فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۲۴، جلد ۶، شماره ۱، زمستان ۹۲، صفحه ۱۳ تا ۲۲

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

فروغ معصومی[۱]، **مهرداد شریعتی**[۲]، دکتر اکبر زراعت پیشه[۳]
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
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 بیماری‌های 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 درگروه های تجربی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب مقادیر mg/kg ۴۰۰،۲۰۰،۱۰۰ دارو در دوره بارداری دریافت کرده بودند، تقسیم شدند. بعد از پایان دوره۲۲روزه نوزادی تمام گروه‌ها وزن کشی، ارزیابی میزان آنزیمهای کبدی، آلبومین، پروتئین انجام گردید. بررسی بافت شناسی پس از گذر از مراحل نمونه و تهیه لام، رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین انجام شد.**

**یافته ها: مقایسه نتایج آزمون آماری وزن نوزادان نشان دهنده این بود که گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف دارو نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را در سطح $P \leq ۰/۰۵$ نشان می دهند و بین گروه های تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف دارو و گروه کنترل افزایش معنی داری در میزان آنزیم های کبدی،AST، ALT، ALP مشاهده گردید. تغییرات وزن کبد و آلبومین و پروتئین در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود. درنمونه های بافتی تهیه شده با افزایش مقدار دارو نکروز بیشتر مشاهده گردید.**

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

**واژه های کلیدی:** دانازول، آزمون‌های عملکردی کبد، نوزاد نرموش صحرایی.

## مقدمه

دانازول( Danazol) دارویی با فرمول $C_{22}H_{27}NO_2$( 17α-3-،4-dien-20-yno(2،pregna-2 ,d)isoxazol-17 -ol) و وزن مولکولی ۳۳۷/۵g/mol می باشد(۸). نام‌های دیگر آنDanocrine، anokrin ، Danol، Danatrol، D Cyclomen می باشد. اشکال دارویی به صورت کپسول‌های ۵۰،۱۰۰و ۲۰۰ میلی گرم در بازار موجود است (۱۹). دانازول مشتق ایزوکسازول از اتینیل استرون (17α-ethinyltestosterone) با فعالیت ضعیف پروژسترونی – گلوکوکورتیکوئیدی و آندروژنی می باشد، برای متوقف کردن فعالیت تخمدان مصرف می شود. دانازول افزایش میزان LH و FSHرا در میانه چرخه قاعدگی مهار می کند و می تواند از افزایش جبرانیLH 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 وگلوکوکورتیکوئید متصل شده و می تواند گیرنده آندروژنی را به داخل هسته جابجا کند و روند ساخت RNA اختصاصی آندروژنی را آغاز

www.SID.ir

نماید. این دارو به گیرنده داخل سلولی استروژن متصل نمی‌شود، اما می تواند به SHBG (گلوبولین اتصالی هورمون‌های جنسی) وCBG (گلوبولین اتصالی کورتیکواستروئید ترانسکورتین) متصل گردد. دانازول موجب مهارسیتوکروم $p_{450}$ (آنزیم جدا کننده زنجیره جانبی کلسترول) ۳β-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز، ۱۷α-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز، $P_{450c17}$(۱۷α-هیدروکسیلاز) و$p_{450c11}$ (۱۱βهیدروکسیلاز) و $p_{450c21}$(۲۱β-هیدروکسیلاز)می شود. 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 را برای اتصال به پروتئین افزایش می دهد و ممکن است تاثیر مشابه روی دیگر هورمون‌های استروئیدی فعال داشته باشد. اتیسترون 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 فیبروکیستیک پستان، اختلالات هماتولوژیک یا آلرژیک نظیر همو فیلی، بیماری کریسمسITP 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. PTC (Pseudotumor cerebri )یک بیماری نادر است که به ندرت دیده می شود که به علت افزایش فشار داخل جمجمه ای یک سری علامت و نشانه هایی را بروز می دهد بدون این‌که 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 دردرمان نارسایی مغز استخوان در بیماری مبتلا به کم خونی فانکونی نیز استفاده می شود(۱۷). دانازول در درمان اندومتریوز و ژینکوماستی(Gyncomasti ) نیز استفاده می شود(۶،۷). هر کدام از بافت‌های بدن دارای یک فعالیت مشخص می باشندکه 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 اعضاء فراهم می سازد. بنابراین این 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 این‌که بتواند ذخیره شود یا این‌که 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 ها ست که مستقیماً به کبد می رسد (۲۰،۱۱). آزمایش-های خونی جهت بررسی عملکرد کبد وجود دارد که اندازه گیری سطح برخی از این آنزیم ها برای تعیین التهابات کبدی یا دیگر نواقص کبد مورد بررسی قرار داده می شود. در واقع آنزیم هایی چون آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینو ترانسفراز،آلکالین فسفاتاز از آنزیم های موجود در سلول‌های کبدی می باشند که جزء آنزیم های غیر عملکردی پلاسما شناخته شده اند(۲). آلبومین جزئی از پروتئینی است که بیش از نیمی از پروتئین پلاسما را تشکیل می دهد. 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

Archive of SID

www.SID.ir

بارداری این دارو را استفاده کرده اند مطالعه ای صورت نگرفته است. از آن‌جا که بیشتر این داروها علاوه بر جنبه دارویی، دارای عوارض جانبی بی شماری می باشند، در این پژوهش تلاش بر آن بوده که اثرات جانبی احتمالی داروی دانازول بر آنزیم های کبدی و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون (پروتئین تام، آلبومین) و هم چنین تغییرات وزن بدنی و هم‌چنین تغییرات بافتی کبددرنوزاد 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 ویستاربه تعداد ۴۰ سر با وزن تقریبی ۱۰۰گرم و سن ۲۲روز بود که قبلاً مادران آن ها از خانه پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه و در طی دوره بارداری داروی دانازول به آن ها تجویز شده بود و بعد از تولد نوزادان، نرهای آن ها جدا کرده ودر همان مرکز نگه داری شدند. درجه حرارت محیط ۲ ± ۲۲ در طول شبانه روز ثابت وطی دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داشتند. تابش نور به طور غیر مستقیم و یکنواخت از پنجره های آزمایشگاه صورت می گرفت. قفس های نگه داری حیوانات از جنس پلی کربنات در ابعاد۱۵×۲۵×۴۰ سانتی متری با سقفی مشبک از جنس استیل بود. کف قفس ها توسط تراشه های چوب مفروش شده بود و خاک اره های موجود در کف قفس هر دو روز و توسط آب و مواد ضد عفونی شستشو می شدند. تعویض هوای داخل آزمایشگاه توسط دستگاه تهویه موجود در آن صورت می گرفت. آب موش‌ها از آب لوله‌کشی شهری و غذای مادران آن ها از غذای فشرده موش ساخت شرکت سهامی خوراک دام و طیور پارس بود، غذای نوزادان شیر مادربود. کیت های اندازه گیری آنزیم 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 ۸سرنوزاد 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(۱/۶آب+۴/ الکل) دریافت کردند. گروه تجربی ۲،۱ و۳ که هر کدام دارای ۸ سر نوزاد نوزاد نر از مادرانی که در دوره بارداری روزانه به ترتیب۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم داروی دانازول دریافت کرده بودند(۶).

$LD_{50}$ دانازول mg/kg ۱۷۰۰۰ تعیین شده و تجویز دارو به‌صورت خوراکی (دهانی) و به مدت ۲۱ روزبه مادران موش‌ها انجام شد(۶). بعد ازتولد و پایان دوره۲۲ روزه نمونه خونی از همه گروه های نوزادان تهیه شد. خونگیری از قلب انجام شد. لوله های حاوی خون در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سرم آن جدا و تا زمان سنجش آنزیمی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. برای سنجش میزان فعالییت آنزیم ها به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از کیت های مخصوص اندازه گیری آنزیم های کبدی از شرکت پارس آزمون ایران و با کمک دستگاه Technicon RA-1000ساخت آمریکا اندازه گیری گردید. بعد از خونگیری، کبد هر حیوان را با احتیاط جدا نموده درون

Archive of SID

www.SID.ir

محلول فرمالین ۱۰٪ تثبیت وپس از گذراندن مراحلبرش 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 ($P \leq ۰/۰۵$).

