● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ هجدهم، شمارهٔ ۱، ص ۹-۱، ۱۳۸۹

مقالهٔ پژوهشی

اثرات پیش‌درمانی پنتوکسی‌فیلین و N – استیل‌سیستئین بر آسیب کلیوی ایجاد شده به‌دنبال ایسکمی – پرفیوژن مجدد کبد

فاطمه دلاوری[۱]، مهری کدخدایی*[۲]، بهجت سیفی[۳]، سعیده میکائیلی[۴]، صدیقه شمس[۵]، حمید شهیدی[۶]

خلاصه

مقدمه: ایسکمی – پرفیوژن مجدد (IR) کبد از پیامدهای شایع اعمال جراحی به‌ویژه پیوند کبد می‌باشد که اغلب موجب اختلال عملکرد این عضو می‌شود. آسیب حاد کبدی ایجاد شده می‌تواند منجر به پاسخ‌های التهابی سیستمیک گردد که در نهایت موجب آسیب اعضای دور مانند قلب، ریه و کلیه می‌شود. در این مطالعه اثر یک مهارکننده قدرتمند تشکیل سیتوکین‌های التهابی (پنتوکسی‌فیلین، PTX) و یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده (N-استیل‌سیستئین، NAC) بر اختلال عملکردی و استرس اکسیداتیو کلیه متعاقب IR کبدی مورد بررسی قرار گرفت.

روش: پنج گروه ۶ تایی موش صحرایی نر استفاده شد. گروه اول شاهد (Sham) جراحی بود و در گروه دوم ۹۰ دقیقه ایسکمی نسبی توسط مسدودنمودن شریان کبدی و ورید باب ایجاد و سپس پرفیوژن مجدد (۴ ساعت) القا شد. در گروه سوم و چهارم، PTX و NAC به‌صورت مجزا قبل از ایسکمی و در گروه آخر هر دو دارو با هم به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. آلانین‌ترانس‌آمیناز (ALT)، آسپارتات‌ترانس‌آمیناز (AST)، آلکالین‌فسفاتاز (ALK)، اوره و کراتینین (Cr) سرم و هم‌چنین میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) و گلوتاتیون (GSH) بافت کلیه در کلیه گروه‌ها اندازه‌گیری و مقایسه شد.

یافته‌ها: افزایش معنی‌دار غلظت سرمی ALT و AST بیانگر ایجاد آسیب کبدی در گروه IR نسبت به گروه شاهد (Sham) بوده و افزایش معنی‌دار غلظت اوره و نیز افزایش میزان MDA و کاهش GSH بافت کلیه در گروه IR نسبت به گروه شاهد بیانگر ایجاد آسیب عملکردی و اکسیداتیو کلیوی بود. تجویز PTX به تنهایی و PTX+NAC توانست از افزایش غلظت MDA در کلیه به‌طور معنی‌داری جلوگیری نماید. هم‌چنین تجویز مجزا و هم‌زمان PTX و NAC در پیشگیری از کاهش GSH کلیوی دارای اثر قابل‌توجهی بود.

نتیجه‌گیری: پیش‌درمانی با PTX و NAC قبل از ایسکمی – پرفیوژن مجدد کبد می‌تواند اثرات حفاظتی در جلوگیری از ایجاد استرس اکسیداتیو کلیوی از طریق کاهش میزان MDA و حفظ غلظت گلوتاتیون سلولی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: ایسکمی - پرفیوژن مجدد، کبد، کلیه، شاخص‌های استرس اکسیداتیو، پنتوکسی‌فیلین، N – استیل‌سیستئین

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۲. استاد فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۳. استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۴. کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۵. استاد پاتولوژی، مرکز طبی کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۶. کارشناس آزمایشگاه، مرکز طبی کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** تهران، میدان انقلاب، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی ● **آدرس پست الکترونیک:** kadkhodm@tums.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۲/۲۴ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸۹/۴/۱۶ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۹/۵/۶

مقدمه

کبد یک عضو حیاتی است که در تبدیل مواد در بدن، حفظ هموستاز، ایجاد پاسخ ایمنی، حذف بیلی‌روبین و اسیدهای صفراوی و دفع آنتی‌بیوتیک‌ها نقش عمده‌ای دارد. ایسکمی – پرفیوژن مجدد (Ischemia-reperfusion: IR) کبد پدیده شایعی است که در موارد بالینی متعددی از قبیل آسیب، تروما و پیوند کبد دیده می‌شود (۱). آسیب حاد کبدی که در اثر IR کبد ایجاد می‌شود می‌تواند منجر به پاسخ‌های التهابی سیستمیک گردد که در نهایت موجب اختلال عملکرد ارگان‌های دور دیگر مانند قلب، ریه و کلیه می‌شود (۲).

محققان در سال‌های اخیر درصدد شناسایی مکانیسم‌های احتمالی دخیل در ایجاد اختلال در اعضای دور و یافتن راهکارهای مناسب برای پیشگیری از وقوع این عوارض هستند. بر اساس شواهد موجود، آسیب کبدی منجر به اختلال عملکردی و افزایش استرس اکسیداتیو کلیه می‌شود، بنابراین بررسی نقش سیتوکین‌های پیش التهابی و رادیکال‌های آزاد اکسیژن در ایجاد ضایعات کلیوی منجر به شکل‌گیری فرضیات این پژوهش گردید. به همین منظور از دو داروی کاربردی در کلینیک یعنی پنتوکسی‌فیلین (PTX) و N –استیل‌سیستئین (NAC) برای پیش‌درمانی استفاده شد.

PTX از مشتقات متیل‌گزانتین با نام شیمیایی 1-(5-oxohexyl)-3, 7-dimethylxanthine است که اثرات گزانتین اکسیداز را مهارمی‌کند (۳). گزانتین‌اکسیداز از عوامل مخرب سلول از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد است (۴). PTX به‌دلیل داشتن خواص متنوع بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی قادر به بهبود جریان خون مویرگی و اکسیژناسیون بافتی است (۳). هم‌چنین سبب افزایش انعطاف‌پذیری گلبول‌های خونی وکاهش ویسکوزیته خون از طریق جلوگیری از تشکیل فیبرینوژن و تجمع پلاکتی می‌شود (۵). مطالعات متعددی در مورد اثر حفاظتی آن بر اعضای مختلف بدن از جمله کبد وکلیه صورت گرفته است.

از آنجایی که گونه‌های فعال اکسیژن واسطه‌گرهای اساسی در مرحله زودرس آسیب IR هستند برخی مطالعات اثر محافظتی آنتی‌اکسیدان‌ها را در کاهش اختلال عملکرد ایسکمی – پرفیوژن مجدد مورد بررسی قرار داده‌اند. بررسی‌های گسترده آزمایشگاهی و بالینی بیانگر نقش حفاظتی عوامل آنتی‌اکسیدان در پیشگیری و درمان آسیب IR کبدی است.

N- استیل‌سیستئین با نام شیمیایی (R)-2-acetamido-3-sulfanylpropanoic acid از مشتقات اسیدآمینه L– سیستئین است که به‌دلیل داشتن گروه سولفیدریل (تیول) دارای خواص قوی آنتی‌اکسیدانی و رفتگری رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۶). این ترکیب پیش‌ساز گلوتاتیون بوده و از آنجایی که دارای اندازه و وزن مولکولی پایینی است به‌راحتی از غشای سلول عبور می‌کند و به این دلیل از لحاظ اثرات درمانی بر GSH اگزوژن برتری دارد (۷).

اثرات سودمند آن از طریق چندین مکانیسم بروز می‌نماید. NAC از طریق واکنش با هیدروژن پراکسید منجر به کاهش تولید رادیکال هیدروکسیل می‌شود. هم‌چنین با افزایش ذخائر سیتوپلاسمی گلوتاتیون، نقش مهمی در دفاع سلولی و خارج سلولی در مقابل گونه‌های فعال دارد (۸).

در شرایط طبیعی بین فرایندهای اکسیداسیون و احیا تعادل وجود دارد، ولی زمانی که تولید رادیکال‌های آزاد به سطحی می‌رسد که سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن قادر به مقابله با آنها نیست، وضعیتی رخ می‌دهد که استرس اکسیداتیو نامیده می‌شود (۹). هدف از این مطالعه، بررسی اثر تجویز مجزا و هم‌زمان پنتوکسی فیلین و N- استیل‌سیستئین به‌صورت پره ایسکمیک بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو کلیوی ایجاد شده به‌دنبال ایسکمی- پرفیوژن مجدد کبد می‌باشد.

روش بررسی

مطالعه از نوع تجربی در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران در فصل بهار و تابستان بر روی موش‌های صحرایی نر تهیه شده از حیوان خانه گروه فیزیولوژی انجام شده است. تعداد ۳۰ سر موش صحرایی به‌طور تصادفی در پنج گروه شش‌تایی زیر بررسی شدند:

۱. شاهد (Sham) جراحی
۲. ایسکمی ۹۰ دقیقه پرفیوژن مجدد ۴ ساعت
۳. ایسکمی ۹۰ دقیقه پرفیوژن مجدد ۴ ساعت + PTX
۴. ایسکمی ۹۰ دقیقه پرفیوژن مجدد ۴ ساعت + NAC
۵. ایسکمی ۹۰ دقیقه پرفیوژن مجدد ۴ ساعت +NAC+ PTX

روش جراحی

عمل جراحی در بی‌هوشی کامل و بر اساس منشور ملاحظات اخلاقی دانشگاه انجام گردید. بی‌هوشی توسط تزریق داخل صفاقی کتامین (۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و گزیلوکائین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) صورت گرفت. نواحی جراحی(گردن و شکم) تراشیده و توسط بتادین استریل شدند. فشارخون سیستولیک در تمام مدت آزمایش و با فواصل ۳۰ دقیقه‌ای، توسط روش tail cuff اندازه‌گیری شد. با استفاده از دستگاه PowerLab و امکانات برنامه نرم‌افزاری Chart, version 5.0.1، هم‌زمان تعداد ضربان قلب نیز مانیتور گردید. حیواناتی که دچار افت فشار سیستولیک تا میزان ۶۰ mmHg می‌شدند از مطالعه حذف گردیدند. حیوانات گروه شاهد (Sham) جراحی و ایسکمی پرفیوژن مجدد به جای دارو آب مقطر دریافت کردند.

برای القای ایسکمی کبد، یک برش طولی از زیر ناحیه جناغ به اندازه ۲ سانتی‌متر داده شد. پس از کنار زدن فاسیا و برش عضله رکتوس شکمی، اتصالات بین کبد و دیافراگم صفاقی توسط قیچی جراحی جدا شد. سپس با فشار ملایم دو دست در طرفین ناحیه برش، کبد از حفره شکم خارج شد. در گروه‌های ایسکمی و دارو درمانی، شریان کبدی و ورید باب که خون‌رسانی لوب‌های چپ و میانی را بر عهده دارند توسط کلمپ بولداگ مسدود شد. کبد در تمام مدت ایسکمی (۹۰ دقیقه) توسط گاز استریل آغشته به سرم فیزیولوژی مرطوب نگهداشته شد. بعد از طی زمان ایسکمی کلمپ به آهستگی برداشته شده و کبد به داخل بدن انتقال یافت و محل برش جراحی توسط نخ سیلک ۳ صفر دوخته شده و پرفیوژن مجدد به مدت ۴ ساعت آغاز گردید. گروه شاهد (Sham) جراحی تحت عمل جراحی بدون انسداد عروق قرار گرفت.

در گروه‌های دارو درمانی تزریق PTX و NAC بلافاصله قبل از شروع ایسکمی به روش داخل صفاقی صورت می‌گرفت. داروها پس از تعین دوز مناسب با استفاده از مطالعات مشابه (PTX: 40 mg/kg و NAC: 400mg/kg)، توزین و در آب مقطر حل می‌شدند (حجم تزریق = ۰/۵ ml). از آنجایی که NAC دارویی اسیدی می‌باشد، PH نهایی توسط دستگاه PH متر (HANNA) کنترل و به حدود ۷/۴ می‌رسید. در پایان آزمایش در همه گروه‌ها سرم خون برای اندازه‌گیری اوره و کراتینین به عنوان شاخص‌های عملکرد کلیوی و آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص‌های عملکرد کبد جمع‌آوری گردید و بخشی از بافت کلیه برای تعیین وضعیت استرس اکسیداتیو برداشته شده و تا زمان آنالیز در فریزر ۸۰- درجه نگهداری شد. در هنگام آزمایش ۵۰ میلی‌گرم از بافت کلیه برای اندازه‌گیری هر یک از شاخص‌های استرس اکسیداتیوهموژن شد.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید (Malondialdehyde: MDA)

MDA شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد که در مواقع استرس اکسیداتیو میزان آن در بافت بالا می‌رود. در این مطالعه میزان MDA بافت کلیه با استفاده از روش Esterbauer و Cheeseman که بر اساس واکنش آن با اسیدتیوباربیتوریک است اندازه‌گیری شد (۱۰).

اندازه‌گیری گلوتاتیون (Glutathione: GSH)

گلوتاتیون یک گروه تیول‌دار است و از شاخص‌های تعیین میزان استرس اکسیداتیو به‌شمار می‌رود. این عامل تیولی به عوامل اکسیداتیو حساس است و در صورت افزایش آنها میزان گلوتاتیون کاهش می‌یابد. میزان گلوتاتیون توتال بافت کلیه با استفاده از روش Tietze که توسط Griffith اصلاح شده است اندازه‌گیری شد (۱۱،۱۲).

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج به‌صورت Mean ± SEM بیان شد. برای مقایسه بین گروه‌ها از تست ANOVA یک‌طرفه و سپس برای مشخص شدن اختلاف بین گروه‌ها از Tukey post test استفاده شد. برای معنادار بودن اختلافات P<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

اثر ایسکمی کبدی بر شاخص‌های عملکردی کلیوی و کبدی

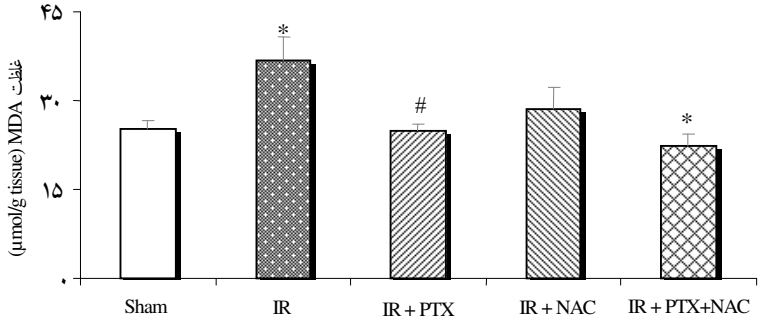
آنالیز بیوشیمیایی سرم بیانگر افزایش معنی‌دار میزان اوره (۲۹/۲۵±۴/۸۱ vs. ۱۷/۶±۰/۵۰ mg/dl, P<۰/۰۵)، ALT (۹۶۳۰±۱۹۶vs. ۳۰۹±۳۶/۳ U/L, P<۰/۰۵) و AST (۶۷۴۰±۶۹۰ vs. ۴۱۰±۴۳/۴ U/L, P<۰/۰۵) در گروه ایسکمی نسبت به گروه شاهد (Sham) بود، که این نتایج بیانگر ایجاد آسیب کلیوی و کبدی به‌دنبال IR کبد می‌باشد. پیش‌درمانی با PTX و NACبه‌صورت مجزا و توأم نتوانست در کاهش ضایعات عملکردی کلیوی نقش مؤثری داشته باشد.

اثر ایسکمی کبدی بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو کلیوی

MDA بافت کلیه

ایسکمی - پرفیوژن مجدد کبدی باعث افزایش معنی‌دار غلظت MDA بافت کلیه در گروه ایسکمی نسبت به گروه شاهد شد که نشان‌دهنده آسیب اکسیداتیو این عضو به‌دنبال IR کبد بود.

غلظت این شاخص در گروه‌های PTX به تنهایی و NAC +PTX کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه ایسکمی نشان داد (P<۰/۰۵) ولی در گروه NAC به تنهایی تفاوت معنی‌داری با گروه ایسکمی مشاهده نگردید (نمودار ۱).



نمودار ۱. *تغییرات غلظت MDA بافت کلیه در گروه‌های مختلف*

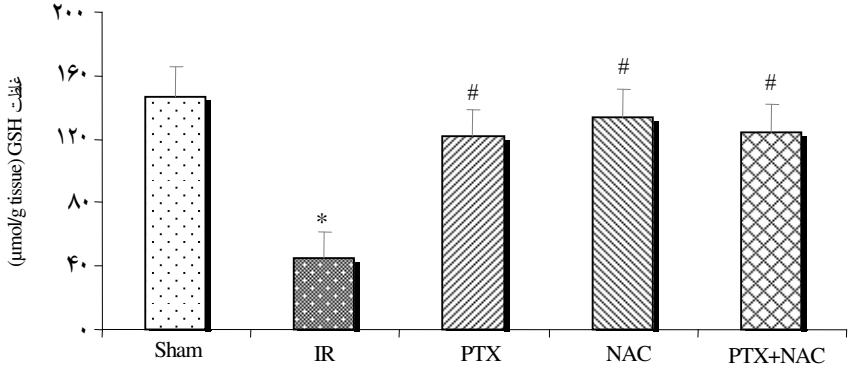
هر یک از ستون‌ها نمایانگر میانگین ± خطای معیار غلظت MDA می‌باشد.

*: اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه شاهد (Sham) در سطح P< ۰/۰۵ نشان می‌دهد.

#: اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه IR در سطح P< ۰/۰۵ نشان می‌دهد.

GSH بافت کلیه

کاهش قابل‌توجه GSH بافت کلیه در گروه IR در مقایسه با گروه شاهد نشانه وجود آسیب اکسیداتیو کلیوی پس از ۹۰ دقیقه ایسکمی و ۴ ساعت پرفیوژن مجدد کبدی بود. غلظت این شاخص در گروه‌های PTX به تنهایی، NAC به تنهایی و PTX+NAC تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه ایسکمی داشت (نمودار۲).



نمودار ۲. *تغییرات غلظت GSH بافت کلیه در گروه‌های مختلف*

هر یک از ستون‌ها نمایانگر میانگین ± خطای معیار غلظت GSH می‌باشد.

*: اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه شاهد (Sham) در سطح P< ۰/۰۵ نشان می‌دهد.

#: اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه IR در سطح P< ۰/۰۵ نشان می‌دهد.

بحث

ایسکمی - پرفیوژن مجدد کبد به‌عنوان یکی از علل قابل‌توجه مرگ‌ومیر معمولاً با ضایعاتی در اعضای دیگر نظیر کلیه همراه می‌باشد. در پژوهش حاضر به‌دنبال ۹۰ دقیقه ایسکمی و ۴ ساعت پرفیوژن مجدد کبد، در بافت کلیه – به‌عنوان یک عضو دوردست - اختلالاتی به‌صورت افزایش میزان اوره، افزایش استرس اکسیداتیو (افزایش MDA و کاهش GSH) و نیز تغییرات بافت‌شناسی مشاهده گردید.

در مطالعه Kudo و همکاران به‌دنبال ۶۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲ ساعت پرفیوژن مجدد کبد در موش صحرایی آسیب کلیوی نیز مشاهده گردید. آنها بیان کردند که علت این آسیب افزایش اندوتوکسین‌ها و لیپید پراکسیدها و آنزیم‌های لیزوزومال در خون است (۱۳). میکائیلی و همکاران طی مطالعه‌ای نشان دادند که ۹۰ دقیقه ایسکمی و ۴ ساعت پرفیوژن مجدد کبدی منجر به آسیب کلیوی به‌صورت افزایش میزان اوره و افزایش استرس اکسیداتیو کلیوی می‌شود (۱۴). در مطالعه حاضر نقش تجویز مجزا و هم‌زمان PTX و NAC بر اختلالات عملکردی و استرس اکسیداتیو کلیوی متعاقب ۹۰ دقیقه ایسکمی و ۴ ساعت پرفیوژن مجدد کبد مورد ارزیابی قرار گرفت. پیش‌درمانی باNAC و PTX قبل از شروع ایسکمی و به‌صورت داخل صفاقی انجام گردید.

تجویز مجزای PTX با وجود اینکه نتوانست پارامترهای عملکردی کلیه را بهبود بخشد، ولی باعث تعدیل ضایعات استرس اکسیداتیو در بافت کلیه از طریق جلوگیری از افزایش MDA و مقابله با کاهش میزان GSH شد. PTX به‌دلیل دارا بودن خواص ضدالتهابی برای درمان اختلالات کبدی وابسته به الکل پیشنهاد شده است (۱۵). Muller و همکاران نشان دادند که PTX در مدل IR کبدی باعث کاهش تجمع لکوسیت‌ها در عروق ریز و بهبود آسیب ایسکمیک از طریق کاهش پاسخ‌های التهابی می‌شود (۱۶).

Kim و همکاران طی پژوهشی بیان کردند که اثر حفاظتی PTX ناشی از عمل آنتی‌اکسیدانی آن نیست و این عمل از طریق مهار تولید TNF-α صورت می‌گیرد (۱۷). با این وجود در بسیاری ازتحقیقات اثر آنتی‌اکسیدانی آن نیز

گزارش شده است. به‌عنوان مثال رادفر و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که PTX باعث کاهش آسیب سلول در برابر رادیکال‌های آزاد از طریق مهار پراکسیداسیون لیپیدها در پلاسمای بیماران دیابتی می‌شود (۱۸). هم‌چنین اثرات درمانی PTX در سندرم روده کوچک از طریق کاهش MDA و گلوتاتیون پراکسیداز مشاهده شده‌است (۵).

بررسی اثر PTX در نارسایی حاد کلیوی نیز بیانگر اثر حفاظتی آن بر زمان و میزان مرگ‌ومیر نارسایی حاد کلیه می‌باشد. مکانیسم احتمالی آن جلوگیری از احتقان عروقی از طریق تحریک تولید پروستاگلندین‌های کلیوی است (۱۹). پژوهش Ozer و همکاران در بررسی نقش PTX در سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین نشان داد که تجویز PTX باعث تعدیل ضایعات بافتی و استرس اکسیداتیو در کلیه می‌شود ولی بر میزان اوره و کراتینین به‌عنوان پارامترهای عملکردی تأثیر معنی‌داری ندارد (۲۰). در همین راستا مطالعه حاضر نیز نشان داد که PTX با وجود بهبود ضایعات استرس اکسیداتیو، اثر مثبتی بر پارامترهای عملکردی کلیوی ندارد.

پیش‌درمانی با NAC به تنهایی نیز نتوانست پارامترهای عملکردی کلیه را بهبود بخشد، ولی منجر به تعدیل ضایعات استرس اکسیداتیو در بافت کلیه از طریق جلوگیری از کاهش GSH شد. میزان MDA با وجود اینکه با تجویز NAC رو به کاهش نهاده بود ولی این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. Yang و همکاران بیان کردند که NAC در بافت کبد از طریق کاهش مقاومت افزایش یافته داخل کبدی (Increased intrahepatic resistance) و فشار پورتال و نهایتاً مهارنمودن استرس اکسیداتیو موجب مهار التهاب و فیبروز در مسیر پیشروی سیروز کبدی می‌شود (۲۱). NAC از طریق افزایش سطح گلوتاتیون و کاهش غلظت آسکوربیل پلاسمایی منجر به بهبود عملکرد و کاهش سیستمیک استرس اکسیداتیو در کلیه می‌شود (۲۲). NAC هم‌چنین باعث حفاظت توبول پروگزیمال و بهبود عملکرد کلیوی از طریق کاهش MDA و میلوپراکسیداز و افزایش GSH در مدل IR کلیه می‌شود (۲۳).

Weinbroum و همکاران گزارش کردند که پیش‌درمانی با NAC در IR کبدی منجر به تجدید ذخایر گلوتاتیون شده و از آسیب میوکارد به عنوان ارگان دوردست جلوگیری می‌کند (۲۴). در مطالعه‌ای دیگر نیز نشان داده شد که تجویز NAC طی دوره پرفیوژن مجدد منجر به پیشگیری از آسیب حاد ریوی به‌دنبال IR کبدی می‌شود (۲۵). Dobashi و همکاران ضمن بررسی نقش NAC، سدیم نیترو پروسید و فسفورامیدون در آسیب IR کلیوی بیان کردند که تجویز NAC به‌تنهایی، با وجود اینکه باعث بهبود ضایعات بافتی و استرس اکسیداتیو می‌شود ولی بر پارامترهای عملکردی کلیوی اثر قابل ملاحظه‌ای ندارد (۲۶). در همین راستا مطالعه حاضر نیز بیانگر تأثیر قابل‌توجه NAC در تعدیل آسیب استرس اکسیداتیو کلیوی بود.

پیش‌درمانی با NAC و PTX به‌صورت هم‌زمان، توانست با نشان دادن اثرات سینرژیستیک، بهبود آسیب بافتی و تعدیل ضایعات استرس اکسیداتیو کلیه را از طریق جلوگیری از افزایش MDA و کاهش GSH در پی داشته باشد. با این وجود تغییری در پارامترهای عملکردی کلیه مشاهده نگردید.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ایسکمی – پرفیوژن مجدد کبد می‌تواند شاخص‌های عملکردی و استرس اکسیداتیو کلیه را، به‌عنوان یک عضو دوردست، دستخوش تغییر نماید. به‌نظر می‌رسد PTX و NAC می‌توانند اثرات مفیدی در جلوگیری از ایجاد ضایعات بافتی و استرس اکسیداتیو کلیوی از طریق تعدیل MDA و سیستم گلوتاتیون داشته باشند.

Effects of Pretreatment with Pentoxyfilline and N-acetylcysteine on Renal Injury Following Induction of Liver Ischemia-Reperfusion

Delavari F., M.Sc.[1], Kadkhodaee M., Ph.D.[*2], Seifi B., Ph.D.[3], Mikaeili S., M.Sc.[4], Shams S., M.D.[5], Shahidi H., B.Sc.[6]

1. M.Sc. Student of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. M.Sc. of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5. Associate Professor of Pathology, Children Medical Center, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. Laboratory Staff Member, Children Medical Center, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding author; e-mail: kadkhodm@tums.ac.ir

(Received: 15 March 2010 Accepted: 28 July 2010)

Abstract

Background & Aims: Liver ischemia-reperfusion (IR) is one of the common consequences of liver surgery, especially during liver transplantation which results in organ dysfunction. Acute hepatic injury causes systematic inflammatory responses which may finally lead to functional disturbances in remote organs such as heart, lungs and kidneys. In this study, the effects of a potent inhibitor of inflammatory cytokines (pentoxyfilline, PTX) and a well known antioxidant, (N-acetylcysteine, NAC), was evaluated on renal functional damage and oxidative stress following liver IR.

Method: Five groups of six male rats were used. Group one was sham operated. In group 2, 90 min liver partial ischemia was conducted by a clamp around hepatic artery and portal vein and followed by 4 hours of reperfusion. In group 3 and 4, PTX or NAC was injected intraperitoneally before the ischemia, while in group 5 both drugs were co-administered. The levels of ALT, AST, ALP, BUN and creatinine in serum as well as MDA and GSH levels in renal tissues were measured.

Results: Significant increase in the serum levels of ALT, AST in IR group is indicative of liver functional damages comparing to sham operated rats. Elevated BUN levels and increased renal tissue MDA and decreased GSH levels in IR group demonstrates a significant kidney functional damage and oxidative stress comparing to sham group. Administration of PTX alone and PTX+NAC prevented the IR-induced increase in renal MDA levels. Administration of both drugs and their co-administration prevented the reduction in renal GSH levels.

Conclusion: Pretreatment with PTX and NAC before liver IR induction may prevent renal oxidative stress by protection of cellular GSH concentration and a reduction in MDA levels.

Keywords: Ischemia, Reperfusion injury, Liver, Kidney, Oxidative stress, Pentoxyfilline, N-acetylcysteine

Journal of Kerman University of Medical Sciences، 2011; 18(1): 1-9

References

1. Tanaka Y, Maher JM, Chen C, Klaassen CD. Hepatic ischemia-reperfusion induces renal heme oxygenase-1 via NF-E2-related factor 2 in rats and mice. *Mol Pharmacol* 2007; 71(3): 817-25.
2. Wanner GA, Ertel W, Müller P, Hofer Y, Leiderer R, Menger MD, et al. Liver ischemia and reperfusion induces a systemic inflammatory response through Kupffer cell activation. *Shock* 1996; 5(1): 34-40.
3. Hammerman C, Goldschmidt D, Caplan MS, Kaplan M, Schimmel MS, Eidelman AI, et al. Amelioration of ischemia-reperfusion injury in rat intestine by pentoxifylline-mediated inhibition of xanthine oxidase. *J pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29(1): 69-80.
4. Cross AR, Jones OT. Enzymic mechanisms of superoxide production. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1057(3): 281-98.
5. Noyan T, Onem O, Ramazan Sekerogiu M, Koseoglu B, Dulger H, Bayram I, et al. Effects of erythropoietin and pentoxifylline on the oxidant and antioxidant systems in the experimental short bowel syndrome. *Cell Biochem Funct* 2003; 21(1): 49-54.
6. Thies JC, Teklote J, Clauer U, Tox U, Klar E, Hofmann WJ, et al. The efficacy of N-acetylcysteine as a hepatoprotective agent in liver transplantation. *Transplant Int* 1998; 11: 390-2.
7. Boman G, Backer U, Larsson S, Melander B, Wahlander L. Oral acetylcysteine reduces exacerbation rate in chronic bronchitis: report of a trial organized by the Swedish Society for Pulmonary Diseases. *Eur J Res Dis* 1983; 64(6): 405-15.
8. Jaeschke H. Role of reactive oxygen species in hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *J Invest Surg* 2003; 16(3): 127-40.
9. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82(2): 291-5.
10. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determina - tion of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990; 186: 407-21.
11. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 1969; 27(3): 502-22.
12. Griffith OW. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem* 1980; 106(1): 207-12.
13. Kudo Y, Egashira T, Takayama F, Yamanaka Y, Shimada T. Investigation of the renal injury caused by liver ischemia-reperfusion in rats. *Arch Toxicol* 1993; 67(7): 502-9.
14. Mikaeili S, Kadkhodaee M, Golab F, Zahmatkesh M, Mahdavi Mazdeh M, Seifi B, et al. Effects of liver ischemia-reperfusion on renal functional and oxidative stress indices. *Iranian J Physiol Pharm* 2009; 13(3): 254-62 [Persian].
15. Delanian S, Porcher R, Rudant J, Lefaix JL. Kinetics of response to long-term treatment combining pentoxifylline and tocopherol in patients with superficial radiation-induced fibrosis. *J Clin Oncol* 2005; 23(34): 8570-9.
16. Müller JM, Vollmar B, Menger MD. Pentoxifylline Reduces Venular Leukocyte Adherence (“reflow paradox”) but not microvascular “no reflow” in hepatic

ischemia/reperfusion. *J Surg Res* 1997; 71(1): 1-6.

17. Kim YK, Yoo JH, Woo JS, Jung JS, Kim BS, Kim SY. Effect of pentoxifylline on ischemic acute renal failure in rabbits. *Ren Fail* 2001; 23(6): 757-72.
18. Radfar M, Larijani B, Hadjibabaie M, Rajabipour B, Mojtahedi A, Abdollahi M. Effects of pentoxifylline on oxidative stress and levels of EGF and NO in blood of diabetic type-2 patients; a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. *Biomed Pharmacother* 2005; 59(6): 302-6.
19. Vadiei K, Brunner LJ, Luke DR. Effects of pentoxifylline in experimental acute renal failure. *Kidney Int* 1989; 36(3): 466-70.
20. Ozer MK, Asci H, Oncu M, Yesilot S, Savran M, Bayram D, et al. Effects of pentoxifylline on amikacin-induced nephrotoxicity in rats. *Ren Fail* 2009; 31(2): 134-9.
21. Yang YY, Lee KC, Huang YT, Wang YW, Hou MC, Lee FY, et al. Effects of N-acetylcysteine administration in hepatic microcirculation of rats with biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2008; 49(1): 25-33.
22. Nitescu N, Ricksten SE, Marcussen N, Haraldsson B, Nilsson U, Basu S, et al. N-acetylcysteine attenuates kidney injury in rats subjected to renal ischaemia-reperfusion. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(5): 1240-7.
23. Sehirli AO, Sener G, Satiroglu H, Ayanoglu-Dulger G. Protective effect of N-acetylcysteine on renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Nephrol* 2003; 16(1): 75-80.
24. Weinbroum AA, Kidron A, Hochhauser E, Hochman A, Rudick V, Vidne BA. Liver glutathione level influences myocardial reperfusion injury following liver ischemia-reperfusion. *Med Sci Monit* 2001; 7(6): 1137-44.
25. Weinbroum AA, Rudick V, Ben-Abraham R, Karchevski E. N-acetyl-L-cysteine for preventing lung reperfusion injury after liver ischemia-reperfusion: A Possible Dual Protective Mechanism in a Dose-Response Study. *Transplantation* 2000; 69: 853-61.
26. Dobashi K, Singh I, Orak JK, Asayama K, Singh AK. Combination therapy of N-acetylcysteine, sodium nitroprusside and phosphoramidon attenuates ischemia-reperfusion injury in rat kidney. *Mol Cell Biochem* 2002; 240(1-2): 9-17.