بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم

بخش زیست شناسی

پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد زیست شناسی

گرایش فیزیولوژی جانوری

بررسی اثرات پودر دانه شنبلیله بر فاکتورهای اکسیدانی و آنتی اکسیدانی در آسیب کبدی ناشی از استامینوفن در موش‌های صحرایی نر

مؤلف:

عقیله محمدزاده

استاد راهنما:

دکتر علی گل

استاد مشاور:

دکتر حکیمه علومی

بهمن ۱۳۹۳

تقدیم به:

پدر و مادر مهربانم

و

بنیان‌گذاران دانشگاه شهید باهنر؛ مهندس علی رضا افضلی‌پور و بانو فاخره صبا

تشکر و قدردانی

سپاس خدای یکتا را که هر چه هست، از اوست.

در نهایت ادب و احترام، زحمات استاد راهنمای بزرگوار جناب آقای دکتر علی گل را ارج نهاده، رهنمودها و محبت‌های بی‌دریغ ایشان را سپاس‌گزارم.

مراتب سپاس و قدردانی خود را از زحمات ارزشمند استاد مشاور سرکار خانم دکتر حکیمه علومی بیان می‌دارم.

از اساتید داور جناب آقای دکتر مهدی عباس نژاد و جناب آقای دکتر سعید اسماعیلی ماهانی که داوری و باز خوانی پایانامه را بر عهده داشتند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

شایسته است از جناب آقای دکتر عبدالرضا جوادی نیا که زحمت بررسی هیستوپاتولوژی کبد را بر عهده گرفتند و هچنین اساتید و کارکنان گروه زیست‌شناسی نهایت سپاس و تشکر به جای آورده شود.

چکیده

زمینه و هدف: آسیب کبدی ناشی از دارو یکی از دلایل اصلی برای قطع مصرف دارو است و تاکنون شایع‌ترین علت آن مصرف بیش از حد استامینوفن بوده است. استرس اکسیداتیو یک مکانیسم عمومی است که بسیاری از سمیت‌ها توسط آن رخ می‌دهد و در سمیت استامینوفن مهم می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی خاصیت محافظتی پودر دانه شنبلیله بر آسیب کبدی ناشی از استامینوفن در موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

روش‌ها: بیست و چهار سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: ۱- گروه نرمال (N)، ۲- گروه نرمال + پودر دانه شنبلیله (N+T)، ۳- گروه استامینوفنی (A)، ۴- گروه استامینوفنی + پودر دانه شنبلیله (A+T). بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی، گروه‌های N و N+T نرمال سالین و گروه‌های A و A+T استامینوفن را با دوز ۱۰۰۰ mg/kg به صورت گاواژ دریافت کردند. پس از گذشت ۶ ساعت گروه‌های N و A نرمال سالین و گروه‌های N+T و A+T پودر دانه شنبلیله با دوز ۱۰۰۰ mg/kg را به صورت گاواژ دریافت کردند. دوازده ساعت پس از گاواژ دوم، موش‌های صحرایی کشته شده و نمونه بافت کبدی جهت سنجش فاکتورهای اکسیدانی و آنتی اکسیدانی در تانک ازت منجمد و نمونه دیگری جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی در فرمالین ۱۰٪ تثبیت گردید.

یافته‌ها: استامینوفن باعث افزایش چشمگیر غلظت مالون دی آلدهید (MDA)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و کاهش چشمگیر فعالیت کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) و آسیب بافتی در گروه A نسبت به گروه N شد. تیمار موش‌های صحرایی با پودر دانه شنبلیله سبب کاهش غلظت MDA و H_2O_2 و افزایش فعالیت CAT و POD و همچنین بهبود آسیب بافتی در گروه A+T نسبت به گروهA گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که تیمار موش‌های صحرایی استامینوفنی با پودر دانه شنبلیله سبب کاهش استرس اکسیداتیو، افزایش دفاع آنتی اکسیدانی و بهبود آسیب بافتی می‌شود.

کلمات کلیدی: دانه شنبلیله، استامینوفن، استرس اکسیداتیو، کبد، موش صحرایی

فهرست مطالب

عنوان.....صفحه

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالب گذشته

۱- مقدمه..... ۲

۱-۱- فیزیولوژی و عملکرد کبد. ۳

۱-۲- استامینوفن.. .....۵

۱-۲-۱- فارماکولوژی استامینوفن ۶

۱-۲-۲- دسترسی به استامینوفن ۸

۱-۲-۳- علائم بالینی مسمومیت با استامینوفن ۸

۱-۳- سمیت استامینوفن..... ۱۰

۱-۳-۱- تشکیل متابولیت واکنشی استامینوفن ۱۰

۱-۳-۲- سیتوکروم‌های P450 در تشکیل متابولیت واکنشی..... ۱۱

۱-۳-۳- اتصالات کوالانسی پروتئین..... ۱۲

۱-۳-۴- تغییر در متابولیسم کلسیم..... ۱۴

۱-۳-۵- استرس اکسیداتیو ۱۴

۱-۳-۵-۱- استرس اکسیداتیو و سمیت استامینوفن ۱۶

۱-۳-۶- تغییر نفوذپذیری میتوکندری..... ۲۰

۱-۳-۷- مکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدان ۲۱

۱-۴- گیاهان دارویی.....۲۵

۱-۴-۱- شنبلیله ۲۶
۱-۴-۱-۱- ترکیبات شیمیایی شنبلیله ۲۷

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد استفاده ۳۲
۲-۲- وسایل مورد استفاده ۳۲
۲-۳- حیوانات و نحوه گروه‌بندی ۳۳
۲-۳-۱- جامعه مورد مطالعه ۳۳
۲-۳-۲- نحوه گروه‌بندی حیوانات ۳۴
۲-۴- روش انجام آزمایشات ۳۴
۲-۴- ۱- روش تهیه و آماده سازی پودر دانه شنبلیله ۳۴
۲-۴-۲- روش القاء سمیت کبدی ۳۵
۲-۴-۳- روش نمونه برداری ۳۵
۲-۵- سنجش غلظت پروتئین ۳۵
۲-۵-۱- استخراج پروتئین: ۳۵
۲-۵-۲- منحنی استاندارد پروتئین: ۳۶
۲-۶- سنجش فاکتورهای آنتی اکسیدانی و اکسیدانی ۳۶
۲-۶-۱- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: ۳۶
۲-۶-۲- سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: ۳۷
۲-۶-۳- روش سنجش پراکسید هیدروژن ۳۸
۲-۶-۴- اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدهید ۳۸

۲-۷- روش بررسی هیستوپاتولوژی ۳۹
۲-۷-۱- پایدار کردن یا تثبیت بافت ۳۹
۲-۷-۲- مراحل آماده نمودن بافت (Tissue processing) ۳۹
۲-۶-۲-۱- آب‌گیری (Dehydration) ۳۹
۲-۷-۲-۲- شفاف کردن و الکل‌گیری (Clearing) ۴۰
۲-۷-۲-۳- آغشتگی به پارافین (Impregnation with wax) ۴۰
۲-۷-۲-۴- قالب‌گیری (Blocking) ۴۰
۲-۷-۲-۵- برش بافت (Cutting section) ۴۰
۲-۷-۳- آماده کردن نمونه به منظور رنگ آمیزی برش‌ها (Practical basis of staining) ۴۰
۲-۷-۳-۱- ذوب نمودن پارافین اطراف مقاطع و خروج پارافین از بافت ۴۰
۲-۷-۳-۲- آب‌دهی (Hydration) ۴۱
۲-۷-۳-۳- رنگ آمیزی (Staining) ۴۱
۲-۷-۳-۴- آب‌گیری (Dehydration) ۴۱
۲-۷-۳-۵- شفاف کردن (Clearing) ۴۱
۲-۷-۳-۶- مونته کردن (Mounting) ۴۱
۲-۸- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها ۴۱

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج ۴۳
۳-۱- بررسی فاکتورهای اکسیدانی ۴۴
۳-۱-۱- بررسی تغییرات غلظت پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۴۴

۳-۱-۲- بررسی تغییرات غلظت مالون دی آلدهید (MDA) ۴۴
۳-۲- بررسی فاکتورهای آنتی اکسیدانی..... ۴۵
۳-۲-۱- بررسی تغییرات سطح پراکسیداز (POD) ۴۵
۳-۲-۲- بررسی تغییرات فعالیت کاتالاز (CAT) ۴۶
۳-۴- بررسی هیستوپاتولوژیکی کبد ۴۷

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱- دانه شنبلیله و استرس اکسیداتیو در بافت کبد ۵۴
۴-۲- دانه شنبلیله و تغییرات بافتی کبد ۶۰
۴-۴- پیشنهادها ۶۲
منابع..... ٦٣

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱: ساختار اصلی یک لبول کبدی ۴
شکل۱-۲: استامینوفن ۵
شکل ۱-۳: مکانیسم متابولیسم استامینوفن ۱۲
شکل۱-۴: مکانیسم استرس اکسیداتیو ۱۷
شکل ۱-۵: فعال‌سازی ژن‌های دفاع و بقاء ناشی از استامینوفن ۲۲
شکل ۱-۶: چگونگی سمیت استامینوفن با سیگنالینگ سلولی و MPT ۲۵
شکل ۱-۷: الف) گیاه شنبلیله. ب) دانه گیاه شنبلیله ۲۷
شکل ۰-۱: گاواژ معدی..... ۳۵
شکل۳-۱ نمای هیستولوژی کبد گروه نرمال..... ۴۹
شکل۳-۲ نمای هیستولوژی کبد گروه دانه شنبلیله..... ۵۰
شکل ۳-۳ نمای هیستولوژی کبد گروه استامینوفنی..... ۵۰
شکل ۳-۴ نمای هیستولوژی کبد گروه استامینوفن + دانه شنبلیله..... ۵۱
شکل۴-۱: شیمی پرواکسیدانی فلاونوئید نوع فنول ۵۸
شکل۴-۲: شیمی پرو اکسیدانی فلاونوئید نوع کاتکول ۵۹

فهرست جدول‌ها و نمودارها

جدول ۱-۱: علایم بالینی مسمومیت کبدی ناشی از استامینوفن ۹

جدول ۳-۱: نتایج هیستولوژی کبد ۴۸

نمودار ۳-۱-۱- تغییرات غلظت پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۴۴

نمودار ۳-۱-۲- تغییرات غلظت مالون دی آلدهید (MDA) ۴۵

نمودار ۳-۲-۱- تغییرات سطح پراکسیداز (POD) ۴۶

نمودار ۳-۲-۲- تغییرات فعالیت کاتالاز (CAT) ۴۷

فصل اول:

