Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

مقاله پژوهشی

اثر سولفید هیدروژن برون‌زاد و درون‌زاد بر سطح پلاسمایی رنین و اریتروپویتین در مسمومیت کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین در موش صحرایی

امین عبداله‌زاده فرد[۱]، اکرم آهنگرپور[۲]، محمدکاظم غریب ناصری[۳]، معصومه احمدی‌زاده[۴]، ایران رشیدی[۵]، طه جلالی[۶]

تاریخ دریافت 1394/03/01 تاریخ پذیرش 1394/05/05

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سولفید هیدروژن به خاطر دارا بودن اثر محافظت سلولی در پیش‌گیری و درمان اختلالات زیادی استفاده می‌شود. اثر سولفید هیدروژن بر سیستم هورمونی کلیه در مسمومیت کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین نامشخص می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی اثرات سیستم هورمونی کلیه در مسمومیت کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین در موش صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۶۰ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ داولی به ۶ گروه: کنترل (C)، مسمومیت کلیوی با سیس پلاتین (CP, 6mg/kg, i.p,)، مسمومیت کلیوی درمان شده با دهنده سولفید هیدروژن (NaHS, 100 µmol/kg)، دریافت‌کننده پروپارژیل گلیسین (مهارکننده آنزیم تولید سولفید هیدروژن، PAG 50mg/kg, i.p.)، پروپارژیل+سیس پلاتین (PAG+CP) و گروه پروپارژیل+سولفید هیدروژن+سیس پلاتین (PAG+NaHS+CP) تقسیم شدند. حیوانات شش روز بعد از تزریق داروها تحت بیهوشی کشته شدند و نمونه خون جهت آزمایشات جمع‌آوری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اوره و کراتینین به‌طور معنی‌داری در گروه مسمومیت کلیوی با سیس‌پلاتین بالاتر از گروه کنترل بود. غلظت اریتروپویتین پلاسما در گروه مسمومیت کلیوی سیس‌پلاتین در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. غلظت رنین در گروه دریافت‌کننده پروپارژیل گلیسین مختصری در مقایسه با بقیه گروه‌ها افزایش داشت. درمان موش‌های صحرایی با دهنده سولفید هیدروژن (NaHS) توانست این تغییرات را به‌صورت معنی‌داری برگرداند.

بحث و نتیجه‌گیری: درمان با NaHS از افزایش اریتروپویتین، اوره و کراتینین ایجادشده با سیس پلاتین جلوگیری کرده است. سولفید هیدروژن احتمالاً با اثرات محافظت سلولی خود از قبیل خواص آنتی‌اکسیدانی از تغییرات هورمونی در مسمومیت کلیوی با سیس‌پلاتین جلوگیری می‌کند.

کلمات کلیدی: رنین، اریتروپویتین، سولفید هیدروژن، سیس‌پلاتین، مسمومیت کلیوی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره ششم، ص 466-459، شهریور 1394

آدرس مکاتبه: اهواز، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، تلفن: 09166080817

Email: akramahangarpour@gmail.com

مقدمه

سیس پلاتین (سیس- دی آمین دی کلرو پلاتینیوم) یکی از داروهای پرمصرف و قوی در شیمی‌درمانی می‌باشد (۱). این دارو جهت درمان انواع زیادی از سرطان‌ها ازجمله سرطان بیضه، تخمدان، سرویکس، تومورهای سرو گردن و کارسینوم سلول‌های کوچک استفاده می‌شود (۲). القای سمیت کلیوی ناشی از سیس پلاتین ممکن است استفاده مطلوب کلینیکی از این دارو را محدود نماید (۱، ۳). در داخل سلول‌های کلیوی، سیس پلاتین باعث کاهش غیرطبیعی فعالیت ATPase شده و آسیب ناتوان‌کننده به میتوکندری وارد می‌کند. همچنین باعث القاء توقف چرخه سلولی و اختلال در سیستم نقل‌وانتقال سلولی می‌شود.

[۱] استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، ارومیه، ایران

[۲] دانشیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] استاد گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران

[۴] استاد گروه سم شناسی دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران

[۵] استاد گروه پاتولوژی دانشکده پزشکی، بیمارستان شفا، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران

[۶] استاد گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

مجموع این اثرات درنهایت باعث القاء مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول[1] و یا مرگ سلول ناشی از نکروز خواهد شد (۴).

سیس پلاتین باعث اختلال در سیستم دفاعی اکسیدانی سلول شده و به DNA آسیب می‌رساند. درمان توسط آنتی‌اکسیدان‌های شناخته‌شده از قبیل آلفا-توکوفرول، ویتامین C و N-استیل سیتئین می‌تواند تا حدی مانع از بروز عوارض سمی ناشی از اثرات اکسیدان‌ها گردد (۶،۵).

به دنبال کشف NO به‌عنوان یک ناقل پیام گازی شکل[2]، منوکسید کربن (CO) پیدا شد که اثرات مشابهی داشت. سومین عضو خانواده ناقلین پیام گازی شکل که شناسایی شد سولفید هیدروژن (H2S)، یک مولکول دارای بوی نامطبوع بود که مدت‌ها به‌عنوان گاز سمی شناخته می‌شد. Warenycia و همکارانش اولین بار گزارش دادند که سولفید هیدروژن در غلظت‌های بسیار پائین به‌صورت درون‌زاد[3] تولید می‌شود. این کشف زمانی رخ داد که آن‌ها اثرات مسمومیت حاد سولفید هیدروژن را در مغز بررسی می‌کردند (۷).

سپس Hosoki و همکارانش گزارش دادند که آنزیم تولید کننده سولفید هیدروژن در ایلئوم، ورید پورت و آئورت سینه‌ای وجود دارد و پیشنهاد کردند که سولفید هیدروژن ممکن است شل کننده درون‌زاد عضله صاف باشد (۸). این کشفیات باعث علاقه مندی بیشتر به تعیین نقش فیزیولوژیک سولفید هیدروژن در سیستم‌های بیولوژیکی شد. سه آنزیم شناخته‌شده در سلول باعث تولید درون‌زاد سولفید هیدروژن در بافت‌های پستانداران می‌شوند که آنزیم سیستاتیونین- بتا - سینتاز (CBS)، سیستاتیونین گاما لیاز (CSE = CGL) و آنزیم ۳- مرکاپتو پیروات سولفات ترانسفراز (3-MST) نام دارند. در بیشتر بافت‌ها CBS و CGL کاتالیزور واکنش تولید سولفید هیدروژن می‌باشند (۹).

اعمال فیزیولوژیک سولفید هیدروژن، این گاز را در ردیف یک محافظت کننده مناسب برای قلب، مغز، کبد، کلیه و ریه‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از ایسکمی-رپرفیوژن (I/R) قرار داده است. در سال‌های اخیر اثرات محافظت سلولی سولفید هیدروژن درون‌زاد و برون‌زاد[4] در مدل‌های مختلف آسیب ایسکیمیک به‌صورت آزمایشگاهی[5] بررسی شده است (۱۱،۱۰). در موجودات زنده اثرات سولفید هیدروژن درون‌زاد برای اولین بار از طریق به کار بردن مهارکننده‌های آنزیم CGL و دست کاری ژنتیکی ژن آنزیم CGL در موش‌های سوری مطالعه شد. در حالی که اثرات سولفید هیدروژن برون‌زاد با به کار بردن دهنده‌های سولفید هیدروژن به شکل_های سولفید سدیم (Na2S)، سولفید هیدروژن سدیم (NaHS) و یا گاز سولفید هیدروژن (H2S) انجام گرفته است (۱۴-۱۲) .در مطالعه قبلی ما نشان داده شد، سولفید هیدروژن احتمالاً با اثرات محافظت سلولی خود از قبیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی از پیشرفت مسمومیت کلیوی سیس‌پلاتینی جلوگیری می‌کند (۱۵).

در مطالعه Zafirov و همکارانش سیستم هورمونی کلیه در مسمومیت کلیوی ناشی از سیس پلاتین مورد بررسی قرار گرفت، نقش اریتروپویتین به‌عنوان عامل محافظت کننده سلولی در مسمومیت کلیوی ناشی از سیس پلاتین مورد تأیید قرار گرفت (۱۶) مطالعات دیگر مشخص کردند که سولفید هیدروژن ممکن است فعالیت رنین را بوسیله کاهش سنتز و آزادی رنین مهار کند، آن‌ها پیشنهاد دادند که سولفید هیدروژن ارزش درمانی برای هیپرتانسیون کلیوی-عروقی دارد (۱۷). با توجه به محل اصلی تولید اریتروپویتین در کلیه و دخالت مستقیم رنین در سنتز آنژیوتانسین ۲، بر آن شدیم که در این مطالعه با بررسی اثر سولفید هیدروژن، این دو عملکرد مهم و حیاتی کلیه مورد بررسی قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۶۰ سر موش صحرایی نر از نژاد اسپراگ- داولی به ۶ گروه ده‌تایی تقسیم شدند. ۱- گروه کنترل (C) ۲- گروه سیس‌پلاتین (۶ میلیگرم به ازاء کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی(,CP ۳- گروه سیس‌پلاتین درمان شده با سولفید هیدروژن سدیم (۱۰۰ میکرومول به ازاء کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی(,NaHS ۴- گروه دریافت کننده پروپارژیل گلیسین (مهارکننده آنزیم تولید سولفید هیدروژن، ۵۰ میلیگرم به ازاء کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی PAG) ۵- پروپارژیل با سیس‌پلاتین (PAG+CP) و ۶- پروپارژیل، سولفید هیدروژن سدیم با سیس‌پلاتین (PAG+NaHS+CP)(۱۵).

موش‌های صحرایی با رعایت دوره ۱۲ ساعته تاریکی روشنایی و در دمای ۲۳±۲ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. مطالعه بر اساس رعایت قرارداد هلسینکی کار با حیوانات آزمایشگاهی و منشور اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز صورت گرفت. سیس پلاتین، پروپارژیل گلیسین و سولفید هیدوژن سدیم از شرکت سیگمای آلمان خریداری شد.

بعد از حل کردن PAG (پروپارژیل گلیسین) در نرمال سالین، محلول تهیه شده به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن

[2] Apoptosis
[2] gasotransmitter
[3] Endogen
[5] Exogen
[5] In vitro

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

بدن ۱ ساعت قبل از تزریق سیس‌پلاتین و یا سولفید هیدروژن سدیم، به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد (۱۸).

در روز ششم بعد از تزریق داروها، حیوانات را با زایلازین و کتامین بیهوش و بعد از باز کردن قفسه سینه نمونه خون به مقدار ۵ سی‌سی مستقیماً از قلب حیوانات گرفته و بلافاصله جهت جدا کردن نمونه پلاسما با دور g ×۳۰۰۰ به مدت زمان ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه‌های پلاسما جهت اندازه‌گیری پارامترهای پلاسمایی تا روز انجام آزمایشات در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

کراتینین و اوره پلاسما با دستگاه اتوآنالایزر (BT3000، آلمان) اندازه‌گیری شد (۱۹).

برای اندازه‌گیری غلظت اریتروپویتین (EPO) پلاسما از کیت ELISA (شرکت IBL، آمریکا) استفاده شد. روش اندازه‌گیری اریتروپویتین، ELISA دوطرفه برای اندازه‌گیری شکل بیولوژیکی ۱۶۵ آمینواسیدی اریتروپویتین می‌باشد. در این روش از دو آنتی‌بادی منوکلونال موش برای دو محل مشخص شده مولکول اریتروپویتین استفاده می‌شود. یکی از آنتی بادی‌های منوکلونال موش بیوتینه۱ و آنتی بادی منوکلونال دیگر برای شناسایی با هورس رادیش پراکسیداز (HRP[2]) برچسب‌دار شده است. در این آزمایش کالیبراتورها، کنترل‌ها و نمونه‌های مورد نظر به میزان ۲۰۰ میکرولیتر داخل چاهک‌ها پوشیده شده با استرپتاویدین[3] ریخته شد سپس ۲۵ میکرولیتر آنتی بادی بیوتین‌دار و بعد از آن ۲۵ میکرولیتر آنتی‌بادی متصل به آنزیم اضافه گردید. میکروپلیت به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و به دور از نور قرار داده شد. در انتهای آزمایش چاهک‌های کوچک برای حذف ترکیبات متصل نشده ۵ بار شستشو داده شدند. ۱۵۰ میکرولیتر تترامتیل بنزیدین (TMB) اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی نگهداری شد. اتصال آنزیمی در این مرحله با سوبسترا یعنی تترامتیل بنزیدین (TMB) حاصل می‌شود. ۱۰۰ میکرولیتر محلول اسیدی موجود در کیت برای توقف واکنش و ایجاد رنگ زرد اضافه گردید. شدت رنگ زرد مستقیماً با غلظت اریتروپویتین در نمونه‌ها متناسب است. در مدت زمان ۱۰ دقیقه نمونه‌ها با الیزا ریدر با طول موج ۴۵۰ قرائت شد. منحنی دوز-پاسخ مقدار جذب نوری در مقابل غلظت، با استفاده از کالیبراتورها و تهیه منحنی استاندارد حاصل می‌شود. غلظت اریتروپویتین در نمونه‌های کنترل و نمونه‌های آزمایش شده مستقیماً از این منحنی بدست آمد. حداقل غلظت قابل اندازه‌گیری توسط کیت mU/ml ۱/۲ می‌باشد.

