مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، ۱۶۴-۱۵۷

مطالعه هیستوپاتولوژیک و فراساختار اثرات آتنولل، پروپرانولل و دیلتیازم بر هپاتوسیت‌های موش سفید کوچک آزمایشگاهی

رویا زمانی[۱]، مرتضی انوری[۲*]، محمود اخوان تفتی[۳]، علیرضا وحیدی[۴]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یزد
۲- گروه آناتومی دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۳- گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۴- گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: moanvari@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱۹

چکیده

هدف: در این مطالعه اثر سمیت زایی سه داروی ضد فشار خون (پروپرانولل، آتنولل و دیلتیازم) بر سلول‌های کبد با یکدیگر مقایسه شده است.

مواد و روش‌ها: داروها به مدت یک ماه همراه با غذا به موش های نر بالغ ۸ هفته ای از نژاد NMRI داده شد. موش‌های گروه‌های تجربی۱، ۲ و ۳ روزانه به ترتیب ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم آتنولل، ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروپرانولل و ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیلتیازم دریافت کردند. ۱۲ تا ۱۵ ساعت قبل از کشتن حیوانات غذای موش‌ها قطع شد و پس از جراحی نمونه‌های بافت کبد مورد بررسی میکروسکوپی نوری و الکترونی قرار گرفتند. شاخص فعالیت هپاتیت نیز محاسبه شد.

نتایج: در گروه کنترل بافت ها طبیعی و بدون علائم پاتولوژیک بودند. تغییرات اصلی بافتی در گروه های تجربی شامل انفیلتراسیون پورتال لنفوسیت‌ها و نکروز لقمه ای در هر سه گروه تجربی، و فیبروز وسیع در گروه پروپرانولل بود. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان دهنده افزایش میزان ریبوزومها و انکلوزیونها در سلول‌های کبدی در هر سه گروه تجربی بود. در موش‌های دریافت کننده پروپرانولل تخریب میتوکندری و گسستگی غشاء مشاهده شد. در موش‌های دریافت کننده دیلتیازم، شبکه آندوپلاسمی در هپاتوسیت‌ها کاملاً تکه تکه شده و تمامی کریستاهای میتوکندری‌ها آسیب دیده بودند.

نتیجه گیری: هر سه دارو از نظر کمی در موش‌های نر باعث ایجاد مسمومیت کبد شدند. از لحاظ کیفی تصاویر میکروسکوپ الکترونی در دو گروه تیمار شده با پروپرانولل و دیلتیازم حکایت از سمیت شدید این دو داروست. از سه داروی مورد بررسی به نظر می‌رسد که دیلتیازم سمیت بیشتری برای کبد داشته باشند.

واژگان کلیدی: آتنولل، پروپرانولل، دیلتیازم، بافت کبدی، میکروسکوپ الکترونی

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

سالانه به طور متوسط حدود یک دهم از کل تعداد داروهای فروخته شده در کشور ما متعلق به داروهای قلبی- عروقی است. از سوی دیگر فروش عددی این داروها در هر سال به طور متوسط از یک رشد آهسته ۹/۵ درصدی نسبت به سال قبل برخوردار می‌باشد و در مجموع بالاترین میزان فروش عددی به ترتیب به داروهای پروپرانولل ۱۰ میلی گرم و آتنولل ۱۰۰ میلی گرم اختصاص دارد. از طرف دیگر در میان داروهای قلبی- عروقی تولید داخل داروهای آتنولل و دیلتیازم بیشترین میزان فروش ریالی را به خود اختصاص داده اند (۱). بنابراین داروهای بتا بلاکر در درجه اول و مسدودکننده‌های کانال کلسیم در درجه دوم اهمیت می‌باشند. پرداختن به مبحث داروهای قلبی- عروقی ناشی از اهمیتی است که این داروها در حفظ سلامت افراد و نیز کاهش مرگ و میر بیماران قلبی- عروقی دارا می‌باشد. در کشورهای صنعتی و غیر صنعتی صرف نظر از سوانح و حوادث جاده ای، عمده ترین عامل مرگ و میر جمعیت‌ها بیماری‌های قلبی- عروقی شناخته می شود (۲). فشارخون بالا خطری برای ایجاد حمله قلبی و صدمه جدی به کلیه‌هاست. آتنولل و پروپرانولول داروهایی متعلق به گروه بتابلاکرها می‌باشند که دربیماری‌های قلبی – عروقی کاربرد فراوان دارند (۳). گروه دیگری ازداروها برای معالجه فشارخون، آنتاگونیست‌های کلسیم مثل دیلتیازم است که بر قدرت انقباض قلب اثر منفی دارند و به این طریق فشار خون را پائین می‌آورند (۴).