مقدمه و مروری بر

مطالعات گذشته

۱- مقدمه

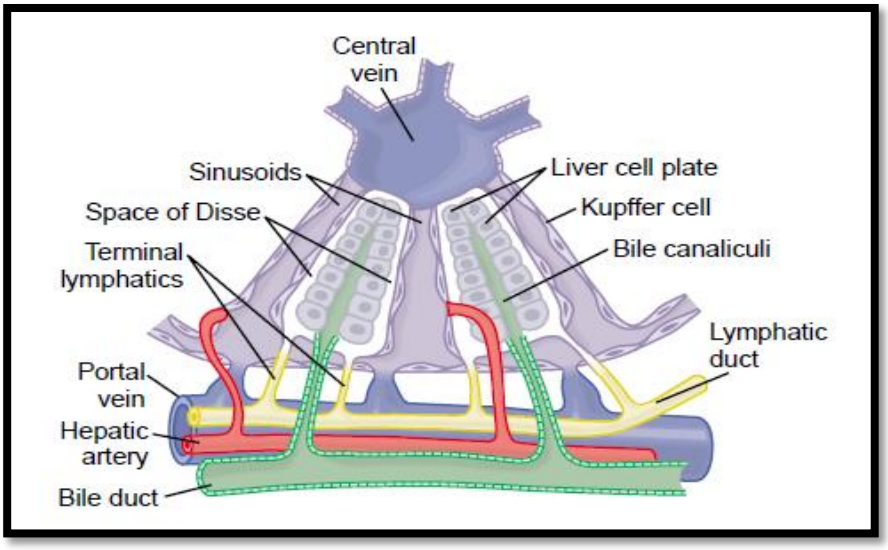
آسیب کبدی ناشی از دارو (DILI)[1] یکی از شایع‌ترین دلایل برای قطع مصرف دارو است و غالبا دلیل اصلی رد دارو برای کسب مجوز بازاریابی است. در نتیجه این مسئله یک چالش مهم برای پزشکان، مقامات بهداشت و شرکت‌های دارویی می‌باشد (Fontana et al., 2010). تحقیقات انجام شده در بخش گوارش و کبد بیمارستانی نشان داد که ۹٪ از پذیرش به اثرات جانبی ناشی از مصرف دارو مرتبط بود و سمیت کبدی معرف مشکل اصلی بوده است (Larrey., 2002). در ۱۵ سال گذشته، علی رغم پیشرفت در مطالعات سم شناسی، آنالیز ایمنی آزمایش‌های بالینی و تشخیص زود هنگام سمیت کبدی دارو، فراوانی سمیت کبدی برای همه‌ی داروها کاهش نیافته است (Fontana et al., 2010). این مشکلات تا حدودی به عوامل زیر وابسته است: ۱) داروهای زیادی وجود دارند که مسئول تعداد قابل توجهی از آسیب‌های کبدی در انسان هستند، درحالیکه هیچ نشانه‌ای در مدل‌های حیوانی، عمدتا جوندگان و سگ شناسایی نشده است. ۲) برای بسیاری از داروها DILI در ۱در ۱۰۰۰- ۱۰۰۰۰ بیمار مشهود است؛ بنابراین احتمال مشاهده تعداد قابل توجهی از موارد در آزمایش‌های بالینی بسیار ناچیز است (Pessayre et al., 1999). ۳) مشکل تشخیص آسیب کبدی به راه‌های مختلفی که آسیب کبدی بیان می‌شود، مربوط است. در واقع، همه سلول‌های کبدی می‌توانند تحت تاثیر داروها قرار گیرند (Larrey., 2002). ۴) انواع آسیب‌ها در علائم بالینیشان با توجه به مکانیسم سمیت کبدی، خود دارو، جزئیات دوره درمان (پایین یا بالا بودن دوز و دوره درمان) و با در نظر گرفتن حساسیت شخص به ماده، متفاوت می‌باشند (Fontana et al., 2010). حداقل دو مکانیسم در سمیت کبدی ناشی از دارو درگیر می‌باشد: سمیت کبدی مستقیم و ایدیوسنکراتیک[2] (Davern., 2012). هپاتوتوکسین‌های مستقیم مانند استامینوفن، باعث آسیب سلول‌های کبدی به صورت وابسته به دوز با سیری قابل پیش بینی می‌شود. در مقابل، بسیاری از داروها باعث سمیت کبدی ایدیوسنکراتیک که غیر قابل پیش‌بینی می‌باشد، می‌شود (Kleiner., 2009). درحالیکه بیش از ۸۰۰ دارو با سمیت کبدی در ارتباط است، تاکنون شایع‌ترین علت DILI مصرف بیش از حد استامینوفن بوده است (Holt., 2010).

1. Drug-induced liver injury
2. Idiosyncratic

۱-۱- فیزیولوژی و عملکرد کبد

کبد بزرگترین اندام داخل بدن است و تقریبا ۱/۲ تا ۱/۵ کیلوگرم وزن دارد (Dasgupta., 2014) و از ده‌ها هزار واحد عملکردی به نام لبول (شکل ۱-۱) تشکیل شده است. لبول کبدی حول یک ورید مرکزی سازمان می‌یابد که به وریدهای کبدی و سپس به ورید اجوف تخلیه می‌شود. هر لبول به طور عمده خود شامل تعداد زیادی صفحه‌های سلول‌های کبدی است که همانند پره‌های چرخ از ورید مرکزی به محیط می‌روند. به طور معمول هر صفحه کبدی به اندازه دو سلول ضخامت دارد و بین سلول‌های مجاور هم، مجاری کوچک صفراوی واقع شده‌اند که به مجاری صفراوی در دیواره فیبری جدا کننده لبول‌های کبدی مجاور تخلیه می‌شوند. در این دیواره، ونول‌های کوچک پورت قرار دارندکه به طور عمده خون خود را از جریان وریدی خارج شده از دستگاه گوارش از طریق ورید پورت دریافت می‌کنند. از این ونول‌ها، خون به داخل سینوزوئیدهای مسطح و منشعب کبدی واقع در بین صفحه‌های کبدی و سپس به ورید مرکزی تخلیه می‌شود. شریانچه‌های کبدی در دیواره‌های بین لوبی نیز وجود دارند. این شریانچه‌ها تامین کننده خون شریانی برای بافت‌های دیواره بین لوبی هستند. بسیاری از این شریانچه‌های کوچک نیز به طور مستقیم به داخل سینوزوئیدهای کبدی تخلیه می‌شوند. علاوه بر سلول‌های کبدی، دو نوع سلول دیگر نیز سینوزوئیدهای وریدی را می‌پوشانند: ۱) سلول‌های اندوتلیال معمولی و ۲) سلول‌های کوپفر بزرگ. پوشش اندوتلیالی این سینوزوئیدها سوراخ‌های بزرگی دارد که قطر بعضی از آن‌ها حدود ۱ میکرومتر است. در زیر این پوشش، بین سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های کبدی، فضاهای باریک بافتی به نام فضاهای دور سینوزوئیدی یا فضای دیس[1] قرار دارند. میلیون‌ها فضای دور سینوزوئیدی توسط عروق لنفاوی در دیواره بین لوبی به یکدیگر متصل می‌شوند. بدین ترتیب، مایع اضافی در این فضاها از طریق لنف برداشته می‌شود. به علت وجود سوراخ‌های بزرگ در اندوتلیوم، موادی که در پلاسما قرار دارند آزادانه به داخل فضاهای دور سینوزوئیدی منتقل می‌شوند (گایتون.، ۱۳۹۳).

1. Space of Diss



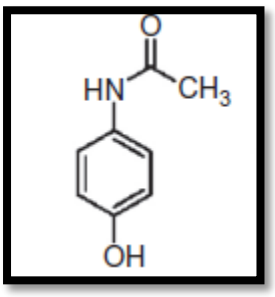
شکل ۱-۱: ساختار اصلی یک لبول کبدی (گایتون، ۱۳۹۳)

کبد نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین و چربی ایفا می‌کند. کبد با گرفتن و ذخیره کردن گلوکز به صورت گلیکوژن، سطح گلوکز را تثبیت می‌کند و زمانی که نیاز باشد گلیکوژن را به گلوکز می‌شکند و یا از منابع غیر کربوهیدراتی مثل اسیدهای آمینه گلوکز تولید می‌کند (گلوکونئوژنز). اکثر پروتئین‌های پلاسمایی از جمله آلبومین و بسیاری از گلوبولین‌ها توسط کبد ساخته می‌شوند. کبد محل تبدیل اسیدهای آمینه به یکدیگر و ساخت مواد دیگر از اسیدهای آمینه می‌باشد. همچنین تشکیل اوره برای برداشت آمونیاک از مایعات بدن برعهده کبد است. اسیدهای چرب توسط کبد برداشته و به تری گلیسرید استریفیه می‌شود. تری گلیسریدها با کلسترول، فسفولیپید و یک آپوپروتئین به شکل لیپوپروتئین بسته بندی می‌شود. لیپوپروتئین برای استفاده یا ذخیره‌سازی در آدیپوسیت‌ها وارد خون می‌شود. بیشترین سنتز کلسترول در کبد صورت می‌گیرد و نمک‌های صفراوی محصول عمده‌ی کاتابولیسم کلسترول است. از دیگر اعمال کبد ذخیره ویتامین، ذخیره آهن به شکل فریتین و سم زدایی یا دفع بسیاری از داروها از جمله استامینوفن می‌باشد. سیستم آنزیمی غنی کبد امکان متابولیسم بسیاری از داروها و دیگر عوامل زنوبیوتیک را می‌دهد. کبد مواد مضر را از گردش خون احشایی سم‌زدایی می‌کند و از ورود آن‌ها به گردش خون سیستمیک جلوگیری می‌نماید. این امر باعث می‌شود کبد به آسیب ناشی از دارو حساس

شود (Shaffer et al., 2002).

۱-۲- استامینوفن

استامینوفن[1](N-acetyl-p-aminophenol یا paracetamol) به عنوان داروی ضد درد و تب استفاده می‌شود. این دارو در اواخر دهه‌ی ۱۸۰۰ سنتز و فعالیت ضد دردی آن در سال ۱۸۹۳ توسط فون مرینگ گزارش شد (Hinson et al., 1980). استامینوفن در سال ۱۹۵۵ به طور گسترده در ایالات متحده در دسترس قرار گرفت. این دارو، آنالوگ ساختاری فناستین[2] است که در اوایل دهه ۱۹۵۰ به دلیل نگرانی برای سمیت کلیوی با استفاده‌ی مزمن از آن، از بازار جمع‌آوری شد (Larson et al., 2005) (شکل ۱-۲). پس از شناسایی سندروم ری[3] و ارتباط آن با استفاده از آسپرین، در ایالات متحده و در سراسر جهان، استامینوفن به داروی اولیه انتخابی برای درمان تب و درد تبدیل شد و در صدها فرمولاسیون OTC[4] موجود است (Larson et al., 2005).



شکل ۱-۲: استامینوفن (Wikipedia)

به علت اینکه این دارو سوزش معده ایجاد نمی‌کند و یا با عملکرد پلاکت‌ها تداخل ندارد، یک جایگزین جالب برای داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی[5](NSAIDs) است (James et al., 2013). سمیت استامینوفن در شرایط بالینی ابتدا در سال ۱۹۶۶ پس از مصرف دوزهای زیادی از دارو توسط دو بیمار که منجر به سمیت کبدی شدید و سه روز پس از مصرف باعث مرگ شد، توسط Thomson و Prescott

1. Acetminophen
2. Phenacetin
3. Reye syndrome
4. Over-The-Counter
5. Nonsteroidal anti inflammatory drugs

منتشر گردید (Thomson et al., 1966). در اواخر دهه ۱۹۹۰، در ایالات متحده استامینوفن به طور گسترده به عنوان یک عامل نارسایی حاد کبدی [1](ALF) به رسمیت شناخته نشده بود و تا آن زمان در پایگاه‌های اطلاعاتی ظاهر نشده بود. در سال ۲۰۰۵، Larson گزارش داد که استامینوفن ۴۲٪ از تمام موارد ALF را به خود اختصاص داده است (Larson et al., 2005). این درصد افزایش قابل توجهی را نسبت به گزارش منتشر شده در سال ۱۹۹۸ نشان داد که اتیولوژی ۳۹٪ از موارد ALF به استامینوفن نسبت داده شده بود (Ostapowicz et al., 2002). در ایالات متحده، ALF ناشی از استامینوفن به طور مساوی بین اقدام به خودکشی و موارد استفاده درمانی بدون خودکشی تقسیم شده است. استامینوفن در ایجاد ALF در کودکان نیز نقش دارد و اطلاعات اخیر نشان می‌دهد که مسئول ۱۴ تا ۲۵ درصد از موارد ALF است (Bower et al., 2007). اطلاعات مراکز کنترل سمیت آمریکا نشان می‌دهد که سالانه ۱۰۰۰۰۰ تماس تلفنی در مورد مصرف بیش از حد استامینوفن اتفاق می‌افتد، در نتیجه بخش اورژانس ۵۶۰۰۰ ویزیت و ۲۶۰۰۰ مورد بستری شدن داشته است (Nourjah et al.,2006). در مقابل داده‌های آمریکا، خودکشی با دوز بالا اتیولوژی غالب ALF ناشی از استامینوفن در انگلستان می‌باشد و بیش از ۸۰٪ این موارد را شامل می‌شود (Lee., 2007).

۱-۲-۱- فارماکولوژی استامینوفن

با وجود استفاده‌ی گسترده از استامینوفن به عنوان ضد درد، این دارو چندین دهه بدون درک روشنی از مکانیسم‌های ضد درد آن استفاده شده است. به طور سنتی استامینوفن در مقایسه با سالیسیلات‌ها و $NSAIDs$، یک داروی ضد التهابی ضعیف در نظر گرفته شده است. استامینوفن سنتز پروستاگلاندین‌ها را در CNS کاهش می‌دهد (Ayoub et al., 2011)، که نشان می‌دهد فعالیت سیکلواکسیژناز (COX) مهار شده است. اثر ضد تب استامینوفن به مهار COX-2 در مغز، بویژه هیپوتالاموس نسبت داده شده است (Li et al., 2008). اخیرا نشان داده شده است که این دارو تب ناشی از لیپوپلی ساکارید (LPS) را توسط مهار COX-2 کاهش می‌دهد، نه توسط مهار پروستاگلاندین E- سنتاز میکروزومی۱ (mPGES-1) (Engström et al., 2013). همچنین فارماکودینامیک استامینوفن می‌تواند از طریق تعامل با سیستم