برای بررسی سیستم رنین- آنژیوتانسین، غلظت مستقیم رنین (DR)[4] پلاسمایی اندازه‌گیری شد. این آزمایش با روش بررسی ایمونولوژیکی CLIA[5] با استفاده از کیت لیاسون[6] برای اندازه‌گیری رنین مستقیم و سیستم تمام خودکار لیاسون صورت گرفت. اساس این روش این است که بعد از واکنش نمونه‌ها با آنتی‌بادی منوکلونال و آنتی‌بادی کنژوگه مواد اضافی و متصل نشده شستشو داده می‌شوند. اضافه کردن ماده واکنشگر باعث ایجاد یک واکنش شیمیایی نورانی می‌شود. سیگنال‌های نوری ایجاد شده به‌عنوان واحدهای نوری نسبی (RLU) تعریف می‌شوند که مستقیماً" متناسب با غلظت رنین می‌باشند. سنجش رنین به دنبال استفاده از کالیبراتورهای با ویژگی بالا صورت می‌گیرد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی میزان کراتینین و اوره سرم نشان می‌دهد که در گروه سیس‌پلاتین کراتینین (٪۲۷۱) و اوره (٪۲۲۶) در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (P<۰/۰۱). تجویز NaHS در گروه سیس‌پلاتین میزان کراتینین (٪۱۲۸) و اوره سرم (٪۱۵۹) را به‌طور معنی‌داری پایین آورده است (P<۰/۰۱). تجویز همزمان پروپارژیل گلیسین و سیس‌پلاتین، میزان کراتینین و اوره سرم را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سیس‌پلاتین افزایش داده است (P<۰/۰۱) تزریق پروپارژیل گلیسین باعث افزایش مختصری در کراتینین و اوره پلاسما در مقایسه با گروه کنترل شده است. در صورتیکه استفاده از سیس‌پلاتین بعد از تزریق پروپارژیل گلیسین باعث تشدید اثرات سیس‌پلاتین در افزایش اوره و کراتینین پلاسما شده است (جدول ۱).

نتایج حاصل از بررسی غلظت اریتروپویتین پلاسما در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که غلظت اریتروپویتین پلاسما در گروه دریافت کننده سیس‌پلاتین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری داشته است (P<۰/۰۵). در گروه دریافت‌کننده پروپارژیل گلیسین به تنهایی، افزایش مختصری در اریتروپویتین پلاسما مشاهده می‌شود که در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نیست. درمان با سیس‌پلاتین بعد از تزریق پروپارژیل گلیسین در مقایسه با گروه دریافت کننده سیس پلاتین باعث تشدید اثر افزایش دهنده سیس پلاتین بر غلظت پلاسمایی اریتروپویتین شده است. در این گروه غلظت اریتروپویتین در مقایسه با گروه دریافت

[1] Biotinylated
[2] Horseradish Peroxidase
[3] Streptavidin

[4] Direct renin
[5] Chemiluminescent immunoassay
[6] LIAISON

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

کننده پروپارژیل و گروه کنترل بطور معنی‌داری (P<۰/۰۱) افزایش پیدا کرده است (شکل ۱).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری غلظت رنین پلاسما در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که غلظت رنین پلاسما در گروه‌های مورد مطالعه تفاوتی با هم نداشت، تنها در گروه دریافت کننده پروپارژیل گلیسین در مقایسه با بقیه گروه‌ها مقداری افزایش داشت که از نظر آماری معنی‌دار (P>۰/۰۵) نمی‌باشد (شکل ۲).

جدول (1): مقادیر کراتینین، اوره پلاسمای موش‌های صحرایی

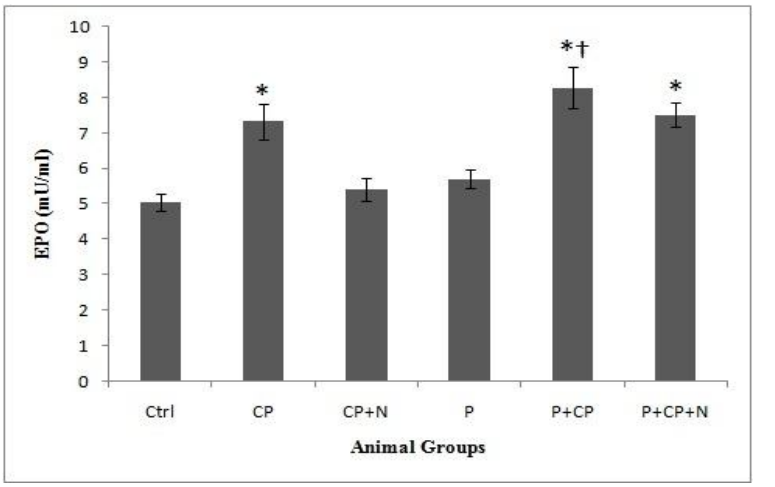
گروه‌های مورد مطالعه	کراتینین پلاسما (mg/dL)	اوره سرم پلاسما (mg/dL)
کنترل	۰/۴۶±۰/۰۳	۳۲/۱±۲
سیس‌پلاتین	۱/۲۵±۰/۰۹*	۷۲/۸۲±۳/۴*
NaHS+ سیس‌پلاتین	۰/۵۹±۰/۰۵#	۵۱/۳۰±۱/۸*#
پروپارژیل گلیسین (PAG)	۰/۵۱±۰/۰۶#	۳۸/۰۱±۵/۵#
PAG+ سیس‌پلاتین	۱/۶۵±۰/۰۸*#†	۹۹/۵۵±۵*#†
NaHS + PAG +سیس‌پلاتین	۱/۴۶±۰/۰۸*#†	۹۱/۵±۳/۳*#†

مقادیر به‌صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشند. سیس‌پلاتین (۶mg/kg) باعث افزایش کراتینین و اوره پلاسما شده است. سولفید هیدروژن سدیم (۱۰۰µmol/kg) از این اثرات سیس‌پلاتین جلوگیری کرده است (n= 8-10).

× با گروه کنترل مقایسه شده (P<۰/۰۵).

با گروه سیس‌پلاتین مقایسه شده (P<۰/۰۵).

† با گروه پروپارژیل گلیسین مقایسه شده است (P<۰/۰۵).



شکل (1): غلظت اریتروپویتین پلاسما

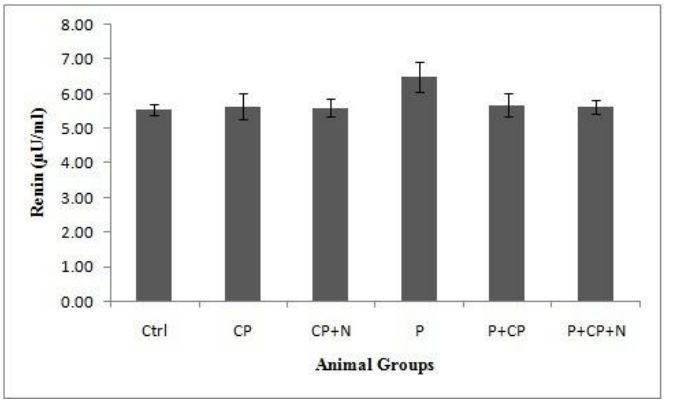
مقادیر به‌صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشند. سیس‌پلاتین (۶mg/kg) باعث افزایش غلظت اریتروپویتین پلاسما شده است. سولفید هیدروژن سدیم (۱۰۰µmol/kg) از این اثر سیس‌پلاتین جلوگیری کرده است.

(Ctrl=Control, CP=Cisplatin, N=NaHS, P=PAG & one way ANOVA, Tukey test, n= 8-10)

× با گروه کنترل مقایسه شده (P<۰/۰۵).

† با گروه پروپارژیل گلیسین مقایسه شده است (P<۰/۰۵).

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017



شکل (2): غلظت رنین پلاسما در گروه‌های مختلف

مقادیر به‌صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشند. غلظت رنین پلاسما در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری ندارند تنها در گروه دریافت کننده پروپارژیل گلیسین (۵۰mg/kg) مقدار کمی در مقایسه با بقیه گروه‌ها افزایش یافته است.

(Ctrl=Control, CP=Cisplatin, N=NaHS, P=PAG & one way ANOVA, Tukey test, n= 8-10)

بحث و نتیجه گیری

سیس‌پلاتین یکی از عوامل ضد توموری برای درمان تومورهای سخت مختلف می‌باشد. محدودیت کلیدی استفاده از این دارو مسمومیت کلیوی آن است (۲۰،۱۷). در این مطالعه تمام موش‌های صحرایی در طول مطالعه تا روز کشته شدن زنده ماندند. تجویز سیس‌پلاتین با دوز ۶ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، همانند بیشتر مطالعات انجام شده قبلی باعث نارسایی حاد کلیوی شد (۱۷، ۲۱). این نارسایی حاد کلیوی با بالارفتن سطح کراتینین و اوره خون مشخص می‌شود. در این مطالعه درمان با سولفید هیدروژن سدیم (NaHS) به‌عنوان دهنده سولفید هیدروژن بطور قابل ملاحظه‌ای از این تغییرات جلوگیری کرده است اما این جبران کامل نیست.

در مطالعه قبلی ما بررسی پارامترهای گوناگون نشان داد که سولفید هیدروژن برون‌زاد می‌تواند نقش محافظتی در آسیب ناشی از سیس‌پلاتین داشته باشد (۱۵، ۱۸). در بررسی نقش تولید درون‌زاد سولفید هیدروژن با به کار بردن پروپارژیل گلیسین به‌عنوان مهارکننده تولید درون‌زاد سولفید هیدروژن مشخص شد که سولفید هیدروژن درون‌زاد نقش محافظتی دارد. چرا که تجویز پروپارژیل گلیسین باعث نقص عملکرد کلیه البته نه به شدت سیس‌پلاتین شد. اما نکته قابل اشاره این است که پروپارژیل گلیسین برای مهار یکی ازآنزیم‌های تولید کننده سولفید هیدروژن یعنی آنزیم سیستاتیونین گاما لیاز به کار می‌رود در صورتی که آنزیم سیستاتیونین بتا سنتاز به عمل خود ادامه می‌دهد پس طبیعتاً این سیستم به‌طور کامل مهار نشده است. مطالعات قبلی نشان داده که سیستاتیونین بتا سنتاز و سیستاتیونین گاما لیاز به فراوانی در بافت‌ها توزیع یافته‌اند (۱۹). در بعضی از بافت‌ها از قبیل کبد و کلیه دو تا آنزیم به ساخت سولفید هیدروژن کمک می‌کنند (۲۲). لذا برای بررسی دقیق‌تر تأثیر مهار سولفید هیدروژن درون‌زاد در کلیه بهتر است از دو مهارکننده به‌طور همزمان استفاده کرد تا بهتر در مورد نتایج قضاوت شود. از آنجایی که تغییرات عملکرد کلیه در مسمومیت ناشی از سیس‌پلاتین به دور از تأثیر روی سیستم هورمونی کلیه نخواهد بود لذا در این مطالعه تغییرات هورمون اریتروپوئتین و سیستم رنین - آنژیوتانسین مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که اریتروپوئتین صناعی باعث کاهش آسیب کلیوی و اختلال عملکردی و همچنین باعث افزایش تحمل به دوزهای بالای سیس‌پلاتین و هم چنین کاهش التهاب و آپوپتوز سلول‌های توبولی در مسمومیت ناشی از سیس‌پلاتین شده است (۲۳،۲۴). اریتروپویتین در پاسخ به ایسکمی از کلیه‌ها ترشح می‌شود. در این مطالعه تجویز سیس‌پلاتین باعث افزایش غلظت اریتروپوئتین پلاسما شده که این افزایش ممکن است پاسخی به استرس اکسیداتیو ناشی از سیس‌پلاتین بوده باشد (۱۵) و درمان با سولفید هیدروژن سدیم مانع افزایش غلظت آن شده است که می‌تواند بیانگر نقش محافظتی سولفید هیدروژن در ایسکمی کلیه باشد. به‌طوریکه مهار سیستم درون‌زاد تولید سولفید هیدروژن توسط پروپارژیل گلیسین باعث افزایش مختصری در اریتروپویتین شده که می‌تواند بیانگر این باشد که این سیستم به‌طور طبیعی آسیب کلیه به ایسکمی را کاهش می‌دهد. بررسی سیستم رنین- آنژیوتانسین با اندازه‌گیری

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

رنین مستقیم پلاسما صورت گرفت که فقط در گروه دریافت کننده پروپارژیل گلیسین سطح رنین پلاسما مقداری بالا رفته که البته در مقایسه با بقیه گروه‌ها معنی‌دار نبود و این تغییر اندک ممکن است به خاطر تغییرات همودینامیکی بوده باشد که در تأیید یک مطالعه قبلی بوده که اظهار می‌دارد سولفید هیدروژن باعث مهار فعالیت پلاسمایی رنین می‌شود (۲۵). در مطالعه ما مهار تولید درون‌زاد سولفید هیدروژن باعث بالا رفتن مختصر رنین پلاسما شده که البته ممکن است این افزایش در ابتدای مطالعه بیشتر بوده با گذشت زمان سازگاری حاصل شده است. اثبات این موضوع نیاز به گرفتن نمونه‌های روزانه پلاسما جهت بررسی سطح این هورمون‌ها دارد. این تغییرات می‌توانند به خاطر اثرات همودینامیکی ناشی از مهار تولید درون‌زاد سولفید هیدروژن باشد چرا که یکسری مطالعات نشان داده سولفید هیدروژن به‌عنوان یک عامل شل کننده عروقی عمل می‌کند (۲۶) در نتیجه مهار تولید درون‌زاد آن ممکن است، باعث اختلال همودینامیکی شود که البته اثبات این موضوع نیاز به بررسی دقیق همو دینامیکی کلیه خواهد داشت.

در این مطالعه ما نشان دادیم که پیش‌درمانی با سولفید هیدرون سدیم باعث بهبود یکسری علائم مسمومیت کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین ازجمله تغییرات اریتروپویتین پلاسما شود. این اثرات محافظتی سولفید هیدروژن سدیم شاید در ارتباط نزدیک با کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود همودینامیک کلیوی باشد. مطالعات داروشناختی و سم‌شناسی بیشتری برای تأیید بی ضرر بودن و کارایی سولفید هیدروژن سدیم برای جلوگیری از مسمومیت کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین لازم می‌باشد این مطالعات می‌تواند تاثیرات محافظت سلولی بالقوه سولفید هیدروژن در مسمومیت کلیوی در انسان و حیوانات را ثابت کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز و مرکز تحقیقات فیزیولوژی به دلیل اختصاص بودجه لازم (PRC-105) برای این مطالعه تقدیر و تشکر می‌کنند.

References:

1. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. Kidney Int 2008; 73: 994-1007.
2. Fillastre JP, Raguenez-Viotte G. Cisplatin nephrotoxicity. Toxicol Lett 1989; 46: 163-75.
3. Zhou H, Kato A, Yasuda H, Miyaji T, Fujigaki Y, Yamamoto T et al. The induction of cell cycle regulatory and DNA repair proteins in cisplatin-induced acute renal failure. Toxicol Appl Pharmacol 2004; 200: 111-20.
4. Santos NA, Catao CS, Martins NM, Curti C, Bianchi ML, Santos AC. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. Arch Toxicol 2007; 81: 495-504.
5. Schaaf GJ, Maas RF, de Groene EM, Fink-Gremmels J. Management of oxidative stress by heme oxygenase-1 in cisplatin-induced toxicity in renal tubular cells. Free Radic Res 2002; 36: 835-43.
6. Ajith TA, Usha S, Nivitha V. Ascorbic acid and alpha-tocopherol protect anticancer drug cisplatin induced nephrotoxicity in mice: a comparative study. Clin Chim Acta 2007; 375: 82-6.
7. Warenycia MW, Goodwin LR, Benishin CG, Reiffenstein RJ, Francom DM, Taylor JD et al. Acute hydrogen sulfide poisoning. Demonstration of selective uptake of sulfide by the brainstem by measurement of brain sulfide levels. Biochem Pharmacol 1989; 38: 973-81.
8. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. Biochem Biophys Res Commun 1997; 237: 527-31.
9. Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. Antioxid Redox Signal 2003;5(4):493–501.
10. Bian JS, Yong QC, Pan TT, Feng ZN, Ali MY, Zhou S et al. Role of hydrogen sulfide in the cardioprotection caused by ischemic preconditioning in the rat heart and cardiac

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

myocytes. J Pharmacol Exp Ther 2006; 316: 670-8.

11. Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. FASEB J 2004; 18: 1165-7.
12. Elrod JW, Calvert JW, Morrison J, Doeller JE, Kraus DW, Tao L, et al. Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia–reperfusion injury by preservation of mitochondrial function. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104: 15560-5.
13. Xu Z, Prathapasinghe G,Wu N, Hwang SY, Siow YL, O K. Ischemia–reperfusion reduces cystathionine-beta-synthase-mediated hydrogen sulfide generation in the kidney. Am J Physiol Renal Physiol 2009; 297: 27-35.
14. Francescato HDC, Cunha FQ, Costa RS, Júnior FB, Boim MA, Arnoni CP et al. Inhibition of hydrogen sulphide formation reduces cisplatin-induced renal damage. Nephrol Dial Transplant 2010; 10.1093.
15. Abdollahzade Fard A, Ahangarpour A, Gharibnaseri M. K, Jalali T, Rashidi I. Ahmadzadeh M. Effects of Hydrogen Sulfide on Oxidative Stress, TNF-α Level and Kidney Histological Changes in Cisplatin Nephrotoxicity in Rat. J Phys Pharm Adv 2013; 3: 57-65.
16. Zafirov D, Petrusevska G, Sikole A, Trojacanec J, Labacevski N, Kostova E et al. Erythropoietin reduces cumulative nephrotoxicity from cisplatin and enhances renal tubular cell proliferation. Prilozi 2008; 29-2: 167-83.
17. Lu M, Liu YH, Goh HS, Wang JJ, Yong QC, Wang R et al. Hydrogen sulfide inhibits plasma renin activity. J Am Soc Nephrol 2010; 21: 993-1002.
18. Ahangarpour A, Abdollahzade Fard A, Gharibnaseri MK, Jalali T, Rashidi I. Hydrogen sulfide ameliorates the kidney dysfunction and damage in cisplatin-induced nephrotoxicity in rat. Vet Res Forum 2014; 5: 121-7.
19. Tripatara P, Patel NS, Collino M, Gallicchio M, Kieswich J, Castiglia S et al. Generation of endogenous hydrogen sulfide by cystathionine gamma- lyase limits renal ischemia/reperfusion injury and dysfunction. Lab Invest 2008; 88: 1038–48.
20. Ramesh G, Reeves WB. Inflammatory cytokines in acute renal failure. Kidney Int Suppl 2004; 91: 56–61.
21. Ali BH, Al Moundhri MS, Tag Eldin M, Nemmar A, Tanira MO. The ameliorative effect of cysteine prodrug L-2-oxothiazolidine-4-carboxylic acid on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. Fundam Clin Pharmacol 2007; 21: 547–53.
22. Szabo C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. Nat Rev Drug Discov 2007; 6: 917–35.
23. Choi DE, Jeong JY, Lim BJ, Lee KW, Shin Y-T, Na K-R. Pretreatment with darbepoetin attenuates renal injury in a rat model of cisplatin-induced nephrotoxicity. Korean J Intern Med 2009;24(3):238–46.
24. Zafirov D, Petrusevska G, Sikole A, Trojacanec J, Labacevski N, Kostova E, Jakovski K, Atanasovska E, Petrov S. Erythropoietin reduces cumulative nephrotoxicity from cisplatin and enhances renal tubular cell proliferation. Prilozi 2008; 29-2: 167-83.
25. Lu M, Liu YH, Goh HS, Wang JJ, Yong QC, Wang R, Bian JS. Hydrogen sulfide inhibits plasma renin activity. J Am Soc Nephrol 2010; 21: 993-1002.
26. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H2S as a novel endogenous gaseous K (ATP) channel opener. EMBO J 2001; 20: 6008–16.

Original Article

EFFECTS OF EXOGENOUS AND ENDOGENOUS HYDROGEN SULFIDE ON PLASMA RENIN AND ERYTHROPOIETIN IN CISPLATIN-INDUCED NEPHROTOXICITY IN RAT

Amin Abdollahzade Fard[1], Akram Ahangarpour[2], Mohammad Kazem Gharibnaseri[3], Masomeh Ahmadizadeh[4], Iran Rashidi[5], Taha Jalali[6]*

Received: 22 May , 2015; Accepted: 27 Jul , 2015

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:50 +0330 on Saturday September 23rd 2017

Abstract

Background & Aims: Hydrogen sulfide due to cytoprotective effects can be used in prevention and treatment of many disorders. The effects of hydrogen sulfide onhormonal system in rat kidneys with cisplatin (CP) nephrotoxicity are unknown. The purpose of the experiments was to survey the effects of hydrogen sulfide on rat kidneys hormonal system with cisplatin nephrotoxicity.

Materials & Methods: In this experimental study, sixty male Sprague-Dawley rats were divided into six groups: control group (C), nephrotoxic group received single dose of cisplatin (CP, 6mg/kg, i.p.), nephrotoxic groups that received single dose NaHS (100µmol/kg, i.p.), propargyl glycine (PAG=CSE inhibitor, 50 mg/kg, i.p.), PAG+CP and PAG+NaHS+CP. Animals were sacrificed 6 days after CP (or vehicle) treatment, and blood was collected for laboratory analysis.

Results: The results showed that plasma urea and creatinine in cisplatin nephrotoxic rats were significantly higher than the control group. Plasma erythropoietin in cisplatin nephrotoxicity group increased when compared to the control group. There was a slight increase in plasma renin concentration in the PAG group when compared to other groups. When the hydrogen sulfide was administered to the experimental rats, these changes were reversed.

Conclusion: Hydrogen sulfide prevented erythropoietin, urea, and creatinine changes in cisplatin nephrotoxic rats probably by its cytoprotective effects such as antioxidant properties.

Keywords: Renin, Erythropoietin, Hydrogen Sulfide, Cisplatin, Nephrotoxicity

Address: Department of Physiology, Physiology Research Center, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
Tel: +989166080817
Email: akramahangarpour@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2015: 26(6): 466 ISSN: 1027-3727

[1]*Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[2] *Associate Professor, Physiology Research Center, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran (Corresponding Author)*
[3] *Professor, Physiology Research Center, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran*
[4] *Professor, Physiology Research Center, Toxicology Department, Faculty of Health Sciences, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran*
[5] *Professor, Department of Pathology, Shafa Hospital, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran*
[6] *Professor, Experimental Sciences Department, Faculty of Paramedicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran*