید.

نتیجه گیری: احتمالاً داروی دانازول با مقادیر استفاده شده دارای اثرات مخربی بر بافت کبدی، هر چند مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است.

واژه های کلیدی: دانازول، آزمون های عملکردی کبد، نوزاد نر موش صحرایی.

### مقدمه

می باشد، برای متوقف کردن فعالیت تخمدان مصرف می شود. دانازول افزایش میزان LH و FSH را در میانه چرخه قاعدگی مهار می کند و می تواند از افزایش جبرانی LH و FSH در حیوانات اخته جلوگیری کند. اما در زنان سالم سطح پایه LH و FSH را به طور موثری کاهش نمی دهد. دانازول به گیرنده آندروژن-پروژسترون و گلوکوکورتیکوئید متصل شده و می تواند گیرنده آندروژنی را به داخل هسته جابجا کند و روند ساخت RNA اختصاصی آندروژنی را آغاز نماید. این دارو به گیرنده داخل سلولی استروژن متصل

دانازول (Danazol) دارویی با فرمول  $C_{22}H_{27}NO_2$  (2pregna-2)-17 $\alpha$ -3-d) isoxazol-4-dien-20-yno-17-ol) و وزن مولکولی ۳۳۷/۵g/mol می باشد (۸). نام های دیگر آن Danocrine، Anokrin، Danol، D Cyclophen، Danatrol می باشد. اشکال دارویی به صورت کپسول های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در بازار موجود است (۱۹). دانازول مشتق ایزوکسازول از اتینیل استرون (17 $\alpha$ -ethinyltestosterone) با فعالیت ضعیف پروژسترونی-گلوکوکورتیکوئیدی آندروژنی

مبتلا به کم خونی فانکونی نیز استفاده می شود (۱۷). دانازول در درمان اندومتريوز و ژینکوماستی (Gyncomasti) نیز استفاده می شود (۶،۷). هر کدام از بافت‌های بدن دارای یک فعالیت مشخص می باشند که در آناتومی و فعالیت متابولیک آن ها منعکس می باشد. کبد یک نقش مرکزی در متابولیسم داشته و به عنوان یک توزیع کننده، مخلوط مناسبی را از گردش خون برای تمام اعضا فراهم می سازد. بنابراین عملکردهای مهم از لحاظ فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی با اهمیت بوده و کار بر روی کبد را از جایگاه خاصی برخوردار می سازد (۱۲). هر ماده غذایی باید قبل از این که بتواند ذخیره شود یا این که انتقال یابد و یا مورد استفاده قرار گیرد باید توسط کبد به واحد تشکیل شده خود تبدیل شود. محل اصلی متابولیسم دارو در کبد است زیرا کبد دارای آنزیم‌های فراوان مواد جذب شده از روده هاست که مستقیماً به کبد می رسد (۲۰، ۱۱). آزمایش‌های خونی جهت بررسی عملکرد کبد وجود دارد که اندازه گیری سطح برخی از این آنزیم‌ها برای تعیین التهابات کبدی یا دیگر نواقص کبد مورد بررسی قرار داده می شود. در واقع آنزیم‌هایی چون آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز از آنزیم‌های موجود در سلول‌های کبدی می‌باشند که جزء آنزیم‌های غیر عملکردی پلاسما شناخته شده اند (۲). آلبومین جزئی از پروتئینی است که بیش از نیمی از پروتئین پلاسما را تشکیل می‌دهد. کاهش در آلبومین سرم سبب جابجایی مایعات داخل عروق به بافت‌ها و در نتیجه ادم خواهد شد (۱). با توجه به محدودیت انجام کارهای آزمایشگاهی در انسان به نظر می رسد که تا کنون بر روی اثرات داروی دانازول بر فعالیت‌های کبدی نوزاد نر مادرانی که در دوره بارداری این دارو را استفاده کرده اند، مطالعه ای صورت نگرفته است. از آن‌جا که

نمی‌شود، اما می تواند به SHBG (گلوبولین اتصالی هورمون‌های جنسی) و CBG (گلوبولین اتصالی کورتیکواستروئید ترانسکورتین) متصل گردد. دانازول موجب مهار سیتوکروم p450 (آنزیم جدا کننده زنجیره جانبی کلسترول)  $\beta$ -3-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز،  $17\alpha$ -هیدروکسی استروئید دهیدروژناز،  $P_{450c17}$  ( $17\alpha$ -هیدروکسیلاز) و  $p_{450c11}$  ( $11\beta$  هیدروکسیلاز) و  $p_{450c21}$  ( $21\beta$ -هیدروکسیلاز) می‌شود. با این حال نمی تواند آروماتاز (آنزیم مورد نیاز برای سنتز استروژن) را مهار کند. دانازول میزان کلیرانس متوسط پروژسترون را احتمالاً توسط رقابت با پروژسترون برای اتصال به پروتئین افزایش می دهد و ممکن است تاثیر مشابه روی دیگر هورمون‌های استروئیدی فعال داشته باشد. ایتسترون یک متابولیت عمده آن است که دارای اثرات پروژسترونی و اثرات خفیف آندروژنی است. دانازول در انسان به آهستگی متابولیزه می گردد و نیمه عمر ۱۵ ساعته دارد (۱۳). دانازول برای درمان بیماری فیروکیستیک پستان، اختلالات هماتولوژیک یا آلرژیک نظیر هموفیلی، بیماری کریسمس ITP و ادم آنژیونوروتیک مصرف می شود (۱۳). عوارض جانبی اصلی شامل افزایش وزن، خیز، کاهش اندازه پستان، آکنه و پوست روغنی، افزایش رشد مو، بم شدن صدا، سردرد، گرگرفتگی، تغییر میل جنسی، کرامپ‌های عضلانی و هیپرتروفی کلیتوریس در جنس ماده می باشد (PTCP *seidotumor cerebri*). یک بیماری نادر است که به ندرت دیده می شود که به علت افزایش فشار داخل جمجمه ای یک سری علامت و نشانه‌هایی را بروز می دهد بدون این که علت مشخصی داشته باشد. PTC به ندرت در افرادی دیده می شود که دانازول استفاده می کنند و به طور ناگهانی مصرف آن را قطع کردند (۱۸). این دارو در درمان نارسایی مغز استخوان در بیماری

های کبدی از شرکت پارس آزمون ایران خریداری گردیدند و داروی دانازول از شرکت دارویی دارو پخش تهیه گردید.

### روش کار

در این مطالعه تجربی ۴۰ سرنوزاد موش صحرایی نر از نژاد ویستار به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند و هر کدام در قفس‌های جداگانه و در یک شرایط نگه داری شدند. گروه کنترل شامل ۸ سرنوزاد موش نر از مادرانی که در دوره بارداری در شرایط عادی بدون دریافت دارو نگه داری شدند. گروه شاهد شامل ۸ سرنوزاد موش نر از مادرانی که در دوره بارداری روزانه حلال مصرفی دارو (۱/۶ آب+ ۴/ الکل) دریافت کردند. گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ که هر کدام دارای ۸ سرنوزاد نر از مادرانی که در دوره بارداری روزانه به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم داروی دانازول دریافت کرده بودند (۶).

LD<sub>50</sub> دانازول ۱۷۰۰۰ mg/kg تعیین شده و تجویز دارو به صورت خوراکی (دهانی) و به مدت ۲۱ روز به مادران موش‌ها انجام شد (۶). بعد از تولد و پایان دوره ۲۲ روزه نمونه خونی از همه گروه‌های نوزادان تهیه شد. خونگیری از قلب انجام شد. لوله‌های حاوی خون در دستگاه سانتیفریوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتیفریوژ و سرم آن جدا و تا زمان سنجش آنزیمی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. برای سنجش میزان فعالیت آنزیم‌ها به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از کیت‌های مخصوص اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی از شرکت پارس آزمون ایران و با کمک دستگاه Technicon RA-1000 ساخت آمریکا اندازه‌گیری گردید. بعد از خونگیری، کبد هر حیوان را با احتیاط جدا نموده درون

بیشتر این داروها علاوه بر جنبه دارویی، دارای عوارض جانبی بی‌شماری می‌باشند، در این پژوهش تلاش بر آن بوده که اثرات جانبی احتمالی داروی دانازول بر آنزیم‌های کبدی و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون (پروتئین تام، آلبومین) و هم‌چنین تغییرات وزن بدنی و هم‌چنین تغییرات بافتی کبد در نوزاد موش صحرایی نر مورد بررسی قرار گیرد تا نتایج حاصل از این پژوهش بتواند مورد استفاده مراکز درمانی قرار گیرد.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه نمونه و مواد مورد نیاز

