



بررسی تأثیر تغییرات سیرکادین بر روی سمیت کبدی ناشی از تزریق فنی توئین در موش صحرایی

شیما محمدی^{۱*}، زهرا قنبری^۲، حسین خواستار^۳، بهزاد گرمابی^{۴*}

۱- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

۲- گروه علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

۳- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

۴- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۲، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۰

چکیده

مقدمه: ریتم‌های سیرکادین چرخه‌های ۲۴ ساعته‌ای هستند که فرآیندهای فیزیولوژیک بدن را تنظیم و به هموستاز کمک می‌کنند. سیتوکروم P450 که در متابولیسم کبدی فنی توئین نقش دارد، تحت تأثیر این ریتم‌ها قرار می‌گیرد. این تحقیق اثر ریتم سیرکادین بر سمیت کبدی ناشی از فنی توئین را بررسی کرده است.

مواد و روش‌ها: ۲۵ موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم) به پنج گروه تقسیم شدند. چهار گروه در ساعات مختلف (۸ صبح، ۱۲ ظهر، ۴ بعدازظهر و ۸ شب) فنی توئین (۵۰ mg/kg) را به مدت ۵ روز دریافت کردند و گروه کنترل نرمال سالیन دریافت نمود. ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، سطح پلاسمایی آنزیم‌های SGPT، SGOT، ALP و GGT ارزیابی شد.

نتایج: فنی توئین به طور معناداری سطح آنزیم‌های SGPT، SGOT، ALP و GGT را نسبت به گروه کنترل افزایش داد که نشان‌دهنده آسیب کبدی بود. مقایسه بین ساعات مختلف تزریق نشان داد که تأثیر زمان بر GGT و SGOT بیشتر از ALP و SGPT بود. تغییرات GGT، ALP و SGOT معنادار بود، اما سطح SGPT تفاوت معناداری نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از آن است که سمیت کبدی فنی توئین وابسته به زمان تزریق است. این موضوع اهمیت در نظر گرفتن ریتم سیرکادین در تنظیم دوز و زمان مصرف داروها را برجسته می‌کند، چرا که ممکن است به کاهش اثرات جانبی و بهینه‌سازی اثربخشی دارو کمک کند.

واژه‌های کلیدی: سیرکادین، آسیب کبدی، فنی توئین، سیتوکروم P450.

*نویسنده مسئول: گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، میدان هفت تیر، شاهرود، ایران کدپستی ۳۶۱۴۷۷۳۹۴۷، تلفن: ۳۲۳۹۵۰۵۴ - ۰۲۳، نمابر:

Email: behzad.garmabi@gmail.com، ۰۲۳۲۳۹۴۸۰۰

ارجاع: محمدی شیما، قنبری زهرا، خواستار حسین، گرمابی بهزاد. بررسی تأثیر تغییرات سیرکادین بر روی سمیت کبدی ناشی از تزریق فنی توئین در موش صحرایی. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۴؛ ۲۰(۱): ۱۷-۱۰.



مقدمه

یکی از ویژگی‌های اساسی موجودات زنده، وجود تغییرات دوره‌ای روزانه در بسیاری از فرآیندهای زیستی است که این تغییرات در تمامی سطوح از عملکردهای مولکولی و سلولی گرفته تا رفتارهای پیچیده مشاهده می‌شود. برای مثال، سطح هوشیاری در انسان‌ها در ساعات مختلف روز تغییر می‌کند و یا سطوح برخی مولکول‌های سیگنالینگ و گیرنده‌های آنها در ساعات خاصی از شبانه‌روز به اوج می‌رسد. این تغییرات ناشی از وجود ساعت‌های زیستی داخلی هستند که با ریتمی نزدیک به ۲۴ ساعت تنظیم می‌شوند و اصطلاحاً به آنها ریتم‌های سیرکادین گفته می‌شود. این واژه از ریشه لاتین *circa diem* به معنای "تقریباً یک روز" گرفته شده است (۱ و ۲). چرخه روشنایی- تاریکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های محیطی، ریتم‌های ۲۴ ساعته سلول‌های هسته سوپراکاسماتیک (SCN) در هیپوتالاموس را هماهنگ می‌کند. این فرآیند از طریق گیرنده‌های ملانوپسین در شبکیه و مسیر رتینوهیپوتالامیک انجام می‌شود (۳) و به تنظیم فعالیت‌های فیزیولوژیک و رفتاری روزانه، از جمله ریتم خواب و بیداری، فعالیت و استراحت، دمای بدن و الگوهای تغذیه کمک می‌کند. این هماهنگی به موجود زنده امکان سازگاری با محیط و حفظ هموستاز را می‌دهد (۴).

فنی‌توئین یکی از داروهای ضدصرع پرکاربرد می‌باشد که برای درمان صرع‌های پارشیال، ژنرالیزه تونیک-کلونیک و همچنین برخی اختلالات دیگر نظیر آریتمی قلبی و نورالژی تری‌ژمینال تجویز می‌شود (۵ و ۶). با وجود اثربخشی بالا، این دارو در استفاده طولانی‌مدت عوارض جانبی متعددی نظیر عدم تعادل، هیپرپلازی لثه، هیرسوتیسم، آنمی مگالوبلاستیک و سمیت کبدی از خود نشان می‌دهد (۷). فنی‌توئین از طریق القای آنزیم‌های CYP3A4 و CYP2C9 متعلق به خانواده سیتوکروم P450، متابولیسم داروها و ترکیبات زنبوبیتیک را در کبد تسریع می‌کند (۸). سمیت کبدی بر اساس پارامترهای بیولوژیکی نظیر افزایش آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، و گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) سنجیده می‌شود. همچنین، این وضعیت می‌تواند بر اساس علائم بالینی غیرطبیعی مانند التهاب کبدی و یرقان ارزیابی شود. التهاب کبدی ممکن است به‌صورت سیتوزولی یا کلاستاتیک بروز کند (۹). ارزیابی دقیق سطح آسیب‌های کبدی پیچیده است و آزمون‌های عملکردی کبدی معتبر مانند اندازه‌گیری فعالیت آمینوترانسفرازها و سایر آنزیم‌های اختصاصی برای بررسی آسیب‌های کبدی استفاده می‌شوند (۱۰). از آنجا که فعالیت این آنزیم‌ها تحت تأثیر ریتم‌های سیرکادین قرار دارد (۱۱)، احتمال می‌رود تجویز دارو در

ساعات مختلف از روز سبب بروز شدت‌های متفاوت از سمیت کبدی ناشی از فنی‌توئین گردد. مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط میان سیستم سیرکادین و سمیت کبدی ناشی از فنی‌توئین طراحی شده است تا امکان کاهش عوارض هپاتوتوکسیک این دارو از طریق بهینه‌سازی زمان تزریق مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۲۵ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار (با وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم) به‌صورت تصادفی از جمعیت در دسترس مرکز حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شاهرود انتخاب شدند. موش‌ها در شرایط استاندارد شامل دمای محیطی 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در قفس‌های پلی‌کربناتی نگهداری شدند. آب و غذا به‌صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت. تمامی مراحل این مطالعه مطابق دستورالعمل‌های کار با حیوانات آزمایشگاهی و کد اخلاق صادر شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شاهرود (شماره کد اخلاق: IR.SHMU.REC.1400.177) و منطبق بر بیانیه هلسینکی انجام شد.

در این آزمایش، فنی‌توئین با دوز ۵۰ mg/kg (۱۲) و نرمال‌سالین به‌عنوان گروه کنترل با دوز ۱ ml/kg، هر دو به‌صورت تزریق درون صفاقی استفاده شد. پس از یک دوره تطبیق با شرایط آزمایشگاه، حیوانات به‌طور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند ($n=5$). گروه‌های تجربی در زمان‌های مختلف شبانه‌روز به مدت ۵ روز، فنی‌توئین را دریافت نمودند:

گروه اول: ساعت ۸ صبح (یک ساعت پس از روشنایی)

گروه دوم: ساعت ۱۲ ظهر

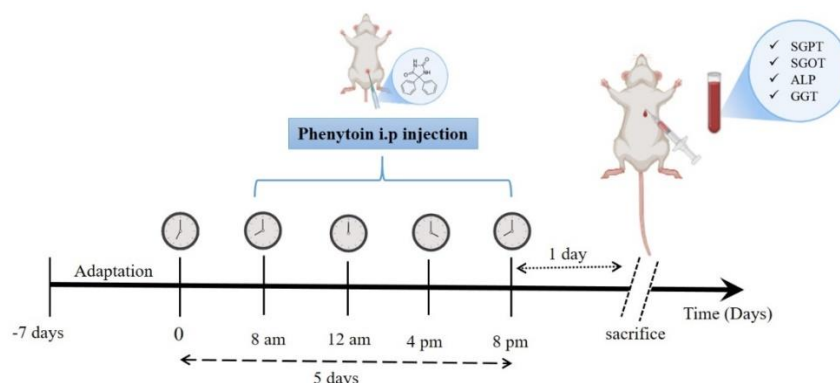
گروه سوم: ساعت ۴ بعدازظهر

گروه چهارم: ساعت ۸ شب (یک ساعت پس از تاریکی)

گروه پنجم به‌عنوان گروه کنترل، نرمال‌سالین را در ساعت ۸ صبح دریافت کردند.

۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، موش‌ها با استفاده از اتر بی‌هوش شده سپس ۲ میلی‌لیتر خون از قلب جهت بررسی آنزیم‌های کبدی (SGPT, SGOT, ALP, GGT) جمع‌آوری شد. دیاگرام مراحل انجام کار در شکل ۱ به‌صورت شماتیک ترسیم شده است. اعداد، روزهای پس از تزریق فنی‌توئین را در ساعات‌های مختلف روز نشان می‌دهند. ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق خون حیوانات جمع‌آوری شد و فاکتورهای SGPT, SGOT, ALP, GGT مورد سنجش قرار گرفت. برای ارزیابی عملکرد کبد، تغییرات سطح پلاسمایی آنزیم‌های SGPT, SGOT, ALP و GGT اندازه‌گیری شد. جهت مقایسه سطح

نرم افزار GraphPad تحلیل شدند و برای ترسیم نمودارها نیز از همین نرم افزار استفاده شد. نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SE}$ اریه شده و سطح معنی داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.



شکل ۱- برنامه اجرایی و زمان بندی آزمایش‌ها

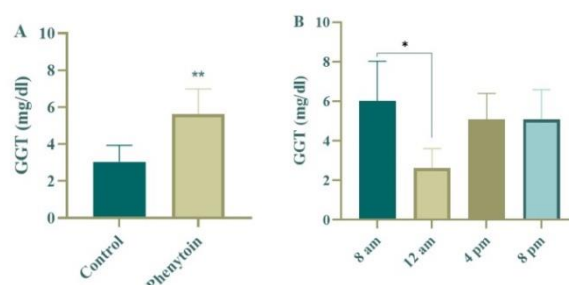
نتایج

نتایج نشان داد که سطح GGT سرم در گروه دریافت کننده فنی توئین به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل است (شکل A). همچنین، سطح GGT سرم در ساعت ۱۲ ظهر به طور معنی داری کمتر از گروه ۸ صبح بود، در حالی که تفاوت بین گروه‌های ۸ صبح، ۴ بعدازظهر و ۸ شب معنی دار نبود (شکل B).

نتایج نشان داد که تجویز فنی توئین باعث افزایش معنی داری در سطح SGOT سرم در گروه دریافت کننده فنی توئین نسبت به گروه کنترل (دریافت کننده نرمال سالین) در ساعت ۸ صبح شد (شکل ۳A). این یافته‌ها مشابه با نتایج تحقیقات پیشین است و نشان دهنده آسیب کبدی ناشی از فنی توئین است. همچنین اثر فنی توئین بر سطح SGOT سرم در ساعات مختلف روز متفاوت بوده و تفاوت‌های آماری معنی داری در برخی ساعات مشاهده گردید. به ویژه، سطح SGOT سرم در گروه‌های دریافت کننده فنی توئین در ساعت‌های ۱۲ ظهر، ۴ بعدازظهر و ۸ شب به طور معنی داری بیشتر از گروه دریافت کننده فنی توئین در ساعت ۸ صبح بود (شکل ۳B). این نتایج حاکی از تأثیر زمان تجویز فنی توئین بر میزان SGOT سرم و شدت آسیب کبدی است.

این آنزیم‌ها بین گروه کنترل و گروه دریافت کننده فنی توئین از آزمون T مستقل استفاده گردید. همچنین، برای مقایسه سطح آنزیم‌ها بین گروه‌های آزمایشی در ساعات مختلف روز، آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسه میانگین Tukey به کار رفت. کلیه داده‌ها با استفاده از

نتایج نشان داد که تجویز فنی توئین باعث افزایش معنی داری در سطح GGT سرم در گروه دریافت کننده فنی توئین نسبت به گروه کنترل (دریافت کننده نرمال سالین) در ساعت ۸ صبح شد. (شکل ۲A) این یافته به طور کامل با نتایج تحقیقات پیشین در مورد آسیب کبدی ناشی از فنی توئین هم‌راستا است. علاوه بر این، اثرات فنی توئین بر سطح GGT در ساعات مختلف روز یکسان نبوده و تفاوت‌های آماری معنی داری در برخی ساعات مشاهده گردید. به ویژه، سطح GGT پلاسما در گروهی که فنی توئین را در ساعت ۱۲ ظهر دریافت کرده بود، نسبت به گروه ۸ صبح به طور قابل توجهی کمتر بود. این یافته‌ها نشان دهنده تأثیر زمان تجویز فنی توئین بر شدت آسیب کبدی و تغییرات سطح GGT هستند (شکل ۲B).



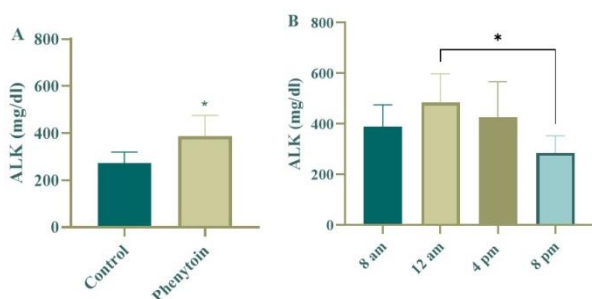
شکل ۲- تغییرات سطح GGT سرم در گروه‌های مختلف دریافت کننده فنی توئین و گروه کنترل و مقایسه بین گروه‌های فنی توئین در ساعات مختلف

روز

** $P < 0.01$ مقایسه با گروه کنترل، * $P < 0.05$ مقایسه بین گروه‌های دریافت کننده فنی توئین در ساعات مختلف روز.

نتایج نشان داد که سطح SGPT سرم در گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (شکل A). همچنین، تفاوت‌های آماری بین گروه‌های دریافت‌کننده فنی‌توئین در ساعات مختلف روز مشاهده نشد (شکل B)

نتایج نشان داد که تجویز فنی‌توئین باعث افزایش معنی‌داری در سطح ALK سرم در گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین نسبت به گروه کنترل (دریافت‌کننده نرمال سالین) در ساعت ۸ صبح شد (شکل ۵A). علاوه بر این، اثر فنی‌توئین بر سطح ALK سرم در ساعات مختلف روز متفاوت بوده و تفاوت‌های آماری معنی‌داری در برخی ساعات مشاهده گردید. به‌ویژه، سطح ALK سرم در گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین در ساعت ۸ شب به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین در ساعت ۱۲ ظهر بود، در حالی که تفاوت بین گروه‌های ۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۴ بعدازظهر معنی‌دار نبود. این نتایج نشان‌دهنده تأثیر زمان تجویز فنی‌توئین بر میزان ALK سرم و شدت آسیب کبدی است (شکل ۵B).

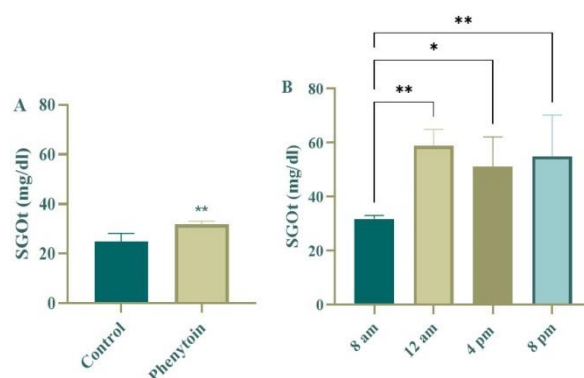


شکل ۵- تغییرات سطح ALK سرم در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده فنی‌توئین و گروه کنترل و مقایسه بین گروه‌های فنی‌توئین در ساعات مختلف روز
 *مقایسه با گروه کنترل ($P < 0.05$), مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده فنی‌توئین در ساعات مختلف روز.

نتایج نشان داد که سطح ALK سرم در گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (شکل A). همچنین، سطح ALK در گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین در ساعت ۸ شب به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه ۱۲ ظهر بود (شکل B) ($P < 0.05$).

بحث

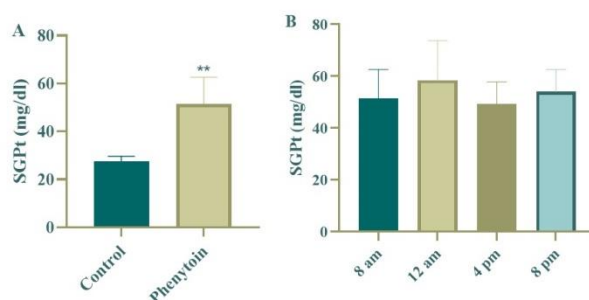
ریتیم‌های شبانه‌روزی به چرخه ۲۴ ساعته نوسانات فیزیکی، ذهنی و رفتاری در بدن اشاره دارند. هسته سوپراکیاسماتیک در هیپوتالاموس ضریان‌ساز مرکزی این ریتیم‌ها بوده و تحت تأثیر ساعت‌های محیطی مانند الگوی تاریکی-روشنایی، ریتیم‌های داخلی را با ریتیم محیط هماهنگ می‌کند (۱۳). تحقیقات گسترده‌ای در زمینه سنجش حساسیت و عوارض داروها به ویژه داروهای ضدصرع مانند فنی‌توئین در حال انجام است. این



شکل ۳- تغییرات سطح SGOT سرم در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده فنی‌توئین و گروه کنترل و مقایسه بین گروه‌های فنی‌توئین در ساعات مختلف روز
 *مقایسه با گروه کنترل $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده فنی‌توئین در ساعات مختلف روز.

نتایج نشان داد که سطح SGOT سرم در گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (شکل A) و همچنین سطح SGOT در گروه‌های دریافت‌کننده فنی‌توئین در ساعت‌های ۱۲ ظهر، ۴ بعدازظهر و ۸ شب نسبت به گروه ۸ صبح به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.01$) (شکل B)

نتایج نشان داد که تجویز فنی‌توئین باعث افزایش معنی‌داری در سطح SGPT سرم در گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین نسبت به گروه کنترل (دریافت‌کننده نرمال سالین) در ساعت ۸ صبح شد (شکل ۴A)، که این یافته‌ها نشان‌دهنده آسیب کبدی ناشی از فنی‌توئین است. همچنین اثر فنی‌توئین بر سطح SGPT سرم در ساعات مختلف روز متفاوت بوده اما تفاوت‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند. این نتایج تأیید می‌کنند که تجویز فنی‌توئین می‌تواند به‌طور عمومی سبب افزایش سطح SGPT سرم شود، با این حال، زمان تجویز تأثیر قابل‌توجهی بر شدت تغییرات نشان نداد (شکل ۴B).



شکل ۴- تغییرات سطح SGPT سرم در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده فنی‌توئین و گروه کنترل و مقایسه بین گروه‌های فنی‌توئین در ساعات مختلف روز
 ** $P < 0.01$ مقایسه با گروه کنترل

افزایش مدت زمان کار در شیفت شب افزایش می‌یابد (۲۱). در این مطالعه، مشاهده افزایش میزان ALK در ساعت ۸ شب در گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین نسبت به سایر ساعات شبانه‌روز، ممکن است به ترکیب اثرات اختلالات ریتم شبانه‌روزی و تأثیر مستقیم فنی‌توئین بر آنزیم‌های کبدی مربوط باشد. با توجه به اینکه سطوح آنزیم‌های کبدی به‌ویژه ALK در ساعات شب معمولاً به اوج می‌رسند و فنی‌توئین می‌تواند فعالیت آنزیم‌های CYP450 را تحریک کرده و موجب آسیب کبدی شود، این ترکیب ممکن است توضیح دهد که چرا در ساعت ۸ شب، که به طور طبیعی میزان ALK در بدن بالاتر است، میزان ALK در گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین بیشتر از ساعات دیگر بوده است. این احتمال وجود دارد که همزمان با افزایش طبیعی آنزیم‌ها در شب، تأثیر فنی‌توئین بر سیستم آنزیمی CYP450 و افزایش فعالیت آنزیم‌ها مانند ALK، باعث تشدید این نوسانات شبانه‌روزی شده و به افزایش ALK در این زمان خاص منجر شده باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که فنی‌توئین تأثیر قابل توجهی بر سطح آنزیم‌های GGT، SGOT و ALK سرم در ساعات مختلف روز داشت، به‌طوری‌که تفاوت‌های معناداری در برخی ساعات مشاهده گردید. این یافته‌ها ممکن است نشان‌دهنده وجود تأثیرات شبانه‌روزی بر روی فرآیندهای متابولیک و آسیب کبدی ناشی از فنی‌توئین باشند. به‌ویژه، اختلافات مشاهده شده در سطح آنزیم‌ها در ساعات مختلف روز، که به‌طور خاص در GGT و SGOT بارزتر بود، می‌تواند نشان‌دهنده نقشی باشد که ریتم شبانه‌روزی در تنظیم فعالیت آنزیم‌های متابولیک و آسیب‌های کبدی دارد. این تغییرات زمانی به‌ویژه در آنزیم‌هایی مانند GGT و SGOT که به‌طور معمول به آسیب‌های کبدی پاسخ می‌دهند، قابل توجه است.

با این حال، در مورد آنزیم SGPT، تفاوت معناداری در سطح آنزیم در ساعات مختلف روز مشاهده نشد و این آنزیم از ریتم سیرکادین تبعیت نکرد. این عدم تغییرات قابل توجه می‌تواند به دلیل محدودیت‌های موجود در طراحی مطالعه مانند کم بودن تعداد نمونه‌ها، باشد. اگر تعداد نمونه‌ها بیشتر باشد، احتمالاً نتایج دقیق‌تری به‌دست می‌آید که ممکن است تغییرات شبانه‌روزی این آنزیم را در واکنش به فنی‌توئین نشان دهد.

با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که زمان تجویز داروهای ضدصرع، به‌ویژه فنی‌توئین، باید با دقت بیشتری در نظر گرفته شود. در این مطالعه، مشاهده شد که سطح آنزیم‌های کبدی در ساعات مختلف شبانه‌روز تحت تأثیر قرار می‌گیرد و این تغییرات به‌ویژه در ساعات شب به‌وضوح دیده می‌شود. این یافته‌ها می‌توانند به بهبود درمان‌های دارویی در بیماران مبتلا به صرع کمک کنند و در تعیین زمان‌بندی بهینه تجویز داروها و دوز مناسب آن‌ها نقش مهمی داشته باشند.

نقش فنی‌توئین بر متابولیسم کبدی و آنزیم‌های CYP450 به‌ویژه در هپاتوتوکسیسیته و آسیب‌های کبدی ناشی از این دارو پیچیده است. این دارو می‌تواند از طریق تحریک آنزیم‌های CYP450، به تغییرات

مطالعات به دلیل پنجره درمانی باریک داروهای ضدصرع، همچون فنی‌توئین، از اهمیت بالایی برخوردار است. فنی‌توئین از طریق القای آنزیم‌های CYP3A4 و CYP2C9 از خانواده آنزیم‌های P450، به متابولیسم داروها و زنبیوتیک‌ها در کبد کمک می‌کند (۱۴). این آنزیم‌ها نقش اساسی در تجزیه بسیاری از داروها ایفا می‌کنند. از سوی دیگر مطالعات متعدد نشان داده‌اند که فعالیت‌های این آنزیم‌ها از جمله متابولیسم داروها و زنبیوتیک‌ها تحت تأثیر تغییرات شبانه‌روزی قرار دارند (۱۵).

در کبد، نوسانات شبانه‌روزی فعالیت آنزیم‌های مختلف از جمله SGOT و SGPT به‌طور عمده ناشی از تغییرات در نیازهای فیزیولوژیکی بدن است که تحت تأثیر چرخه‌های روشن و تاریک قرار دارند. این عوامل رونویسی و پروتئین‌های مرتبط با آنها به‌طور همزمان در فازهای مختلف شبانه‌روزی تنظیم می‌شوند و این امر نشان‌دهنده هماهنگی دقیق بین متابولیسم انرژی، سم‌زدایی و دیگر فرآیندهای فیزیولوژیکی است (۱۶). بر اساس پژوهش‌ها، فعالیت آنزیم CYP3A4 می‌تواند در ساعات مختلف شبانه‌روز تغییر کند؛ به‌عنوان مثال، اوج فعالیت آن حدود ساعت ۱۵:۰۰ و کمترین میزان آن در حدود ساعت ۰۳:۰۰ مشاهده شده است (۱۷).

یکی از آزمایش‌های عملکرد کبد اندازه‌گیری سطح آنزیم‌های آمینوترانسفراز در سرم است. آمینوترانسفرازهایی که اندازه‌گیری شدند شامل SGOT (سرم گلوتمیک اکسالو استیک ترانس آمیناز) و SGPT (سرم گلوتمیک پیرووات ترانس آمیناز) می‌باشند. SGOT و SGPT آنزیم‌هایی هستند که عمدتاً در کبد تولید می‌شوند و در مقادیر کمتری در قلب و عضلات اسکلتی نیز تولید می‌شوند. در مورد بیماری‌های کبدی، سطح این آنزیم ممکن است تا ۱۰ برابر در مدت زمان طولانی افزایش یابد (۱۸). اگرچه هیچ مطالعه اپیدمیولوژیکی به‌طور مستقیم ارتباط بین ریتم‌های استراحت-فعالیت و آنزیم‌های کبدی را ارزیابی نکرده است، چندین مطالعه نقش اختلالات ریتم شبانه‌روزی در سمیت کبد را پیشنهاد کرده‌اند.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۴ صورت گرفت نشان داده شد در یک مرد ۳۵ ساله مبتلا به هپاتیت کبدی میزان آنزیم‌های SGOT و SGPT در پلاسما به شدت بالا بود. آسیب به سلول‌های کبدی می‌تواند یکی از علل بالا رفتن آنزیم‌های کبدی باشد (۱۹). در این مطالعه حاضر نشان داد شد که فنی‌توئین می‌تواند منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی مانند SGOT و SGPT شود. این افزایش ممکن است ناشی از اثرات سمی فنی‌توئین بر کبد باشد که می‌تواند به آسیب سلول‌های کبدی و افزایش سطح این آنزیم‌ها منجر شود.

در مطالعه دیگری در ۲۵ بزرگسال سالم نشان داد که سطوح آنزیم‌های کبدی سرم با ریتم‌های شبانه‌روزی نوسان داشته و در عصر و شب به اوج می‌رسید و در اوایل صبح به کمترین مقدار می‌رسید (۲۰). مطالعه دیگری در مردان نشان داد که کارگران شیفت شب در مقایسه با کارگران روزانه، ریسک بالاتری برای بالا رفتن غیرطبیعی ALK دارند و این ریسک با

