

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

آرمین سالک مقصودی¹؛ محمدرضا ستاری^{2,3*}؛ علی استادی⁴؛ زینب مظلومی¹؛ محمد شکرزاده¹

چکیده

زمینه: مسمومیت با استامینوفن هر ساله باعث بروز نارسایی های حاد کبدی و کلیوی احتمالی در جوامع مختلف می شود. ان - استیل سیستین که اولین بار در سال 1970 به عنوان آنتی دوتی تأثیرگذار برای مقابله با مسمومیت با استامینوفن پیشنهاد شد، از باند شدن NAPQI به سلول های کبدی جلوگیری می کند.

روش ها: در این مطالعه تعداد 30 نفر از افرادی که با میانگین سنی 27 سال در طول یک سال به دلیل مسمومیت با استامینوفن به بخش مسمومیت بیمارستان سینای تبریز مراجعه نموده بودند شرکت کردند. در طول 24 ساعت حضور در بخش درمانی، نمونه خون نمونه ها تهیه و در لوله های هپارینه جمع آوری شد. پس از سانتریفوژ پلاسماي خون جدا شده و تا زمان آنالیز با روش کروماتوگرافی با کارایی بالا و کیت های آزمایشگاهی سنجش آنزیم های کبدی و گلوکوتایون پراکسیداز در دمای C 70^o- نگه داری شد.

یافته ها: اختلاف سطح فعالیت گلوکوتایون 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) در حالی که در بدو معالجه و قبل از تجویز ان - استیل سیستین تفاوت معناداری بین سطوح پلاسمایی اوره مشاهده نشد (P>0/05).

نتیجه گیری: سطح فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز قبل از تغییر محسوس سطح آنزیم های روتین کبدی تغییر کرد. سطح اوره پس از گذشت 24 ساعت از درمان با وجود اتصال سرم و احتمالاً وجود هیدراتاسیون، افزایش یافت.

کلیدواژه ها: ان - استیل سیستین، استامینوفن، اوره، آلانین ترانس آمیناز، اسپاراتات آمینوترانسفر، گلوکوتایون پراکسیداز

«دریافت: 1393/2/22 پذیرش: 1393/7/15»

1. گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

2. مرکز تحقیقات 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

* عهده دار مکاتبات: تبریز، خیابان دانشگاه، دانشکده داروسازی، تلفن: 04133341315

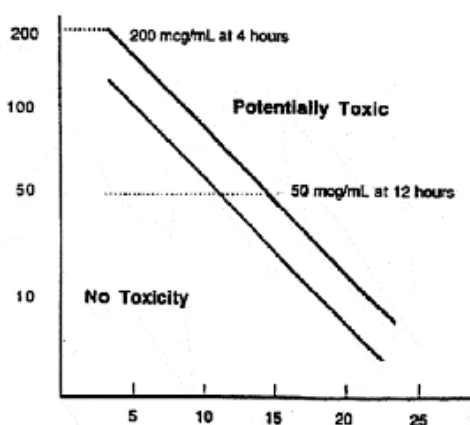
Email: mrgsuk@yahoo.com

مقدمه

آنزیم های آمینوترانسفراز کبد شامل آلانین ترانس آمیناز (ALT) و اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) تا بالاتر از 1000U و آزاد شدن آن ها به پلاسما می شود (1 و 2). همچنین سمیت استامینوفن باعث تغییر پارامترهای کلیوی موجود در پلاسما مانند کراتینین و اوره می شود و در بررسی و درمان این مسمومیت باید هر دو مورد

مسمومیت با استامینوفن یکی از علل اصلی آسیب کبدی است که طبق تحقیق لارسون و همکاران در سال 2005، حدود 40-50 درصد تمامی نارسایی های حاد کبد در ایالات متحده را شامل می شود. آسیب کبدی در صورت عدم درمان مناسب باعث افزایش فعالیت

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 دو نوع تجویز خوراکی و وریدی نوموگرام Rumack-Matthew (شکل 1) به عنوان مرجع برای تشخیص مسمومیت با استامینوفن و زمان استفاده از آن-استیل سیستین مورد استفاده قرار می‌گیرد (9-7). برخی از محققان با توجه به عوارض جانبی استفاده از آن-استیل سیستین 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-استیل سیستین بلافاصله پس از مسمومیت و تجویز خوراکی آن در صورت تأخیر در زمان مصرف و بروز علائم 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 گلوکوتایون بدن با توجه به میل ترکیبی بالای گروه‌های تیولدار با سرب نقش دارد (11). تجویز NAC همچنین در طب داخلی برای درمان فیبروزایدیوباتیک ریه (12) و به‌عنوان ماده‌ای که واجد اثرات ضد میکروبی و گشادکننده رگ‌ها می‌باشد استفاده



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

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 سولفات 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- بنزوکینونین (NAPQI) تبدیل می‌شود که در حالت معمول به‌صورت کنژوگه با گلوکوتایون به سیستین 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 CYP3A4 و CYP1A2 که مسئول متابولیسم استامینوفن است انجام می‌شود. در دوزهای درمانی NAPQI تشکیل شده توسط گلوکوتایون کونژوگه شده و از بین می‌رود. با این حال در مصرف بیش از حد استامینوفن، NAPQI باعث تخلیه منابع گلوکوتایون 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 آن-استیل سیستین (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 و 7). در سال 1977 پرسکات و همکاران پیشنهاد استفاده از آن-استیل سیستین 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

لوله‌های هپارینه نگه‌داری شد. اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی بلافاصله بعد از نمونه‌گیری به وسیله دستگاه آنالایزر HITACHI در آزمایشگاه بیوشیمی بیمارستان سینا انجام گرفت. برای اندازه‌گیری سطح ان - استیل سیستمین پلاسما از دستگاه HPLC (CECIL1110) ساخت کشور انگلستان و ستون $25\text{Cm} \times 4.6\text{mm}$ Hichrom Lichrosorb ساخت کشور انگلستان استفاده شد. نمونه پلاسمایی 22 نفر افراد کنترل سالم که بر اساس اطلاعات رضایت‌نامه‌ای تهیه شده، فاقد هرگونه بیماری‌های کبدی و کلیوی بوده‌اند؛ همچنین قبل از ثبت اطلاعات مربوطه، به صورت تصادفی بیومارکرهای روتین کبدی و کلیوی پلاسمایی تعدادی از این افراد بامنابع مرجع مورد استفاده در آزمایشگاه‌های بالینی مقایسه شد و پس از صحت اطمینان از اطلاعات مربوط به گروه کنترل سالم، این نمونه‌ها به ترتیب ذکر شده آماده‌سازی و بیومارکرهای کبدی و کلیوی اشاره شده در این آزمایش اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری پروترومبین تایم نیز توسط دستگاه کوآگولومتر تک کاناله مدل 2201c و با استفاده از کیت pascific hemostasis انجام گرفت. اندازه‌گیری GPX در نمونه‌های پلاسمای مورد مطالعه به صورت دستگاهی و با استفاده از کیت enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (CAYMAN[®] Plasma GPx Enzyme Immuno assay) و دستگاه microplate reader (Model State fax-2100;) Awareness Technology Inc. Palm City, USA) انجام شد.

مواد شیمیایی شامل ان - استیل سیستمین 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 نیتريت و 5-سولفوسالیسیلیک اسید ساخت شرکت Sigma Aldrich (ایالات متحده) استفاده شد.

می‌شود (13). از این دارو برای پیشگیری از آسیب کلیه در طول عکس‌برداری با ماده حاجب و پیشگیری از ناشنوایی احتمالی پس از مصرف جتتامایسین به خصوص در کودکان و نوزادان نیز استفاده می‌شود (14). یکی از فاکتورهایی که به طور غیرمستقیم می‌توان با استفاده از آن عملکرد گلوکوتایون تغییر یافته در مسمومیت با استامینوفن را سنجید اندازه‌گیری فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز (GPX) به عنوان یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بدن می‌باشد که نقش فعالی در فرآیند احیای گلوکوتایون 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 توپول 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 به دلیل مسمومیت حاد با استامینوفن به بخش مسمومیت بیمارستان سینای تبریز مراجعه کرده بودند جمع‌آوری 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 جمع‌آوری نمونه‌های خونی در لوله‌های آزمایشی هپارینه، به منظور جداسازی پلاسما به مدت 5 دقیقه با سرعت 3000 دور بر دقیقه سانتریفیوژ شده و تا زمان آنالیز در دمای -70 درجه سانتی‌گراد در