**نتایج**

یافته های این مطالعه نشان دادکه اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و گروه شاهد وجود ندارد.در مورد آنزیم AST مشاهده شد در دوز۴۰۰میلی گرم بر کیلو گرم میزان آنزیم افزایش یافته است که این یافته در مورد آنزیم های ALTوALP نیز صدق می کند و وزن نوزادان نیز در گروه تجربی ۲و۳ به صورت معنی دار کاهش یافته است. همچنین میزان آلبومین و پروتئین و وزن کبد نیز تغییر معنی داری مشاهده نشده است.(جدول ۱و۲).

**جدول ۱-میزان سطح پلاسمایی آنزیم های کبدی در گروه‌های مختلف بر حسبU/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($P \leq ۰/۰۵$)

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

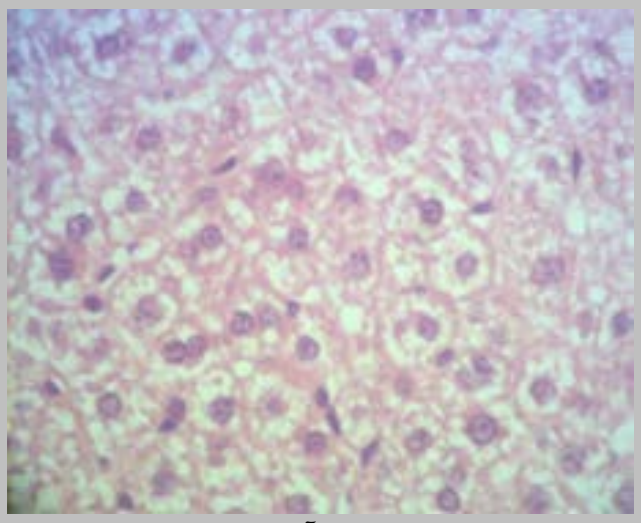
| گروه‌ها | وزن بدن(g) | وزن کبد(g) | آلبومینmg/dl | پروتئینmg/dl |
|---|---|---|---|---|
| کنترل | ۸۳/۰۹±۵/۶ | ۳/۲±/۱۹ | ۵/۶±/۲۹ | ۹/۸±/۳۴ |
| شاهد | ۷۹±۴ | ۳/۶±/۱۷ | ۵/۶±/۲۲ | ۱۰/۲±/۲۸ |
| تجربی ۱(۱۰۰mg/kg) | ۶۴/۹±۲/۶ | ۳/۲±/۱۵ | ۴/۹±/۱۷ | ۹/۸±/۱۳ |
| تجربی ۲(۲۰۰mg/kg) | ۶۳/۱±۳/۷* | ۳±/۲۳ | ۵/۱±/۱۳ | ۱۰/۴±/۳۲ |
| تجربی ۳(۴۰۰mg/kg) | ۶۰/۹±۳/۹* | ۳±/۲۹ | ۵/۲±/۱۷ | ۹/۸±/۲۸ |

*نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل($P \leq ۰/۰۵$)

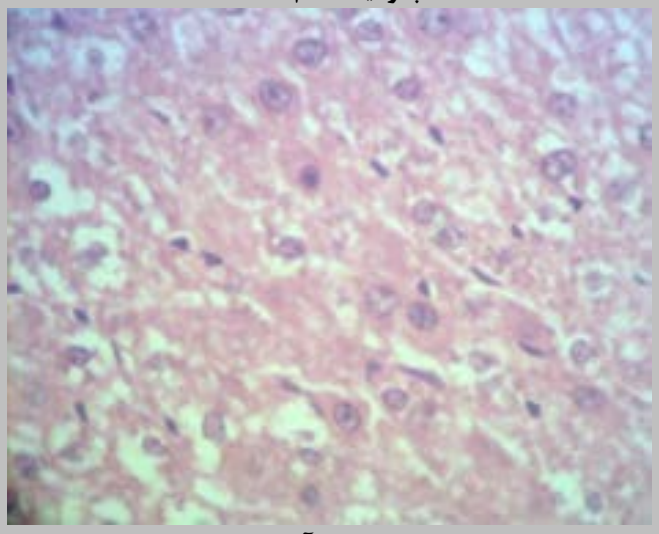
**نتایج حاصل ازمطالعات بافت شناسی**

پس از بررسی بافت کبد در گروه های مختلف تجربی (۴۰۰ mg/kg و ۲۰۰ و ۱۰۰) ، مشاهده شد که سلول-های هپاتوسیت در 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.