کبد اندام اصلی است که قادراست داروها را به اشکالی تبدیل کند که به آسانی از بدن حذف شوند. در ده سال گذشته توجه دانشمندان به تاثیر داروهای ذکر شده بر مرگ و تکثیر سلولی منعطف شده است (۶و۵). بخصوص اطلاعات ضد و نقیضی در مورد تاثیر بلوکرهای کانال کلسیم به چشم می خورد (۷). این داروها حتی برای زنان دارای فشار خون بالا تجویز می شود و ممکن است آثار جبران ناپذیری بر کبد مادر و جنین داشته باشند (۸). با توجه به اهمیت کبد در بدن، بیماران کبدی و افراد مسن بایستی از لیست داروهای هپاتوتوکسیک آگاهی داشته باشند و از آنجا که افراد مسن به آسیب کبدی ناشی از دارو حساس ترند و ضمنا این گروه سنی از داروهای ضد فشار خون بیشتری استفاده می‌کنند ضرورت این آگاهی در جامعه پزشکی بیشتر می‌شود. در مطالعه حاضر دوزهای فارماکولوژیک به کار رفته در انسان برای حیوانات در نظر گرفته شد و تاثیر سه داروی ذکر شده، از نظر شدت تاثیرات ناخواسته بر تغییرات فراساختمانی بافت کبد مانند تغییرات غشای پلاسمایی، غشای هسته، شبکه آندوپلاسمی، میتوکندری و واکوئل‌های اتوفاژیک در هپاتوسیت‌ها با هم مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

۲۴ راس موش نر بالغ نژاد NMRI با وزن بین ۳۵-۳۱ گرم به طور تصادفی به چهار گروه شامل سه گروه تجربی (۱، ۲ و ۳) و یک گروه کنترل تقسیم شدند. حیوانات در قفس های شفاف از جنس پلکسی‌گلاس در گروه های ۶ تایی نگه داری شدند. در طی دوره تحقیق تحت شرایط یکسان و استاندارد از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، تهویه مناسب و دما (۲± ۲۲درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و آب و غذا به اندازه کافی در دسترس حیوانات قرار داشت. داروهای مورد نظر به صورت پودر شده با غذای استاندارد مخلوط و به صورت قطعات لوله‌ای شکل در اختیار موش‌های گروه های تجربی قرار داده شد به نحوی که گروه تجربی ۱ روزانه ۵۰ میلی بر کیلوگرم آتنولل (شرکت حکیم)، گروه تجربی ۲ روزانه ۸۰ میلی بر کیلوگرم پروپرانولل (شرکت حکیم) و گروه تجربی ۳ روزانه ۱۸۰ میلی بر کیلوگرم دیلتیازم (شرکت سبحان) را به مدت یک ماه دریافت کردند (۱۰و۹). گروه کنترل تنها غذای معمولی به صورت بدون محدودیت دریافت نمودند.

۱۲ تا ۱۵ ساعت قبل از کشتن حیوانات، غذای موش‌ها قطع شد و سپس با روش جا به جایی مهره گردنی حیوانات کشته شدند و از هر حیوان دو نمونه کبدی گرفته شد. یک نمونه در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت گردید و از آن مقاطع ۵ میکرونی تهیه و بر روی آن ها رنگ آمیزی های هماتوکسیلین- ائوزین و تری کروم ماسون انجام شد و پس از مطالعه با میکروسکوپ نوری، شاخص های درجه بندی التهاب، محاسبه و نتایج حاصله مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. معمول ترین روش جهت ارزیابی التهاب کبدی روش HAI (Histology Activity Index) یا نودل (Knodell) می‌باشد. پس از نمره گذاری نتایج با جدول استاندارد زیر مقایسه گردید (۱۱).

0 = no inflammation
1-4 = minimal inflammation
5-8 = mild inflammation
9-12 = moderate inflammation
13-18= marked inflammation

نمونه دیگر جهت تهیه مقاطع میکروسکوپ الکترونی مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب که از بافت های کبدی تکه‌هایی با اندازه حدود ۱ میلی متر مربع تهیه و در فرم آلدهید ۳ درصد قرار داده شد و سپس به بخش میکروسکوپ الکترونی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز ارسال گردید.

در این پژوهش کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه وتحلیل آماری داده‌ها: داده‌های به دست آمده با میکروسکوپ نوری با روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شد و تفاوت میانگین‌ها در سطح P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

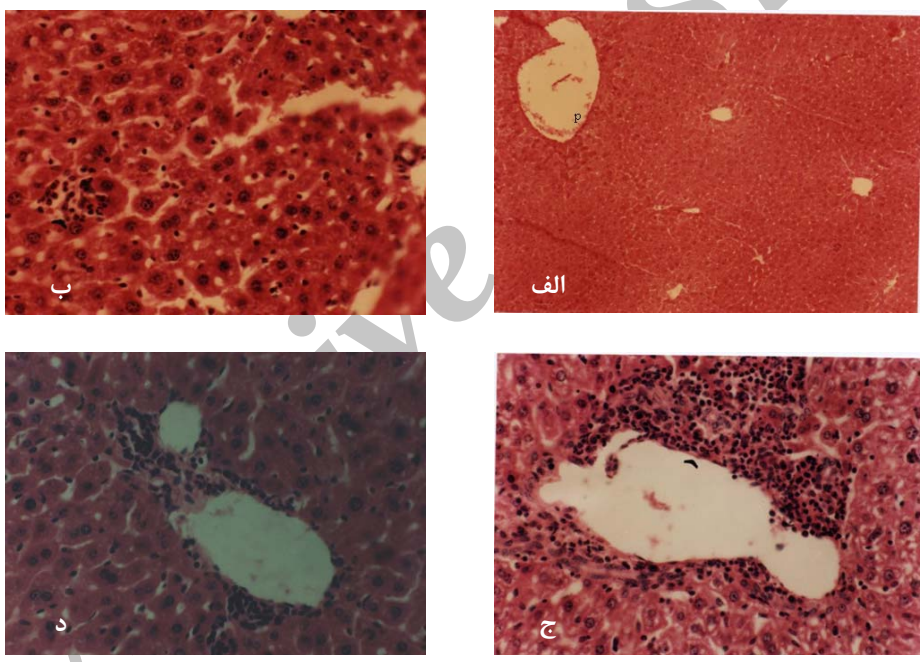
نتایج حاصل از میکروسکوپ نوری

تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد که تفاوت درجه بندی التهاب بین گروه‌های تجربی و کنترل به طور قابل ملاحظه‌ای بالاست. به طوری که در هر سه گروهی که دارو دریافت کرده بودند افزایش قابل ملاحظه ای در درجه بندی التهاب نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (جدول ۱و شکل ۱). تیمار آتنولل نسبت به گروه پروپرانولل تغییرات معنی داری را نشان نداد. در حالی که درجه بندی التهاب در گروه آتنولل و پروپرانولل نسبت به گروه تیمار شده با دیلتیازم تغییرات معنی‌داری را نشان داد (P≤۰/۰۱)

جدول ۱: میانگین و خطای معیار مربوط به درجه بندی اندکس هپاتیت در گروه کنترل و گروه های تجربی.

گروه n= ٦	Grading
کنترل	۱/٤±۰/۲٤
آتنولل	۳/٦±۰/٤ a
پروپرانولل	٤±۰/۷۷ a
دیلتیازم	٥/٤±۰/٦۸ b

a، P≤ ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل
b، P≤ ۰/۰۱ در مقایسه با آتنولل و پروپرانول



شکل ۱: مقاطع کبدی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین الف: گروه کنترل، سیاهرگ پورت در سمت چپ در بالا مشخص است (بزرگنمایی: ×۱۰۰). ب: گروه آتنولل؛ تجمع لنفوسیت ها و حالت التهابی به طور متوسط مشهود است.(بزرگ نمایی: ×۴۰۰). ج: گروه پروپرانولل؛ در این تصویر التهاب شدید در ناحیه پورت همراه با نکروز لقمه ای واضح در چندین نقطه از حاشیه پورت نمایان است. د: گروه دیلتیازم: التهاب در ناحیه پورت همراه با نکروز لقمه ای مشاهده می شود (بزرگ نمایی: ×۴۰۰).

نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی

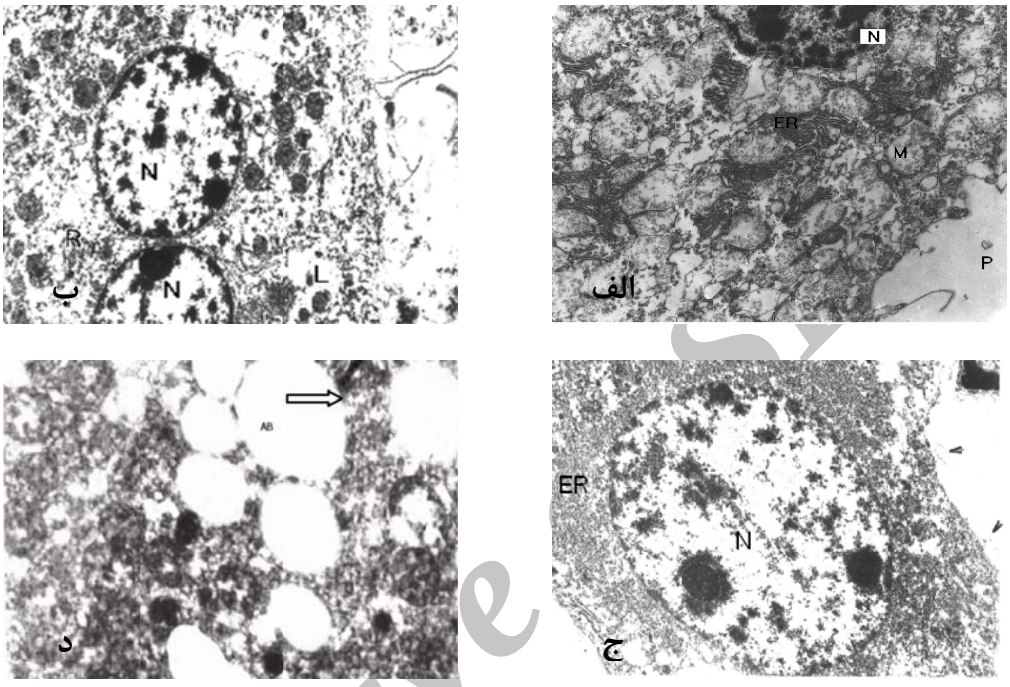
تصاویر میکروسکوپ الکترونی از مقاطع کبدی گروه کنترل با درشت نمایی‌های مختلف هیچ مورد غیرطبیعی را نشان نداد. غشاء سلول، غشاء هسته، میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی و ریبوزوم‌ها با کیفیت و کمیت طبیعی مشاهده شدند. هپاتوسیت‌ها در نمای میکروسکوپ الکترونی سلول‌هایی با میتوکندری‌های فراوان و دسته‌های منظم شبکه آندوپلاسمی خشن به نظر می‌رسیدند (شکل ۲- الف).

تصاویر میکروسکوپ الکترونی از تیمار آتنولل تغییراتی را به شرح زیر نشان داد: غشای سلول کمی گسسته شده و تعداد ریبوزوم ها افزایش نشان داد. همچنین تعداد لیزوزوم ها افزایش چشمگیری داشت. غشای هسته سالم بود ولی فضای روشن داخل هسته بیشتر از کنترل مشاهده گردید (شکل ۲- ب).

www.SID.ir

تصاویر میکروسکوپ الکترونی از تیمار پروپرانولل تغییرات بیشتری را نسبت به گروه قبل نشان داد: علاوه بر فعالیت بالای پروتئین سازی که در گروه آتنولل هم مشاهده شده بود، تخریب میتوکندری، گسستگی غشا با وسعت بیشتر به همراه تعدادی لیزوزوم در سیتوسل مشاهده شد. همچنین وجود لنفوسیت‌ها تغییرات التهابی را علاوه بر نکروز سلول‌های کبدی نشان داد (شکل۲- ج).

تصویر میکروسکوپ الکترونی از تیمار دیلتیازم سمیت بسیار شدید دیلتیازم را نشان داد: شبکه آندوپلاسمی کاملا تکه تکه شده و تمامی کریستاهای میتوکندری‌ها آسیب دیده بودند. افزایش انکلوزیون در سیتوسل مشهود بود و تراکم ریبوزوم‌های آزاد دیده می‌شد. در حالی که غشای سلولی در نمونه‌ها سالم و دست نخورده بود (شکل۲- د).



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ الکترونی از کبد موش های کنترل و تجربی. الف:گروه کنترل؛ تمامی ارگانل ها به شکل کاملا طبیعی و منظم در سیتوسل پراکنده اند. درشت نمایی: ×۵۲۰۰. N: هسته هپاتوسیت، ER: شبکه آندوپلاسمی،M: میتوکندری،P: فضای پورت. ب) کبد گروه دریافت کننده آتنولل، دو هسته (N) در هپاتوسیت دیده می شود. شبکه آندوپلاسمی خشن سالم به نظر می رسد اما افزایش ریبوزوم آزاد (R) و افزایش لیزوزوم (L) یک تیرگی خاصی به سیتوسل داده است. غشای هسته نیز طبیعی است. بزرگ نمایی: ×۵۲۰۰. ج) کبد تیمار پرو پرانولل با بزرگ نمایی ×۶۶۰۰. هسته هپاتوسیت با غشایی سالم به چشم می خورد، لیکن غشای سلول در سمت راست عکس گسسته است. میتوکندری های تخریب شده و افزایش گلیکوژن و اجسام اتوفاژیک مشهود است. N: هسته، ER: شبکه آندوپلاسمی. د) مقطع کبد گروه دریافت کننده ی دیلتیازم. شبکه ی آندوپلاسمی کاملا تخریب شده و تراکم ریبوزوم آزاد بالا است. اجسام اتوفاژیک حاوی چربی یا لیپوفوشین دیده می شود، بزرگ نمایی: ×۱۱۵۰۰.

بحث

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر سه داروی مختلف ضد فشار خون بر تغییرات فراساختار سلول های کبدی بود. برای تجویز دارو به صورت مزمن روش های گوناگونی وجود دارد (۹و۱۰). در پژوهش حاضر، داروها به همراه غذا به مدت یک ماه به حیوانات خورانده شد تا از هر گونه استرس ناشی از جابجایی و تزریق داخل صفاقی روزانه و یا قراردادن کپسول زیر جلدی توسط جراحی جلوگیری گردد.

در این تحقیق از سه داروی مختلف، آتنولل (انتخابی) و پروپرانولل (غیر انتخابی) به عنوان عوامل بلوکه کننده بتا- آدرنرژیک و دیلتیازم که بلاکر کانال کلسیم می‌باشد به صورت مزمن (یک ماه) استفاده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که هر سه دارو با شدت و ضعف های مختلفی بر روی کبد موش موثر بودند.

نتایج حاصل از بررسی با میکروسکوپ نوری و به دست آوردن شاخص فعالیت هپاتیت نشان داد که هر سه دارو شاخص درجه بندی هپاتیت بالایی نسبت به گروه کنترل داشته‌اند. گروه دیلتیازم نسبت به دو گروه تجربی دیگر نیز افزایش التهاب قابل ملاحظه در حد $P<0/05$ را نشان داد.

در تفسیر نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی می‌توان چنین نتیجه گرفت که افزایش ریبوزوم و فضای روشن داخل هسته موید افزایش پروتئین سازی در هپاتوسیت‌های در گروه‌های

www.SID.ir

تجربی بود (۱۲). البته پروتئین سازی جهت روند سمیت زدایی در کبد طبیعی است، اما گسستگی غشاء در دو گروهی که داروهای آتنولل و پروپرانولل دریافت کرده بودند حاکی از پیشرفت روند نکروز در سلول‌ها می‌باشد. در گروهی که دیلتیازم دریافت نموده بودند، سالم بودن غشاء همراه با افزایش لیزوزوم و واکوئل‌ها و همچنین نابودی کامل شبکه آندوپلاسمی و کریستاهای میتوکندری‌ها حکایت از اتوفاژی یا پدیده‌ی اتولیز بود که البته همه اینها بیانگر انواعی از مرگ سلولی می‌باشند (۱۳).

داروهای مختلف به طرق گوناگون به کبد آسیب می‌رسانند. برخی داروها به طور ذاتی برای کبد سمی محسوب می‌شوند و به صورت وابسته به دوز باعث سمیت کبدی می گردند و در دوزهای بالاتر صدمات بیشتری ایجاد می‌نمایند. این دسته داروها معمولا توسط سیستم آنزیمی سیتوکرومی شکسته می‌شوند. در شرایط طبیعی، سیستم آنزیمی مواد سمی را به مواد غیر سمی تبدیل می‌کند لیکن در موقعیتی که دارو سمیت زا است به طور معکوس یک داروی غیر سمی به محصولات فرعی سمی شکسته می‌شود و تجمع این محصولات فرعی سبب صدمه به کبد می‌گردد (۱۴). یک مثال از این دسته داروها مسکن استامینوفن است. از طرفی برخی داروها قادرند واکنش خود به خود و غیر قابل انتظار ایجاد کنند. چنین واکنش آلرژیکی ربطی به میزان داروی به کار گرفته شده ندارد و بنا بر این میزان صدمه نیز غیر قابل پیش بینی است و در مواقعی که دارو برای چند هفته به کار رفته است واکنش ها شروع می شود. مثال دارویی آن فنی توئین است (۱۵). برخی عوامل دیگر مثل سن و جنس هم در آسیب کبدی به عنوان فاکتورهای موثر ذکر می‌شوند (۱۶).

آزار سلولی در کبد گاه به شکل آپوپتوزیس مشاهده می‌شود. آپوپتوزیس فرآیندی انرژی خواه و وابسته به سنتز پروتئین‌های ویژه سلولی است که شامل مراحل رونوشت برداری از DNA و تولید پروتئین‌های خاصی است که مسیر تخریب را دیکته می‌کنند. آپوپتوزیس می‌تواند در جذب و ترشح و انتقال مواد از طریق غشاء تغییراتی ایجاد کند و مناظر مورفولوژیک اولیه آن شامل تغییرات غشایی بوده است و در مراحل بعدی هسته فشرده و قطعه قطعه می‌شود و در نهایت سلول به اجسام آپوپتوتیک تقسیم می‌شود (۱۷). الگوی نکروز مشاهده شده در آزمایش های ما شامل تخریب دیواره سلولی، تغییرات شبکه آندوپلاسمی شامل جدا شدن ریبوزوم‌ها، تورم میتوکندری‌ها و ظهور اجسام اتوفاژیک بود. از طرفی افزایش تعداد ریبوزوم‌ها و فضای روشن داخل هسته (یوکروماتین) نمایانگر افزایش سنتز پروتئین می‌باشد. بر اساس اطلاعات جاری هنوز مرز بندی کاملا مشخص بین آنچه که به آن نکروز یا آپوپتوزیس نام نهاده‌اند وجود ندارد و هر دو فرآیند اجزای یک طیف پیوسته از مرگ سلولی به شمار می‌روند. از طرفی برای اثبات آپوپتوزیس نیاز به انجام تکنیک‌های دیگری چون آنالیز DNA توسط ژل الکتروفورز می‌باشد (۱۸).

پروپرانولل یک بتا آنتاگونیست غیر انتخابی است و از آنجا که گیرنده‌های بتا- دو آدرنرژیک در کبد در جلوگیری از مرگ سلولی موثر شناخته شده‌اند (۶)، به نظر می‌رسد که پروپرانولل به عنوان مسدود کننده این گیرنده‌ها، سلول‌های کبدی را از این طریق به عوامل آپوپتوزیس حساس می‌سازد.

گروه دیلتیازم نسبت به دو گروه تجربی دیگر نیز افزایش التهاب قابل ملاحظه در حد معنی‌دار را نشان داد. دیلتیازم دارویی لیپوفیل است که ورودش به داخل سلول آسان‌تر می‌باشد (۱۹) و احتمالا تغییرات شدیدتر در گروه دیلتیازم به همین علل می‌باشد.

نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر نشان داد که دیلتیازم بیشترین آسیب را به کبد وارد نموده است. گزارش‌های متفاوتی در ارتباط با اثر ترکیبات بلوکه کننده کانال کلسیم (L-type) بر پیشبرد مرگ سلولی تاکنون مطرح بوده است. ایتو و همکارانش (۲۰) نشان دادند که دیلتیازم می تواند به عنوان آنتاگونیست کلسیم، سمیت زایی CCL4 را در کبد کاهش دهد. در حالی که نتایج ما کاملا در راستای تحقیقات عبدالسلام و همکارانش (۲۱) می باشد که بر اساس آن، دیلتیازم نه تنها سمیت زایی CCL4 را در کبد کاهش نمی دهد بلکه به دلیل اثرات عمیق همودینامیک و تغییرات متابولیسمی و افزایش آنزیم‌های آلانین آمینوترانس فراز وآسپارتات آمینوترانس فراز در سرم، باعث نکروز شدید و تغییرات فراساختاری در سلول‌های کبدی شده بود. به هر ترتیب هم کاهش و هم افزایش یون کلسیم درسیتوسل می‌توانند سبب سمیت زایی در کبد گردند (۲۲). نیشی یاما و همکارانش (۲۳) نشان دادند که دیلتیازم یک اثر مهاری مستقیم بر بتا اکسیداسیون اسید چرب دارد و از این طریق موجب مهار جذب اکسیژن کبدی می‌گردد. همچنین برنکا و همکارانش (۲۴) نشان دادند که دیلتیازم موجب کاهش پتانسیل الکتریکی غشاء علاوه بر کاهش مصرف اکسیژن در سلول‌های کبدی موش صحرایی می‌گردد. میکروگراف‌های به دست آمده در تحقیق ما نیز تخریب میتوکندری‌ها و افزایش لیزوزوم‌های حاوی لیپوفوشین را نشان می‌داد که همگی خبر از تغییر سوخت و ساز یا متابولیسم بیوانرژتیک را می‌دهند. برخی گزارش‌ها نشان داده است که ترکیبات مسدود کننده کانال کلسیم در محیط کشت، مرگ سلولی را تسریع می‌کنند و منتج به کاهش گسترش تومور می‌شوند (۲۵) . در بررسی بافتی که ما از تیمار دیلتیازم به دست آوردیم نکروز لقمه ای خفیف در اطراف پورت همراه با تجمع لنفوسیت های T مشاهده شد که خود حکایت از مرگ سلولی دارد.

Archive of SID
www.SID.ir

نتیجه گیری

هر سه داروی ضد فشار خون (آتنولل، پروپرانولل و دیلتیازم) تغییرات ساختاری و فراساختاری سلولی قابل ملاحظه ای بر روی کبد موش سوری ایجاد کردند که از جمله این تغییرات می‌توان به پارگی غشای سلولی و نکروز لقمه ای در سلول‌های کبدی اشاره کرد. اما شدت سمیت زایی دیلتیازم بیشتر از دو داروی دیگر بود. همچنین به نظر می رسد مصرف داروی آتنولل که انتخابی عمل می‌کند به صورت مزمن برای سلول‌های کبد موش سمیت کمتری داشته باشد.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از همکاری مسئول و کارشناس بخش میکروسکوپ الکترونی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز که در تهیه مقاطع بافتی جهت مطالعه فراساختاری نمونه‌ها ما را یاری نمودند نهایت تشکر به عمل می‌آید.

منابع

1. Gholami K, Soleimani F, Zamanzadeh m, Mohammadi AR. Prescription of cardoiovascular drugs in Iran. Razi Journal. 2003; 9: 40-51.

2. Minno M, Heron MP, Murphy SL. Death:Final data for 2004. National Vital Statistics Reports. 2007; 55(19):7.

3-Mccormac J. Drug therapy decision making guide. First Ed.: WB Saunders; 1996; 13-22.

4. Preston R. Calcium channel blockers. J Am Coll Cardiol.1999; 34:1857-1866.

5. Bush R, Kononen L, Machida S, Sieving P. The effect of calcium channel blocker diltiazem on photoreceptor degeneration in the rhodopsin pro23his rat. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000; 41:2697–2701.

6. Andre C, Couton D, Gaston J, Erraji L, et al. Beta2 adrenergic receptor slective agonist clenbuterol prevents Fas- induced liver apoptosis. Am J Phsiol Gastrointest Liver Physiol. 1999; 276: G647-G654.

7. Farias FE, Aguirre G, Ladeda V, Joffe EB. Verapamil inhibits tumor protease production in murine carcinoma cells. Internatio J of Canc.1998; 78(6): 727-734.

8. Easterling TR, Carr DB, Brateng D, Diederichs C, et al. Treatment of hypertension in pregnancy. Obstetrics & Gynecol.. 2001, 98(4): 427-433.

9. Chu V, Otero J. Oral propranolol reduce Cardiac sympathetic activity in mice.Muscle & Nerve physiol. 2001; 1:6.

10. Narimatsu S, Mochida M, Ueno K, Horie T, et al. Induction of cytochrome p450 1A1 in mice by repeated oral administration of propranolol. Drug. Metabol. Pharmacokin. 2002; 17(1): 54-59.

11. Knodell RG. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic acyive hepatitis. Hepatol. 1981; 1(5) 431-5.

12. Andrews DW, Walter P, Ottensmeyer FP. Structure of the signal recognition particle 5-789. by electron microscopy. Proc Natl Acad Sci. 1985; 82,78

13. Valdivia E, Berger JE. Atypical electron microscope structures in liver mitochondria. Pathol Microbiol. 1973; 39(2)112-4.

14. Pal R, Rana S, Vaiphei K, Songh K. Effect of different doses of carotenoids in isoniazid-rifampicin induced hepatotoxicity in rats. Trop Gastroenterol. 2008; 29(3):153-9.

15. Rochon J, Protiva P, Seef LB, Fontana RJ, et al. Reliability of the Roussel Uclaf Causality Assessment Method for assessing causality in drug-induced liver injury. Hepatol. 2008; 48(4):1175-83.

16. Kshirsagar A, Vetal Y, Ashok P, Bhosle P, et al. Drug Induced Hepatotoxicity: A Comprehensive Review. The Internet Journal of Pharmacology. 2009; 7: 1.

17. Hung Y.D, Chang P, Weiss M, Roberts MS. Structura- hepatic disposition relationships for cationic drugs. J Pharmacol Experiment Therapeu. 2002; 297(2): 780-89.

18. Jones A, Gores, G. Physiology and pathophysiology of apoptosis. Am Phsiol Gastrointest Liver Physiol. 1997; 273: G1174-G1188.

19. Tinari A, Giammarioli AM, Manganeli V, Ciarlo L. Chapter one analyzing morphological and ultrastructural features in cell death. Methods Enzymol. 2008; 442:1-26.

20. Itoh S, Gohara S, Matsuo S, Yamaba Y. Effects of calcium antagonist diltiazem on liver calcium content and necrosis of hepatocytes in rats. following treatment with CCL4. Res Commun Chem Pathol Pharmacol. 1988; 60(1): 133-6.

21. Abdel Salam O, Hassan N, Baluomy A, Karam H. The effect of amlodipine, diltiazem and enalapril on hepatic injury caused in rats by the administration of CCL4. J Pharmacol & Toxicol. 2007; 2: 610-620.

22. Dimova S, Koleva M, Rangelova D, Stoythchev T. Effect of nifedipine, verapamil,diltiazem and trifloperazine on acetaminophen toxicity in mice. Arch Toxicol. 1995; 70(2): 112-8.

23. Nishiyama P, Ishii-Iwamoto EL, Bracht A. Diltiazem inhibits fatty acid oxidation in the isolated perfused rat liver. Cell Biochem Funct.1997; 15(4): 223-8.

Archive of SID

www.SID.ir

24. Branco D, Vincenti E, Roberti S, Gambaretto G, et al. Effect of diltiazem on liver mitochondria of rats. Comparative Pharmacol. 1993; 104(1):47-49.

25. Preston R, Calcium channel blockers. J Am Coll Cardiol.1999; 34: 1857-1866.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Cell & Tissue (JCT) *Research Article*
Summer 2011; 2(2): 157-164

A Comparative Study on the Effects of Atenolol, Propranolol and Diltiazem in Mice Hepatocytes

Zamani R[1], Anvari M[2*], Akhavan Tafti M[3], Vahidi AR[4]

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Yazd University, Yazd, Iran

2- Anatomy Department, Research and Clinical Center for Infertility, Shahid Sadoughi University of medical Sciences, Yazd, Iran

3- Department of pathology Shahid Sadoughi University of medical Sciences, Yazd, Iran

4- Department of Pharmacology, Herbal Medicine Research Center, Shahid Sadoughi University of medical Sciences, Yazd, Iran

* Email corresponding author: moanvari@yahoo.com

Received: 17 Mar. 2011 Accepted: 9 Jan. 2012

Abstract

Aim: In this study the toxic effect of the three anti hypertensive drugs (atenolol, propranolol and diltiazem) on hepatocytes were investigated.

Materials and Methods: The 8 weeks old adult male NMRI mice were fed with or without the drugs for 1 month**.** Mice were divided into 4 groups that received atenolol (50 mg/kg/daily), propranolol (80 mg/kg/daily), and diltiazem (180 mg/kg/daily). Food access was stoped 12 to 15 h before the mice were sacrificed and processed for light and transmission electron microscopic evaluation. In addition modified Hepatitis Activity Index was computed too.

Results: In the control group no pathological sign was observed. Main histological changes such as portal infiltration of lymphocytes and piecemeal necrosis in all three experimental groups as well as expanded necrosis in proparanolol group were seen. In addition electron microscopic imaging indicated an increase in the level of free ribosomes and glycogen droplets in the experimental groups. Also in the mice treated with propranolol group mitochondria membrane disruption were seen, whereas in the group treated with diltiazem, the mitochondrial cristae and endoplasmic reticulum Disintegration could be observed.

Conclusion: Chronic oral administration of atenolol, propranolol and diltiazem in male mice caused hepatotoxicity. The most pathological effects were observed in the group treated with diltiazem, though electrone microscopic imaging indicated the propranolol and dilitiazem were more toxic than the other one.

Key words: Atenolol, Propranolol, Diltiazem, Liver tissue, Electron microscopy

Archive of SID

www.SID.ir