حیوانات مورد استفاده در این تحقیق نوزادان موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار به تعداد ۴۰ سر با وزن تقریبی ۱۰۰ گرم و سن ۲۲ روز بود که قبلاً مادران آن‌ها از خانه پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه و در طی دوره بارداری داروی دانازول به آن‌ها تجویز شده بود و بعد از تولد نوزادان، نرهای آن‌ها جدا کرده و در همان مرکز نگه داری شدند. درجه حرارت محیط  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد در طول شبانه روز ثابت و طی دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داشتند. تابش نور به طور غیر مستقیم و یکنواخت از پنجره‌های آزمایشگاه صورت می‌گرفت. قفس‌های نگه داری حیوانات از جنس پلی‌کربنات در ابعاد ۴۰×۲۵×۱۵ سانتی‌متری با سقفی مشبک از جنس استیل بود. کف قفس‌ها توسط تراشه‌های چوب مفروش شده بود و خاک‌اره‌های موجود در کف قفس هر دو روز و توسط آب و مواد ضد عفونی شستشو می‌شدند. تعویض هوای داخل آزمایشگاه توسط دستگاه تهویه موجود در آن صورت می‌گرفت. آب موش‌ها از آب لوله‌کشی شهری و غذای مادران آن‌ها از غذای فشرده موش ساخت شرکت سهامی خوراک دام و طیور پارس بود، غذای نوزادان شیر مادر بود. کیت‌های اندازه‌گیری آنزیم

آنزیم AST مشاهده شد در دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم میزان آنزیم افزایش یافته است که این یافته در مورد آنزیم های ALT و ALP نیز صدق می کند و وزن نوزادان نیز در گروه تجربی ۲ و ۳ به صورت معنی دار کاهش یافته است. همچنین میزان آلومین و پروتئین و وزن کبد نیز تغییر معنی داری مشاهده نشده است (جدول ۱ و ۲).

محلول فرمالین ۱۰٪ تثبیت و پس از گذراندن مراحل برش گیری و رنگ آمیزی، اسلایدهای بافتی تهیه شد.

### تحلیل آماری

نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS20 آزمون مقایسه میانگین ها مورد آنالیز و تحلیل قرار گرفت ( $P \leq 0.05$ ).

### نتایج

یافته های این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و گروه شاهد وجود ندارد. در مورد

جدول ۱-میزان سطح پلاسمایی آنزیم های کبدی در گروه های مختلف بر حسب U/L

گروه ها	ALT	AST	ALP
کنترل	۸۸/۲±۲/۵	۱۵۲/۶±۳/۱	۱۲۵۲±۲۲/۶
شاهد	۹۴/۶±۳/۸	۱۵۳/۸±۳/۴	۱۲۱۸/۸±۱۶/۹
تجربی ۱ (۱۰۰mg/kg)	۱۰۳±۴/۶	۱۶۱/۲±۲/۹	۱۳۳۷/۳±۲۵/۵
تجربی ۲ (۲۰۰mg/kg)	۱۰۲/۵±۳/۳	۱۶۵/۱±۴/۱	۱۳۵۰/۴±۲۲/۹
تجربی ۳ (۴۰۰mg/kg)	۱۲۹/۹±۵/۲*	۲۰۳±۶/۱*	۱۵۷۸/۳±۴۵/۷*

\*نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $P \leq 0.05$ )

جدول ۲-میزان برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون (آلبومین و پروتئین) و وزن کبد و بدن نوزاد

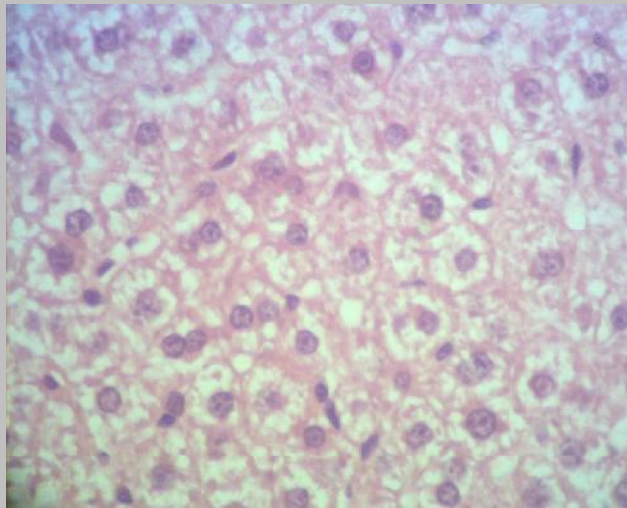
گروه ها	وزن بدن (g)	وزن کبد (g)	آلبومین mg/dl	پروتئین mg/dl
کنترل	۸۳/۰۹±۵/۶	۳/۲±۱/۹	۵/۶±۲/۹	۹/۸±۳/۴
شاهد	۷۹±۴	۳/۶±۱/۷	۵/۶±۲/۲	۱۰/۲±۲/۸
تجربی ۱ (۱۰۰mg/kg)	۶۴/۹±۲/۶	۳/۲±۱/۵	۴/۹±۱/۷	۹/۸±۱/۳
تجربی ۲ (۲۰۰mg/kg)	۶۳/۱±۳/۷*	۳±۲/۳	۵/۱±۱/۳	۱۰/۴±۳/۲
تجربی ۳ (۴۰۰mg/kg)	۶۰/۹±۳/۹*	۳±۲/۹	۵/۲±۱/۷	۹/۸±۲/۸

\*نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $P \leq 0.05$ )

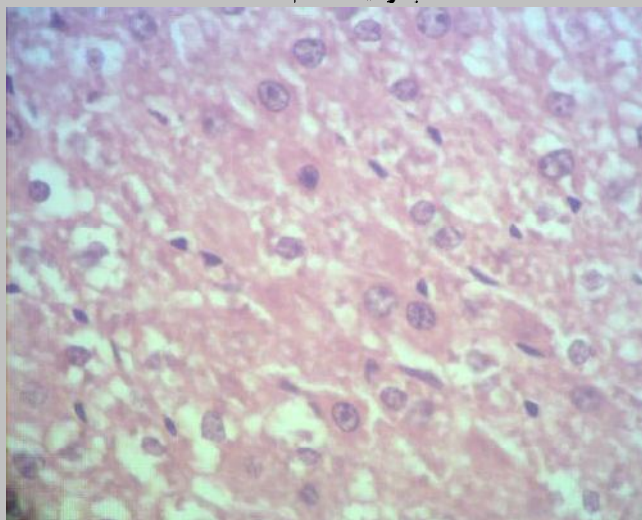
### نتایج حاصل از مطالعات بافت شناسی

پس از بررسی بافت کبد در گروه های مختلف تجربی (۴۰۰ و ۲۰۰ و ۱۰۰ mg/kg)، مشاهده شد که سلول های هپاتوسیت کبد در گروه تجربی حداقل در مقایسه با گروه کنترل به مقدار کم و در گروه تجربی متوسط در مقایسه با گروه کنترل به مقدار بیشتر دچار نکروز گردیده است (به ترتیب شکل های ۵-۱). در گروه

تجربی حداکثر در مقایسه با گروه کنترل، میزان نکروز به طور قابل ملاحظه ای نسبت به دو گروه قبل افزایش یافته، به طوری که بیشترین حد نکروز را در این گروه مشاهده کرد. در کل می توان گفت که میزان نکروز بافت کبد، متناسب با دوز افزایش می یابد.



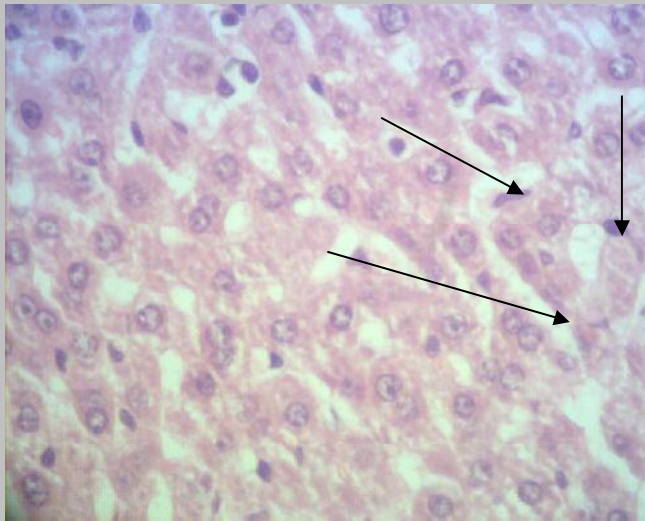
شکل ۱- فتومیگراف بافت کبد در گروه کنترل: برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین- انوزین بزرگنمایی  $\times 10$  تمام سلول های هپاتوسیت سالم هستند.



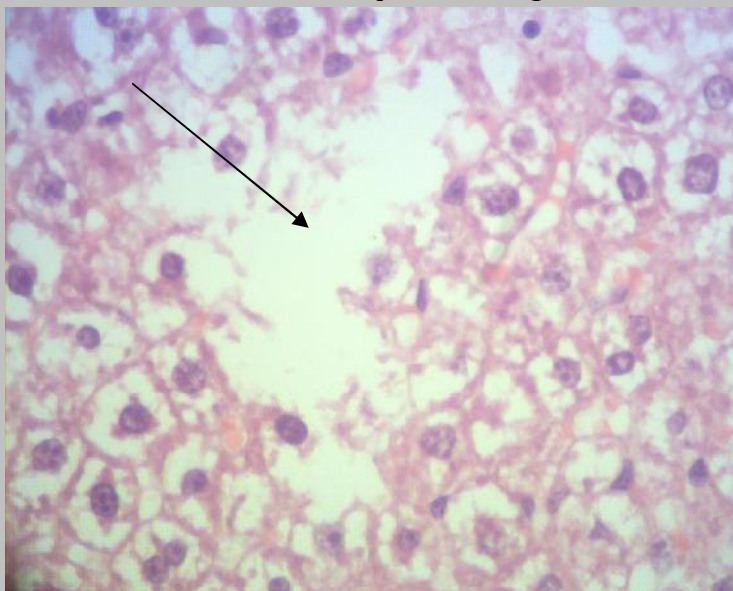
شکل ۲- فتومیگراف بافت کبد در گروه شاهد - برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین بزرگنمایی  $\times 40$  تمام سلول های هپاتوسیت سالم هستند.



شکل ۳- فتومیگراف بافت کبد در گروه تجربی ۱ - برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین بزرگنمایی  $\times 40$  فلش نشان دهنده تکروزه شدن بافت است.



شکل ۴- فتومیگراف بافت کبد در گروه تجربی ۲- برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین- انوزین بزرگنمایی  $\times 40$  فلش نشان دهنده نکروزه شدن بافت است.



شکل ۵- فتومیگراف بافت کبد در گروه تجربی ۳- برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین- انوزین بزرگنمایی  $\times 40$  فلش نشان دهنده نکروزه شدن بافت است.

### بحث و نتیجه گیری

مقایسه نتایج آزمون آماری نشان دهنده این است که گروه‌های تجربی دریافت کننده داروی دانازول با مقادیر  $400, 100, 200$  mg/kg نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی داری را در سطح  $p \leq 0.05$  نشان می دهند. با افزایش مقدار دوز دارو کاهش وزن و در دوز  $400, 200$  mg/kg به طور معنی داری دیده می شود (جدول ۲). از آنجا که از عوارض جانبی این دارو افزایش وزن است. اما این پژوهش در دوره کوتاه مدت

انجام شده و علت کاهش وزن شاید تاثیر بر روی هورمون لپتین باشد. لپتین از طریق گردش خون به مغز رفته و در آنجا بر روی گیرنده های هیپوتالاموس اثر نموده و سبب کاهش اشتها می شود. لپتین به علت نقش داشتن در کاهش اشتها باعث کنترل وزن بدن می شود (۱۳). هم چنین در درازمدت کاهش استروژن در مادر سبب افزایش آندروژن ها می شود و افزایش تجمع آن-ها در ماهیچه ها و در نتیجه سبب افزایش وزن و افزایش تراکم استخوان می شود اما در این جا چون در کوتاه

مدت از دارو استفاده شده است افزایش وزن بر روی نوزاد مشاهده نگردید. مهم‌ترین محل فعالیت آندروژن‌ها در خارج از اندام جنسی عضلات اسکلتی است تولید ماهیچه آندروژن ناشی از توانایی آن‌ها در افزایش نگه داری نیتروژن تغذیه ای در هنگام سنتز پروتئین است. هم‌چنین به اثر هورمون رشد می‌توان اشاره کرد که تقریباً کلیه بافت‌های بدن قادر به رشد هستند و باعث بزرگ شدن سلول و افزایش میتوز همراه با پیدایش تعداد افزایش یافته سلول‌ها و تفکیک اختصاصی بعضی از انواع سلول‌ها از قبیل سلول‌های رشد دهنده استخوان سلول عضلانی اولیه می‌شود. در واقع هورمون رشد پروتئین‌های بدن را افزایش می‌دهد ذخایر چربی را به مصرف می‌رساند و کربو هیدرات‌ها را حفظ می‌کند. اما این پژوهش در دوره کوتاه مدت بوده و دانازول اثر مستقیم بر دستگاه گوارش از جمله کبد دارد و باعث آسیب کبدی و به هم خوردن تعادل هورمونی و آنزیمی می‌شود و به جای افزایش وزن باعث کاهش وزن می‌گردد (۱۱). هم‌چنین گلوکوکورتیزون کبد در دوره نوزادی دچار نارسایی است در نتیجه غلظت گلوکز خون نوزادی که هنوز تغذیه نشده به حدود ۳۰ تا ۴۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر سقوط می‌کند و نوزاد قبل از این که تغذیه بتواند انجام شود باید برای تامین انرژی به چربی‌های ذخیره متکی باشد، در نتیجه کاهش وزن دیده می‌شود (۱۱، ۳). در این پژوهش با بررسی مطالعات بافتی کبد، مشاهده شد که سلول‌های پارانشیم کبد در گروه کنترل، شاهد کاملاً طبیعی و بدون آسیب دیدگی می‌باشند. در گروه‌های تجربی دریافت کننده دارو آسیب‌هایی در این سلول‌های هیپاتوسیت مشاهده می‌شود. در گروه‌های حداقل، متوسط و حداکثر دیده می‌شود که در میان سلول‌ها فضای خالی ناشی از آسیب دیدگی سلول ایجاد شده است که وسعت این فضای آسیب دیده در این گروه‌ها

با افزایش دوز مصرفی دارو افزایش پیدا کرده است و می‌توان احتمال داد که میزان آسیب دیدگی سلولی در بافت کبد با میزان دوز مصرفی نسبت مستقیم دارد (شکل‌های ۵-۱). طبق تحقیقات گذشته دارو می‌تواند باعث ایجاد آسیب کبدی القا شده به وسیله دارو، شوند که این آسیب‌ها به وسیله سمیت کبدی حاصل از دارو یا متابولیت فعال آن‌ها ایجاد می‌شود (۱۵). (DILI Drug-induced liver injury) به وسیله فعالیت‌های زیستی متابولیت‌های فعال دارو آغاز می‌شود که با اثر متقابل آن‌ها با ماکرومولکول‌های سلولی از قبیل پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک عمل کرده و باعث پراکسیداسیون لیپید و آسیب DNA و فشار اکسیداتیو می‌شود، هم‌چنین متابولیت‌های فعال ممکن است باعث عدم فعالیت میتوکندری و کاهش تولید انرژی گردد و این خرابی عملکرد سلول می‌تواند در مرگ سلول و آسیب کبدی تاثیر گذارد. عدم کارکرد سلولی کبد باعث شروع شدن میان کنش‌های ایمن شناسی می‌شود که شامل پاسخ‌های ایمنی تطابقی و ذاتی است. فشارهای وارد بر سلول‌های کبدی و یا آسیب سلول‌های کبدی می‌تواند در اثر آزاد سازی سیگنال‌هایی که فعالیت سلول‌های دیگر مانند: سلول‌های کوپفر، سلول‌های کشنده طبیعی (Natural-Killer Cells) را تحریک می‌کند، ایجاد می‌شود (۱۵). مقایسه نتایج آزمون آماری نشان دهنده این است که گروه‌های تجربی دریافت کننده دارو دانازول با مقادیر ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی داری را در وزن کبد نشان نمی‌دهند. مقایسه نتایج آزمون آماری مربوط به فعالیت آنزیم‌های مذکور نشان دهنده‌ی این مطلب است که در مورد آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) تنها گروه دریافت کننده مقدار ۴۰۰ mg/kg دارو نسبت به گروه کنترل افزایش معنی



داری را در سطح  $p \leq 0/05$  نشان می دهد (جدول ۱). ماده زمینه‌ای آنزیم‌های ALT، AST، ALP در پلاسما وجود ندارد و میزان آنزیم موجود در خون افراد طبیعی تا حدود یک میلیون برابر کمتر از مقدار موجود در نسوج است. چنانچه این آنزیم در پلاسما از حدود طبیعی بیشتر شود نشانه تخریب بافتی است (۱۶). چون سطح آنزیم (ALT) در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی چندین مرتبه بیشتر از مایع خارج سلولی است زمانی که صدمه ای به غشاء وارد می شود (ALT) از آن خارج گشته و غلظت سرمی آن افزایش می یابد و میزان این افزایش نشانه ای از درجه وسعت ضایعه کبدی است (۵، ۴). چون این دارو باعث التهاب کبد می شود پس می توان احتمال داد که روی سیستم ایمنی هم تاثیر می گذارد و از این طریق باعث ایجاد نکروز کبدی گردد و این امر باعث افزایش آنزیم AST گردد. چون AST درون سیتوپلاسم و میتوکندری سلول‌های کبدی وجود دارد بنابراین نکروز سلول‌ها باعث آزاد سازی آن به خون و افزایش سطح سرمی آن می گردد. از طرفی بررسی اسلایدهای بافتی تهیه شده در این پژوهش نمایانگر نکروز هپاتوسیت‌ها می باشد. هم چنین غلظت این دو آنزیم در سطح معنی داری به خصوص گروه تجربی ۳ افزایش یافته است و در اسلایدها هم نکروز در گروه تجربی ۳ شدیدتر است. پس احتمال می رود که داروی دانازول بر کبد تاثیر گذاشته و آسیب دیدگی و نکروز ایجاد کند که قابل تایید می باشد. مقایسه نتایج آزمون آماری مربوط به فعالیت آنزیم آلکانین فسفاتاز نشان دهنده ی این است که تنها گروه دریافت کننده مقدار  $400 \text{ mg/kg}$  دارو نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را در سطح  $p \leq 0/05$  نشان می دهد (جدول ۱). افزایش ALP ممکن است فیزیولوژی یا پاتولوژی باشد. نقش فیزیولوژی این آنزیم به طور کامل واضح نیست اما افزایش تولید آن

در بافت‌ها نشان دهنده تحریک متابولیکی است (۱۴). ALP در بافت‌های زیادی وجود دارد (کبد، مجرای صفراوی) نقش آن رسوب هیدروکسی آپاتیت در استئوئید برای تشکیل استخوان می باشد. به طور طبیعی فعالیت ALP سرم عمدتاً ایزوآنزیم‌های کبدی و استخوانی را نشان می دهد. ALP در بیماری‌های استخوانی، حاملگی، رشد طبیعی گاهی در حضور بدخیمی‌های غیر استخوانی و غیر کبدی افزایش می یابد. افزایش ALP سرمی نشان دهنده افزایش تولید آنزیم است (۴، ۹). بر اساس مطالعات مشخص گردیده وجود آنزیم ALP در جدار مویرگ‌های کبدی جهت تسهیل عبور مواد از جدار آن‌ها است که احتمالاً با آسیب کبد توسط داروی دانازول ورود ALP به جریان خون افزایش می یابد. لذا بررسی اسلایدهای بافتی تهیه شده در این پژوهش نشان دهنده نکروز هپاتوسیت‌ها می باشد و با افزایش دوز میزان نکروز دز سلول‌ها بیشتر مشاهده می شود و احتمال می رود که داروی دانازول بر کبد تاثیر گذاشته و آسیب دیدگی و نکروز ایجاد کند که قابل تایید می باشد. مقایسه میانگین نتایج آماری مربوط به غلظت سرمی پروتئین تام و آلبومین نشان دهنده ی این است که در گروه دریافت کننده ی مقدار  $100, 200, 400 \text{ mg/kg}$  دارو در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی داری در سطح  $(P \leq 0/05)$  نشان نمی دهد (جدول ۲). آلبومین یکی از مهم ترین پروتئین‌های چرخه ای در جریان خون است که به وسیله ی کبد ساخته و در جریان خون ترشح می شود. آلبومین خون یک راهنمای ارزشمند و یک نشانه حساس برای بیماری کبد و کلیه است (۳). کبد نوزاد از نظر تشکیل پروتئین‌های پلاسما نارسا است به طوری که غلظت پروتئین پلاسما به ۱۵ تا ۲۰ درصد کمتر از غلظت پروتئین‌های پلاسما در کودکان بزرگ‌تر سقوط می کند. گاهی غلظت پروتئین به مقادیر آنچنان پائینی



از زحمات مسوولان و کارکنان دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر قوامی شیراز و تمام کسانی که به نحوی در انجام این تحقیق ما را یاری کردند، سپاسگزاری می شود.