1. Acute liver failure

اندوکانابینوئید واسطه شود (Hogestatt et al., 2005). P-آمینوفنل، واسطه‌ی دِاستیله استامینوفن در CNS با آراشیدونیک اسید به شکل N-آراشیدونیل فنل آمین (AM404) کونژوگه می‌شود (Bertolini et al., 2006). AM404 مانع از جذب آناندامید کانابینوئید درونزا می‌شود که باعث افزایش سطح آناندامید می‌شود. آناندامید اقدامات ضد درد و هیپوترمیک را از طریق گیرنده‌های CB_1[1] انجام می‌دهد (Howlett., 1995). فعال شدن گیرنده‌های CB_1، علاوه بر ایجاد بی‌دردی، دمای بدن را نیز کاهش می‌دهد (Fraga et al., 2009). استامینوفن ممکن است اثراتی روی دیگر واسطه‌ها از جمله مسیرهای سروتونرژیک داشته باشد. درمان همزمان با آنتاگونیست‌های سروتونین5-HT3، اثرات ضد دردی استامینوفن را بلوک می‌کند (Pickering et al., 2006).

دوز درمانی استامینوفن ۳۲۵ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم (در کودکان ۱۰- ۱۵ میلی‌گرم) هر ۴ تا ۶ ساعت می‌باشد و حداکثر دوزی که روزانه توصیه می‌شود ۴۰۰۰ میلی‌گرم (در کودکان ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) می‌باشد (Krenzelok., 2009). بعد از مصرف، استامینوفن با پیک غلظتی که ظرف ۹۰ دقیقه به دست آمده، جذب می‌شود. دامنه غلظت درمانی سرم ۱۰ تا ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر است. حضور غذا در معده ممکن است زمان پیک غلظت را به تاخیر بیندازد؛ اما بر میزان جذب اثری ندارد (Hodgman et al., 2012). با مصرف بیش از حد، پیک غلظت سرم در مدت ۴ ساعت به دست می‌آید. نیمه عمر استامینوفن ۲ تا ۲/۵ ساعت می‌باشد، با این حال در بیماران مبتلا به آسیب کبدی و بیماری‌های کبدی مزمن به بیش از ۴ ساعت افزایش می‌یابد (Hodgman et al., 2012). استامینوفن متعاقب تخلیه معده به سرعت از دستگاه گوارش جذب می‌شود (Nelson et al., 1991)، سپس عمدتا در کبد توسط سولفاتاسیون و گلوکورونیداسیون واکنش‌های کونژوگاسیون فاز ۲ متابولیزه می‌شود. تنها درصد کمی از دارو در دوزهای درمانی توسط واکنش‌های فاز ۱ با CYP[2] متابولیزه می‌شود. سولفاتاسیون و گلوکورونیداسیون استامینوفن مسیرهای عمده‌ی متابولیسم هستند و منجر به تولید متابولیت‌های غیرسمی می‌شود. در دوزهای بالا، به علت اشباع شدن این مسیرها یا زمانی که CYP2E1 القا می‌شود، مقدار زیادی از استامینوفن توسط آنزیم‌های CYP به متابولیت واکنشی N- استیل p- بنزوکوئینون ایمین

1. Cannabinoid receptor type 1
2. Cytochrome P450

(NAPQI) تبدیل می‌شود که ترکیبات افزایشی کوالانسی با پروتئین‌های سیتوزولی و میتوکندری تشکیل می‌دهد و استرس اکسیداتیو میتوکندری آغاز می‌شود (Han et al., 2006).

۱-۲-۲- دسترسی به استامینوفن

بیش از ۲۵۰۰۰ میلیون دوز استامینوفن در سال ۲۰۰۸ در ایالات متحده به فروش رسید (Woodcock., 2009). علاوه بر استفاده از آن در درمان درد وتب، استامینوفن معمولا با آنتی هیستامین‌ها و ضد احتقان‌ها ترکیب می‌شود و به صورت فرآورده‌های ترکیبی برای عفونت‌های تنفسی فوقانی و سرما به فروش می‌رسد. از سال ۲۰۰۲، فرمولاسیون درون وریدی استامینوفن در بازار اروپا عرضه شد. در اواخر سال ۲۰۱۰، در ایالات متحده استامینوفن وریدی برای استفاده در سنین بالای ۲ سال مورد تایید قرار گرفت. محصولات حاوی استامینوفن و کدئین نشان دهنده‌ی برخی از داروهایی هستند که به طور گسترده برای درمان درد متوسط و شدید استفاده می‌شود. این محصولات شامل استامینوفن- هیدروکدون، استامینوفن- کدئین و استامینوفن- اکسی کدون می‌باشد (James et al., 2013).

۱-۲-۳- علائم بالینی مسمومیت با استامینوفن

به طور کلی، علائم بالینی مسمومیت با استامینوفن در چهار مرحله رخ می‌دهد (جدول ۱-۱) (Rumack et al., 1986). مرحله ۱؛ ۲۴ ساعت پس از مصرف اولیه است و شامل ایجاد بی‌اشتهایی، درد شکم، حالت تهوع و استفراغ است. برخی بیماران نسبتا بدون علامت هستند که باعث می‌شود تشخیص در بیمارانی که از سمیت خود بی‌اطلاع هستند با مشکل روبرو شود. مرحله ۲؛ ۲۴-۷۲ ساعت بعد از مصرف می‌باشد و معمولا با پیشرفت بیشتر علائم گوارشی از جمله شروع درد در ربع فوقانی راست شکم و علائم و نشانه‌های کلاسیک آسیب کبدی مشخص شده است.

جدول ۱-۱: علائم بالینی مسمومیت کبدی ناشی از استامینوفن (Rumack et al., 1986)

Phase	Time Period	Clinical Presentation
1	Initial 24 h	Malaise, anorexia, nausea, vomiting; some patients are asymptomatic
2	24–72 h	Right upper quadrant pain, elevation of serum aminotransferases, development of renal injury, coagulopathy, early signs of coma
3	72–92 h	Acute liver failure, hepatic encephalopathy, metabolic acidosis, hypoglycemia, renal insufficiency
4	4 days and beyond	Resolution of hepatic injury or death

اگرچه افزایش آمینوترانسفرازهای سرم به طور معمول در مرحله ۲ رخ می‌دهد، در برخی بیماران این افزایش قبل از ۲۴ ساعت می‌باشد (Singer et al., 1995). مرحله۳؛۷۲ ساعت بعد از مصرف، با ادامه‌ی پیشرفت سمیت کبدی و شروع نارسایی سیستم چند ارگانی و هیپوگلیسمی، مشخص می‌شود. (Blakely et al., 1995). بیش از ۴۰٪ از موارد ALF استامینوفن، آسیب کلیوی را به دنبال خواهد داشت (Fontana et al., 2008). آسیب کلیوی ناشی از استامینوفن که با میکروسکوپ نوری ظاهر می‌شود، نکروز توبول پروگزیمال و دیستال می‌باشد (Blakely et al., 1995). همانطور که در تمام علل ALF دیده می‌شود، انسفالوپاتی کبدی پس از مسمومیت با استامینوفن، یک نشانگر پیش آگهی ضعیف می‌باشد و ممکن است درجاتی از سردرگمی و گیجی تا کما و افزایش فشار داخل جمجمه را نشان دهد (Bernal et al., 2010). مرحله‌ی ۴ مسمومیت با استامینوفن (۹۶ ساعت تا ۳ هفته) توسط نارسایی شدید کبدی، از جمله پیشرفت کما و افزایش فشار داخل جمجمه، یا بهبود خود به خودی مشخص شده است. میزان زنده ماندن خود به خودی برای بیماران مبتلا به آسیب کبدی ناشی از استامینوفن، بیشتر از دیگر علل ALF است و بقای سه هفته‌ای برای بیماران با ALF استامینوفن، ۷۲٪ می‌باشد. همچنین گزارش شده است که میزان زنده ماندن بدون پیوند برای ALF استامینوفن، ۶۵٪ است (Larson et al., 2005).

۱-۳- سمیت استامینوفن

با استفاده از سلول‌های کبدی ایزوله شده‌ی موش (Bruk et al., 2010) و هامستر (Boobis et al., 1986) نشان داده شد که سمیت استامینوفن در دو مرحله رخ می‌دهد؛ ۱) مرحله متابولیک که به طور