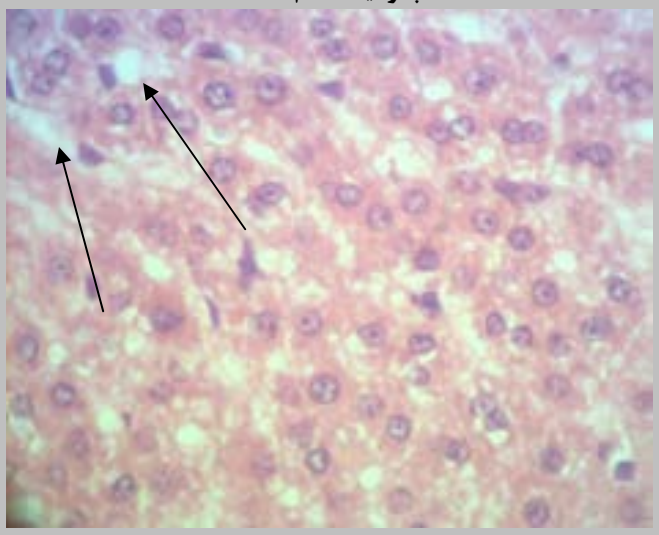
www.SID.ir



**شکل۱- فتومیگراف بافت کبد در گروه کنترل : برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین بزرگنمایی × ۱۰ تمام سلول های هپاتوسیت سالم هستند.**

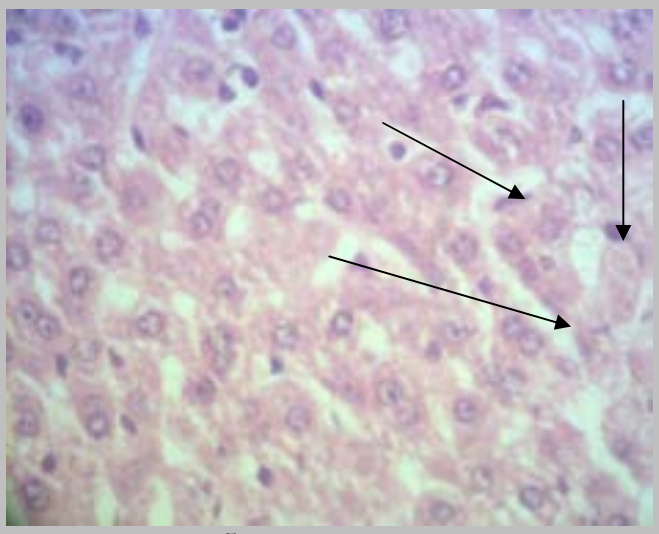


**شکل۲- فتومیگراف بافت کبد در گروه شاهد – برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین بزرگنمایی × ٤٠ تمام سلولهای هپاتوسیت سالم هستند.**

