

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

امین عبدالله‌زاده 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 صحرائی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۶۰ سر موش صحرائی نر نژاد اسپراگ داوولی به ۶ گروه: کنترل (C)، مسمومیت کلیوی با سیس‌پلاتین (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+سیس‌پلاتین (PAG+CP) و گروه پروپارژیل+سولفید هیدروژن+سیس‌پلاتین (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 پلاسمای 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 صحرائی 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 سیس‌پلاتین 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 459-466، شهریور 1394

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

Email: akramahangarpour@gmail.com

مقدمه

پلاتین ممکن است استفاده مطلوب کلینیکی از این دارو را محدود نماید (۱، ۳). در داخل سلول‌های کلیوی، سیس‌پلاتین 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.

سیس‌پلاتین (سیس-دی‌آمین دی‌کلرو پلاتینیوم) یکی از داروهای پرمصرف و قوی در شیمی‌درمانی می‌باشد (۱). این دارو جهت درمان انواع زیادی از سرطان‌ها از جمله سرطان بیضه، تخمدان، سرویکس، تومورهای سروگردن و کارسینوم سلول‌های کوچک استفاده می‌شود (۲). القای سمیت کلیوی ناشی از سیس

^۱ استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، ارومیه، ایران

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

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

^۴ استاد گروه سم‌شناسی دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران

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

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

هیدروژن برون‌زاد با به کار بردن دهنده‌های سولفید هیدروژن به شکل‌های 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 سیس‌پلاتین مورد بررسی قرار گرفت، نقش اریتروپویتین به‌عنوان عامل محافظت‌کننده سلولی در مسمومیت کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین 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 ازای کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی)، CP ۳- گروه سیس‌پلاتین درمان شده با سولفید هیدروژن سدیم (۱۰۰ میکرومول به ازای کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی)، NaHS ۴- گروه دریافت‌کننده پروپارژیل گلیسین (مه‌ارکننده آنزیم تولید سولفید هیدروژن، ۵۰ میلی‌گرم به ازای 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. سیس‌پلاتین، پروپارژیل گلیسین و سولفید هیدروژن 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

مجموع این اثرات در نهایت باعث القاء مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول^۱ و یا مرگ سلول ناشی از نکروز خواهد شد (۴).

سیس‌پلاتین 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-استیل‌سیستین می‌تواند تا حدی مانع از بروز عوارض سمی ناشی از اثرات اکسیدان‌ها گردد (۵، ۶).

به دنبال کشف NO به‌عنوان یک ناقل پیام گازی شکل^۲، 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. Waryncia و همکارانش اولین بار گزارش دادند که سولفید هیدروژن در غلظت‌های بسیار پائین به‌صورت درون‌زاد^۳ تولید می‌شود. این کشف زمانی رخ داد که آن‌ها اثرات مسمومیت حاد سولفید هیدروژن را در مغز بررسی می‌کردند (۷).

سیس Hosoki و همکارانش گزارش دادند که آنزیم تولیدکننده سولفید هیدروژن در ایلنوم، ورید پورت و آنورت سینه‌ای وجود دارد و پیشنهاد کردند که سولفید هیدروژن ممکن است شل‌کننده 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 پیرووات 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 محافظت‌کننده 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^۴ در مدل‌های مختلف آسیب ایسکیمیک به‌صورت آزمایشگاهی^۵ بررسی شده است (۱۰، ۱۱). در موجودات زنده اثرات سولفید هیدروژن درون‌زاد برای اولین بار از طریق به کار بردن مه‌ارکننده‌های آنزیم CGL و دست‌کاری ژنتیکی ژن آنزیم CGL در موش‌های سوری مطالعه شد. در حالی که اثرات سولفید

² Apoptosis

² gasotransmitter

³ Endogen

⁵ Exogen

⁵ In vitro

برای بررسی سیستم رنین- آنژیوتانسین، غلظت مستقیم رنین (DR)^۴ پلاسمایی اندازه‌گیری شد. این آزمایش با روش بررسی ایمونولوژیکی^۵ CLIA با استفاده از کیت لیاسون^۶ 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^۶ 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 ($P < 0/01$). تجویز NaHS در گروه سیس‌پلاتین میزان کراتینین (۱۲۸٪) و اوره سرم (۱۵۹٪) را به‌طور معنی‌داری پایین آورده است ($P < 0/01$). تجویز همزمان پروپارژیل گلیسین و سیس‌پلاتین، میزان کراتینین و اوره سرم را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه سیس‌پلاتین افزایش داده است ($P < 0/01$) 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 اریتروپوئین پلاسما در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که غلظت اریتروپوئین پلاسما در گروه دریافت کننده سیس‌پلاتین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است ($P < 0/05$). در گروه دریافت کننده پروپارژیل گلیسین به تنهایی، افزایش مختصری در اریتروپوئین 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 سیس‌پلاتین باعث تشدید اثر افزایش دهنده سیس‌پلاتین بر غلظت پلاسمایی اریتروپوئین شده است. در این گروه غلظت اریتروپوئین در مقایسه با گروه دریافت

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 $3000 \times g$ به مدت زمان ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه‌های پلاسما جهت اندازه‌گیری پارامترهای پلاسمایی تا روز انجام آزمایشات در دمای -80 درجه سانتیگراد نگهداری شد.

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

برای اندازه‌گیری غلظت اریتروپوئین (EPO) پلاسما از کیت ELISA (شرکت IBL، آمریکا) استفاده شد. روش اندازه‌گیری اریتروپوئین، ELISA دوطرفه برای اندازه‌گیری شکل بیولوژیکی ۱۶۵ آمینواسیدی اریتروپوئین می‌باشد. در این روش از دو آنتی‌بادی منوکلونال موش برای دو محل مشخص شده مولکول اریتروپوئین استفاده می‌شود. یکی از آنتی‌بادی‌های منوکلونال موش بیوتینه ۱ و آنتی‌بادی منوکلونال دیگر برای شناسایی با هورس رادیش پراکسیداز (HRP)^۷ برچسب‌دار شده است. در این آزمایش کالیبراتورها، کنترل‌ها و نمونه‌های مورد نظر به میزان ۲۰۰ میکرولیتر داخل چاهک‌ها پوشیده شده با استرپتاویدین^۳ ریخته شد سپس ۲۵ میکرولیتر آنتی‌بادی 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 اریتروپوئین 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 اریتروپوئین در نمونه‌های کنترل و نمونه‌های آزمایش شده مستقیماً از این منحنی بدست آمد. حداقل غلظت قابل اندازه‌گیری توسط کیت $1/2 \text{ mU/ml}$ می‌باشد.

⁴ Direct renin

⁵ Chemiluminescent immunoassay

⁶ LIAISON

¹ Biotinylated

² Horseradish Peroxidase

³ Streptavidin

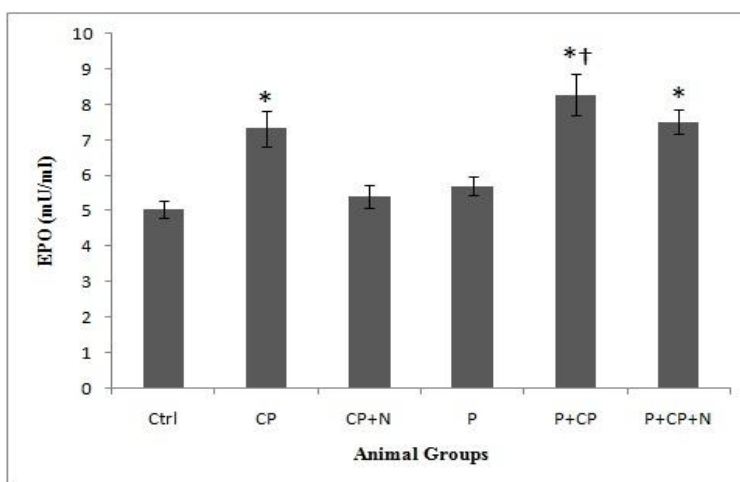
مطالعه تفاوتی با هم نداشت، تنها در گروه دریافت کننده پروپارژیل گلیسین در مقایسه با بقیه گروه‌ها مقداری افزایش داشت که از نظر آماری معنی‌دار ($P > 0.05$) نمی‌باشد (شکل ۲).

کننده پروپارژیل و گروه کنترل بطور معنی‌داری ($P < 0.01$) 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

جدول (۱): مقادیر کراتینین، اوره پلاسمای موش‌های صحرایی

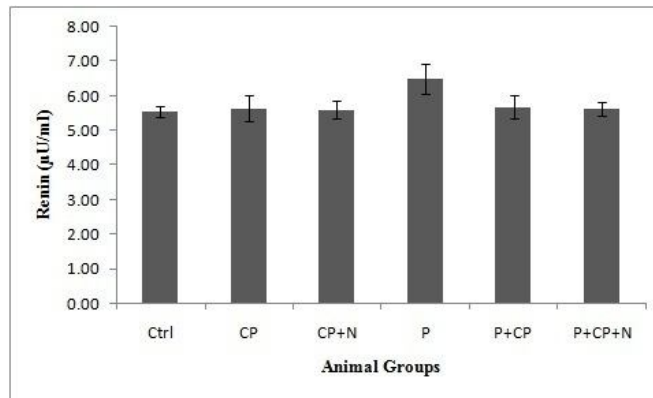
گروه‌های مورد مطالعه	کراتینین پلاسما (mg/dL)	اوره سرم پلاسما (mg/dL)
کنترل	0.46 ± 0.03	$32/1 \pm 2$
سیس پلاتین	$1.25 \pm 0.09^*$	$72/82 \pm 3/4^*$
+NaHS سیس پلاتین	$0.59 \pm 0.05^\#$	$51/30 \pm 1/8^\#$
پروپارژیل گلیسین (PAG)	$0.51 \pm 0.06^\#$	$38/01 \pm 5/5^\#$
+PAG سیس پلاتین	$1.65 \pm 0.08^{*\dagger}$	$99/55 \pm 5^{*\dagger}$
+NaHS + PAG سیس پلاتین	$1.46 \pm 0.08^{*\dagger}$	$91/5 \pm 3/3^{*\dagger}$

مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار می‌باشند. سیس پلاتین (6 mg/kg) باعث افزایش کراتینین و اوره پلاسما شده است. سولفید هیدروژن سدیم ($100 \mu\text{mol/kg}$) از این اثرات سیس پلاتین جلوگیری کرده است ($n = 8-10$).
× با گروه کنترل مقایسه شده ($P < 0.05$).
با گروه سیس پلاتین مقایسه شده ($P < 0.05$).
† با گروه پروپارژیل گلیسین مقایسه شده است ($P < 0.05$).



شکل (۱): غلظت اریتروپویتین پلاسما

مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار می‌باشند. سیس پلاتین (6 mg/kg) باعث افزایش غلظت اریتروپویتین پلاسما شده است. سولفید هیدروژن سدیم ($100 \mu\text{mol/kg}$) از این اثر سیس پلاتین جلوگیری کرده است.
(Ctrl=Control, CP=Cisplatin, N=NaHS, P=PAG & one way ANOVA, Tukey test, $n = 8-10$)
× با گروه کنترل مقایسه شده ($P < 0.05$).
† با گروه پروپارژیل گلیسین مقایسه شده است ($P < 0.05$).



شکل (2): غلظت رنین پلاسما در گروه‌های مختلف

مقادیر به صورت میانگین \pm خطای معیار می‌باشند. غلظت رنین پلاسما در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری ندارند تنها در گروه دریافت کننده پروپارژیل گلیسین (50 mg/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 (۲۱، ۱۷). این نارسایی حاد کلیوی با بالا رفتن 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 از آنزیم‌های تولید کننده سولفید هیدروژن یعنی آنزیم سیستاتینوین گاما لیاز به کار می‌رود در صورتی که آنزیم سیستاتینوین بتا سنتاز به عمل خود ادامه می‌دهد پس طبیعتاً این سیستم به‌طور کامل مهار نشده است. مطالعات قبلی

نشان داده که سیستاتینوین بتا سنتاز و سیستاتینوین 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 اریتروپوئین و سیستم رنین - آنژیوتانسین مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که اریتروپوئین 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). اریتروپوئین در پاسخ به ایسکمی از کلیه‌ها ترشح می‌شود. در این مطالعه تجویز سیس‌پلاتین باعث افزایش غلظت اریتروپوئین 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 اریتروپوئین شده که می‌تواند بیانگر این باشد که این سیستم به‌طور طبیعی آسیب کلیه به ایسکمی را کاهش می‌دهد. بررسی سیستم رنین - آنژیوتانسین با اندازه‌گیری

در این مطالعه ما نشان دادیم که پیش‌درمانی با سولفید هیدروژن سدیم باعث بهبود یکسری علائم مسمومیت کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین از جمله تغییرات اریتروپوئیتین پلاسمای 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 بی‌ضرر 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.

رنین مستقیم پلاسمای صورت گرفت که فقط در گروه دریافت کننده پروپارژیل گلیسین سطح رنین پلاسمای 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 پلاسمای 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 پلاسمای 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 شل‌کننده 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 همودینامیکی کلیه خواهد داشت.

References:

- Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int* 2008; 73: 994-1007.
- Fillastre JP, Raguenez-Viotte G. Cisplatin nephrotoxicity. *Toxicol Lett* 1989; 46: 163-75.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal* 2003;5(4):493-501.
- 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

- 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, Petrusavska G, Sikole A, Trojancanec 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, Petrusavska G, Sikole A, Trojancanec 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.

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

Amin Abdollahzade Fard¹, Akram Ahangarpour^{2*}, Mohammad Kazem Gharibnaseri³, Masomeh Ahmadizadeh⁴, Iran Rashidi⁵, Taha Jalali⁶

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

Abstract

Background & Aims: Hydrogen sulfide due to cytoprotective effects can be used in prevention and treatment of many disorders. The effects of hydrogen sulfide on hormonal 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

¹Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

²Associate Professor, Physiology Research Center, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran (Corresponding Author)

³Professor, Physiology Research Center, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

⁴Professor, Physiology Research Center, Toxicology Department, Faculty of Health Sciences, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

⁵Professor, Department of Pathology, Shafa Hospital, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

⁶Professor, Experimental Sciences Department, Faculty of Paramedicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran