

The Protective Effect of Betaine on Inhibition of Rifampin-Induced Liver Damage in Rats

P. Peiravi¹ , H. Mohammadi (Pharm D, PhD)^{*2} , A. Rashidiani-Rashidabadi (PhD)³ ,
M. Mohammadi (PhD)⁴ , A. Adineh (Pharm D, PhD)² 

1.Student Research Committee, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, I.R.Iran.

2.Razi Herbal Medicine Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad,, I.R.Iran.

3.Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad,I.R.Iran.

4.Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, I.R.Iran.

***Corresponding Author: H. Mohammadi (Pharm D, PhD)**

Address: Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, I.R.Iran.

Tel: +98 (66) 36232362. **E-mail:** hamidrezamohammadi65@yahoo.com

Article Type ABSTRACT

Research Paper

Background and Objective: Rifampin is one of the antibiotic drugs that is usually used to treat tuberculosis and is considered a strong toxic agent for the liver. Therefore, this study was conducted to investigate the effects of betaine administration on rifampin-induced liver damage in rats.

Methods: This experimental study was conducted on 60 male Wistar rats in 6 groups of 10. Liver damage and induction of oxidative stress were caused by oral administration of rifampin 100 mg/kg of body weight for 14 consecutive days. Different doses of betaine (10, 50 and 100 mg/kg of body weight) were administered by gavage to the sick rats. At the end of the treatment course, liver damage caused by rifampin was investigated by examining serum biochemical factors (ALT, AST, LDH, Bilirubin), and reactive oxygen species (ROS), glutathione (GSH), antioxidant capacity (FRAP), and lipid peroxidation (LPO), and histopathological changes in liver tissue were evaluated.

Findings: Serum ALT level in the group that received rifampin (201 ± 7821) was significantly higher than the control group (26 ± 281) ($p=0.0031$). The serum level of AST in the group that only received rifampin (684 ± 118) was significantly higher than the control group (50 ± 1021) ($AST=706$). The amount of ROS was also significantly increased in the patient group ($216,000 \pm 1001$) compared to the control group ($982,090 \pm 8332$) ($p=0.002$). Also, the amount of LPO in the group that received rifampin (8.24 ± 1.63) increased significantly compared to the control group (1.19 ± 0.13) ($p=0.021$).

Conclusion: The results of the study showed that betaine can reduce liver damage caused by rifampin and its consequences.

Keywords: Betaine, Liver Damage, Rifampin, Oxidative Stress.

Received:

Jun 9th 2023

Revised:

Oct 11st 2023

Accepted:

Nov 12nd 2023

Cite this article: Peiravi P, Mohammadi H, Rashidiani-Rashidabadi A, Mohammadi M, Adineh A. The Protective Effect of Betaine on Inhibition of Rifampin-Induced Liver Damage in Rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2024; 26: e58.

اثر محافظتی بتائین بر مهار آسیب کبدی ناشی از ریفامپین در موش‌های صحرایی

پگاه پیروی^۱، حمیدرضا محمدی^۱ (Pharm D, PhD)*^۲، علی رشیدیانی رشیدآبادی^۳ (PhD)^۳،
محسن محمدی^۴ (PhD)^۴، احمد آدینه^۲ (Pharm D, PhD)^۲

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۲. مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۳. گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۴. گروه فارماکولوژی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

نوع مقاله

چکیده

مقاله پژوهشی

سابقه و هدف: ریفامپین، یکی از داروهای آنتی بیوتیک است که به طور معمول جهت درمان بیماری سل مورد استفاده قرار می‌گیرد و یک عامل توکسیک قوی برای کبد به شمار می‌رود. لذا این مطالعه به منظور بررسی اثرات تجویز بتائین در آسیب کبدی ناشی از ریفامپین در موش‌های صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۶۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار در ۶ گروه ۱۰ تایی انجام شد. آسیب کبدی و القا استرس اکسیداتیو با تجویز خوراکی ریفامپین ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای مدت ۱۴ روز متوالی ایجاد شد. دوزهای مختلف بتائین (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت گاوژ به موش‌های بیمار تجویز شد. در پایان دوره آسیب کبدی ناشی از ریفامپین با بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم (ALT، AST، LDH، Bilirubin)، میزان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، گلوتاتیون (GSH)، ظرفیت آنتی اکسیدانی (FRAP)، پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) و تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد مورد ارزیابی قرار گرفت. **یافته‌ها:** سطح سرمی ALT در گروهی که ریفامپین دریافت کرده بود (201 ± 7821) نسبت به گروه کنترل (26 ± 281) به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p=0/0031$). سطح سرمی AST در گروهی که فقط ریفامپین تجویز شد (684 ± 118) نسبت به گروه کنترل (50 ± 1021) نیز به طور معنی‌داری بالاتر بود ($AST=706$). میزان ROS نیز در گروه بیمار (216000 ± 1001) نسبت به گروه کنترل (982090 ± 8332) به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($p=0/002$). همچنین مقدار LPO نیز در گروهی که ریفامپین دریافت کرده بود ($8/24 \pm 1/63$) نسبت به گروه کنترل ($1/19 \pm 0/13$) افزایش معنی‌داری داشت ($p=0/021$).

دریافت:

۱۴۰۲/۳/۱۹

اصلاح:

۱۴۰۲/۷/۱۹

پذیرش:

۱۴۰۲/۸/۲۱

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که بتائین می‌تواند آسیب کبدی ناشی از ریفامپین و پیامدهای ناشی از آن را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: بتائین، آسیب کبدی، ریفامپین، استرس اکسیداتیو.

استناد: پگاه پیروی، حمیدرضا محمدی، علی رشیدیانی رشیدآبادی، محسن محمدی، احمد آدینه. اثر محافظتی بتائین بر مهار آسیب کبدی ناشی از ریفامپین در موش‌های صحرایی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۱۴۰۳؛ ۲۶: ۵۵۸.

این مقاله مستخرج از پایان نامه پگاه پیروی دانشجوی رشته داروسازی و طرح تحقیقاتی به شماره ۲۴۹۶ دانشگاه علوم پزشکی لرستان می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر حمیدرضا محمدی

آدرس: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی و سم شناسی.

تلفن: ۰۶۶-۳۶۲۳۳۶۲ رایانامه: hamidrezamohammadi65@yahoo.com

مقدمه

کبد دارای نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی می‌باشد. کبد در اعمال حیاتی متنوعی از جمله متابولیسم، ترشح و ذخیره دخالت دارد. علاوه بر این سم زدایی انواع داروها و گزنوبیوتیک‌ها در کبد روی می‌دهد. از این رو بیماری‌های کبدی از مشکلات جدی سلامتی می‌باشند. بیماری‌های کبدی ممکن است به هیپاتیت حاد و مزمن، هپاتوسیس و سیروز طبقه بندی شوند. بیماری‌های کبدی توسط مواد شیمیایی سمی، مصرف الکل، عفونت‌ها و اختلالات اتوایمن ایجاد می‌شوند (۱). امروزه تنها راه درمان سیروز، پیوند کبد است که به دلیل کمبود دهنده و وجود بیماری‌های قابل سرایت در اثر این پیوند به افراد و همچنین عود مجدد بیماری و از بین رفتن مجدد کبد، درصد درمان از این راه کمتر شده و دانشمندان برای یافتن راه‌های درمانی جدید به سمت درمان‌های ضد فیبروزی متمایل شده‌اند (۲).

بیماری سل همچنان به عنوان یک مسئله بهداشت عمومی در سراسر جهان مطرح می‌باشد، به خصوص اینکه با شیوع بیماری ایدز یکی از عوامل عمده منجر به فوت در مبتلایان بزرگسال می‌باشد (۳). ریفامپین (Rifampin) که به عنوان یک آنتی بیوتیک به طور معمول برای درمان بیماری سل مورد استفاده قرار می‌گیرد، یک عامل توکسیک قوی برای کبد به شمار می‌رود (۴). به طوری که هیپاتیت بالینی در ۱/۱٪ از افراد مسنی که با ریفامپین درمان شده‌اند، گزارش شده است (۵). مکانیسم آسیب کبد در اثر ریفامپین هنوز به طور کامل مشخص نشده است. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که ریفامپین از طریق آسیب اکسیداتیو منجر به پراکسیداسیون لیپیدها و تخلیه آنتی اکسیدان تری پپتید گلوتاتیون (GSH) و آنزیم‌های زدا کننده رادیکال‌های آزاد می‌شود (۶).

در مطالعه‌ای که توسط Yang و همکاران انجام شد مشخص شد که مصرف ریفامپین باعث افزایش قابل توجه میزان مالون دی آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز شد (۷). همچنین در مطالعه John و همکارانش مشخص شد که رادیکال‌های آزاد حاصل از واکنش متابولیت‌های ریفامپین با اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شده که خود منجر به تشکیل پراکسیدهای لیپیدی (مالون دی آلدئید) و در نهایت از بین رفتن یکپارچگی غشای هپاتوسیت‌ها و آسیب کبد می‌شود (۸).

مطالعه Ghasemian Yadegari و همکاران نیز مطرح کننده آسیب کبدی ریفامپین در نتیجه افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو و کاهش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پروکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز) در موش‌های تیمار شده با این دارو بود (۹). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که آسیب سلول‌های کبدی در مسمومیت ریفامپین به واسطه تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش سیستم آنتی اکسیدانی بدن رخ می‌دهد که این امر نشانه‌ای از استرس اکسیداتیو می‌باشد (۱۰ و ۱۱). بنابراین شرایط استرس اکسیداتیو و آسیب کبدی متعاقب آن به واسطه ریفامپین از مکانیسم‌های پاتوژن درگیر در سمیت کبدی ناشی از ریفامپین می‌باشد. از آنجا که استرس اکسیداتیو نقش عمده‌ای در بروز تغییرات پاتوفیزیولوژیک کبد در سمیت کبدی ریفامپین را دارد، از این رو استفاده از آنتی اکسیدان‌های قوی به عنوان ترکیبات محافظت کننده در این راستا می‌تواند بسیار کمک کننده باشد.

بتائین به عنوان یک ترکیب چهارتایی آمونیم که به اسامی تری متیل گلیسین، گلیسین بتائین و اسکی نورین هم شناخته شده است (۱۲). بتائین در میکروارگانیزم‌ها، گیاهان و حیوانات وجود دارد (۱۳). این ترکیب مشتقی از اسید آمینه گلیسین است و به صورت متیل آمین دارای سه گروه فعال از نظر بیوشیمیایی می‌باشد (۱۴). یکی دیگر از اثرات مهم بتائین که اکثر محققان روی آن تاکید کرده‌اند، عمل آنتی اکسیدانی بتائین است. در مطالعات متعددی به خاصیت مفید آنتی اکسیدانی بتائین در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو، در بافت‌های مغز (۱۵)، کلیه (۱۶)، بیضه (۱۷) و از جمله کبد (۱۸ و ۱۹) موش‌های صحرایی به وفور اشاره شده است. در شرایط طبیعی بدن، گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی خنثی می‌شود. لیکن در شرایطی مانند تولید بیش از حد این واسطه‌های فعال یا عدم کفایت سیستم آنتی اکسیدانی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول شده و به پروتئین‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA آسیب وارد می‌شود (۲۰-۲۲). از آنجایی که بتائین یک آنتی اکسیدان قوی و بالقوه می‌باشد با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد منجر به کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود و در مطالعات قبلی اثرات مفید بتائین در بافت کبدی مشاهده شده است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثرات محافظتی تجویز بتائین بر مهار آسیب‌های کبدی القا شده ناشی از داروی ریفامپین در موش‌های صحرایی است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی پس از تایید در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی لرستان با کد IR.LUMS.REC.1401.037، در سال ۱۴۰۱ در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام شد. کلیه اصول اخلاقی بر اساس دستورالعمل جهانی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت. آنتی اکسیدان بتائین (تری متیل گلیسین) از شرکت سیگماآلد ریچ خریداری شد، داروی ریفامپین نیز از داروخانه‌های خرم آباد تهیه گردید. برای انجام این مطالعه، تعداد ۶۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 22 گرم، به طور تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

(۱) گروه شاهد فقط نرمال سالین دریافت کردند.

(۲) گروه کنترل که فقط ۱۰۰ mg/kg/day ریفامپین برای ۱۴ روز متوالی دریافت نمودند (۹).

(۳) گروه درمان که ۱۰۰ mg/kg/day ریفامپین برای ۱۴ روز متوالی + ۱۰ mg/kg/day بتائین برای ۱۴ روز متوالی دریافت نمودند (۱۸).

(۴) گروه درمان که ۱۰۰ mg/kg/day ریفامپین برای ۱۴ روز متوالی + ۵۰ mg/kg/day بتائین برای ۱۴ روز متوالی دریافت نمودند.

(۵) گروه درمان که ۱۰۰ mg/kg/day ریفامپین برای ۱۴ روز متوالی + ۱۰۰ mg/kg/day بتائین برای ۱۴ روز متوالی دریافت نمودند.

(۶) گروه بتائین که ۱۰۰ mg/kg/day (بالاترین دوز) بتائین برای ۱۴ روز متوالی دریافت نمودند.

شرایط تغذیه و نگهداری برای تمام گروه‌ها یکسان (به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۱±۲ درجه سانتیگراد) در نظر گرفته شد. جیره غذایی یکسان و آب به طور آزاد در دسترس حیوان قرار گرفت. جهت گاوژ بر اساس وزن حیوان با نیدل مناسب ریفامپین و بتائین در ویال‌های جداگانه تهیه و در حجم‌های مساوی به اندازه ۱ ml تجویز شدند. لازم به ذکر است که ریفامپین یک ساعت قبل از تجویز بتائین گاوژ می‌شود. در پایان دوره آزمایش و ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق، جهت اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی شامل: آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، بیلی روبین تام، نمونه خون ناشتا از ناحیه سینه و از سمت چپ بدن حیوان گرفته شد و سرم نمونه‌های خون با سانتریفوژ (سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد) جدا گردید (۲۴، ۲۳).

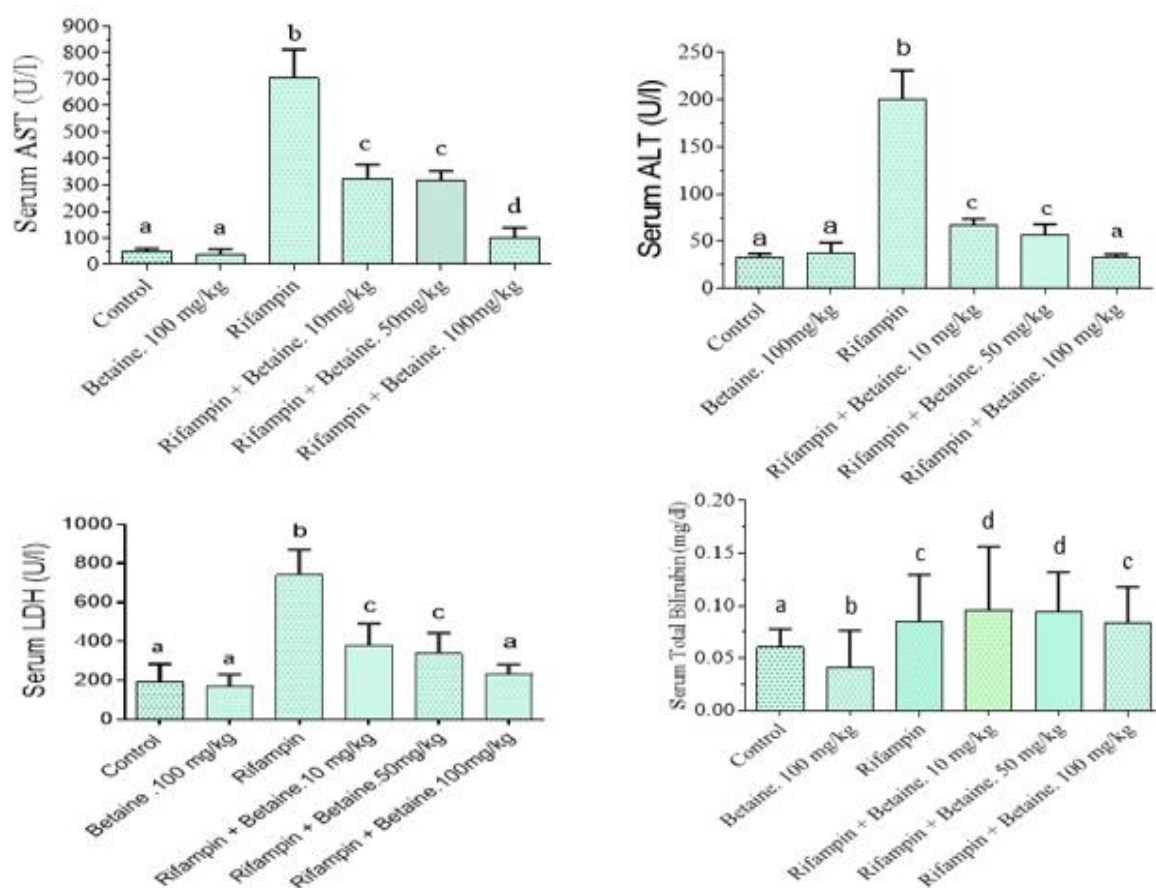
برای تعیین وضعیت آنتی اکسیدانی کبد، همه موش‌ها پس از بیهوشی، با ایجاد در رفتگی در مهره گردن به راحتی کشته شدند. کبد موش‌ها سریعاً خارج و در نرمال سالین بسیار سرد شستشو داده شد. سپس هموژنات ۱۰٪ و ۱/۱۵ (W/V) کلرید پتاسیم تهیه گردید. هموژنات در ۷۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد. بر اساس پروتکل‌های استاندارد از محلول رویی جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپید (LPO)، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (FRAP) و میزان گلووتاتیون (GSH) براساس پروتکل‌های قبلی استفاده گردید (۲۸-۲۵). جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژیک، نمونه‌های کبد در محلول بافر فرمالین (۴٪ سدیم فسفات مونوبازیک، ۶۴٪ سدیم فسفات دی‌بازیک، ۱۰٪ فرمالدئید در آب مقطر) تثبیت شد. برش بافت با استفاده از پارافین با قطر ۵ میکرون تهیه گردید و با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) برای مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری آماده شد (۲۹).

تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار Graphpad Prism 6 انجام شد. (حداقل سه تکرار در هر آزمایش) و نتایج به صورت Mean+SEM گزارش گردید و مقایسه در بین گروه‌های مختلف با استفاده از تست آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شده و سپس با تست مقایسه چند گانه Tukey تجزیه و تحلیل آماری شد و $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

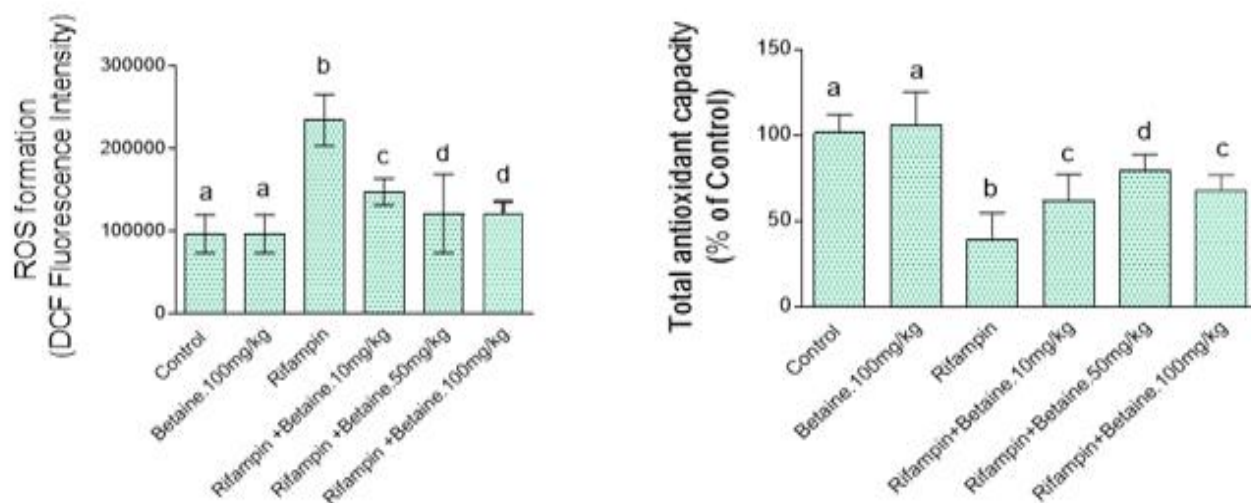
یافته ها

نتایج حاصل از بررسی بیومارکرهای بیوشیمیایی در این پژوهش نشان داد در موش‌های گروه داروی سمی (دریافت کننده ریفامپین)، سطوح سرمی آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) در مقایسه با گروه شاهد، به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در گروه درمان با بتائین سطوح افزایش یافته سرمی آنزیم‌های ALT، AST و LDH ناشی از ریفامپین را به طور معنی‌دار کاهش داد ($p < 0.05$) (نمودار ۱).

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در این پژوهش نشان داد سطح پراکسیداسیون لیپیدی و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در حیوانات دریافت کننده ریفامپین بالاتر از گروه کنترل است. استفاده از بتائین باعث تخفیف پراکسیداسیون لیپیدی و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه شد (نمودار ۲ و جدول ۱). سطح گلووتاتیون احیا و میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی در بافت کبد نیز مورد سنجش قرار گرفت (نمودار ۲ و جدول ۱). مشاهده شد که سطح گلووتاتیون و میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کبد در گروهی که در معرض داروی ریفامپین قرار می‌گیرند به پایین‌ترین سطح خود می‌رسد (نمودار ۲ و جدول ۱). استفاده از بتائین باعث جلوگیری از تخلیه گلووتاتیون در گروه‌های مختلف مورد مطالعه شد (جدول ۱).



نمودار ۱. نتایج حاصل از بررسی بیومارکرهای بیوشیمیایی

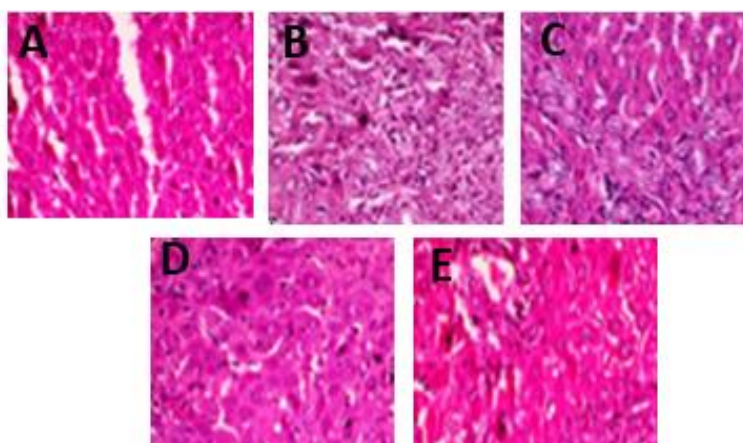


نمودار ۲. نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو

جدول ۱. بررسی میزان لیپید پراکسیداسیون و سطح گلوکوتایون بافت کبد در گروه‌های مختلف مورد مطالعه و بررسی تاثیر تجویز

بتائین بر آن		
گروه‌های مورد مطالعه	لیپید پروکسیداسیون (nmol/mg wet tissue)	سطح گلوکوتایون (μmol/mg wet tissue)
کنترل	۲/۰۸±۰/۰۶ ^a	۷۰/۹۵±۳/۱۰ ^a
بتائین (۱۰۰ mg/kg)	۲/۳۲±۰/۲۹ ^a	۶۹/۱۹±۶/۲۱ ^a
ریفامپین	۹/۶۳±۰/۸۲ ^b	۱۸/۲۴±۵/۵۷ ^b
ریفامپین + بتائین (۱۰ mg/kg)	۴/۱۹±۰/۳۴ ^c	۲۹/۲۷±۸/۶۹ ^c
ریفامپین + بتائین (۵۰ mg/kg)	۴/۳۴±۰/۵۴ ^c	۳۲/۶۲±۶/۰۱ ^c
ریفامپین + بتائین (۱۰۰ mg/kg)	۲/۹۶±۰/۰۹ ^c	۴۳/۱۹±۶/۵۱ ^c

تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد حیوانات مورد آزمایش نشان داد، هنگامی که داروی ریفامپین به حیوانات تجویز می‌شود، تغییرات بافت کبد به صورت نکروز، احتقان سینوزوئیدی و التهاب مجاری پورت در بافت کبد بروز می‌کند در گروه‌های دریافت کننده بتائین با دوزهای مختلف آسیب‌های بافتی ناشی از تجویز ریفامپین کاهش یافت (شکل ۱).



شکل ۱. تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد در حیوانات تحت درمان با بتائین. A: کنترل، B: ریفامپین (۱۰۰ mg/kg/day)، C: گروه دریافت کننده ریفامپین+بتائین (۱۰ mg/kg/day)، D: گروه دریافت کننده ریفامپین+بتائین (۵۰ mg/kg/day)، E: گروه دریافت کننده ریفامپین+بتائین (۱۰۰ mg/kg/day)

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر تجویز ریفامپین در موش‌های صحرایی باعث افزایش معنی‌دار سطوح سرمی آنزیم‌های ALT، AST و LDH در مقایسه با گروه شاهد سالم گردید که با یافته‌های دیگر محققین همخوانی دارد (۹۳۰). به طور کلی افزایش سطح سرمی آنزیم‌های فوق نشان دهنده وقوع نکروز و آسیب ساختار غشای هپاتوسیت‌ها می‌باشد (۳۱).

در این مطالعه، تجویز بتائین منجر به کاهش معنی‌دار سطوح سرمی آنزیم‌های ALT، AST و LDH در مقایسه با گروه شاهد سالم گردید که از این لحاظ با نتایج Heidari و همکاران، Esfahani و همکاران، Hasanzadeh-Moghadam و همکاران و Wang و همکاران همخوانی دارد (۱۸ و ۳۲-۳۴). برگشت مقادیر افزایش یافته آنزیم‌های سرمی شاخص آسیب کبد در اثر ریفامپین به حالت طبیعی خود به وسیله بتائین می‌تواند در اثر جلوگیری از نشت آنزیم‌های داخل سلولی به دلیل حفظ یکپارچگی غشای سلول و یا نوزایش و ترمیم سلول‌های آسیب دیده کبد باشد (۳۵).

در مطالعه حاضر، مصرف ریفامپین افزایش قابل توجه میزان لیپیدپروکسیداسیون را به همراه داشت. نتایج بررسی حاضر از این لحاظ با یافته‌های Ghasemian Yadegari و همکاران و Santhosh و همکاران همخوانی داشت (۳۶ و ۹). ریفامپین یک القا کننده قوی سیستم سیتوکروم P450 است که تولید متابولیت‌های سمی از داروها و اتصال کووالان آن‌ها به ماکرومولکول‌های کبدی را سبب می‌شود (۳۷). بنابراین تبدیل ریفامپین به متابولیت‌های فعال که قادر به اتصال به ماکرومولکول‌های موجود در هیپاتوسیت‌ها هستند، منجر به آسیب کبد می‌شود (۳۸). یافته‌های مطالعه حاضر مکانیسم فوق را مورد تأیید قرار داد؛ چرا که در بافت کبد موش‌های دریافت کننده ریفامپین، افزایش معنی‌داری در میزان پراکسیداسیون لیپیدی مشاهده گردید که خود به موزات کاهش قابل ملاحظه آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بررسی شد.

رادیکال‌های آزاد حاصل از واکنش متابولیت‌های ریفامپین با اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شده که خود منجر به تشکیل پراکسیدهای لیپیدی و در نهایت از بین رفتن یکپارچگی غشای هیپاتوسیت‌ها و آسیب کبد می‌شود (۳۹).

با تجویز بتائین در کنار ریفامپین میزان پراکسیداسیون لیپیدی سلول‌های کبدی به طور معنی‌داری کاهش یافت. بتائین یک آنتی اکسیدان قوی است که با کاهش رادیکال‌های آزاد منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌های کبد می‌شود (۴۰).

در این مطالعه مشخص شد که دوزهای مختلف بتائین (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg)، به طور موثری از تنش اکسیداتیو و مکانیزم‌های پس از آن در بافت کبد موش‌های صحرایی جلوگیری می‌کند. از این رو بخش بزرگی از اثرات محافظتی بتائین در موش‌های تحت تیمار می‌تواند از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد در نتیجه مصرف بتائین اعمال شود. چرا که مشخص شده است که رادیکال‌های آزاد، سبب افزایش تخریب DNA (۴۱) و تغییر در اسکلت سلولی (۴۲) می‌شوند. افزایش بیش از حد رادیکال‌های آزاد در کبد در اثر ریفامپین، منجر به کاهش ظرفیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌شود. در این پژوهش مشخص شد که در موش‌های صحرایی که ریفامپین مصرف کرده بودند میزان ظرفیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به طور معنی‌داری کاهش یافت. از طرفی پس از تجویز بتائین در گروه‌های مورد مطالعه میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به طور معنی‌داری افزایش یافت، بنابراین بتائین می‌تواند با مهار رادیکال‌های آزاد و بهبود سلول‌های کبدی بر قدرت سیستم آنتی اکسیدانی بیافزاید و باعث جبران فعالیت آنتی اکسیدانی شود. نتایج بررسی حاضر از این لحاظ با نتایج Alirezaei و همکاران، Zhai و همکاران و Abdelrazek و همکاران همخوانی دارد (۴۳-۴۵).

سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی هستند که یک سیستم تدافعی را علیه گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species= ROS) تشکیل داده‌اند (۴۶). در مطالعه حاضر متعاقب مصرف ریفامپین، کاهش قابل توجهی در سطح گلووتاتیون کبدی حاصل شد. مصرف بتائین در کنار ریفامپین منجر به افزایش قابل توجهی در میزان سطح گلووتاتیون شد به طوری که هر چه میزان بتائین مصرفی بیشتر شود سطح گلووتاتیون سلول‌های کبدی به میزان چشمگیری افزایش یافت که این می‌تواند به علت بهبود سلول‌های کبدی پس از تجویز بتائین باشد. در نتایج پژوهش Alipourfard و همکاران و Alirezaei و همکاران این افزایش سطح گلووتاتیون در نتیجه مصرف بتائین مشاهده شد (۴۷ و ۴۸). نقش مفید بتائین در بافت کبد به خوبی نشان داده شده است. برای خصوصیات محافظت سلولی بتائین چندین مکانیزم پیشنهاد شده است. یکی از مهم‌ترین این مکانیزم‌ها، فعالیت آنتی اکسیدانی بتائین است که در مطالعات پیشین به آن اشاره شده است (۴۷ و ۴۸). تنش اکسیداتیو و اختلال در کنش میتوکندری دو رخداد سلولی مرتبط با هم هستند.

در این بررسی، تغییرات دژنراتیو گسترده و نکروز نواحی مرکز لوبولی توسط ریفامپین ایجاد گردید. یافته‌های هیستوپاتولوژی در مورد کبد در این مطالعه، اثرات مستقیم و بارز توکسیک ریفامپین را منعکس می‌گرداند با تجویز بتائین، در کنار ریفامپین، فقط تغییرات دژنراتیو خفیف مشاهده گردید و اثری از نکروز دیده نشد که این خود اثرات حفاظتی بتائین در مقابل سمیت کبدی ریفامپین را نشان داد. در مجموع، نتایج به دست آمده نقش محافظتی بتائین بر سمیت کبدی ریفامپین را تصدیق می‌کند. بنابراین می‌توان بعد از انجام کارآزمایی‌های بالینی تصادفی، بتائین را در انسان‌هایی که داروی ریفامپین را مصرف می‌کنند، جهت پیشگیری از آسیب‌های جبران ناپذیر کبد مورد استفاده قرار داد. لکن، شناخت دقیق ماده، تعیین دقیق مکان و مکانیسم یا مکانیسم‌های مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی آن در این مورد نیاز به مطالعات آتی دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی لرستان و تمامی افراد شرکت کننده به جهت تصویب و حمایت مالی از این تحقیق قدردانی می‌گردد.

References

1. Raju SB, Battu RG, Manju latha YB, Srinivas K. Antihepatotoxic activity of smilax china roots on CCL4 induced hepatic damage in rats. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012;4:494-6.
2. Dhar D, Baglieri J, Kisseleva T, Brenner DA. Mechanisms of liver fibrosis and its role in liver cancer. *Exp Biol Med* (Maywood). 2020;245(2):96-108.
3. Gaude GS, Chaudhury A, Hattiholi J. Drug-induced hepatitis and the risk factors for liver injury in pulmonary tuberculosis patients. *J Family Med Prim Care*. 2015;4(2):238-43.
4. Parthasarathy R, Sarma GR, Janardhanam B, Ramachandran P, Santha T, Sivasubramanian S, et al. Hepatic toxicity in South Indian patients during treatment of tuberculosis with short-course regimens containing isoniazid, rifampicin and pyrazinamide. *Tubercle*. 1986;67(2):99-108.
5. Hwang SJ, Wu JC, Lee CN, Yen FS, Lu CL, Lin TP, et al. A prospective clinical study of isoniazid-rifampicin-pyrazinamide-induced liver injury in an area endemic for hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol*. 1997;12(1):87-91.
6. Attri S, Rana SV, Vaiphei K, Sodhi CP, Katyal R, Goel RC, et al. Isoniazid- and rifampicin-induced oxidative hepatic injury--protection by N-acetylcysteine. *Hum Exp Toxicol*. 2000;19(9):517-22.
7. Yang Y, Jiang L, Wang S, Zeng T, Xie K. Diallyl trisulfide protects the liver against hepatotoxicity induced by isoniazid and rifampin in mice by reducing oxidative stress and activating Kupffer cells. *Toxicol Res (Camb)*. 2016;5(3):954-62.
8. John P, Bhatia N, Kale P, Doshi G. Benefit of Betaine in Isoniazid-Rifampicin-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Iran J Toxicol*. 2023;17(4):61-9.
9. Ghasemian Yadegari J, Mohammadi H, Haidari G, Adineh A, Ghanadi K, Mohammadian M, et al. Investigating the protective effects of cinnamon bark hydroalcoholic extract on the inhibition of liver damage induced by rifampin in male Wistar rats. *Yafte*. 2022;24(3):59-71. [In Persian]
10. Sabina EP, Peter S J, Prathap S, Geetha A. A comparison of hepatoprotective activity of Bacoside to Silymarin treatment against a combined Isoniazid and Rifampin-induced hepatotoxicity in female Wistar rats. *J Histotechnol*. 2019;42(3):128-36.
11. Ogunmoyole T, Ola-Awe AM, Fatile OG. Ethanolic extract of *Mucuna pruriens* leaves ameliorates carbon tetrachloride and rifampicin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in wistar albino rat. *BMC Complement Med Ther*. 2021;21(1):282.
12. Wang Z, Yao T, Pini M, Zhou Z, Fantuzzi G, Song Z. Betaine improved adipose tissue function in mice fed a high-fat diet: a mechanism for hepatoprotective effect of betaine in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010;298(5):G634-42.
13. Ommati MM, Heidari R. Betaine, heavy metal protection, oxidative stress, and the liver. In: Patel VB, Preedy VR, editors. *Toxicology: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. Academic Press; 2021. p. 387-95.
14. Craig SA. Betaine in human nutrition. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(3):539-49.
15. Alirezaei M, Khoshdel Z, Dezfoulan O, Rashidipour M, Taghadosi V. Beneficial antioxidant properties of betaine against oxidative stress mediated by levodopa/benserazide in the brain of rats. *J Physiol Sci*. 2015;65(3):243-52.
16. Ommati MM, Farshad O, Azarpira N, Shafaghat M, Niknahad H, Heidari R. Betaine alleviates cholestasis-associated renal injury by mitigating oxidative stress and enhancing mitochondrial function. *Biologia*. 2021;76(1):351-65.

17. Alirezaei M, Jelodar G, Ghayemi Z. Antioxidant defense of betaine against oxidative stress induced by ethanol in the rat testes. *Int J Pept Res Ther*. 2012;18(3):239-47.
18. Heidari R, Niknahad H, Sadeghi A, Mohammadi H, Ghanbarinejad V, Ommati MM, et al. Betaine treatment protects liver through regulating mitochondrial function and counteracting oxidative stress in acute and chronic animal models of hepatic injury. *Biomed Pharmacother*. 2018;103:75-86.
19. Kwon DY, Jung YS, Kim SJ, Park HK, Park JH, Kim YC. Impaired sulfur-amino acid metabolism and oxidative stress in nonalcoholic fatty liver are alleviated by betaine supplementation in rats. *J Nutr*. 2009;139(1):63-8.
20. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress : relationship with exercise and training. *Sports Med*. 2006;36(4):327-58.
21. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011;25(3):287-99.
22. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem*. 2017;86:715-48.
23. Valizadeh R, Mohammadi H, Ghaffarian Bahraman A, Mohammadi M, Ghasemian Yadegari J. Protective Effects of Cinnamon Bark Hydroalcoholic Extract on Inhibition of Isoniazid-Induced Liver Damage in Male Wistar Rats. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2023;33(221):1-11. [In Persian]
24. Mohammadi H, Heidari R, Niknezhad SV, Jamshidzadeh A, Farjadian F. In vitro and in vivo Evaluation of Succinic Acid-Substituted Mesoporous Silica for Ammonia Adsorption: Potential Application in the Management of Hepatic Encephalopathy. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:10085-98.
25. Ommati MM, Mohammadi H, Mousavi K, Azarpira N, Farshad O, Dehghani R, et al. Metformin alleviates cholestasis-associated nephropathy through regulating oxidative stress and mitochondrial function. *Liver Res*. 2021;5(3):171-80.
26. Ghaffarian-Bahraman A, Shahroozian I, Jafari A, Ghazi-Khansari M. Protective effect of magnesium and selenium on cadmium toxicity in the isolated perfused rat liver system. *Acta Med Iran*. 2014;52(12):872-8.
27. Omidi M, Ghafarian-Bahraman A, Mohammadi-Bardbori A. GSH/GSSG redox couple plays central role in aryl hydrocarbon receptor-dependent modulation of cytochrome P450 1A1. *J Biochem Mol Toxicol*. 2018;32(7):e22164.
28. Mohammadi H, Sayad A, Mohammadi M, Niknahad H, Heidari R. N-acetyl cysteine treatment preserves mitochondrial indices of functionality in the brain of hyperammonemic mice. *Clin Exp Hepatol*. 2020;6(2):106-15.
29. Isirima JC, Uahomo PO. Effect of *acalypha wilkesiana* on oxidative stress and histopathology of liver and kidney in alloxan-induced diabetic albino rats. *J Complement Altern Med Res*. 2023;22(4):11-25.
30. Lenaerts AJ, Johnson CM, Marrieta KS, Gruppo V, Orme IM. Significant increases in the levels of liver enzymes in mice treated with anti-tuberculosis drugs. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;26(2):152-8.
31. Zhu H, Lu J, Zhou W, Jia C. Resveratrol protects against chronic alcohol-induced liver disease in a rat model. *STEMedicine*. 2022;3(3):e133.
32. Esfahani PP, Mahdavinia M, Khorsandi L, Rezaei M, Nikraves H, Khodayar MJ. Betaine protects against sodium arsenite-induced diabetes and hepatotoxicity in mice. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2023;30(4):10880-9.
33. Hasanzadeh-Moghadam M, Khadem-Ansari MH, Farjah GH, Rasmi Y. Hepatoprotective effects of betaine on liver damages followed by myocardial infarction. *Vet Res Forum*. 2018;9(2):129-35.
34. Wang C, Ma C, Gong L, Dai S, Li Y. Preventive and therapeutic role of betaine in liver disease: A review on molecular mechanisms. *Eur J Pharmacol*. 2021;912:174604.

- 35.Arumugam MK, Paal MC, Donohue Jr TM, Ganesan M, Osna NA, Kharbanda KK. Beneficial Effects of Betaine: A Comprehensive Review. *Biology (Basel)*. 2021;10(6):456.
- 36.Santhosh S, Sini TK, Anandan R, Mathew PT. Hepatoprotective activity of chitosan against isoniazid and rifampicin-induced toxicity in experimental rats. *Eur J Pharmacol*. 2007;572(1):69-73.
- 37.Powell-Jackson PR, Tredger JM, Smith HM, Davis M, Williams R. Effect of isoniazid administration on selected rat and mouse hepatic microsomal mixed-function oxidases and in vitro [14C]acetylhydrazine-derived covalent binding. *Biochem Pharmacol*. 1982;31(24):4031-4.
- 38.Georgieva N, Gadjeva V, Tolekova A. New isonicotinoylhydrazones with SSA protect against oxidative-hepatic injury of isoniazid. *Trakia J Sci*. 2004;2(1):37-43.
- 39.Naik SR. Antioxidants and their role in biological functions: An overview. *Indian Drug*. 2003;40(9):501-16.
- 40.Balkan J, Parldar FH, Doğru-Abbasoğlu S, Aykaç-Toker G, Uysal M. The effect of taurine or betaine pretreatment on hepatotoxicity and prooxidant status induced by lipopolysaccharide treatment in the liver of rats. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005;17(9):917-21.
- 41.Lopes S, Jurisicova A, Sun JG, Casper RF. Reactive oxygen species: potential cause for DNA fragmentation in human spermatozoa. *Hum Reprod*. 1998;13(4):896-900.
- 42.Hinshaw DB, Sklar LA, Bohl B, Schraufstatter IU, Hyslop PA, Rossi MW, et al. Cytoskeletal and morphologic impact of cellular oxidant injury. *Am J Pathol*. 1986;123(3):454-64.
- 43.Alirezaei M, Jelodar G, Ghayemi Z, Khordad Mehr M. Antioxidant and methyl donor effects of betaine versus ethanol-induced oxidative stress in the rat liver. *Comp Clin Path*. 2014;23:161-8.
- 44.Zhai Y, Tang H, Zhang Q, Peng Y, Zhao L, Zhang B, et al. The Protective effect of *Lycium barbarum* betaine and effervescent tablet against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Nat Prod Commun*. 2023;18(3):1-13.
- 45.Abdelrazek F, Salama DA, Alharthi A, Asiri SA, Khodeer DM, Qarmush MM, et al. Glycine Betaine Relieves Lead-Induced Hepatic and Renal Toxicity in Albino Rats. *Toxics*. 2022;10(5):271.
- 46.Ji LL, Stratman FW, Lardy HA. Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Arch Biochem Biophys*. 1988;263(1):150-60.
- 47.Alipourfard F, Shajiee H, Nazari-Serenjeh F, Hojati V, Alirezaie M. Betaine attenuates oxidative stress and cognitive dysfunction in an amyloid β -induced rat model of Alzheimer's disease. *Res Pharm Sci*. 2023;18(3):270-8.
- 48.Alirezaei M, Jelodar G, Niknam P, Ghayemi Z, Nazifi S. Betaine prevents ethanol-induced oxidative stress and reduces total homocysteine in the rat cerebellum. *J Physiol Biochem*. 2011 Dec;67(4):605-12.