

مطالعه اثرات پیشگیرانه متفورمین از آسیب ایسکمی-بازخونسازی کلیه در موش صحرایی

احمد اصغری*^۱، غزال کشفی-یگانه^۲، پژمان مرتضوی^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، استادیار گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، تهران، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشجوی دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، تهران، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، استادیار گروه پاتوبیولوژی دامپزشکی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: Dr.Ahmad.Asghar@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۲/۱۲/۱۶ پذیرش نهایی: ۹۳/۴/۳)

چکیده

ایسکمی کلیه باعث استرس اکسیداتیو شده که منجر به پاسخ‌های شدید و طولانی التهابی پس از بازخونسازی می‌شود. آسیب بازخونسازی در کلیه یکی از عوامل نارسایی حاد کلیوی می‌باشد که در حیوانات و مدل‌های کلینیکی مختلف مطالعه شده است. متفورمین یک داروی ضد دیابت خوراکی بوده که به تنهایی یا همراه با سایر داروها برای درمان دیابت نوع ۲ مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه، ارزیابی تاثیر متفورمین بر آسیب ایسکمی-بازخونسازی کلیه در موش صحرایی می‌باشد. بدین منظور ۳۰ سر موش صحرایی نر ویستار به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۱۰ تایی شامل: شاهد جراحی، ایسکی-بازخونسازی (I/R) و ایسکمی-بازخونسازی به‌علاوه تیمار با متفورمین (I/R+MET) تقسیم شدند. در گروه‌های شاهد جراحی و I/R از هیچ دارویی استفاده نشد. در گروه I/R+MET قبل از القا ایسکی-بازخونسازی به‌مدت یک هفته متفورمین با دوز ۱۰۰ mg/kg گاواژ گردید. برای القا ایسکمی-بازخونسازی هر دو پدیکول کلیه بسته شد و بعد از ۴۵ دقیقه آزاد گردید. در هر ۳ گروه نفرکتومی کلیه چپ در دو نوبت به ترتیب ۴ و ۸ ساعت بعد انجام شد. نمونه‌های خونی در روز صفر (قبل از تجویز دارو) و روز بعد از پایان ایسکمی در زمان برداشت کلیه‌ها جمع‌آوری شد و مقادیر کراتینین و اوره سرم مورد سنجش قرار گرفت. در نهایت داده‌های به‌دست آمده توسط آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ مورد واکاوی آماری قرار گرفت. نتایج آسیب‌شناسی بافتی کلیه در گروه I/R+MET حاکی از بهبود معنی‌دار آسیب کلیه در مقایسه با گروه I/R بود به‌طوری‌که، تغییرات دژنراتیو و نکروز در سلول‌های پوششی توبول‌های ادراری بسیار خفیف بود و اکثر توبول‌ها وضعیت طبیعی هسته و سیتوپلاسم را نشان می‌دادند. نتایج سرولوژیکی نشان‌دهنده کاهش اندک و غیرمعنی‌دار مقادیر اوره و کراتینین سرم در گروه I/R+MET در مقایسه با گروه I/R بود. نتایج این مطالعه نشان داد که متفورمین تا حدودی از آسیب ایسکمی-بازخونسازی کلیه جلوگیری می‌کند.

نشریه آسیب‌شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۱۳۹۲، دوره ۷، شماره ۴، پیاپی ۲۸، صفحات ۳۲۲-۳۳۳.

کلید واژه‌ها: کلیه، ایسکمی-بازخونسازی، متفورمین، موش صحرایی

مقدمه

کلیه‌ها ارگانی خارج صفاقی می‌باشند که همواره در حال تنظیم ترکیبات شیمیایی، فشار اسمزی خون و حجم مایعات بدن هستند. کلیه‌ها به راحتی تحت تاثیر عوامل مختلفی همچون عوامل فیزیکی، شیمیایی، باکتریایی و ویروسی قرار می‌گیرند و در نهایت بر اثر اختلالات ایجاد شده در کارکرد آنها، سایر قسمت‌های بدن نیز متاثر می‌شوند. به آسیب سلولی که بر اثر بازگشت مجدد خون به بافت ایسکمیک رخ می‌دهد، آسیب ایسکمی-بازخونسازی گویند که در موارد مختلفی از جمله پیوند عضو، درمان با ترومبولیتیک‌ها، سکت و... ممکن است، رخ می‌دهد (Morales et al., 2010). متفورمین یا گلوکوفاز از دسته‌ی داروهای بیگوانیدها است و به صورت خوراکی مصرف می‌شود و اولین داروی انتخابی بیماران مبتلا به دیابت نوع دو محسوب می‌شود. متفورمین به عنوان یک داروی ضد افزایش قند خون و نه یک داروی پایین آورنده قند خون شناخته می‌شود. متفورمین تولید گلوکز کبدی را از طریق مهار گلوکونئوزنز کاهش داده و میزان جذب گلوکز را با تحریک انسولین در عضله و بافت چربی افزایش می‌دهد. مکانیسم عمل متفورمین از طریق فعال کردن AMPK (پروتئین کیناز وابسته به آدنوزین مونوفسفات) است که از این طریق سبب وقوع مکانیسمی شده که نتیجه آن جلوگیری از افزایش قندخون است (Detaile et al., 2005). در سال‌های اخیر توجه زیادی به نقش آنتی‌اکسیدانی متفورمین شده است (Cicero et al., 2012). متفورمین دارای اثرات بهبود دهنده بر عملکرد کلیه متعاقب سمیت کلیوی القا شده توسط جنتامایسین می‌باشد (Rafieian-Kopaei et

al., 2013). آپوپتوزی که توسط استرس اکسیداتیو در سلول‌های آندوتلیال به وجود آمده در درمان با متفورمین کاهش یافته است (Bonfont-Rousselot et al., 2003). متفورمین قادر به کاهش عوارض رادیکال‌های آزاد مثل گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species; ROS) از طریق ذخیره آنتی‌اکسیدان‌ها و پاکسازی یون هیدروکسیل است. اما این دارو توانایی پاکسازی سوپراکسید را ندارد و با پراکسید هیدروژن هم واکنش نشان نمی‌دهد (Bonfont-Rousselot and Rajai, 2003). متفورمین از طریق کاهش ترشح اینترلوکین 6، با واسطه‌گری TNF- α (فاکتور نکروزدهنده توموری آلفا) و جلوگیری از تولید IL6, IL1 و IL8 دارای اثر ضد التهابی است (Cheng and Truong, 2010). با توجه به تاثیر به‌سزای رادیکال‌های آزاد در ایجاد آسیب‌های ایسکمی-بازخونسازی به نظر می‌رسد که متفورمین با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و تاثیر بر پیش‌سازهای التهابی در کاهش آسیب‌های ایسکمی-بازخونسازی موثر باشد. از این‌رو، در مطالعه حاضر به ارزیابی اثرات متفورمین بر عملکرد کلیه متعاقب القای آسیب ایسکمیک-بازخونسازی در کلیه موش صحرایی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام و کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی، مورد تایید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران بود. در این مطالعه از ۳۰ سر

به میزان ۱۰ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت یک هفته از طریق گاوآژ دریافت کرد. بعد از یک هفته محوطه بطنی حیوانات باز شده و پس از ایجاد ایسکمی-بازخونرسانی، نفرکتومی کلیه چپ انجام گردید.

۳. گروه ایسکمی-بازخونرسانی به علاوه تیمار با متفورمین (I/R+MET): این گروه هر روز، در یک ساعت مشخص به مدت یک هفته، تحت گاوآژ با متفورمین با دوز ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن قرار گرفت (Soraya et al., 2012). بعد از یک هفته محوطه بطنی حیوانات باز شده و پس از ایجاد ایسکمی-بازخونرسانی، نفرکتومی کلیه چپ انجام گردید. لازم به ذکر است که عمل خوراندن دارو توسط سوزن مخصوص گاوآژ حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید.

تمامی حیوانات توسط داروهای کتامین هیدروکلراید (ساخت شرکت آلفاسان هلند) با دوز ۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و زایلازین (ساخت شرکت آلفاسان هلند) با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با تزریق داخل صفاقی بیهوش شده و ناحیه خط وسط شکم برای انجام جراحی تراشیده و اسکراب گردید و برای جراحی آماده شد. جهت جلوگیری از پائین آمدن دمای بدن حیوانات از تشک برقی مخصوص استفاده شد. بعد از گذشت یک هفته از خوراندن متفورمین، جهت ایجاد ایسکمی-بازخونرسانی، خط میانی شکم را برش داده، سپس هر دو پدیقول کلیه‌ها توسط پنس غیرضربه‌ای (Non-traumatic) بسته شده و بعد از ۴۵ دقیقه آزاد گردید (Vesey et al., 2004). جهت مرطوب نگاه داشتن

موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ و سالم با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد که به صورت تصادفی به ۳ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. موش‌ها از بخش تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تهیه و در قفس‌های مخصوص واقع در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران نگهداری شدند.

به منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن حیوانات با محیط، هیچگونه آزمایشی به مدت یک هفته روی موش‌ها صورت نگرفت و تمامی حیوانات تحت شرایط تغذیه‌ای و محیطی یکسان (۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای 21 ± 2 درجه سلسیوس) نگهداری شدند و تغذیه موش‌ها با استفاده از پلت آماده مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت و آب نیز به صورت مصرف آزاد با استفاده از آب لوله‌کشی شهری تامین شده و در اختیار حیوانات قرار گرفت.

متفورمین هیدروکلراید (1,1-Dimethylbiguanide hydrochloride) ترکیبی با فرمول خطی $\text{NH}_2\text{C}(=\text{NH})\text{NHC}(=\text{NH})\text{N}(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{HCl}$ (ساخت شرکت سیگما آمریکا) به صورت پودر خالص تهیه شده و جهت تهیه غلظت مناسب جهت گاوآژ، نرمال سالین مورد استفاده قرار گرفت.

موش‌ها به سه گروه ده‌تایی تقسیم شدند.

۱. گروه کنترل جراحی (Sham): این گروه فقط نرمال سالین را به میزان ۱۰ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت یک هفته از طریق گاوآژ دریافت کرد. پس از این مدت عمل نفرکتومی کلیه چپ انجام شد.

۲. گروه ایسکمی-بازخونرسانی (I/R): این گروه نیز تا زمان ایجاد ایسکمی-بازخونرسانی فقط نرمال سالین را

گردید. پس از گذشت ۸ ساعت از ایجاد ایسکمی، ۵ موش باقی مانده مانند روش ذکر شده تحت خون‌گیری و نفرکتومی کلیه چپ قرار گرفت و نمونه‌های اخذ شده به آزمایشگاه ارسال شد. در روز صفر (قبل از تجویز دارو) و بعد از پایان ایسکمی و در زمان برداشت کلیه‌ها نمونه خونی جمع‌آوری شده و مقادیر اوره و کراتینین سرم (Taheri et al., 2012) مورد بررسی قرار گرفت. درجه‌بندی پاتولوژی طبق جدول زیر انجام گرفت.

ناحیه، از تامپون خیس شده با نرمال سالین گرم استفاده شد. سپس پنس‌ها برداشته شده و خط میانی شکم طبق روش‌های متداول بخیه گردید. پس از گذشت ۴ ساعت، ۵ سر از موش‌ها به صورت تصادفی انتخاب گردیده و جهت انجام آزمایشات سرولوژی، از قلب آنها خون‌گیری به عمل آمد و به آزمایشگاه مربوطه ارسال گردید. سپس محوطه بطنی باز شده و کلیه سمت چپ نفرکتومی گردیده و بلافاصله به محلول فرمالین ۱۰ درصد منتقل شد و جهت رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین و ائوزین به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال

جدول ۱- درجه‌بندی آسیب‌شناسی بافتی کلیه

امتیاز	تورم سلولی	نکروز	التهاب
-	عدم تورم سلولی	عدم نکروز	عدم التهاب
۱+	کمتر از ۲۵٪ لوله‌ها	کمتر از ۲۵٪ لوله‌ها	کمتر از ۲۵٪ بافت
۲+	بین ۲۵-۵۰٪ لوله‌ها	بین ۲۵-۵۰٪ لوله‌ها	بین ۲۵-۵۰٪ بافت
۳+	بین ۵۰-۷۵٪ لوله‌ها	بین ۵۰-۷۵٪ لوله‌ها	بین ۵۰-۷۵٪ بافت
۴+	وسیع و گسترده	وسیع و گسترده	وسیع و گسترده

نشان دادند (شکل‌های ۱ تا ۵). گروه متفورمین پس از ۴ و ۸ ساعت از ایجاد ایسکمی -بازخونسازی کاهش معنی‌داری در مقدار اوره و کراتینین سرم در مقایسه با گروه IR نشان نداد (نمودارهای ۱ و ۲). میزان کاهش التهاب پس از ۴ ساعت از ایجاد ایسکمی -بازخونسازی در مقایسه با گروه IR معنی‌داری نبوده، ولی پس از ۸ ساعت از ایجاد ایسکمی -بازخونسازی اختلاف معنی‌داری ($p < 0/05$) را نشان می‌داد. مقایسه تورم سلولی و نکروز ایجاد شده پس از ایجاد ایسکمی -بازخونسازی تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌داد (جداول ۲ و ۳).

تحلیل آماری

برای تحلیل آماری داده‌ها از بسته نرم‌افزاری SPSS-16 استفاده شد. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون کروسکال والیس (Kruskal Wallis Test) مورد بررسی قرار گرفت. اختلافات در سطح $p < 0/05$ معنی‌دار تلقی شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه با وجود درمان با متفورمین تغییرات دژنراتیو و تورم سلولی در برخی از لوله‌ها و پیکنوز هسته‌ها به صورت پراکنده همچنان وجود داشت ولی اکثر لوله‌ها وضعیت نسبتاً طبیعی هسته و سیتوپلاسم را

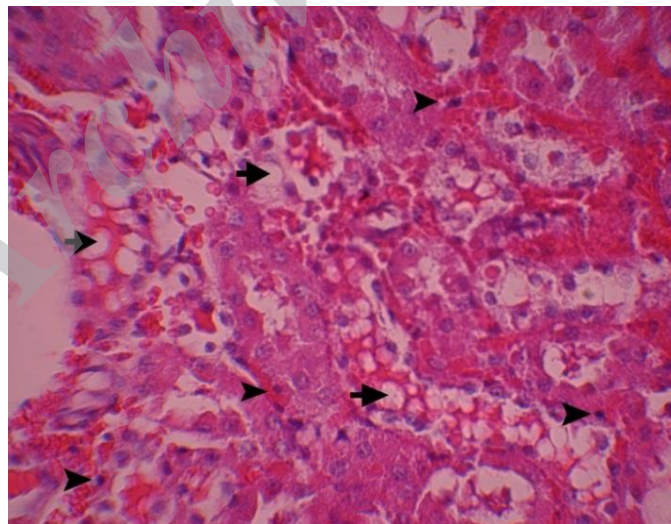
جدول ۲- مقایسه آسیب‌شناسی بافتی کلیه بین گروه‌های مورد مطالعه در ۴ ساعت بعد از ایسکمی-بازخونسازی

پارامترهای مورد سنجش			گروه‌ها
التهاب	نکروز	تورم سلولی	
-	-	-	گروه شاهد جراحی
+++ a	+++a	+++a	I/R گروه
+++/-a	+++a	+++/-a	I/R+MET گروه

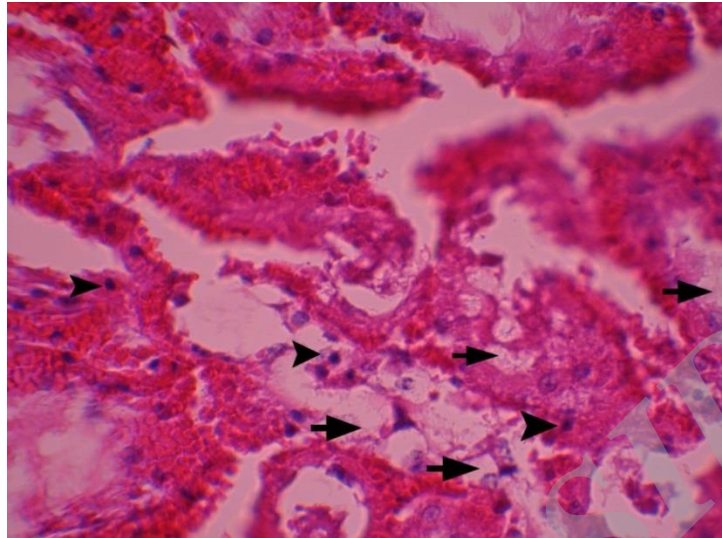
c,ba حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

جدول ۳- مقایسه آسیب‌شناسی بافتی کلیه بین گروه‌های مورد مطالعه در ۸ ساعت بعد از ایسکمی-بازخونسازی

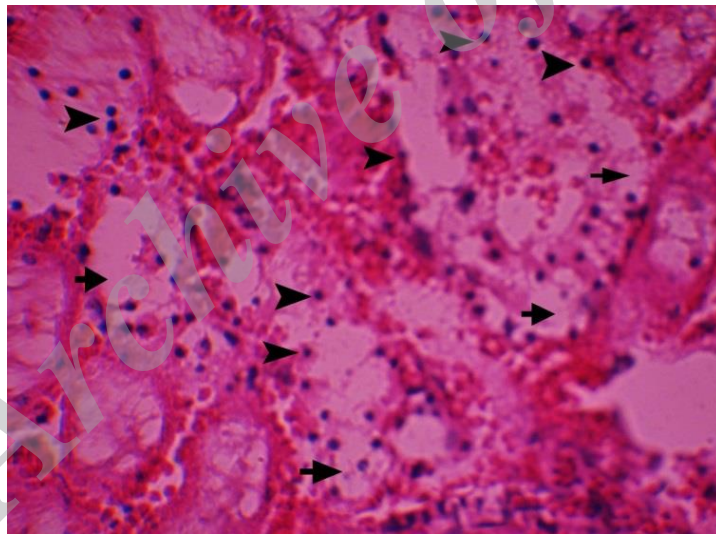
پارامترهای مورد سنجش			گروه‌ها
التهاب	نکروز	تورم سلولی	
-	-	-	گروه شاهد جراحی
++ a	+++/-a	+++a	I/R گروه
+/-b	+++a	+++a	I/R+MET گروه

c,ba حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

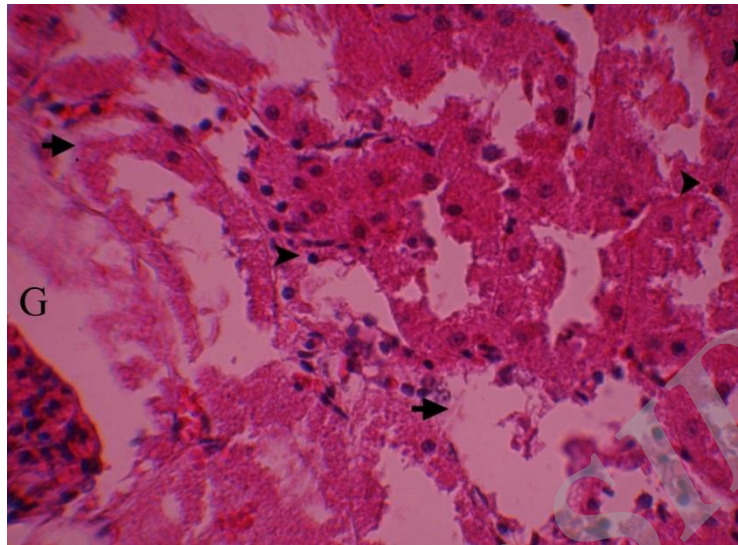
شکل ۱- نمای ریزبینی از کلیه یک موش از گروه ایسکمی-بازخونسازی پس از ۴ ساعت از ایجاد آسیب؛ دژنراسیون و تورم سلولی (پیکان‌ها) در لوله‌های ادراری همراه با پیکنوز شدن هسته‌ها (نوک پیکان‌ها) و نکروز لوله‌ها مشاهده می‌گردد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، درشتنمایی $\times 640$).



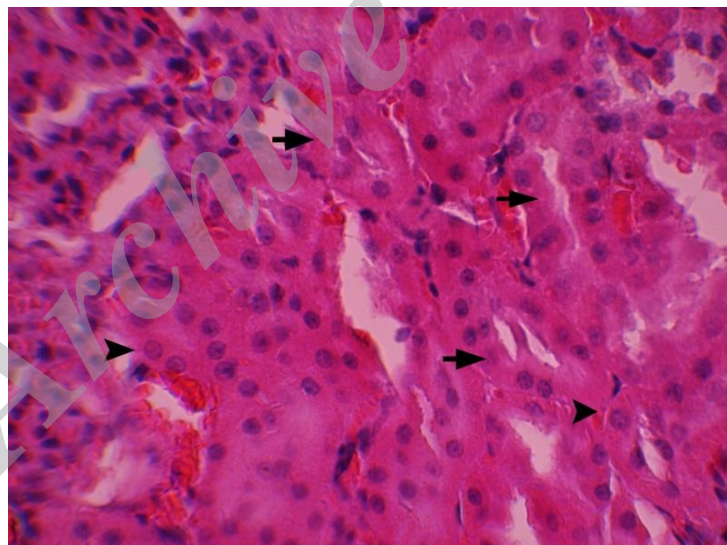
شکل ۲- نمای ریزینی از کلیه یک موش از گروه تیمار با متفورمین پس از ۴ ساعت از ایجاد آسیب؛ دژنراسیون و تورم سلولی (پیکان‌ها) و پیکنوز هسته‌ها (نوک پیکان‌ها) در برخی لوله مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اِئوزین، درشتنمایی $\times 640$).



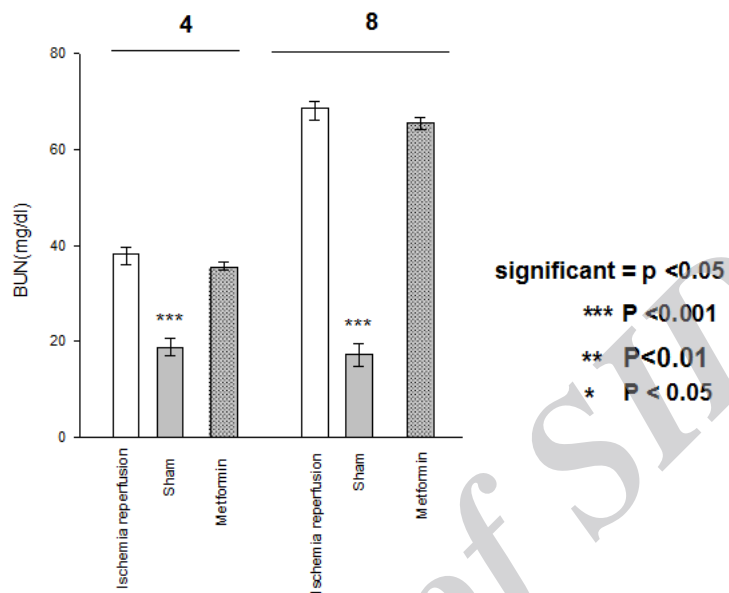
شکل ۳- نمای ریزینی از کلیه یک موش از گروه ایسکمیک-بازخونسازی پس از ۸ ساعت از ایجاد آسیب؛ دژنراسیون و تورم سلولی (پیکان‌ها) در لوله-های ادراری همراه با پیکنوز شدن هسته‌ها (نوک پیکان‌ها) و نکروز لوله‌ها به‌طور گسترده مشاهده می‌گردد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اِئوزین، درشتنمایی $\times 640$).



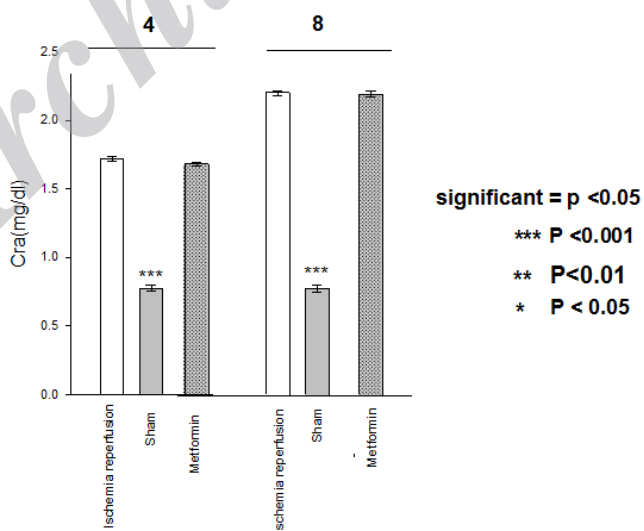
شکل ۴- نمای ریزینی از کلیه یک موش از گروه تیمار با متفورمین پس از ۸ ساعت از ایجاد آسیب؛ دژنراسیون و تورم سلولی (پیکان‌ها) در برخی لوله‌ها به همراه پیکنوز هسته‌ها (نوک پیکان‌ها) مشاهده می‌شود. G: گلومرول (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اُتوزین، درشتنمایی $\times 640$).



شکل ۵- نمای ریزینی از کلیه یک موش از گروه کنترل جراحی؛ لوله‌های ادراری وضعیت طبیعی هسته (نوک پیکان‌ها) و سیتوپلاسم (پیکان‌ها) را نشان می‌دهند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اُتوزین، درشتنمایی $\times 640$).



نمودار ۱- مقایسه مقدار اوره سرم بین گروه‌های مختلف پس از گذشت ۴ و ۸ ساعت از ایجاد ایسکمیک-بازخونسازی



نمودار ۲- مقایسه مقدار کراتینین سرم بین گروه‌های مختلف پس از گذشت ۴ و ۸ ساعت از ایجاد ایسکمیک-بازخونسازی

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه پس از ایجاد آسیب ایسکمی-بازخونسازی در بافت کلیه اثرات متفورمین بر آسیب شناسی بافتی و عملکرد آن بررسی شد و نشان داده شد که علی‌رغم درمان با متفورمین تغییرات دژنراتیو و تورم سلولی در برخی از لوله‌های ادراری و تغییرات پیکنوز در هسته‌ها همچنان مشاهده می‌شود لکن، اکثر لوله‌ها وضعیت نسبتاً طبیعی هسته و سیتوپلاسم را نشان دادند. متفورمین کاهش معنی‌داری در میزان BUN و کراتینین سرم ایجاد نکرد، اما میزان التهاب را به طور معنی‌داری کاهش داد. در مطالعه‌ای که توسط طاهری و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شده است، اثرات متفورمین بر عملکرد و ساختار کلیه پس از ایجاد آسیب ایسکمی-بازخونسازی بررسی گردیده و مشخص شده است که متفورمین با داشتن اثرات محافظتی تا حدودی از تغییرات پاتولوژی ممانعت می‌کند ولی تغییر قابل ملاحظه‌ای در پارامترهای سرولوژی در مقایسه با گروه IR ایجاد نمی‌کند. این مطلب احتمالاً به دلیل وقوع هیپوکسی و کاهش جریان خون کلیه ناشی از کاهش برون‌ده قلبی به علت اسیدوز لاکتیک، که از عوارض متفورمین است، روی می‌دهد که به دنبال آن کاهش اندکی در BUN و کراتینین سرم رخ می‌دهد (Taheri et al., 2012). در هر صورت نتایج این مطالعه با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد. متفورمین ممکن است سبب مهار زنجیره تنفسی میتوکندریایی شود. در مواردی که افزایش خطر ابتلا به اسیدوز لاکتیک در بیماران وجود داشته باشد، این دارو را نمی‌توان استفاده کرد (Nye and Herrington, 201). خطر وقوع اسیدوز لاکتیک همراه متفورمین، با

جلوگیری از استفاده این دارو در بیماران با ریسک ابتلا به سپتی‌سمی، نارسایی کلیه، شوک هیپوولمیک، کاهش ظرفیت کلیه در افراد مسن، کم می‌شود (Ansari, 2011). در سال‌های اخیر بیشتر مطالعات در مورد متفورمین متوجه امکان اثر محافظتی این دارو روی کلیه و همچنین اثر آنتی‌اکسیدانی آن بوده است (Cicero et al., 2012). متفورمین می‌تواند سبب کاهش واکنش‌های اکسیداتیو سلولی شود که حاکی از اثرات ارزشمند این دارو حتی در افراد غیر دیابتی می‌باشد (Tankova, 2002). متفورمین می‌تواند سبب جمع‌آوری و پاکسازی مستقیم یون هیدروکسیل (OH) شود در صورتی که این دارو در رابطه با یون سوپراکسید (O_2^-) این توانایی را ندارد. از سوی دیگر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) هم با متفورمین واکنش نمی‌دهد. بنابراین متفورمین به‌طور مستقیم می‌تواند ROS را جمع‌آوری کند، یا به‌طور غیرمستقیم تولید O_2^- را تعدیل کند (Bonfont-Rousselot and Raji, 2003). متفورمین از طریق فعال‌سازی AMPK (پروتئین کیناز وابسته به آدنوزین مونوفسفات) که منجر به القای آنتی‌اکسیدان Trx (Thioredoxin) می‌شود، می‌تواند سبب کاهش سطح ROS شود (Hou and Song, 2010). همچنین این دارو می‌تواند از تولید سایتوکین‌های پیش‌التهابی همانند IL6، IL8 و IL1 جلوگیری کند (Cheng and Truong, 2010). نشان داده شده که متفورمین می‌تواند باعث کاهش تولید mRNA مربوط به پروتئین‌های چسبناک دیواره آندوتلیال همانند VCAM و ICAM-1 با واسطه‌گری مهار $TNF-\alpha$ گردد (Hansson, 2005). آسیب لوله‌های ادراری کلیه که توسط جنتامایسین به وجود آمده می‌تواند توسط متفورمین بهبود یابد

و به این ترتیب ریسک فاکتور مهم‌تری نسبت به متفورمین، برای اسیدوز لاکتیک به حساب می‌آید (Nye and Herrington, 2011). در بررسی حاضر مشخص شد که متفورمین توانسته است سبب کاهش عوارض ناشی از ایسکمی-بازخونسازی شود، لکن عدم کاهش معنی‌دار BUN و کراتینین حاصله، می‌تواند ناشی از اسیدوز لاکتیک در اثر متفورمین باشد. با توجه به یافته‌های حاصل از این بررسی پیشنهاد می‌گردد که مطالعات آتی گسترده‌تری با ایجاد ایسکمی-بازخونسازی به مدت‌های طولانی‌تر در کلیه و مصرف متفورمین با دوزهای مختلف انجام شود.

(Morales *et al.*, 2010). بنابراین، متفورمین با ترمیم تغییرات بیوشیمیایی و بهبود اثرات استرس اکسیداتیو روی توبول‌های کلیه، اثر محافظتی دارد. البته در برخی مطالعات نشان داده شده که پس از تجویز این دارو گلوکزآوری دیده می‌شود که با اثر محافظتی متفورمین بر کلیه در تناقض است (Behradmanesh and Nasri, 2013). اگرچه تعداد زیادی از محققین بر این باورند که متفورمین سبب اسیدوز لاکتیک می‌شود ولی مطالعه سیستمیک روی تمام آزمایشات موحود و مطالعات به روش کوهرت (Cohort studies) از این موضوع حمایت نمی‌کند. در واقع شواهد نشان می‌دهند که دیابت نوع دو، خود عامل کاهش پاکسازی لاکتات است

منابع

- Ansari, M. (2011). Renoprotective effects of combining ACE inhibitors and statins in experimental diabetic rats. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(5): 322-325.
- Behradmanesh, S. and Nasri, H. (2013). Association of serum calcium with level of blood pressure in type 2 diabetic patients. *Journal of Nephropathology*, 2(4): 254.
- Bonnefont-Rousselot, D. and Raji, B. (2003). An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism*, 52(5): 586-589.
- Cheng, J. and Truong, L.D. (2010). Serum-and glucocorticoid-regulated kinase 1 is upregulated following unilateral ureteral obstruction causing epithelial-mesenchymal transition. *Kidney International*, 78(7): 668-678.
- Cicero, A., Tartagni, E. and Ertek, S. (2012). Metformin and its clinical use: new insights for an old drug in clinical practice. *Archives Medical Science*, 8: 907-917.
- Demaille, D., Guigas, B., Chauvin, C., Batandier, C., Fontaine, E., Wiernsperger, N., *et al.* (2005). Metformin prevents high-glucose-induced endothelial cell death through a mitochondrial permeability transition-dependent process. *Diabetes*, 54(7): 2179-2187.
- Hansson, G.K. (2005). Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*, 352(16): 1685-1695.
- Hou, X., Song, J., Li, X.N., Zhang, L., Wang, X., Chen, L., *et al.* (2010). Metformin reduces intracellular reactive oxygen species levels by upregulating expression of the antioxidant thioredoxin via the AMPK-FOXO3 pathway. *Biochemical and biophysical research communications*, 396(2): 199-205.
- Morales, A.I., Demaille, D., Prieto, M., Puente, A., Briones, E., Arévalo, M., *et al.* (2010). Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. *Kidney International*, 77(10): 861-869.

- Nye, H.J. and Herrington, W.G. (2011). Metformin: the safest hypoglycaemic agent in chronic kidney disease? *Nephron Clinical Practice*, 118(4): c380-c383.
- Rafieian-Kopaei, M., Baradaran, A., Merrikhi, A., Nematbakhsh, M., Madihi, Y. and Nasri H. (2013). Efficacy of co-administration of garlic extract and metformin for prevention of gentamicin–renal toxicity in wistar rats: A biochemical study. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(3): 258.
- Soraya, H., Farajnia, S., Khani, S., Rameshrad, M., Khorrami, A., Banani, A., *et al.* (2012). Short-term treatment with metformin suppresses toll like receptors (TLRs) activity in isoproterenol-induced myocardial infarction in rat: Are AMPK and TLRs connected? *International Immunopharmacology*, 14(4): 785-791.
- Taheri, N., Azarmi, Y., Neshat, M., Garjani, A. and Doustar, Y. (2012). Study the effects of metformin on renal function and structure after unilateral ischemia-reperfusion in rat. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 7(5): S77.
- Tankova, T. (2002). Current indications for metformin therapy. *Romanian journal of internal medicine. Revue Roumaine de Medecine Interne*, 41(3): 215-225.
- Vesey, D.A., Cheung, C., Pat, B., Endre, Z., Gobé, G. and Johnson, D.W. (2004). Erythropoietin protects against ischaemic acute renal injury. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 19(2): 348-355.