Arch Daneshvar Medicine
Basic and Clinical Research Journal Vol. 29, No. 2, 2021

Research Paper

Protective effect of ghrelin on histopathological alterations in renal tissue of mice treated with cyclophosphamide

Haniyeh Abdolahzadeh[1], Fatemeh Khoshdel[1], Fatemeh Ashory[2], Parviz Vahedi[3], Ramin Salimnejad[4*]

1. Students Research Committee, School of Paramedical Sciences, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
2. Department of Sport Physiology, Urmia University, Urmia, Iran
3. Department of Anatomical Sciences, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran
4. Department of Anatomical Sciences and Pathology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

*** Corresponding author e-mail: R.salimnegad67@gmail.com**

Citation: AbdolahZadeh H, Khoshdel F, Ashory F, Vahedi P, Salimnejad R. Protective effect of ghrelin on histopathological alterations in renal tissue of mice treated with cyclophosphamide. Daneshvar Medicine 2021; 29(2):1-11.
doi: 10.22070/DANESHMED.2021.13831.1035

Abstract

Background and Objective: Cyclophosphamide is one of the common medications in chemotherapy and suppression of the immune system in organ transplantation. The clinical use of cyclophosphamide has been reduced due to its many side effects due to reproductive, hepatic, renal, and cardiac toxicity in patients and animal models. This study aimed to evaluate the effect of ghrelin against cyclophosphamide-induced damage to renal tissue.

Materials and Methods: Thirty-two (2-month old) male mice were randomly divided into 4 groups: 1) control 2) cyclophosphamide 3) cyclophosphamide + ghrelin 4) ghrelin. Cyclophosphamide once a week (100 mg/kg) and ghrelin (80 µg/kg) were injected intraperitoneally daily for 5 weeks. After 5 weeks, the kidneys were removed and after weighing, tissue alterations were examined by hematoxylin-eosin and Periodic Acid Schiff staining.

Results: Findings showed that cyclophosphamide significantly reduces body weight and kidney weight and also significantly increases tissue damage ($p<0.05$). Ghrelin treatment significantly improved the above parameters ($p<0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that ghrelin can reduce the destructive effects of cyclophosphamide in renal tissue.

Keywords: Cyclophosphamide, Ghrelin, Kidney, Mice

Received: 13 Mar 2021
Last revised: 21 June 2021
Accepted: 29 June 2021

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله پژوهشی

اثر محافظتی گرلین بر تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت کلیه موش‌های تحت تیمار با سیکلوفسفامید

نویسندگان: هانیه عبداله‌زاده[۱]، فاطمه خوشدل[۱]، فاطمه عاشوری[۲]، پرویز واحدی[۳]، رامین سلیم‌نژاد[۴*]

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، ایران
۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه ارومیه، ایران
۳. گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، مراغه، ایران
۴. گروه علوم تشریحی و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، ایران

*نویسنده مسئول: رامین سلیم نژاد **Email:R.salimnegad67@gmail.com**

دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳
آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۰/۰۳/۳۱
پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۸

چکیده

مقدمه و هدف: سیکلوفسفامید یکی از داروهای رایج در شیمی‌درمانی و سرکوب سیستم ایمنی در پیوند ارگان‌ها می‌باشد. کاربرد کلینیکی سیکلوفسفامید به دلیل عوارض جانبی زیادی که در اثر سمیت تولیدمثلی، کبدی، کلیوی و قلبی در بیماران و مدل‌های حیوانی دارد، کمتر شده است. هدف این مطالعه بررسی اثر گرلین در برابر آسیب‌های ناشی از سیکلوفسفامید در بافت کلیه می‌باشد.

مواد و روش ها: ۳۲ سر موش سوری نر ۲ ماهه به طور تصادفی به ٤ گروه ۱- کنترل ۲- سیکلوفسفامید ۳- سیکلوفسفامید + گرلین ٤- گرلین تقسیم شدند. سیکلوفسفامید هفته‌ای یک بار (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گرلین (۸۰ میکروگرم بر کیلوگرم) روزانه به مدت ۵ هفته به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. پس از ۵ هفته کلیه‌ها خارج شده و پس از توزین تغییرات بافتی توسط رنگ آمیزی‌های هماتوکسیلین- ائوزین و پریودیک اسید شیف مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج: بررسی‌ها نشان داد که سیکلوفسفامید باعث کاهش معنادار وزن بدن و کلیه شده و همچنین سبب افزایش معنادار آسیب بافتی می‌شود ($p<۰/۰۵$). درمان با گرلین به طور معناداری باعث بهبودی در فاکتورهای فوق گردید ($p<۰/۰۵$).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که گرلین می‌تواند اثرات تخریبی ناشی از سیکلوفسفامید در بافت کلیه را کاهش دهد.

واژه های کلیدی: سیکلوفسفامید، گرلین، کلیه، موش

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

داروهای شیمی‌درمانی به موازات اثرات مطلوب خود دارای اثرات جانبی زیادی هستند. این دسته از داروها سلول‌های سرطانی را تجزیه می‌کنند که تجزیه این سلول‌ها مواد سمی در بدن ایجاد می‌کند که باید از طریق کلیه و کبد دفع شوند و اگر مایعات بدن کافی نباشند، کلیه‌ها قادر به دفع آنها نخواهند بود که منجر به خطر مسمومیت در کلیه می‌شوند و ممکن است باعث درد و سوزش هنگام ادرار، تکرر ادرار و تب و لرز شوند (۱،۲). مسمومیت کلیوی سبب از دست دادن پوشش اپیتلیالی و تغییرات نکروتیک و آپوپتوز در لوله‌های کلیوی می‌شود. مسمومیت کلیوی همچنین باعث آسیب به غشای گلومرولی و تغییرات هسته ای و تحلیل میتوکندریایی در سلول‌های توبولی کلیه می‌شود. این مسمومیت علاوه بر کلیه در سراسر بدن اختلالات زیادی ایجاد می‌کند (۵-۳).

سیکلوفسفامید یکی از رایج ترین داروهای مورد استفاده در شیمی درمانی و نیز سرکوب سیستم ایمنی در پیوند ارگان‌ها مختلف می‌باشد. عوارض سمی داروی سیکلوفسفامید بر بافت‌های مختلف از جمله کبد، سیستم تولیدمثل و کلیه که به واسطه تحقیقات متعدد در انسان و حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید قرار گرفته است، بی‌تردید مهم ترین عاملی است که کاربرد این دارو را بعنوان مهارکننده‌ی بدخیمی‌ها و همچنین سرکوب کننده‌ی سیستم ایمنی در پیوندها محدود می‌کند (۵،۶). بر اساس نتایج مطالعات متعددی که در گذشته انجام شده، تجویز سیکلوفسفامید می‌تواند تعادل رادیکال‌های آزاد را در بافت‌ها برهم زده و بنابراین باعث ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از استرس اکسیداتیو شود (۵،۶). بر این اساس دستیابی به راهبردهایی جهت کاهش عوارض سوء داروهای ضد سرطان و در عین حال حفظ کارایی‌های درمانی این داروها امری ضروری است. با توجه به شواهد موجود، تجویز برخی آنتی‌اکسیدان‌ها در طول شیمی‌درمانی به منظور سم زدایی بافت‌ها ضروری به نظر می‌رسد. در این رابطه Rehman و همکاران نشان دادند که استفاده از الاجیک اسید (Ellagic acid) می‌تواند اثرات ناشی از سیکلوفسفامید را در بافت کلیه کاهش دهد (۵).

گرلین پپتیدی با ۲۸ اسید آمینه می‌باشد و به طور اولیه در معده تولید می‌شود. در ابتدا تصور بر این بود که گرلین هورمونی در رابطه با اشتهاست ولی اینک مشخص شده که گرلین علاوه بر تنظیم اشتها و تنظیم گلوکز در اختلالات متابولیک، اعمال مغزی، تولیدمثل، تنظیم خواب و اعمال قلبی عروقی نیز نقش دارد (۶،۷). اخیراً مشخص شده است که گرلین به عنوان یک آنتی اکسیدان آندوژن بوده و باعث حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود. گرلین این عمل را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و کاهش لیپید پراکسیداسیون انجام می‌دهد (۶،۸). همچنین بیان رسپتور گرلین در بافت کلیه مشاهده شده است؛ به عبارت دیگر بیان رسپتور گرلین در کلیه بیانگر این است که این بافت یک ناحیه هدف برای فعالیت گرلین بوده و گرلین می‌تواند فعالیت کلیه را تنظیم کند (۷،۹). همچنین مطالعات گذشته نشان داده است که گرلین می‌تواند از کلیه‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از عوامل مختلف محافظت نمایید. گرلین این فرایند را از طریق تنظیم عملکرد کلیه و همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی انجام می‌دهد (۸، ۱۰-۱۲). Wang و همکاران نیز در سال ۲۰۰۹ نشان داده‌اند که گرلین می‌تواند موجب کاهش آسیب‌های حاد کلیوی ناشی از اندوتوکسین گردد (۱۱). با توجه به بررسی منابع، مطالعه‌ای در رابطه اثرات گرلین در مقابل سمیت کلیوی ناشی از سیکلوفسفامید وجود ندارد. لذا در این مطالعه اثر گرلین بر تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت کلیه در موش‌های تحت تیمار با سیکلوفسفامید مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

طرح مطالعه

در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش سوری بالغ نر با سن تقریبی ۲ ماه استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد (دمای ۲۲-۲۵ درجه سانتی‌گراد با چرخه‌ی نور/تاریکی ۱۲ ساعت) نگهداری شدند و در طول دوره مطالعه دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. تمام مراحل کار با حیوانات و روش‌های کاری بر طبق پروتکل کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل صورت گرفت (IR.ARUMS.REC.1398.058). موش‌ها بعد از سازگاری با شرایط خانه حیوانات، به صورت تصادفی به چهار گروه

www.SID.ir

Archive of SID

۸ تایی تقسیم شدند. ۱) گروه کنترل؛ ۲) گروه سیکلوفسفامید؛ ۳) گروه سیکلوفسفامید به همراه گرلین و ٤) گروه گرلین.

تزریق سیکلوفسفامید (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به مدت ۵ هفته و در روزهای اول هر هفته بصورت داخل صفاقی (i.p.) انجام شد. همچنین تزریق گرلین (۸۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی (i.p.) و روزانه به مدت ۵ هفته انجام شد. دوز داروها بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شد (۱۳،۱٤).

اندازه‌گیری وزن بدن و کلیه

پس از گذشت ۵ هفته موش‌ها وزن شده و پس از بیهوشی به روش جابجایی مهره‌های گردنی کشته شده و سپس در شرایط استریل با ایجاد شکافی در شکم کلیه‌ها سریعاً خارج شدند. پس از وزن کردن جهت بررسی تغییرات بافتی مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی‌های بافت شناسی

کلیه‌ها در فرمالین (۱۰٪) فیکس شده و توسط اتانول با درجات صعودی آبگیری شده و سپس با پارافین قالب گیری شدند. در نهایت برش‌های ۵ میکرونی تهیه شده و روی لام‌ها قرار داده شد و به روش هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) و پریودیک اسید شیف (PAS) رنگ آمیزی شدند. پس از تهیه لام‌ها، برای بررسی تغییرات بافتی و مورفومتریک شامل اندازه‌گیری قطر جسمک‌های کلیوی، گلومرول‌ها و فضای ادراری از رنگ امیزی H&E و همچنین جهت بررسی تغییرات غشاء پایه از رنگ آمیزی PAS استفاده شد. جهت اندازه‌گیری قطر جسمک کلیوی، ابتدا از هر گروه ۱٦ لام تهیه شد و در هر لام ۵ جسمک کلیوی مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که دو قطر بزرگ و کوچک اندازه‌گیری شدند و سپس میانگین آنها محاسبه گردید. در نهایت برای بدست آوردن تغییرات فضای ادراری قطر گلومرول‌ها نیز به روش فوق محاسبه گردید و حاصل اختلاف قطر جسمک کلیوی و گلومرول به عنوان فضای ادراری در نظر گرفته شد (۱۵). جهت اندازه‌گیری ایندکس آسیب بافتی و تغییرات غشاء پایه، میزان تغییرات بر اساس رتبه بندی ۰-۳ (۰: بدون تغییر، ۱: خفیف، ۲: متوسط و ۳: شدید می‌باشد) مشخص شد و در نهایت داده‌ها بصورت نیمه کمی محاسبه گردید. آسیب‌های بررسی شده شامل سلول‌های تخریب شده، سلول‌های نکروزه، واکوولاسیون، جدا شدن سلول و ارتشاح لنفوسیتی بود (۱٦).

روش تجزیه و تحلیل آماری

تمام آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار (SPSS) انجام شدند. تمام مقادیر به صورت (میانگین ± انحراف معیار) بیان شدند. در نهایت داده‌ها با استفاده از آزمونهای ONE-WAY ANOVA و بدنبال آن TUKEY مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایجی که دارای $p<۰/۰۵$ بودند از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

نتایج

اثر گرلین و سیکلوفسفامید بر وزن بدن و کلیه

همان طوری که در جدول ۱ قابل مشاهده است، سیکلوفسفامید به طور معناداری باعث کاهش وزن بدن و کلیه نسبت به گروه کنترل شده است ($p<۰/۰۵$). تجویز گرلین به عنوان آنتی اکسیدان نشان داد که این ماده می‌تواند به طور معناداری باعث جلوگیری از کاهش وزن بدن و کلیه در موش‌های گروه تحت درمان گردد ($p<۰/۰۵$). هرچند که تجویز گرلین در گروه ٤ تغییر معناداری در وزن بدن و کلیه نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرده بود.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. اثر گرلین و سیکلوفسفامید بر وزن بدن و کلیه

گروه / وزن	کنترل	سیکلوفسفامید	سیکلوفسفامید + گرلین	گرلین
وزن بدن در شروع مطالعه (گرم)	۲۳/٤۰ ± ۱/۳۰	۲۳/۱۲ ± ۱/۳۹	۲۳/٦۲ ± ۱/۱۸	۲۳/۳۹ ±۱/۰٦
وزن بدن در انتهای مطالعه (گرم)	۳۰/۱٤ ± ۱/۲۱	۲۰/٤۹ ± ۲/٤۰*	۲۵/٤۲ ± ۱/٦۹+	۳۰/۹۵ ± ۱/٦۱
وزن کلیه (میلی‌گرم)	۱۰٦/۲ ± ۱/۰٦	۸۷/۵ ± ۰/۷۰*	۱۰۱/۱ ± ۱/۰+	۱۰۷/۵ ± ۰/۷۷

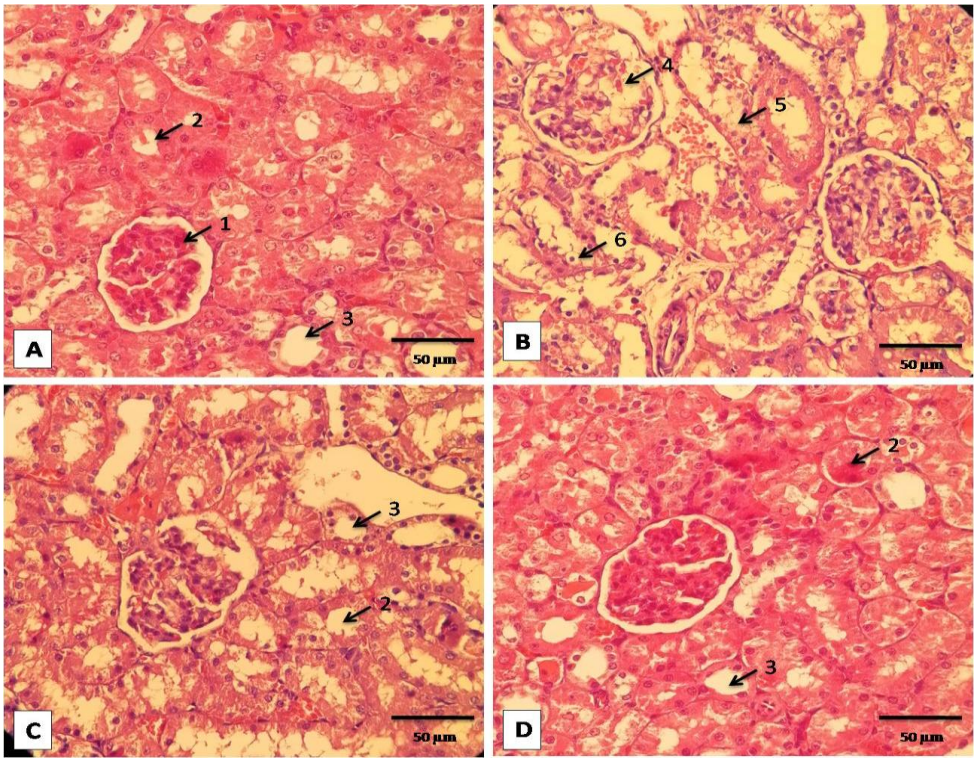
تجویز سیکلوفسفامید (۱۰۰ میلی‌گرم هفته ای یک بار) به مدت ۵ هفته، گرلین (۸۰ میکروگرم روزانه) به مدت ۵ هفته و گروه کنترل بدون تزریق. داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار بوده و * مقایسه بین گروه سیکلوفسفامید با کنترل و + مقایسه بین گروه درمانی با سیکلوفسفامید می‌باشد ($p<۰/۰۵$). داده‌ها با استفاده از آزمونهای ONE- WAY ANOVA و بدنبال آن TUKEY مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته‌اند.

اثر گرلین و سیکلوفسفامید بر تغییرات هیستوپاتولوژیکی

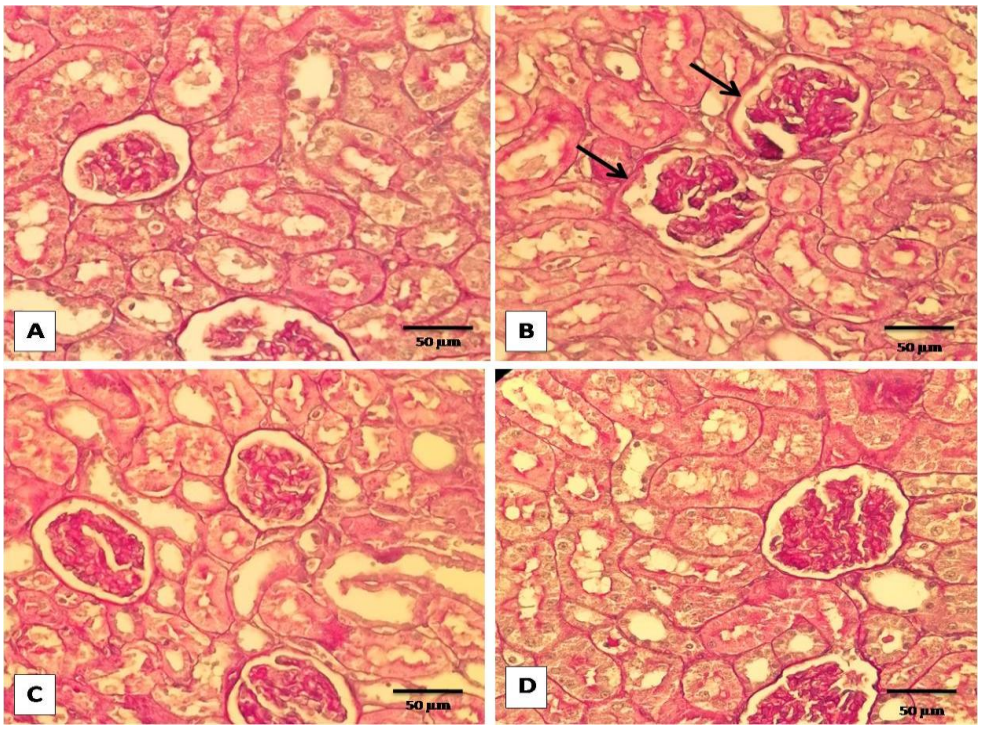
بررسی‌های بافت شناسی نشان داد که در گروه کنترل ساختار بافتی کلیه‌ها طبیعی بوده و ساختمان لوله‌های پیچیده پروگزیمال و دیستال، کپسول بومن، گلومرول‌ها و همچنین بافت بینابینی طبیعی می‌باشد (شکل A-۱). در گروه سیکلوفسفامید مشاهده شد که این ماده باعث آسیب بافتی شده و تغییرات تخریبی در تعدادی از گلومرول‌ها، لوله‌های پیچیده پروگزیمال و دیستال ایجاد می‌کند، طوری که لوله‌ها نظم خود را از دست داده و سلول‌های تشکیل دهنده لوله‌ها در حال تخریب بودند (شکل B-۱). در گروهی که تحت درمان با گرلین قرار گرفته بودند میزان آسیب وارده به ساختمان کلیه نسبت به گروه سیکلوفسفامید کمتر بود (شکل C-۱). از طرفی مقایسه ایندکس آسیب بافتی نیز در بین گروه‌ها نشان داد که سیکلوفسفامید به طور معناداری ایندکس آسیب بافتی را افزایش می‌دهد و درمان با گرلین به طور معناداری از این آسیب جلوگیری می‌کند ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۱). همچنین بررسی‌های مرفومتریک نیز نشان داد که سیکلوفسفامید سبب افزایش معنادار قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری نسبت به گروه کنترل می‌شود ($p<۰/۰۵$). بررسی‌های مرفومتریک همچنین نشان داد که در گروه تحت درمان با گرلین قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری نسبت به گروه سیکلوفسفامید کاهش معناداری دارد ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۲). از طرفی مقایسه ضخامت غشای پایه کپسول بومن نشان داد که سیکلوفسفامید موجب افزایش معنادار آن نسبت به گروه کنترل شده ($p<۰/۰۵$) (شکل B-۲) و تجویز همزمان گرلین با سیکلوفسفامید هرچند مانع از افزایش ضخامت غشای پایه کپسول بومن شده است، ولی این تغییر از نظر آماری معنادار نمی‌باشد (نمودار ۱) و (شکل C-۲). بررسی‌های آماری تفاوت معناداری بین گروه کنترل و گرلین نشان نداد.

www.SID.ir

Archive of SID



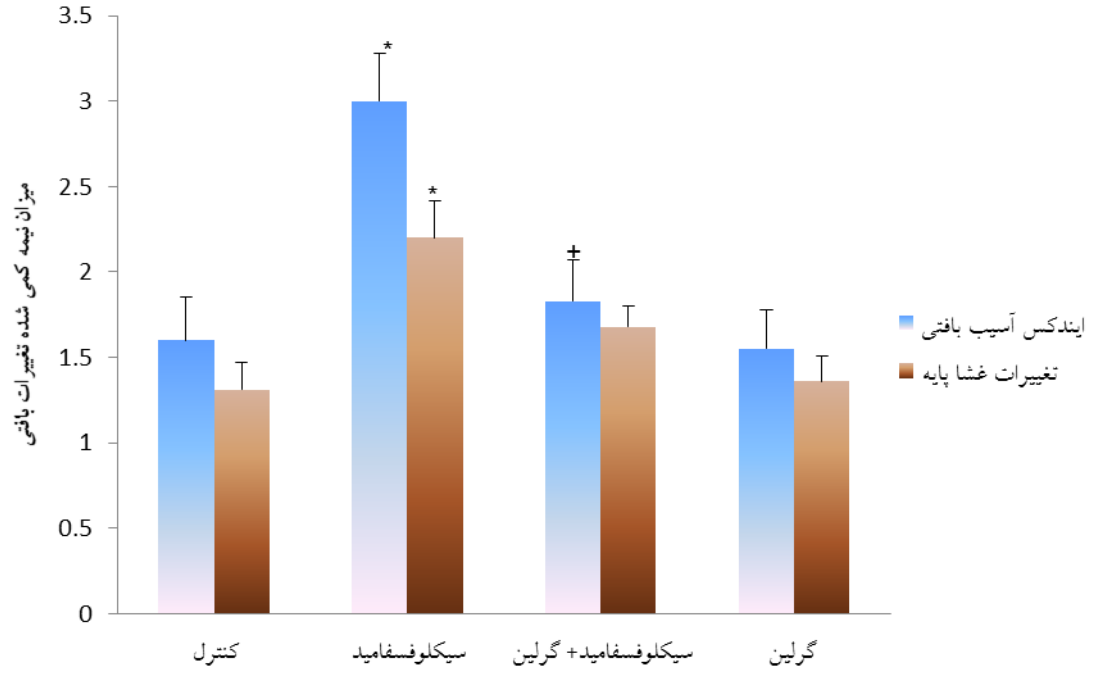
شکل ۱. ساختمان میکروسکوپی بافت کلیه در گروه‌های مورد مطالعه با رنگ آمیزی **H&E** (۴۰ x). در گروه کنترل ساختمان طبیعی جسمک کلیوی (۱) و لوله‌های پیچیده پروگزیمال (۲) و دیستال (۳) قابل مشاهده می‌باشد (**A**). سیکلوفسفامید باعث از هم گسیختگی و آسیب بافتی در جسمک کلیوی (۴) و لوله‌های پیچیده پروگزیمال (۵) و دیستال (۶) شده است (**B**). درمان موش‌ها با گرلین (**C**) از آسیب بافتی ناشی از سیکلوفسفامید جلوگیری کرده است. گروه دریافت کننده گرلین نیز ساختمان طبیعی دارد (**D**).



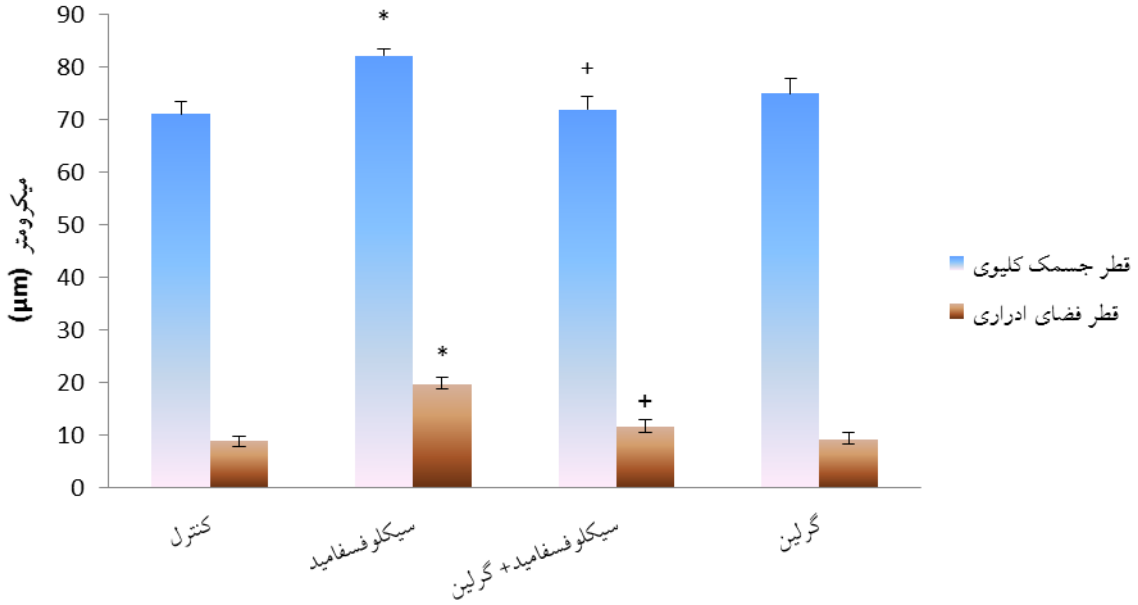
شکل ۲. ساختمان میکروسکوپی بافت کلیه در گروه‌های مورد مطالعه با رنگ آمیزی **PAS** (۴۰x). در گروه کنترل ضخامت غشای پایه کپسول بومن نرمال می‌باشد (**A**). سیکلوفسفامید باعث افزایش ضخامت غشای پایه کپسول بومن (فلش) شده است (**B**). درمان موش‌ها با گرلین (**C**) تا حدودی از آسیب ناشی از سیکلوفسفامید برغشای پایه کپسول بومن جلوگیری کرده است. گروه دریافت کننده گرلین نیز مشابه گروه کنترل می‌باشد (**D**).

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱. مقایسه ایندکس آسیب بافتی و تغییرات غشای پایه در بین گروه‌های مورد مطالعه. تجویز سیکلوفسفامید (۱۰۰ میلی‌گرم هفته ای یک بار) به مدت ۵ هفته، گرلین (۸۰ میکروگرم روزانه) به مدت ۵ هفته و گروه کنترل بدون تزریق. داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار بوده و * مقایسه بین گروه سیکلوفسفامید با کنترل و + مقایسه بین گروه درمانی با سیکلوفسفامید می‌باشد ($p<0/05$). داده‌ها با استفاده از آزمونهای **ONE- WAY ANOVA** و بدنبال آن **TUKEY** مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته اند.



نمودار ۲. مقایسه قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری در بین گروه‌های مورد مطالعه. تجویز سیکلوفسفامید (۱۰۰ میلی‌گرم هفته ای یک بار) به مدت ۵ هفته، گرلین (۸۰ میکروگرم روزانه) به مدت ۵ هفته و گروه کنترل بدون تزریق. داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار بوده و * مقایسه بین گروه سیکلوفسفامید با کنترل و + مقایسه بین گروه درمانی با سیکلوفسفامید می‌باشد ($p<0/05$). داده‌ها با استفاده از آزمونهای **ONE- WAY ANOVA** و بدنبال آن **TUKEY** مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته اند.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

نتایج بررسی‌های بافت کلیه در این مطالعه نشان داد که سیکلوفسفامید باعث بروز آسیب کلیوی می‌شود. بر این اساس دستیابی به روش‌هایی جهت کاهش عوارض سوء داروهای ضد سرطان و در عین حال حفظ کارایی‌های درمانی این داروها امری ضروری به نظر می‌رسد.

در مطالعه حاضر، بررسی وزن بدن و کلیه موش‌ها نشان داد که سیکلوفسفامید به طور معناداری باعث کاهش وزن بدن و کلیه می‌شود. این یافته با نتایج حاصل از مطالعات قبلی در مورد اثر سیکلوفسفامید بر روی وزن همخوانی دارد و در مطالعه Lopez و همکاران نیز نشان داده‌اند که تجویز سیکلوفسفامید سبب کاهش وزن می‌شود (۱۷). یکی از دلایل کاهش وزن می‌تواند به دلیل اثرات این دارو بر سیستم گوارشی باشد که از طریق اختلال و کاهش در اشتها موجب کاهش وزن شده است (۱۸). همچنین در رابطه با کاهش وزن کلیه نیز می‌تواند ناشی از سمیت کلیوی ایجاد شده توسط این دارو باشد که در مطالعات گذشته نیز بیان شده است (۲۰،۱۹). مطالعات گذشته، مسمومیت ناشی از داروی سیکلوفسفامید در کلیه‌ها را به استرس اکسیداتیو نسبت می‌دهند که به واسطه غیرفعال سازی آنزیم‌های میکروزومی توسط این دارو و در نتیجه افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و پراکسیداسیون لیپیدی روی می‌دهد (۱۹). درمان موش‌های تحت تیمار با سیکلوفسفامید توسط گرلین از کاهش وزن بدن و کلیه جلوگیری کرد. در این رابطه مطالعات گذشته نیز بیان کرده‌اند که تجویز گرلین به موش‌های تحت تیمار با داروهای شیمی درمانی از کاهش وزن جلوگیری می‌کند (٦). این عمل محافظتی گرلین می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی آن باشد.

بررسی‌های بافت شناسی نیز نشان داد که سیکلوفسفامید به طور معناداری ایندکس آسیب بافتی را افزایش داده و سبب آسیب جسمک کلیوی و همچنین لوله‌های پیچیده می‌شود که این آسیب‌ها شامل افزایش قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری و همچنین تغییرات تخریبی در بافت توبولار کلیه می‌باشد. این تغییرات نیز می‌تواند دلیلی بر کاهش وزن کلیه‌ها باشد. در رابطه با مکانیسم آسیب بافتی کلیه میتوان اینگونه بیان کرد که با توجه به اینکه کلیه‌ها در مسیر حذف بسیاری از داروهای شیمی‌درمانی و متابولیت‌های آنها قرار دارند و پتانسیل و توانایی سیکلوفسفامید و متابولیت سمی آن، آکرولئین، در تولید ROS و ایجاد پراکسیداسیون چربی و در نتیجه بروز استرس اکسیداتیو قبلاً گزارش شده است؛ بنابراین سیکلوفسفامید از طریق اختلالات فیزیولوژیکی و بیو شیمیایی ناشی از استرس اکسیداتیو ایجاد مسمومیت کلیوی می‌کند (۲۰،۱۹). مسمومیت کلیوی باعث آسیب به غشای گلومرول و تغییرات هسته ای و تحلیل میتوکندری و آپوپتوز در سلول‌های توبولی کلیه می‌شود. این موارد می‌تواند سبب ایجاد آسیب بافتی در کلیه گردد (۵-۳). بررسی غشای پایه نیز در این مطالعه نشان داد که سیکلوفسفامید می‌تواند موجب افزایش ضخامت آن و همچنین سبب آسیب غشا گردد. ضخامت غشای پایه می‌تواند به دلیل افزایش سنتز و یا کاهش تجدید پروتیئن‌های غشای پایه باشد (۲۱).

مطالعات گذشته نشان داده‌اند که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند اثرات تخریبی ناشی از استرس اکسیداتیو بر بافت کلیه را کاهش دهد. در این رابطه Gokhan Cuce و همکاران نشان داده‌اند که استفاده از ویتامین E می‌تواند اثرات ناشی از سیکلوفسفامید بر سمیت کلیوی را کاهش دهد (۲۰). همچنین Sibel Gunes و همکاران نیز بیان کرده‌اند که سلنیوم می‌تواند اثرات تخریبی ناشی از سیکلوفسفامید بر کلیه را کاهش دهد (۱۹). در توافق با مطالعات فوق، نتایج حاصل از این مطالعه نیز نشان داد که تجویز گرلین به عنوان یک آنتی اکسیدان می‌تواند از اثرات تخریبی سیکلوفسفامید بر بافت کلیه جلوگیری کند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تجویز گرلین به موش‌های تحت تیمار با سیکلوفسفامید موجب کاهش آسیب‌های بافتی از جمله جسمک کلیوی و بافت توبولار و ضخامت غشای پایه و همچنین کاهش قطر جسمک کلیوی و فضای ادراری نسبت به گروه بدون درمان می‌شود. همچنین مقایسه بین گروه گرلین + سیکلوفسفامید با گروه سیکلوفسفامید نشان داد که گرلین ایندکس آسیب بافتی را به طور معناداری کاهش می‌دهد. این یافته‌ها نیز با نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

حاصل از مطالعه Wang و همکاران همسو می‌باشد که نشان داده اند گرلین می‌تواند موجب کاهش آسیب‌های حاد کلیوی ناشی از اندوتوکسین گردد (۱۱). این نقش گرلین احتمالاً ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد. چراکه در مطالعات گذشته نشان داده‌اند که تجویز گرلین می‌تواند از اثرات تخریبی ناشی از عوامل مختلف مانند شیمی‌درمانی و مسمومیت با کادمیوم جلوگیری کند (۲۲،٦). گرلین این فرآیند را از طریق کاهش لیپید پراکسیداسیون و نیز افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام انجام می‌دهد. مطالعه Shati و همکاران نیز نشان داده است که گرلین می‌تواند از طریق فعال کردن SIRT1 اثرات ناشی از دوکسوروبیسین بر بافت کلیه را کاهش دهد (۲۳). همچنین مشخص شده که گرلین می‌تواند باعث مهار آپوپتوز در سلول‌های مختلف از جمله سلول‌های قلبی، کبدی، اپیتلیال و اندوتلیال شود (۱۰). همچنین اخیراً مشخص شده است که رسپتور گرلین در کلیه بیان می‌شود و نشان دهنده این است که بافت کلیه یک ناحیه هدف برای فعالیت گرلین بوده و گرلین می‌تواند فعالیت کلیه را تنظیم کند. گرلین این فرایند را از طریق تنظیم عملکرد کلیه و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی انجام می‌دهد (۷, ۹). طوری که در مطالعه Fujimura و همکاران نشان داده اند گرلین از طریق خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود سبب محافظت از کلیه‌ها در برابر آسیب ناشی از آنژیوتانسین II می‌شود (۸). احتمالاً در مطالعه حاضر نیز گرلین از این طریق از اثرات ناشی از سیکلوفسفامید بر کلیه‌ها جلوگیری کرده است.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سیکلوفسفامید سبب ایجاد آسیب کلیوی در موش‌ها می‌شود و تجویز گرلین به عنوان یک آنتی اکسیدان موجب کاهش اثرات تخریبی ناشی از سیکلوفسفامید بر کلیه‌ها می‌شود. با توجه به اینکه یکی از شاخص‌های مهم در بررسی عملکرد کلیه‌ها، اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی مانند سطح سرمی کراتینین، BUN، سدیم، پتاسیم و فسفر می‌باشد به نظر می‌رسد با اندازه‌گیری فاکتورهای فوق بتوان نتیجه گیری بهتری در رابطه با نقش گرلین در آسیب کلیوی ناشی از سیکلوفسفامید داشته باشیم.

حمایت مالی

این طرح مصوب کمیته تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی اردبیل بوده و بدین وسیله نویسندگان از حمایت مالی این کمیته کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

منابع

1. Aladaileh SH, Al-Swailmi FK, Abukhalil MH, Shalayel MH. Renoprotective Effect of Formononetin against Cyclophosphamide-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Rat Kidney. Journal of Pharmaceutical Research International 2021; 33(2):26-37. doi: 10.9734/jpri/2021/v33i231144

2. Lin X, Yang F, Huang J, Jiang S, Tang Y, Li J. Ameliorate effect of pyrroloquinoline quinone against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity by activating the Nrf2 pathway and inhibiting the NLRP3 pathway. Life Sciences. 2020; 256:117901. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117901.

3. Samar O. Acute Taxol nephrotoxicity: Histological and ultrastructural studies of mice kidney parenchyma. Saudi Journal of Biological Science 2010; 17(2):105-14. doi: 10.1016/j.sjbs.2010.02.003.

4. Lin X, Yang F, Huang J, Jiang S, Tang Y, Li J. Ameliorate effect of pyrroloquinoline quinone against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity by activating the Nrf2 pathway and inhibiting the NLRP3 pathway. Life Sciences 2020;

www.SID.ir

Archive of SID

256:117901. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117901.

5. Rehman MU, Tahir M, Ali F, Qamar W, Lateef A, Khan R, et al. Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity, genotoxicity, and damage in kidney genomic DNA of Swiss albino mice: the protective effect of Ellagic acid. Molecular and Cellular Biochemistry 2012; 365(1-2):119-27. doi: 10.1007/s11010-012-1250-x.

6. Salimnejad R, Soleimani Rad J, Mohammad Nejad D, Roshangar L. Effect of ghrelin on total antioxidant capacity, lipid peroxidation, sperm parameters and fertility in mice against oxidative damage caused by cyclophosphamide. Andrologia 2018; 50(2). doi: 10.1111/and.12883.

7. Venables G, Hunne B, Bron R, Cho H-J, Brock JA, Furness JB. Ghrelin receptors are expressed by distal tubules of the mouse kidney. Cell and Tissue Research 2011; 346(1):135-9. doi: 10.1007/s00441-011-1240-4.

8. Fujimura K, Wakino S, Minakuchi H, Hasegawa K, Hosoya K, Komatsu M, et al. Ghrelin protects against renal damages induced by angiotensin-II via an antioxidative stress mechanism in mice. PLoS One 2014; 9(4):e94373. doi: 10.1371/journal.pone.0094373. eCollection 2014.

9. Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K, et al. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. FEBS letters 2000; 486(3):213-6. doi: 10.1016/s0014-5793(00)02308-5.

10. Kacar AK, Sacan O, Ozicli N, Bolkent S, Yanardag R, Bolkent S. The Effects of Ghrelin on Renal Complications in Newborn Diabetic Rats. European Journal of Biology 2020;79(1):1-6. doi:10.26650/ EurJBiol.2020.0043.

11. Wang W, Bansal S, Falk S, Ljubanovic D, Schrier R. Ghrelin protects mice against endotoxemia-induced acute kidney injury. American Journal of Physiology 2009; 297(4):F1032-7. doi: 10.1152/ajprenal.00044.2009.

12. Zhang W, Shu L. Upregulation of miR-21 by ghrelin ameliorates ischemia/ reperfusion-induced acute kidney injury by inhibiting inflammation and cell apoptosis. DNA and cell Biology 2016; 35(8):417-25. doi: 10.1089/dna.2016.3231.

13. Lu W-P, Mei X-T, Wang Y, Zheng Y-P, Xue Y-F, Xu D-H. Zn (II)–curcumin protects against oxidative stress, deleterious changes in sperm parameters and histological alterations in a male mouse model of cyclophosphamide-induced reproductive damage. Environmental Toxicology and Pharmacology 2015; 39 (2) :515-24. doi: 10.1016/j.etap. 2014.12.014.

14. Obay BD, Taşdemir E, Tümer C, Bilgin HM, Atmaca M. Dose dependent effects of ghrelin on pentylenetetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. Peptides 2008; 29(3):448-55. doi: 10.1016/j.peptides.2007.11.020

15. Eyvazi M, Tayefi H, Abedelahi A, Salimnejad R, Majdi A. Effect of Vitamin E and Sodium Selenite on the Expression of Bax and Bcl2 Genes and Renal Histopathology in the Electromagnetic Field-Exposed Mice. Crescent Journal of Medical and Biological Sciences 2019; 6(4): 523–528.

16. Mazani M, Rezagholizadeh L, Shamsi S, Mahdavifard S, Ojarudi M, Salimnejad R, et al. Protection of CCl4-induced hepatic and renal damage by linalool. Drug and Chemical Toxicology 2020: 1-9. doi: 10.1080/01480545.2020.1792487.

www.SID.ir

Archive of SID

17. Lopez SG, Luderer U. Effects of cyclophosphamide and buthionine sulfoximine on ovarian glutathione and apoptosis. Free Radical Biology and Medicine 2004; 36(11):1366-77. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.02.067.

18. Aguilar-Mahecha A, Hales BF, Robaire B. Chronic cyclophosphamide treatment alters the expression of stress response genes in rat male germ cells. Biology of Reproduction 2002; 66(4):1024-32. doi: 10.1095/biolreprod66.4.1024.

19. Gunes S, Sahinturk V, Uslu S, Ayhanci A, Kacar S, Uyar R. Protective effects of selenium on cyclophosphamide-induced oxidative stress and kidney injury. Biological Trace Element Research 2018; 185(1):116-123. doi: 10.1007/s12011-017-1231-8.

20. Cuce G, Esen HH, Koc T, Canbaz HT, Limandal C, Kalkan S, et al. Vitamin E partially ameliorates cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in rats. Progress in Nutrition 2016;18(2):140-145.

21. Hazrati A, Salimnejad R, Alipour M, Mirzaei Bavil F, Alihemmati A. Protective effect of ghrelin on testicular damages caused by chronic hypoxia in rats: a histopathological study. Andrologia 2018;50(4):e12989. doi: 10.1111/and . 12989.

22. Salama ME, Adel M, Helal G, El-Shafey M. Role of Oxidative Stress, Apoptosis and Autophagy in Cadmium-induced Renal Injury in Rats: Renoprotective Effect of Ghrelin. Bulletin of Egyptian Society for Physiological Sciences 2019;39(2):271-285. doi: 10.21608/BESPS. 2019. 14414. 1025

23. Shati AA, El-Kott AF. Acylated ghrelin protects against Doxorubicin-induced nephropathy by activating SIRT1. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology 2021; 128(6):805-821. doi: 10.1111/bcpt.13569.

www.SID.ir