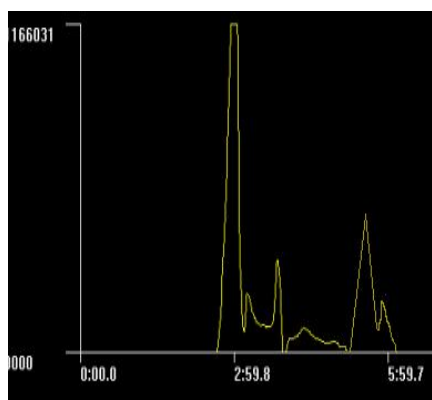
روش مشتق سازی

نمونه‌های خون وریدی دارای مقدار معلوم ان-استیل سیستین در تیوب‌های لیتیم هپارینه شده ساترفیوژ شد. پروتئین‌های پلاسما در 1 میلی لیتر پلاسما به وسیله پرکلریک اسید 2 مولار با سرعت 1000 دور در 3 دقیقه ساترفیوژ شد. محلول شناور در دمای 70- درجه سانتی گراد نگهداری شد و نمونه فریز شده بدون پروتئین، آب شده و 200 میکرولیتر از نمونه با غلظت معلوم با 50 میکرولیتر از محلول آبی تازه تهیه شده DTPA و 50 میکرولیتر محلول آبی تازه تهیه شده سدیم نیتريت مشتق سازی شد. بعد از اضافه نمودن 50 میکرولیتر هیدروکلریک اسید، نمونه به مدت 5 دقیقه برای مشاهده مقدار بیشینه مشتق سازی کنار گذاشته شد. پس از این زمان 20 میکرولیتر از هر نمونه به دستگاه HPLC تزریق شد.

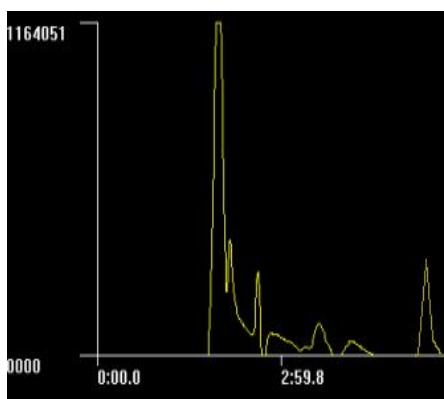
فاز متحرک مورد استفاده در این آزمایش از سدیم هیدروژن فسفات و معرف جفت کننده کاتیون 1- اکتان سولفونیک اسید در محلول استونیتریل و آب با درصد حجمی (10:90V/V) تشکیل شده است. با استفاده از اورتو فسفریک اسید PH محلول روی 2 و فرکانس دستگاه UV روی 330 نانومتر برای مشاهده خروجی بالا تنظیم شد. نمودار استاندارد روی نرم افزار Excel 2010 برای غلظت‌های 100، 50، 25، 12، 5 و 1 میکروگرم بر میلی لیتر رسم شد (شکل 2 و 3). معادله استاندارد به صورت $r^2=0.9981$ و $y=758113x+736508$ و زمان بازداری حدود 5/30 دقیقه به دست آمد، در نهایت نمونه‌های پلاسمایی دارای مقدار مجهول NAC به ترتیب اشاره شده در مشتق سازی، آماده سازی و به دستگاه تزریق شد. انتگرال زیر پیک منحنی به دست آمده توسط نرم افزار HPLC محاسبه شده و با قرار دادن در فرمول نمودار استاندارد، مقدار مجهول به دست آمد. با توجه به نزدیک بودن r^2 به دست آمده برای محلول‌های استاندارد به عدد 1 که نشان دهنده دقت بالای این روش در اندازه گیری ان-استیل سیستین موجود در نمونه‌های

مجهول می باشد نیازی به استفاده از سایر روش‌های استاندارد سازی نیست.

طبق پرونده پزشکی بیماران تجویز ان-استیل سیستین به صورت وریدی طبق پروتکل استاندارد اروپایی به بیماران طی مدت 20 ساعت به صورت دوز اولیه 150 میلی گرم بر کیلوگرم به مدت 15 دقیقه، دوز دوم 50 میلی گرم بر کیلوگرم طی 4 ساعت و دوز سوم 100 میلی گرم بر کیلوگرم طی 16 ساعت در بخش مسمومیت بیمارستان سینای تبریز انجام گرفته است. داده‌های به دست آمده وارد نرم افزار 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 سیستین استاندارد با غلظت 50µg/ml



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

یافته‌ها

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). میزان فعالیت GPX در افراد کنترل سالم $229/1 \pm 7/2$ به‌دست آمد. با توجه به این که سطح گلوکاتایون در مسمومیت با استامینوفن روند کاهشی دارد سطح فعالیت GPX3 در طول مطالعه اندازه‌گیری شد

غلظت پلاسمایی بر حسب میکرو گرم بر میلی‌لیتر پلاسما NAC در بدو ورود بیماران $75/4 \pm 3/8$ و 24 ساعت بعد از بستری $47/8 \pm 1/2$ بود که در طول 24 ساعت با وجود پروتوکل اروپایی 24 ساعته تجویز ان-استیل سیستین 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 ($P < 0/05$), درحالی که در بدو

جدول 1- مقایسه میانگین سطح سرمی ALT, AST و زمان پروترومبین در گروه درمانی با NAC در بدو مطالعه بین بیماران و افراد کنترل سالم

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

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

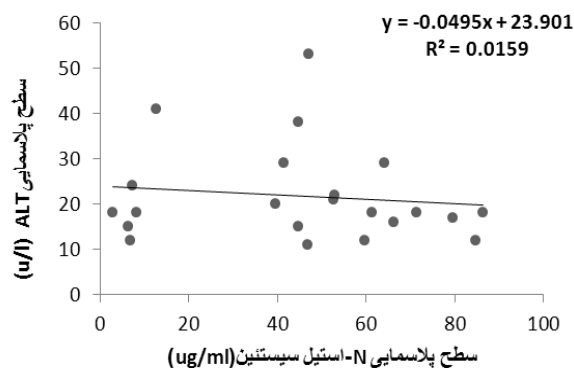
جدول 2- مقایسه سطح سرمی ALT, AST و زمان پروترومبین در گروه درمانی با سطح NAC 24 ساعت پس از درمان بین بیماران و افراد کنترل

سالم

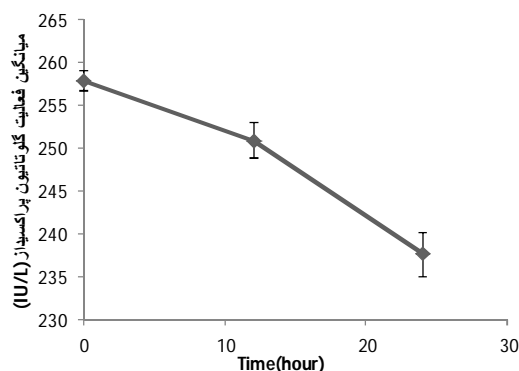
*P value	انحراف معیار	میانگین (بیماران)	میانگین (کنترل)	
-	3/2	47/8	-	سطح NAC وریدی تزریقی 24 ساعت بعد از درمان (ug/ml)
0/20	6/2	29/04	24/87	سطح پلاسمایی AST 24 ساعت بعد از درمان (u/l)
0/9	2/5	36/04	35/97	سطح پلاسمایی ALT 24 ساعت بعد از درمان (u/l)
0/03	2/6	37/9	23/56	سطح پلاسمایی اوره 24 ساعت پس از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

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

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 اندازه‌گیری شده 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 گلوکاتیون 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. در این 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 1000U 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



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



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

(شکل 5) که نشان‌دهنده اختلاف معنادار سطح فعالیت گلوکاتیون 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

لوتیس 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

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 آنژیوادم است. دوز خوراکی زیاد NAC معمولاً در مسمومیت با استامینوفن تجویز می‌شود که می‌تواند باعث تهوع و استفراغ، اختلالات گوارشی، بشورات 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 به صورت عمدی و به قصد خودکشی اقدام به مصرف مقدار بالای استامینوفن می‌کنند و احتمالاً پیشینه دریافت داروهای ضدافسردگی را دارند. با توجه به این که در اکثر موارد بررسی میزان مسمومیت با استامینوفن، تغییرات بیومارکرهای کبدی مدنظر قرار می‌گیرد در این مطالعه مشخص شد سطح اوره بین افراد سالم و کنترل 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 به علت 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 سیستین برای جلوگیری از نکروز کبدی و اثرات کلیوی مسمومیت معلوم می‌گردد، این نوموگرام برای مسمومیت ناشی از