سقوط می کند که شیر خوار عملاً دچار خیز ناشی از کمبود پروتئینی می گردد(۱۰).

## تشکر و قدر دانی

## منابع

11. Guyton, AC. (1991). Textbook of medical physiology, 8<sup>th</sup> ed. W.B. Saunders company. Philadelphia, 835-848.
12. Harper, H.A., Redwel, U.M., Mayes, P.A. (1979). Lang medical publication. Review of physiological chemistry, 17<sup>th</sup> ed. California; pp:7.
13. Katzung, BG. (2009). Basic and Clinical pharmacology. 11<sup>th</sup> ed. USA: Mc Graw-Hill, 717-718.
14. Limidi, J.K., Hyde, GM. (2003). Evaluation of abnormal liver function tests. Jun, 79(932); 307-312.
15. Holt, M. P., Cynthia, JU. (2006). Mechanisms of drug-induced liver injury. The AAPS journal, 8(1); 6:E48-E54
16. Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. (1993). Harpers Biochemistry, 23<sup>th</sup> ed. Appleton and Lange, 345-351.
17. Scheckenbachk Morgan, M., Filger-Brillinger, J., Sandmann, M., Strimling, B., Scheurlen, W., Schindler, D. (2012). Treatment of the bone marrow failure in *Fanconi anemia* patients with danazol. Blood Cells Mol Dis, 48(2); 128-31.
18. Thomson, R.R. (1989). Special ueterinary pathology. first Indian ed. Published by s.k jain. for CBS publishers and distributors, Delhi. 229-268.
19. Smith and Reyn, Ard. (1992). Text book of pharmacology. W.B. Saunders company London, Pp:686.
20. Yi-Shan, Wu., Shang-Der, C., Tzu-Hui, Li., Jia-Shou, L., Min-Yu, L. (2007). Intracranial hypertension associated with danazol withdrawal: A Case Report. Acta Neurol Taiwan, 16; 173-176.
- 1- آبگون، م. ۱۳۸۰. آزمایش های تشخیصی و آزمایش گاهی همراه با اقدامات پرستاری. چاپ اول. انتشارات نور. صفحه ۱۱-۳۶۸.
2. Ajayi, OB., Odotuga, A. (2004). Effect of low-zinc status and essential fatty acid deficiency of activies of aspartate aminotransferase and alanin amino tranferazse in liver and serum of albino rats. Nahrung, 48(2); 88-90.
3. Arana, G.W., Hyman, S.E., Rosenbaum, J.F. (2000). Hand book of psychiatric drug therapy. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia. Lippincott Williams & wilkins.
4. Berk, P., Korenblat, K. (2011). Approach to the patient with jaundice or abnormal liver tests. In: Goldman L, Schafer AI, eds. *Cecil Medicine*. 24th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, chap 149.
5. Billiard, M. (1989). Blood D.C and Radostits O.M. Veterinary medicine. 7<sup>th</sup> ed. baillier and tindal. London, pp:228-298. 1320).
6. Buckle, R. (1979). Danazol therapy in gynaecomastia : recent experience and indications for therapy. Postgrad. Med. J, 55(suppl5); 71-8.
7. Cobellis, L., Razzi, S., Fava, A., Severi, FM., Igarashi, M., Petraglia, F. A. (2004). Danazol-loaded intrauterine device decreases 21ysmenorrhoea, pelvic pain, and dyspareunia associated with endometriosis. Fertil Steril, 82; 239-40.
8. DAL, M. (2002). The complete drug Reference. séance. sweetman, 1468-1470.
9. Gill, M., Sanyal, SN., Sareen, MI. (1991). Interaction of H2-receptor antagonists, cimetidine and ranitidine with microsomal drug metabolizing and other systems in liver. Indian jexp boil Sep, 29(9); 852-6.
10. Giboney, PT. (2005). Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. Am Fam Physician, 71(6); 1105-10.

