

کاهش ضایعات ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد توسط مقلد آنزیم سوپراکساید دسموتاز (MnTBAP) در مدل *in vivo* کلیه موش صحرایی

مریم زحمتکش Ph.D.*[‡]، مهري كدخدایی Ph.D.*[‡]، رعنا غزنوی M.Sc.*[‡]، صدیقه شمس Ph.D.*[‡]
غلامرضا بیات M.Sc.*[‡]

*[‡] دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

*[‡] دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز طی کودکان

*[‡] دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

‡ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۱۴۱۷۴، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

پست الکترونیک: Email: Mehr45@yahoo.com

چکیده

دریافت مقاله: ۸۴/۱/۱۵، پذیرش مقاله: ۸۴/۶/۶

*** هدف:** بررسی اثر مقلد آنزیم سوپراکساید دسموتاز (MnTBAP) بر ضایعات ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد در کلیه موش صحرایی

*** مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ابتدا موش‌های صحرایی بیهوش شده با پنتوباریتال سدیم تراکتوتومی شدند. سپس شریان فمور کانول گذاری، فشار متوسط شریانی و تعداد ضربان قلب در تمام مدت آزمایش توسط سیستم PowerLab ثبت گردید. انفوزیون سالین به میزان ۶ میلی‌لیتر بر کیلوگرم در ساعت از طریق ورید فمور برقرار شد. مثانه نیز کانول گذاری و ادرار در تمام مدت پرفیوژن مجدد جمع‌آوری گردید. سپس با ایجاد یک برش شکمی، شریان هر دو کلیه از بافت‌های اطراف به دقت جدا شد. بعد از اتمام جراحی و یک دوره استراحت ۶۰ دقیقه‌ای رت‌ها به طور تصادفی در چهار گروه Sham-Operated، IR، IR+MnTBAP قرار گرفتند. در گروه‌های (IR: Ischemia-reperfusion)، شریان هر دو کلیه به مدت ۴۰ دقیقه توسط کلمپ بولداگ مسدود و سپس ۶ ساعت پرفیوژن مجدد برقرار شد. رت‌ها ۱۵ دقیقه قبل از زمان ایسکمی، MnTBAP (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت بولوس وریدی یا سالین دریافت کردند. عملکرد کلیه با اندازه‌گیری BUN، کراتینین، پلاسما، آسپاراتات آمینوترانسفراز، کسر دفع سدیم و فعالیت آنزیم آن-استیل بتا دی گلوکوزامینیداز ادرار ارزیابی شد. از روش آنالیز واریانس یک طرفه به منظور ارزیابی داده‌ها استفاده شد.

*** یافته‌ها:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که MnTBAP، به طور معنی‌داری از افزایش شاخص‌های BUN، کراتینین، پلاسما، آسپاراتات آمینوترانسفراز، کسر دفع سدیم و فعالیت آنزیم آن-استیل بتا دی گلوکوزامینیداز ادرار ناشی از ضایعات ایسکمی پرفیوژن مجدد جلوگیری می‌نماید.

*** نتیجه‌گیری:** این نتایج پیشنهاد می‌کند که مهار گونه‌های فعال اکسیژن به ویژه آنیون O_2^- با استفاده از یک SOD mimetic می‌تواند ضایعات ناشی از IR را کاهش دهد. با توجه به اینکه اثرات سمی از MnTBAP گزارش نشده است و امکان مصرف آن به صورت خوراکی وجود دارد و در مدل‌های مختلف استرس اکسیداتیو در شرایط *in vivo* موثر بوده است، استفاده از آن در پروتکل درمانی مقابله با ضایعات ناشی از IR در مطالعات مقدماتی بالینی پیشنهاد می‌شود.

کلیدواژگان: آنزیم سوپراکساید دسموتاز، ایسکمی-پرفیوژن مجدد، گونه‌های فعال اکسیژن، MnTBAP

فصلنامه پزشکی یاخته، سال هفتم، شماره ۳، پاییز ۸۴، صفحات ۱۴۵-۱۴۰

مقدمه

که گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) به ویژه سوپراکساید (O_2^-) و پراکسی نیتريت ($ONOO^-$) واسطه مهم آسیب‌های ناشی از IR در کلیه هستند (۲، ۳) و تولید بیش از حد طبیعی آنیون O_2^- بعد از پرفیوژن مجدد در ارگان‌های ایسکمیک متعددی از جمله در کلیه (۴) مشاهده شده است. در شرایط فیزیولوژیک آنیون‌های O_2^- در میتوکندری، در متابولیسم اسید آراشیدونیک، در شبکه آندوپلاسمی توسط سیتوکروم

علی‌رغم پیشرفت‌های قابل ملاحظه در درمان بیماری‌های حاد، نارسایی حاد کلیه (Acute renal failure: ARF) هنوز جزو مشکلات عمده بالینی بوده که با مرگ و میر بالایی همراه است (۱). یکی از علل عمده نارسایی حاد کلیه، ایسکمی کلیه است. بدیهی است که برای بقای بافت ایسکمیک، پرفیوژن مجدد ضروری است اما خود، آسیب مضاعفی ایجاد می‌کند که آن را تحت عنوان ضایعات ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد IR می‌شناسیم (۲). شواهد زیادی وجود دارد

مواد و روش‌ها

(Mn (III) tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin; Germany) Mn TBAP
از شرکت Alexis خریداری شد. پنتوباریتال سدیم و $(5,5'$ Dithio bis 2-Nitrobenzoic acid) DTNB -P- نیترتروفنیل استا دی گلوکوزامینیداز از شرکت Sigma-Aldrich (Germany) خریداری گردید.

روش اجرا

در این مطالعه از ۲۸ راس رت نر از نژاد Sprague-Dawley در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۷۰ گرم با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد استفاده شد. همه گروه‌ها توسط تزریق داخل صفاقی پنتوباریتال سدیم (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده و سپس با تزریق ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ساعت پنتوباریتال سدیم، بیهوشی حفظ گردید. مدت زمان آزمایش در تمام گروه‌ها یکسان بود. در تمام این مدت حیوان گرم نگهداشته شده و به منظور اطمینان از باز بودن راه هوایی و تسهیل تنفس تراکئوتومی انجام شد. سپس شریان فمور به منظور مانیتور کردن فشار شریانی کانول گذاری شد. ورید فمور به منظور تجویز دارو و انفوزیون مایعات و ممانه به منظور جمع‌آوری ادرار کانول گذاری گردید. سپس با یک برش عرضی روی شکم، Renal pedicles نمایان گردید و شریان هر دو کلیه از بافت‌های اطراف به دقت جدا شد. بعد از اعمال جراحی به مدت ۶۰ دقیقه به حیوان فرصت داده شد تا با شرایط فوق آداپته شود. سپس رت‌ها به طور تصادفی در یکی از ۴ گروه زیر قرار گرفتند:

1. Sham-Operated
2. Sham+MnTBAP
3. IR-Control
4. IR+MnTBAP

در گروه کنترل جراحی یا Sham تمام مراحل جراحی فوق انجام گردید ولی شریان‌های کلیه مسدود نشد. در تمام مدت آزمایش موش‌ها تحت بیهوشی بودند و یک تزریق بولوس سالین (vehicle) و انفوزیون سالین به میزان ۶ میلی‌لیتر بر کیلوگرم در ساعت دریافت کردند. در گروه Sham+MnTBAP تمام شرایط مانند گروه Sham بود با این تفاوت که به جای سالین یک تزریق وریدی بولوس MnTBAP (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت کردند. در گروه کنترل IR، ۱۵ دقیقه قبل از القای ایسکمی یک بولوس سالین دریافت کردند و سپس توسط کلمپ بولداگ به مدت ۴۰ دقیقه هر دو شریان کلیوی راست و چپ مسدود شد و از تغییر رنگ کلیه به منظور تایید Occlusion استفاده شد. سپس با باز کردن کلمپ مدت ۶ ساعت پرفیوژن مجدد برقرار شد و در این مدت انفوزیون سالین به میزان ۶ میلی‌لیتر بر کیلوگرم در ساعت دریافت کردند. در گروه IR+MnTBAP تمام شرایط مانند گروه IR بود با این تفاوت که ۱۵ دقیقه قبل از القای ایسکمی یک تزریق وریدی بولوس MnTBAP (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت کردند. در تمام گروه‌ها در دقیقه ۵۵

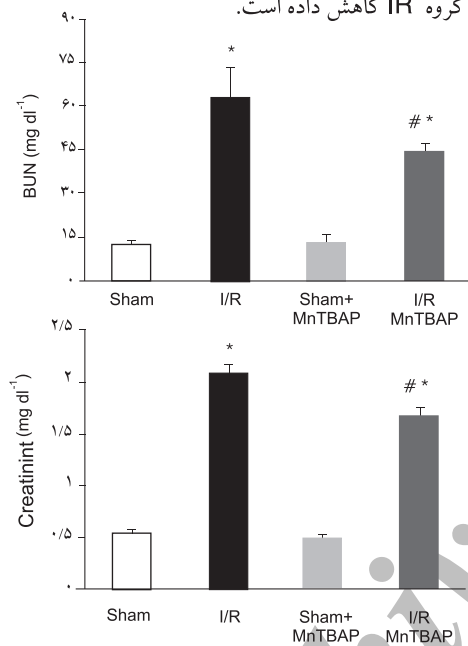
P₄₅₀ و در سیتوپلاسم توسط آنزیم‌هایی مثل گزانتین اکسیداز تولید می‌شوند. غشای پلاسمایی بسیاری از سلول‌ها با فعال کردن آنزیم‌هایی مثل فسفولیپاز A₂ و NAD(P)H اکسیداز می‌توانند O₂⁻ تولید کنند اما میزان تولید آن به گونه‌ای است که تحت کنترل دقیق سیستم آنزیمی (Superoxide dismutase: SOD) اندوژن بوده (۵) که فعالیت آنزیمی آن اولین بار در سال ۱۹۶۹ توسط مک کورد و فری دوویچ کشف شد (۶). SOD_s، متالو پروتئین‌هایی هستند که با واکنش‌های دسموتاسیون، گونه‌های فعال اکسیژن را سمیت‌زدایی می‌کنند. واکنش دسموتاسیون شامل انتقال یک یا دو الکترون می‌باشد به نحوی که الکترونها از یک O₂⁻ یا H₂O₂ گرفته می‌شوند و سپس به دیگری منتقل می‌شوند (۵، ۷).

در شرایط التهابی افزایش تولید O₂⁻ بر ظرفیت دفاعی سیستم آنزیمی SOD غلبه می‌کند که باعث آسیب سلول اندوتلیال، افزایش نفوذپذیری عروق (۸)، تشکیل لوکوترین‌ها (۹)، بسیج نوتروفیل‌ها به محل التهاب (۱۰)، پراکسیداسیون چربی‌ها و آسیب DNA و تشکیل پراکسی نیتريت (۱۱، ۱۲) می‌شود. بنابراین حفظ عملکرد طبیعی سلول و ارگان به تعادل میان تولید ROS (O₂⁻) و SOD وابسته است. در مطالعات اولیه برای جلوگیری از ضایعات IR از توانایی شلات‌های ساده فلزی برای ترکیب با O₂⁻ استفاده شد. اما سرعت واکنش آنها با O₂⁻ پایین و کمپلکس‌ها ناپایدار بودند. تحقیق برای شلات‌های قوی‌تر و پایدارتر منجر به کشف حداقل سه نوع مقلد SOD حاوی فلز (Metal containing SOD mimetics) شد.

پایدارترین این کمپلکس‌ها متالوپورفیرین‌ها بودند که از آنها می‌توان MnTBAP را نام برد (۱۳). متالوپورفیرین‌ها جاروب کننده یا O₂⁻ Scavenger، H₂O₂، ONOO⁻، رادیکال‌های لیپید پراکسیل (۱۴، ۱۵) و مهار کننده قوی پراکسیداسیون چربی‌ها می‌باشند (۱۵). آثار حفاظتی MnTBAP علیه آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو، شوک هموراژیک، اندوتوکسیک (۱۶، ۱۷) و نارسایی حاد کبد (۱۸) گزارش شده است. در میان SOD mimetic ها، MnTBAP اثرات بسیار قوی علیه استرس اکسیداتیو در شرایط in vivo دارد (۱۳). MnTBAP، یک SOD mimetic فعال، پایدار و غیرسمی است که به راحتی از غشا سلول عبور می‌کند (۱۹).

چنان‌که می‌دانیم تاکنون مداخلات درمانی در ARF توفیق چشم‌گیر نداشته و در حال حاضر تنها درمان موثر دیالیز است (۱). از سوی دیگر تولید ROS به ویژه سوپراکسید (O₂⁻) و پراکسی نیتريت (ONOO⁻) به عنوان واسطه‌های مهم آسیب‌های ناشی از IR در کلیه شناخته شده‌اند (۲، ۳). MnTBAP یک مقلد SOD پایدار و جدید است که به راحتی از سد غشا عبور می‌کند و بسیار مهم‌تر آن‌که هم فعالیت کاتالازی و هم SOD دارد و Scavenger پراکسی نیتريت بوده و تاکنون اثر آن در کلیه بررسی نشده است، در این مطالعه بر آن شدیم تا اثر این متالوپورفیرین جدید را در مدل ایسکمی - پرفیوژن مجدد در کلیه بررسی کنیم.

معنی داری BUN ($63/5 \pm 10/4$) در برابر $12/28 \pm 1/35$ میلی گرم در دسی لیتر) و کراتینین ($2/09 \pm 0/06$) در برابر $0/54 \pm 0/04$ میلی گرم در دسی لیتر) را در مقایسه با گروه کنترل-جراحی یا Sham افزایش داد که نشان دهنده اختلال قابل توجه در عملکرد گلوبولین ها است. تجویز MnTBAP به طور معنی داری مانع افزایش BUN و کراتینین نسبت به گروه IR شد که نتایج آن در نمودار ۱ نشان داده شده است. نمودار ۲ نشان دهنده تغییرات AST و ΔCr در گروه های مختلف است. میزان AST و ΔCr در گروه IR به طور معنی داری بیشتر از گروه Sham بوده و تزریق وریدی MnTBAP به میزان ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، مقدار AST و ΔCr را به ترتیب $50/3$ درصد و $30/9$ درصد نسبت به گروه IR کاهش داده است.



نمودار ۱: تغییرات غلظت BUN و کراتینین پلاسما در گروه های مختلف. هر یک از ستونها نمایانگر میانگین \pm خطای معیار غلظت BUN و کراتینین بر حسب میلی گرم در دسی لیتر است. ستاره، اختلاف معنی دار را نسبت به گروه کنترل در سطح $P \leq 0/05$ نشان می دهد. # اختلاف معنی دار را نسبت به گروه IR در سطح $P \leq 0/05$ نشان می دهد.

ان-استیل بتا دی گلوکوزامینیداز (NAG) یک گلیکوزیداز لیزوزومی است که به میزان فراوان در توپول پروگزیمال وجود دارد و فعالیت اداری آن شاخص بسیار حساسی به آسیب های توپولی است. ۴۰ دقیقه ایسکمی و ۶ ساعت پرفیوژن مجدد در گروه IR، به طور معنی داری، سبب افزایش فعالیت این آنزیم گردید ($16/92 \pm 2/25$) در برابر $72/18 \pm 10/6$ که نتایج دقیق آن در نمودار ۳ آمده است. همچنین در گروه IR، FE_{Na}^+ ($2/28 \pm 0/4$) درصد در برابر $34/71 \pm 1/08$ درصد) نسبت به گروه Sham به طور معنی داری افزایش یافت. تجویز MnTBAP به طور معنی داری مقدار NAG و FE_{Na}^+ را نسبت به گروه IR به ترتیب $39/7$ درصد و $18/93$ درصد کاهش داد. (نمودار ۳).

(۱۵+۴۰) یک نمونه خون (۰/۳ میلی لیتر) از مسیر شریانی به منظور اندازه گیری مقدار کراتینین پایه گرفته شد. در مدت زمان پرفیوژن مجدد در تمام گروه ها ادرار جمع آوری شد و در انتها یک نمونه خون به منظور اندازه گیری شاخص های عملکردی کلیه و آسیب های ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد گرفته شد و شاخص های BUN، کراتینین (Cr)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، غلظت پلاسماهی و ادراری سدیم به منظور محاسبه کسر دفع سدیم (FE_{Na}^+) و غلظت ادراری ان-استیل بتا دی گلوکوزامینیداز (NAG) مورد ارزیابی قرار گرفت.

در این مطالعه BUN و کراتینین پلاسما به عنوان شاخص های آسیب عملکرد گلوبولی با روش اسپکتروفتومتری (آنالیزر هیتاچی ۷۰۴) به ترتیب در طول موج ۵۲۰ و ۵۰۵ نانومتر اندازه گیری شد. آسپاراتات آمینوترانسفراز که در سلول های توپول پروگزیمال وجود دارد به عنوان شاخص آسیب ناشی از پرفیوژن مجدد به کار رفت که با روش کینتیک اندازه گیری شد (۲۰). از آنجایی که از نظر بالینی و پاتوفیزیولوژی تغییرات مقدار کراتینین (نه مقدار مطلق آن) در تشخیص نارسایی حاد کلیوی اهمیت دارد لذا ΔCr (مقدار کراتینین در انتهای آزمایش منهای مقدار کراتینین پایه) نیز محاسبه گردید. علاوه بر این غلظت پلاسماهی و ادراری سدیم به منظور محاسبه کسر دفع سدیم به کار رفت که شاخصی با ارزش در ارزیابی اختلال در عملکرد و نکروز توپول ها است (۱). غلظت ادراری ان-استیل بتا دی گلوکوزامین به عنوان شاخص آسیب های توپولی اندازه گیری شد (۲۱).

روش اندازه گیری ان-استیل بتا دی گلوکوزامین (NAG)

ان-استیل بتا دی گلوکوزامینداز یک گلیکوزیداز لیزوزومی است که به میزان فراوان در توپول پروگزیمال وجود دارد. فعالیت اداری آن شاخص بسیار حساس از آسیب های توپولی است. در این مطالعه تمامی نمونه های ادرار در فریزر ۲۰- نگهداری شد. فعالیت NAG با استفاده از هیدرولیز آنزیمی P-نیترو فنیل بتادی گلوکوزامینیداز و سنجش اسپکتروفتومتری یون P-nitrophenylate در طول موج ۴۰۲ نانومتر اندازه گیری شد (۲۱).

روش آماری

در این تحقیق نتایج بر اساس برنامه آماری SPSS-10 و تست آنالیز واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفت و برای مقایسه چندگانه از شاخص Student Newman Keuls استفاده شد. اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. تعداد نمونه ها در هر گروه هفت است.

یافته ها

در تمامی گروه ها مقدار MAP در زمان آزمایش با مقدار پایه (به ترتیب $109 \pm 10/3$ و $110 \pm 9/8$ میلی متر جیوه) تفاوت معنی داری نداشت. علاوه بر آن تجویز MnTBAP اثری بر میزان MAP و تعداد ضربان قلب نداشت. ۴۰ دقیقه ایسکمی و ۶ ساعت پرفیوژن مجدد به طور

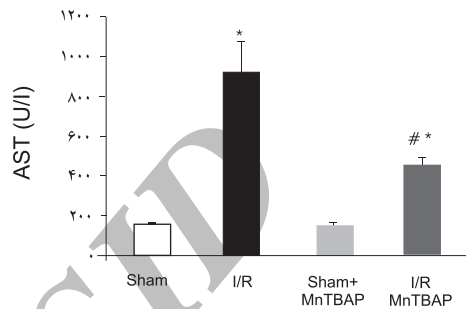
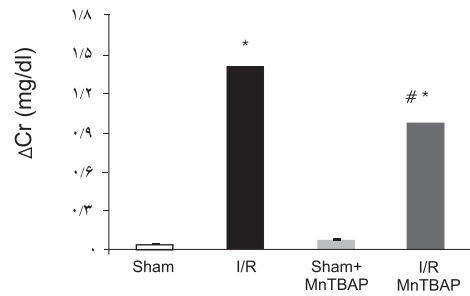
بحث

شواهد زیادی وجود دارد که گونه های فعال اکسیژن (ROS) به ویژه سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و پراکسی نیتريت ($ONOO^-$) در پاتوژن بسیاری از بیماری ها به ویژه در ضایعات ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد در کلیه دخالت دارند. مقابله با گونه های فعال اکسیژن اثرات درمانی مفیدی را به همراه دارد (۲۲). در این خصوص سیستم آنزیمی SOD اندوژن، اولین خط دفاعی را تشکیل می دهد اما آز آنجایی که در شرایط ایسکمی-پرفیوژن مجدد تعادل میان تولید ROS و سیستم دفاعی اندوژن از بین می رود، بخشی از تحقیقات به بررسی اثر SOD mimeticها در ضایعات ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد اختصاص یافته که در این میان متالوپورفیرین ها به علت اثرات مفیدی که در شرایط *in vivo* و *in vitro* نشان دادند، مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در میان متالوپورفیرین ها، MntBAP به علت پایداری، اثرات غیرسمی و قدرت آنتی اکسیدانی در مدل های مختلف استرس اکسیداتیو که با تولید $O_2^{\cdot-}$ ، H_2O_2 و $ONOO^-$ همراه بوده اند، مورد بررسی قرار گرفته (۱۳، ۱۴، ۱۹، ۲۳-۲۹) و در مهار استرس اکسیداتیو در این مطالعات موثر بوده و اثرات مفید MntBAP در مدل های التهابی متعددی گزارش شده (۱۰، ۲۸) که بیشترین اثر آن در این مدل ها به کاهش هجوم نوتروفیل ها به محل التهاب و کاهش تشکیل نیتروتیروزین مربوط است (۵، ۱۰).

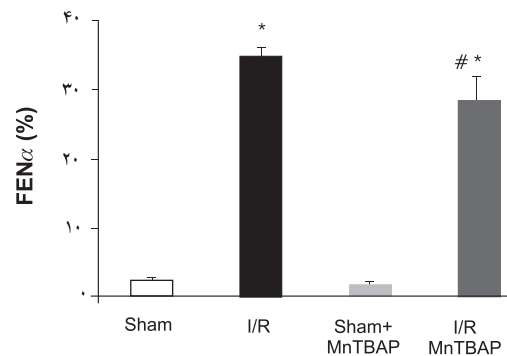
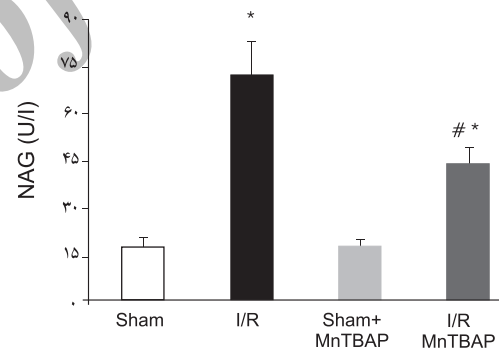
در این مطالعه اثر MntBAP بر ضایعات ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد در کلیه موش صحرایی در مدل *invivo* بررسی شد. ۴۰ دقیقه ایسکمی و ۶ ساعت پرفیوژن مجدد به طور مشخص سبب آسیب کلیه گردید که با افزایش BUN و کراتینین مشخص شد. از آنجایی که از نظر بالینی و پاتوفیزیولوژی تغییرات مقدار کراتینین در تشخیص نارسایی حاد کلیوی اهمیت دارد لذا ΔCr (مقدار کراتینین در انتهای آزمایش منهای مقدار کراتینین پایه) نیز محاسبه گردید که در گروه IR به طور معنی داری افزایش یافت.

AST در توپول های پروگزیمال وجود دارد و غلظت پلاسمایی آن به عنوان شاخصی از آسیب های سلولی ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد در نظر گرفته شد که در گروه IR به طور معنی داری افزایش یافت. تجویز MntBAP به طور معنی داری مانع افزایش ΔCr ، Cr، BUN و AST گردید که نشان دهنده کاهش آسیب های ناشی از IR بوده علاوه بر آن در گروه IR مقدار NAG و FE_{Na}^+ نیز به طور معنی داری افزایش یافت که می تواند نشان دهنده آسیب به توپول ها باشد.

ان-استیل بتادی گلوکوزامینداز یک گلیکوزیداز لیزوزومی است که به میزان فراوان در توپول پروگزیمال وجود دارد و فعالیت ادراری آن شاخص بسیار حساس از آسیب به سلول های توپولی است. تجویز MntBAP به طور معنی داری از افزایش شاخص های فوق به واسطه ایسکمی-پرفیوژن مجدد جلوگیری نمود که نشان دهنده کاهش ضایعات سلولی و کاهش آسیب به توپول ها است. اثرات مفید این دوز توسط کوزوکریا و همکاران در پیش گیری از شوک ناشی از زایموزان گزارش شده است (۲۸). همچنین در مطالعه دیگر دوز ۱۰ (میلی گرم بر



نمودار ۲: تغییرات غلظت ΔCr و AST در گروه های مختلف. هر یک از ستون ها نمایانگر میانگین \pm خطای معیار AST بر حسب واحد در لیتر و ΔCr بر حسب میلی گرم در دسی لیتر است. ستاره، اختلاف معنی دار را نسبت به گروه کنترل در سطح $P \leq 0.05$ نشان می دهد. # اختلاف معنی دار را نسبت به گروه IR در سطح $P \leq 0.05$ نشان می دهد.



نمودار ۳: تغییرات NAG و FE_{Na}^+ در گروه های مختلف. هر یک از ستونها نمایانگر میانگین \pm SEM است. ستاره، اختلاف معنی دار را نسبت به گروه کنترل در سطح $P \leq 0.05$ نشان می دهد. # اختلاف معنی دار را نسبت به گروه IR در سطح $P \leq 0.05$ نشان می دهد.

توسط آنتی‌اکسیدان‌های دیگر مانند کاتالاز یا گلوکوتائین مهار گردد. اما MnTBAP با Scavenge کردن H_2O_2 بر سیستم آنتی‌اکسیدانی که در شرایط IR کاهش نیز یافته است، بار اضافی تحمیل نمی‌کند (۵).

نتیجه گیری

این نتایج پیشنهاد می‌کند که مهار گونه‌های فعال اکسیژن با استفاده از MnTBAP می‌تواند ضایعات ناشی از IR را در این مدل *in vivo* ایسکمی-پرفیوژن مجدد کاهش دهد. با توجه به اینکه بخشی از آسیب‌های سلولی ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد به علت دخالت گونه‌های فعال اکسیژن به ویژه آنیون O_2^- است، در آینده حضور یک SOD mimetic مناسب برای دسموتاسیون آنیون O_2^- در پروتکل‌های درمانی ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به اینکه اثرات سمی از MnTBAP گزارش نشده است و امکان مصرف آن به صورت خوراکی وجود دارد و در مدل‌های مختلف استرس اکسیداتیو در شرایط *in vivo* موثر بوده است، استفاده از آن در پروتکل درمانی مقابله با ضایعات ناشی از IR در مطالعات مقدماتی بالینی پیشنهاد می‌شود.

کیلوگرم) توانست آسیب‌های مورفولوژیک و انفیلتراسیون نوتروفیل‌ها را در یک مدل التهابی کاهش دهد (۱۶). اگر چه مقلدهای SOD جدید، فعالیت بیشتری از MnTBAP در شرایط *in vitro* نشان داده‌اند اما اثرات MnTBAP بسیار قوی بر علیه استرس اکسیداتیو در شرایط *in vivo* داشته است. نیمه عمر پلاسمایی آن حدود ۹/۵ ساعت بوده و با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثرات سمی نداشته است (۲۶).

عارضه شایع عفونت باکتریایی پدیده‌ای است که به آن شوک اندوتوکسیک گفته می‌شود. در این حالت بخشی از آسیب اکسیداتیو بافت به واسطه $ONOO^-$ صورت می‌گیرد. اثرات مفید MnTBAP در کاهش این ضایعات نیز گزارش شده است (۱۶). علاوه بر این اثرات حفاظتی مشابهی در شوک هموراژیک داشته است (۱۷). اثر MnTBAP در این مدل‌ها به واسطه خاصیت Scavenge کردن $ONOO^-$ علاوه بر خاصیت Scavenge کردن O_2^- است (۱۶). به نظر می‌رسد که اثرات مفید MnTBAP در مدل کنونی احتمالاً علاوه بر Scavenger کردن سوپراکسید و $ONOO^-$ به علت فعالیت کاتالازی آن باشد که در SOD mimetic‌های دیگر وجود ندارد. واکنش دسموتاسیون آنیون O_2^- سبب تولید H_2O_2 می‌گردد که باید



References

1. Thadhani R, Pascual M, Bonventre J: Acute renal failure. *New Engl J Med*, 1996; 334(22): 448-1460
2. Weight SC: Renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg*, 1996; 83:162-170
3. Nath KA, Norby SM: Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med*, 2000; 109: 655-678
4. Morpurgo E, Morpurgo E, Cadrobbi R, Morpurgo M, Rigotti P, Schiavon F, Schiavon O, Caliceti P, Ancona E, Veronese FM: Protective effect of superoxide dismutase and polyethylene glycol-linked superoxide dismutase against warm ischemia reperfusion injury. *Transplantation*, 1996; 62: 1221-1223
5. Patel M, Day BJ: Metalloporphyrin class of therapeutic catalytic antioxidants. *Tips*, 1999; 20: 359-364
6. McCord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocuprein. *J Biol Chem*, 1969; 244: 6049-6055
7. Weisiger RA, Fridovich I: Superoxide dismutase. *J Biol Chem*, 1973; 248(10): 3582-3592
8. Droy-Lefaix MT, et al: Superoxide dismutase (SOD) and the PAF-antagonist (BN52021) reduce small intestinal damage induced by ischemia-reperfusion. *Free Radic Res Commun*, 1991; 12: 725-735
9. Deitch EA, Bridges W, Berg R, Specian RD, Granger N: Hemorrhagic shock-induced bacterial translocation: the role of neutrophils and hydroxyl radicals. *J Trauma* 1990; 30: 942-951
10. Salvemini, D. Wang ZQ, Bourdon DM, Stern MK, Currie MG, Manning PT : Evidence of peroxynitrite involvement in the carrageenan-induced rat paw edema. *Eur J Pharmacol*, 1996; 303: 217-220
11. Salvemini D, Wang ZQ, Stern MK, Currie MG, Misko TP: Peroxynitrite decomposition catalysts: novel therapeutics for peroxynitrite-mediated pathology. *Proc Natl Acad Sci*, 1998; 95: 2659-2663
12. Crow JP : Reactions between nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: footprints of peroxynitrite in vivo. *Adv Pharmacol*, 1995; 34: 17-43
13. Gauvan PJ, Trova MP, Boros LG, Bocckino SB, Crapo JD, Day BJ : Superoxide dismutase mimetics : synthesis and structure-activity relationship study of MnTBAP analogues. *Bioorg & Med Chem*, 2002; 10: 3013-3021
14. Szabo C, Day BJ, Salzman AL: Evaluation of the relative contribution of nitric oxide and peroxynitrite to the suppression of mitochondrial respiration in immunostimulated macrophages using a manganese mesoporphyrin superoxide dismutase mimetic and peroxynitrite scavenger. *FEBS Lett*, 1996; 381: 82-86
15. Day BJ, Batinic-Haberle I, Crapo JD: Metalloporphyrins are potent inhibitors of lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med*, 1999; 26: 730-736
16. Zingareli B, Day BJ, Crapo JD, Salzman AL, Szabo

C: The potential role of peroxynitrite in the vascular contractile and cellular energetic failure in endotoxic shock. *Br J Pharmacol*, 1997; 120: 259-267

17. Szabo C: Potential role of the peroxynitrite – poly(ADP-ribose) synthetase pathway in a rat model of sever hemorrhagic shock. *Shock*, 1998; 9: 341-344

18. Ferret PJ, Hammoud R, Tulliez M, Tran A, Trebeden H, Jaffray P, Malassagne B, Calmus Y, Weill B, Batteux F: Detoxification of reactive oxygen species by a nonpeptidyl mimic of superoxide dismutase cures acetaminophen-induced acute liver failure in the mouse. *Hepatology*, 2001; 33: 1173-1180

19. Day BJ, Fridovich I, Crapo JD : . Manganic porphyrins possess catalase activity and protect endothelial cells against hydrogen peroxide-mediated injury. *Arch Biochem Biophys*, 1997; 347: 256 –262

20. Chatterjee PK, Brown PA, Cuzzocrea S, Zacharowski K, Stewart KN, Mota-Filipe H, McDonald MC, Thiernemann C: Calpain inhibitor-1 reduces renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *Kidney Int*, 2001; 59: 2073-2083

21. Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW: Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl-B-D-glucosaminidase activity. *Clin.Chem*, 1981; 27: 1180-1185

22. Mates JM: Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 2000; 153: 83–104

23. Day BJ, Shawen S, Liochev SI, Crapo JD: A metalloporphyrin superoxide dismutase mimetic protects

against paraquat-induced endothelial cell injury, in vitro. *J Pharmacol Exp Ther*, 1995; 275(3): 1227-1232

24. Gardner PR, Nguyen DD, White CW: Superoxide scavenging by Mn(II/III) tetrakis (1-methyl-4-pyridyl) porphyrin in mammalian cells. *Arch Biochem Biophys*, 1996; 325(1): 20-28

25. Patel M, Day BJ, Crapo JD, Fridovich I, McNamara JO : Requirement for superoxide in excitotoxic cell death. *Neuron*, 1996;16: 345-355

26. Oury TD, Thakker K, Menache M, Chang LY, Crapo JD, Day BJ: Attenuation of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by a catalytic antioxidant metalloporphyrin. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*, 2001; 25:164–169

27. Bao F, et al : Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces oxidation and nitration of proteins: reduction by Mn (III) Tetrakis (4-Benzoic Acid) Porphyrin. *Journal of Neuroscience Research*, 2003; 71: 220–227

28. Cuzzocrea S, Costantino G, Mazzon E, Zingarelli B, Sarro AD, Caputi AP: Protective effects of Mn(III)Tetrakis (4-Benzoic Acid) Porphyrin (MnTBAP), a superoxide dismutase mimetic, in paw oedema induced by carrageenan in the rat. *Biochem Pharmacol*, 1999; 58: 171-176

29. Cuzzocrea S, Costantino G, Mazzon E, Sarro AD, Caputi AP: Beneficial effects of Mn(III)tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin (MnTBAP), a superoxide dismutase mimetic, in zymosan-induced shock. *Brit J Pharmacol*, 1999; 128: 1241-1251