3. Buijs RM, Kalsbeek A. Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nat Rev Neurosci* 2001;2:521-6. doi: 10.1038/35081582
4. Nakamura TJ, Takasu NN, Nakamura W. The suprachiasmatic nucleus: age-related decline in biological rhythms. *J Physiol Sci* 2016;66:367-74. doi: 10.1007/s12576-016-0439-2
5. Patocka J, Wu Q, Nepovimova E, Kuca K. Phenytoin - An anti-seizure drug: Overview of its chemistry, pharmacology and toxicology. *Food Chem Toxicol* 2020;142:111393. doi: 10.1016/j.fct.2020.111393
7. Mattson RH, Cramer JA, Collins JF, Smith DB, Delgado-Escueta AV, Browne TR, et al. Comparison of carbamazepine, phenobarbital, phenytoin, and primidone in partial and secondarily generalized tonic-clonic seizures. *N Engl J Med* 1985;313:145-51. doi: 10.1056/NEJM198507183130303
8. Cuttle L, Munns AJ, Hogg NA, Scott JR, Hooper WD, Dickinson RG, et al. Phenytoin metabolism by human cytochrome P450: involvement of P450 3A and 2C forms in secondary metabolism and drug-protein adduct formation. *Drug Metab Dispos: the biological fate of chemicals* 2000;28:945-50. doi: 10.1016/S0090-9556(24)15168-9
9. Dumortier G, Cabaret W, Stamatiadis L, Saba G, Benadhira R, Rocamora J, et al. Hepatic tolerance of atypical antipsychotic drugs. *Encephale* 2002;28:542-51.
10. Gachon F, Olela FF, Schaad O, Descombes P, Schibler U. The circadian PAR-domain basic leucine zipper transcription factors DBP, TEF, and HLF modulate basal and inducible xenobiotic detoxification. *Cell Metab* 2006;4:25-36. doi: 10.1016/j.cmet.2006.04.015
11. Imosemi IO, Osinubi AAJIM. Phenytoin-induced toxicity in the postnatal developing cerebellum of Wistar rats, effect of Calotropis procera on Histomorphometric parameters. *Int J Morphol* 2011;29:331-8.
12. Mohawk JA, Green CB, Takahashi JS. Central and peripheral circadian clocks in mammals. *Annu Rev Neurosci* 2012;35:445-62. doi: 10.1146/annurev-neuro-060909-153128
13. Thorn CF, Whirl-Carrillo M, Leeder JS, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: phenytoin pathway. *Pharmacogenetics and genomics* 2012;22:466-70. doi: 10.1097/FPC.0b013e32834aeedb
14. Gachon F, Olela FF, Schaad O, Descombes P, Schibler UJCM. The circadian PAR-domain basic leucine zipper transcription factors DBP, TEF, and HLF modulate basal and inducible xenobiotic detoxification. *Cell Metab* 2006;4:25-36. doi: 10.1016/j.cmet.2006.04.015
15. Reinke H, Asher GJG. Circadian clock control of liver metabolic functions. *Gastroenterology* 2016;150:574-80. doi: 10.1053/j.gastro.2015.11.043
16. Mogharabian N, Khaksari M, Beladi NSM, Garmabi B, Asadpour A, KHASTAR H. Nephrotoxicity and Hepatotoxicity Induced by Cisplatin Improved by Palmitate in Male Rats. *Knowledge & Health in Basic Medical Sciences* 2021;16:11-19.
17. Tomalik-Scharte D, Suleiman AA, Frechen S, Kraus D, Kerkweg U, Rokitta D, et al. Population pharmacokinetic analysis of circadian rhythms in hepatic CYP3A activity using midazolam. *J Clin Pharmacol* 2014;54:1162-9. doi: 10.1002/jcph.318
18. Panjaitan RS. Pengaruh Sistem Kerja Shift Terhadap Gambaran Enzim Fungsi Hati (SGOT dan SGPT) pada Karyawan Pabrik Peleburan Aluminium PT Inalum (Persero) Kuala Tanjung Tahun 2017: Universitas Medan Area; 2021.
19. Salehi M, Garmabi B, Jafarizani M, Khastar H. Vaspine Exert Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects on Renal and Liver Injury Induced by Renal Ischemia Reperfusion. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 2020;26:1607-12. doi:10.1007/s10989-019-09973-6

شبانه‌روزی فعالیت آنزیم‌های کبدی منجر شود و همچنین تأثیرات قابل توجهی بر تغییرات سطح آنزیم‌ها مانند SGOT و SGPT داشته باشد. بنابراین، لازم است که در مطالعات بالینی به تأثیر زمان‌بندی تجویز این داروها توجه ویژه‌ای شود تا از عوارض جانبی احتمالی، به‌ویژه آسیب‌های کبدی، جلوگیری شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود که هزینه انجام این طرح را با کد اخلاق IR.SHMU.REC.1400.177 تأمین نمودند کمال قدردانی و تشکر را دارند.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اظهار می‌دارند که نتایج این پژوهش پیش‌تر در هیچ مجله یا کنفرانسی ارایه یا منتشر نشده است. تمامی ملاحظات اخلاقی مرتبط با انجام پژوهش و نگارش مقاله، مطابق با دستورالعمل‌های علمی و اخلاقی از جمله بیانیه هلسینکی، به‌طور کامل رعایت شده است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی در انتشار این مقاله وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