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 سیستین خوراکی را بر سطح گلوکاتایون و سیستین پلاسما بررسی نمودند که نشان‌دهنده یک افزایش مشخص در سطح سیستین در گردش پلاسما بود. همچنین در همین مطالعه NAC اثر مشخصی روی سطح گلوکاتایون پلاسما در شرایطی که افزایش نیاز به گلوکاتایون باعث تخلیه منابع گلوکاتایون شده نداشت. با این حال پس از تجویز پاراستامول هر زمان که استفاده از گلوکاتایون افزایش یافته NAC از سنتز گلوکاتایون 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 قابل توجهی در غلظت هموسیستین 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 آنژیوگرافی بررسی کردند. در این مطالعه عملکرد NAC به عنوان یک گشادکننده عروق کلیوی از طریق چندین مکانیسم از قبیل کاهش کراتینین و اوره سرم بررسی و افزایش در کلیرانس کراتینین به احتمال زیاد به عنوان 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

همکارانش (36) در سال 1386 برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز اریتروسیستی 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 گلوکاتایون پراکسیداز کبدی و برخی آنزیم‌های دیگر در مسمومیت با کلرفونینپوس 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 آزاد شده 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 به‌عنوان مهمترین اهمیت‌ترین آنتی‌دوت 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 گلوکاتایون پراکسیداز بیماران مورد بررسی نشان داد سطح این آنزیم قبل از سطح بیومارکرهای روتین کبدی موجود در پلاسما تغییر می‌کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود

مصرف حاد استامینوفن مناسب است و برای مسمومیت ناشی از مصرف مزمن مورد استفاده نمی‌باشد (28) و (29). سطح پلاسمایی NAC تجویزی در طول حضور در مرکز درمانی نشان‌دهنده تجویز NAC در بدو ورود بیمار (Loading dose) است. این تجویز در بدو ورود احتمالاً بدون توجه به پارامترهای ناشی از آسیب کبدی و فاصله زمانی بین مصرف و زمان بروز علائم بالینی مسمومیت می‌باشد و برای جلوگیری از تخلیه بیشتر منابع گلوکاتایون کبدی و جلوگیری از نکرور 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 مورد نظر، 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 ضد تشنج 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 گلوکاتایون بدن شود در نهایت نحوه استفاده از نومیوگرام استامینوفن و شروع پروتکل درمانی را با مشکل مواجه می‌سازد. تعیین سطح فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در مطالعات مختلفی انجام شده است برای مثال در مطالعه‌ای که نگهدار و

فارماکولوژی و سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و ساری که در اجرای این مطالعه کمال همکاری را داشته‌اند ابراز می‌دارند.

را نسبت به پرسنل محترم آزمایشگاه قلب و عروق دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و بخش مسمومیت بیمارستان سینا تبریز و گروه محترم

References

- 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.
- 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.
- Prescott LF. Paracetamol overdose: Pharmacological considerations and clinical management. *Drugs*. 1983;25: 290-314.
- 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.
- 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.
- 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.
- Slattery JT, Wilson JM, Kalthorn TF, Nelson SD. Dose-dependent pharmacokinetics of acetaminophen: evidence of glutathione depletion in humans. *Clin Pharmacol Ther*. 1987; 41:413-8.
- Heard KJ. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. *N Engl J Med*. 2008;359(3):285-92.
- 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.
- Gupta AK, Su MK, Greller HA, Lee DC, Chan GM. IV versus Oral N-acetylcysteine. *Ann Emerg Med*. 2009;54(6):857-8.
- 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.
- 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.
- 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.
- Millea PJ. N-acetylcysteine: multiple clinical applications. *Am Fam Physician*. 2009;80:2659.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *J Med Toxicol*. 2008;4(1):2-6.
- Zafarullah M, Li W, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci*. 2003;60(1):6-20.
- 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.
- Nolin TD, Ouseph R, Himmelfarb J, McMennamin 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 Hum Toxicol.* 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, Esmailnasab 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.