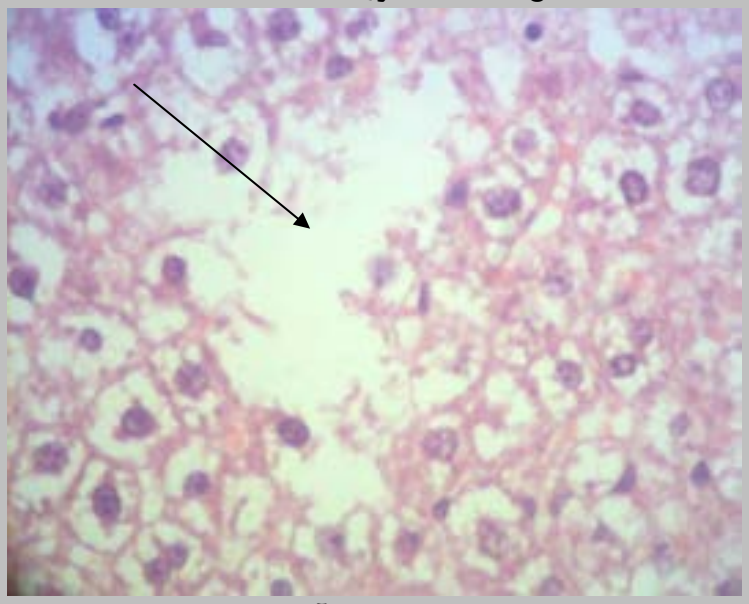


**شکل ۳- فتومیگراف بافت کبد در گروه تجربی ۱ – برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین بزرگنمایی × ٤٠ فلش نشان دهنده نکروزه شدن بافت است.**

www.SID.ir



**شکل٤- فتومیگراف بافت کبد در گروه تجربی ۲- برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین بزرگنمایی × ٤٠ فلش نشان دهنده نکروزه شدن بافت است.**



**شکل ٥- فتومیگراف بافت کبد در گروه تجربی ۳- برش طولی رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین بزرگنمایی × ٤٠ 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 mg/kg ۴۰۰ ، ۲۰۰ ، ۱۰۰ نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی داری را در سطح $p\leq ۰/۰۵$ نشان می دهند. با افزایش مقدار دوز دارو کاهش وزن و در دوز mg/kg ۴۰۰، ۲۰۰ 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) .هم‌چنین در درازمدت کاهش استروژن در مادر سبب افزایش آندروژن ها می شود و افزایش تجمع

www.SID.ir

آن‌ها در ماهیچه ها ودر نتیجه سبب افزایش وزن و افزایش تراکم استخوان می شود اما در این‌جا چون در کوتاه مدت از دارو استفاده شده است افزایش وزن بر روی نوزاد مشاهده نشده است. مهم‌ترین محل فعالیت آندروژن‌ها در خارج از اندام جنسی عضلات اسکلتی است تولید ماهیچه آندروژن ناشی از توانایی آن ها در افزایش نگه داری نیتروژن تغذیه ای در هنگام سنتز پروتئین است. هم‌چنین به اثر هورمون رشد می توان اشاره کرد که تقریباً کلیه بافت های 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 می شود. در واقع هورمون رشد پروتئین های بدن را افزایش می دهد ذخایر چربی را به مصرف می رساند و کربو هیدرات ها راحفظ می کند. اما این پژوهش در دوره کوتاه مدت 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 می شود و به جای افزایش وزن کاهش وزن می گردد(۱۱). هم‌چنین گلوکونئوژنز کبد در دوره نوزادی دچار نارسایی است در نتیجه غلظت گلوکز خون نوزادی که هنوز تغذیه نشده به حدود ۳۰تا۴۰ میلی گرم در دسی لیتر سقوط می کند و نوزاد قبل از این‌که تغذیه بتواند انجام شود باید برای تامین انرژی به چربی های ذخیره متکی باشد، در نتیجه کاهش وزن دیده می شود (۱۱). در این پژوهش با بررسی مطالعات بافتی کبد، مشاهده شد که سلول‌های پارانشیم کبددر گروه کنترل و شاهدکاملاً طبیعی و بدون هیچ آسیب دیدگی می باشند. در گروه‌های تجربی دریافت کننده دارو آسیب هایی در این سلول-های هپاتوسیت مشاهده می شود. در گروههای حداقل، متوسط و حداکثر دیده می شود 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 می توان احتمال داد که میزان آسیب دیدگی سلولی در بافت کبد با میزان دوز مصرفی نسبت مستقیم دارد (شکل‌های ۵-۱). طبق تحقیقات گذشته دارو می تواند باعث ایجاد آسیب کبدی القا شده به وسیله دارو، شوندکه این آسیب ها به وسیله سمیت کبدی حاصل از دارو یا متابولیت فعال آن ها ایجاد می شود (۱۵).

DILI( Drug-induced liver injury) به وسیله فعالیت‌های زیستی متابولیت های فعال دارو آغاز می شود که با اثر متقابل آن ها با ماکرومولکول های سلولی از قبیل پروتئین ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلیئک عمل کرده و باعث پراکسیداسیون لیپید و آسیب DNA و فشار اکسیداتیو می شود و هم‌چنین متابولیت-های فعال ممکن است باعث عدم فعالیت میتوکندری و کاهش تولید انرژی گردد و این خرابی عملکرد سلول می تواند در مرگ سلول و آسیب کبدی تاثیر گذارد. عدم کارکرد سلولی کبد باعث شروع شدن میان کنش‌های ایمن شناسی می شود که شامل پاسخ های ایمنی تطابقی وذاتی است. فشارهای وارد بر سلول‌های کبدی و یا آسیب می تواند در اثرآزاد سازی سیگنال-هایی که فعالیت سلول‌های دیگر مانند:سلول های کوپفر، سلول های کشنده طبیعی ( Natural Killer-Cells)را تحریک می کند ایجاد می شود (۱۵).

مقایسه نتایج آزمون آماری نشان دهنده این است که گروه های تجربی دریافت کننده داروی دانازول با مقادیر mg/kg ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی داری را در وزن کبد نشان نمی دهند. مقایسه نتایج آزمون آماری مربوط به فعالیت آنزیم های مذکور نشان دهنده ی این است که در مورد آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینو

Archive of SID

www.SID.ir

ترانسفراز(ALT) تنها گروه دریافت کننده مقدار mg/kg ۴۰۰ دارو نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را در سطح p≤۰/۰۵ نشان می دهد (جدول ۱). ماده زمینه ای آنزیم های 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 فراتر رود نشانه تخریبی بافتی است(۱۶). چون سطح آنزیم(ALT) در سیتو پلاسم سلول های 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 سلول های کبدی وجود دارد بنابر این نکروز سلول ها 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 هپاتوسیت ها 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 mg/kg ۴۰۰ دارو نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را در سطح p≤۰/۰۵ 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 بافت ها نشان دهنده تحریک متابولیکی است(۱۴). ALP در بافت های 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 ایزو آنزیم های کبدی و استخوانی را نشان می دهد. ALPدر بیماری های استخوانی، حاملگی، رشد طبیعی گاهی در حضور بدخیمی های 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 ALPدر جدار مویرگ ها ی کبدی جهت تسهیل عبور مواد از جدار آن ها 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 هپاتوسیت ها می باشد و با افزایش دوز میزان نکروز در سلول ها 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 mg/kg ۴۰۰،۲۰۰،۱۰۰ دارو در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی داری در سطح (P ≤ ۰/۰۵ ) نشان نمی دهد (جدول ۲). آلبومین یکی از مهم ترین پروتئین های چرخه ای در جریان خون است که بوسیله ی کبد ساخته می شود و در جریان خون ترشح می شود. آلبومین خون یک راهنمای ارزشمند و یک نشانه حساس برای بیماری کبد و کلیه است (۳).

Archive of SID

www.SID.ir

کبد نوزاد از نظر تشکیل پروتئین های پلاسما نارسا است به طوری که غلظت پروتئین پلاسما به ۱۵تا۲۰ درصد کمتر ازغلظت پروتئین های پلاسما در کودکان بزرگ‌تر سقوط می کند. گاهی غلظت پروتئین به مقادیر آن‌چنان پائینی سقوط می کند که شیر خوار عملاً دچار خیز ناشی از کمبود پروتئینی می گردد(۱۱).

## تشکر و قدر دانی

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.

## منابع

-آبگون، م. ۱۳۸۰. آزمایش های تشخیصی و آزمایشگاهی همراه با اقدامات پرستاری.چاپ اول. انتشارات نور .صفحه ۱۱-۳۶۸.

**2.** Ajayi, OB., Odutuga, 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., Rosen baum, J.F. (2000). Hand book of psychiatric drug therapy. 4th 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.7thed.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 21ysmenorrheal، 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.

**11.**Guyton، AC.(1991). Textbook of medical physiology.8th 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 th ed .، California; pp:7.

**13.** Katzung, BG. (2009). Basic and Clinical pharmacology.11thed.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 jounal, 8(1); 6:E48-E54

**16.**Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. (1993). Harpers Biochemestry.23th 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

Archive of SID

www.SID.ir

*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 distrbuters،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.

Archive of SID

www.SID.ir