زهره قنبری: جمع‌آوری داده‌های مطالعه حیوانی، آنالیز داده‌ها و نگارش نسخه اولیه را برعهده داشته است، بهزاد گرمایی: در ایده‌پردازی و طراحی مطالعه، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها، نظارت بر مطالعه مشارکت داشته است، تأمین مالی را برعهده داشته، همچنین نسخه نهایی مقاله را به‌طور انتقادی بازبینی کرده و تأیید علمی آن را برعهده داشته است، شیما محمدی: در آنالیز داده‌ها و نگارش نسخه نهایی مقاله مشارکت داشته است و حسین خواستار: نگارش نسخه اولیه مقاله را برعهده داشته است

حمایت مالی

هزینه‌های این پژوهش به‌طور کامل توسط نویسندگان تأمین شده است و این مطالعه هیچ‌گونه حمایت مالی یا بودجه خارجی دریافت نکرده است.

کد اخلاق

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، با راهنمایی آقای دکتر بهزاد گرمایی و مشاوره آقای دکتر حسین خواستار، و با کد طرح IR.SHMU.REC.1400.177 می‌باشد.

References

1. Meléndez-Fernández OH, Liu JA, Nelson RJ. Circadian Rhythms Disrupted by Light at Night and Mistimed Food Intake Alter Hormonal Rhythms and Metabolism. *Int J Mol Sci* 2023;24:3392. doi: 10.3390/ijms24043392
2. Bhadra U, Thakkar N, Das P, Pal Bhadra M. Evolution of circadian rhythms: from bacteria to human. *Sleep Med* 2017;35:49-61. doi: 10.1016/j.sleep.2017.04.008

20. Mogharabian N, Khaksari M, Eslami T, Ahmadian CN, Khastar H. Evaluation of Protective effects of usnic acid in cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *Knowledge & Health in Basic Medical Sciences* 2020;10-15.
21. Joob B, Wiwanitkit V. Acute hepatitis with observed increased blood phenytoin level: a case study. *Journal of Acute Disease* 2014;3:72-3. doi:10.1016/S2221-6189(14)60017-2.
22. Rivera-Coll A, Fuentes-Arderiu X, Díez-Noguera A. Circadian rhythms of serum concentrations of 12 enzymes of clinical interest. *Chronobiol Int* 1993;10:190-200. doi: 10.3109/07420529309073887
23. Wang F, Zhang L, Wu S, Li W, Sun M, Feng W, et al. Night shift work and abnormal liver function: is non-alcohol fatty liver a necessary mediator? *Occup Environ Med* 2019;76:83-9. doi: 10.1136/oemed-2018-105273



Investigation of the Effect of Circadian Changes on Phenytoin-Induced Hepatotoxicity in Rats

Shima Mohammadi (Ph.D.)^{1,2}, Zahra Ghanbari (M.D.)³, Hossein Khastar (Ph.D.)⁴, Behzad Garmabi (Ph.D.)^{1,2*}

1- Neuroscience Research Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

2- Department of Neuroscience, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

3- Student Research Committee, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

4- School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 3 December 2024, Accepted: 5 January 2025

Abstract:

Introduction: Circadian rhythms are 24-hour cycles that regulate physiological processes and contribute to homeostasis. Cytochrome P450, which is involved in the hepatic metabolism of phenytoin, is influenced by these rhythms. This study investigates the effect of circadian rhythms on phenytoin-induced liver toxicity.

Methods: Twenty-five Wistar rats (180–220 g) were divided into five groups. Four groups received phenytoin (50 mg/kg) at different times (8 a.m., 12 p.m., 4 p.m., and 8 p.m.) for five days, while the control group received normal saline. Twenty-four hours after the last injection, plasma levels of SGPT, SGOT, ALP, and GGT enzymes were measured.

Results: Phenytoin significantly increased the levels of SGPT, SGOT, ALP, and GGT compared to the control group, indicating liver damage. Comparison across different injection times showed that the impact of timing on GGT and SGOT was more pronounced than on ALP and SGPT. Changes in GGT, ALP, and SGOT levels were significant, whereas SGPT levels showed no statistically significant difference.

Conclusion: The results suggest that phenytoin-induced hepatotoxicity is time-dependent. This highlights the importance of considering circadian rhythms in adjusting the dose and timing of drug administration, as it may help reduce side effects and optimize drug efficacy.

Keywords: Circadian, Hepatotoxicity, Phenytoin, Cytochrome P450, Rat.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: B. Garmabi, Email: behzad.garmabi@gmail.com

Citation: Mohammadi Sh, Ghanbari Z, Khastar H, Garmabi B. Investigation of the effect of circadian changes on phenytoin-induced hepatotoxicity in rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2025;20(1):10-17.

