

مقایسه اثر دوره‌های مختلف ایسکمی- ری پرفیوژن کلیه بر عملکرد، سطح سیتوکین‌ها و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد موش صحرایی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۱۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۰۳/۳۱

چکیده

مهری کدخدایی*

فرشته گلاب، مریم زحمتکش

رنا غزنوی، مهدی هدایتی

حسینعلی عرب، منوچهر سلیمانی

گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی تهران

زمینه و هدف: آسیب‌های موضعی ایسکمی- ری پرفیوژن کلیه در مطالعات متعددی بررسی شده است لیکن درباره تغییرات عملکرد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبد در آسیب ایسکمی- ری پرفیوژن (IR) کلیه اطلاعات کمی موجود است. مطالعات اخیر وجود ارتباط متقابل بین کبد و کلیه را پیشنهاد می‌کند. هدف مطالعه بررسی عملکرد، تغییرات سطح سیتوکین‌ها و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد پس از IR کلیه می‌باشد. روش بررسی: این مطالعه از نوع تجربی و در موش صحرایی نر انجام شد. تعداد در هر گروه پنج می‌باشد. تعداد ۲۰ موش صحرایی در گروه‌های کنترل جراحی و ایسکمی (۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه) و ری پرفیوژن ۶۰ دقیقه مطالعه شدند. یک نمونه خون پس از جراحی برای اندازه‌گیری کراتینین و BUN به منظور ارزیابی عملکرد کلیوی و AST و ALT به منظور ارزیابی عملکرد کبدی گرفته شد. سطح گلوکاتایون و FRAP (قدرت تام آنتی‌اکسیدانی) کبدی و نیز غلظت اینترلوکین ۱۰ و TNF- α در بافت کبد اندازه‌گیری گردید. یافته‌ها: در هر دو گروه ۴۵ و ۶۰ دقیقه ایسکمی و یک ساعت ری پرفیوژن افزایش معنی‌دار کراتینین ($1/11 \pm 0/17$ و $1/24 \pm 0/07$ و $0/55 \pm 0/15$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، $p < 0/05$) و BUN ($3/4 \pm 3/85$ و $3/5 \pm 2/81$ به $23/75 \pm 1/10$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، $p < 0/05$) نسبت به گروه کنترل جراحی مشاهده شد. در این گروه همچنین کاهش معنی‌دار در گلوکاتایون کبد و افزایش TNF- α و اینترلوکین ۱۰ وجود داشت. نتیجه‌گیری: ایسکمی کلیوی باعث تغییرات عملکرد، کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی و افزایش سیتوکین‌ها در کبد می‌گردد. جهت بررسی اثرات ضایعات کلیوی بر روی کبد به‌عنوان ارگان دوردست، حداقل ۴۵ دقیقه دوره ایسکمی لازم می‌باشد.

کلمات کلیدی: کلیه، ایسکمی- پرفیوژن مجدد، کبد، سیتوکین‌ها.

* نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، صندوق پستی ۱۴۱۷۴
تلفن: ۶۶۴۱۹۴۸۴
email: kadhodm@tums.ac.ir

مقدمه

لنفوسیت‌ها در کلیه و همچنین در سینوزوئیدهای کبدی مشاهده می‌شود که با اختلال در عملکرد کلیه همراه است.^۱ این یافته‌ها نشان می‌دهد که یک پاسخ ایمنی سلولی سیستمیک از جمله سلول‌های T واسطه، اعضای مختلفی را در بدن به هنگام نارسایی کلیوی ناشی از ایسکمی تحت تاثیر قرار می‌دهد که احتمالاً نقش مهمی در ایجاد نارسایی چند عضوی دارد. مطالعات اخیر احتمال وجود تاثیر متقابل بین کبد و کلیه را مطرح می‌کند.^{۲،۳} از آنجایی که بافت کبد یکی از بسترهای عروقی است که رادیکال‌های آزاد اکسیژن به آن حمل می‌شود، احتمال آشکار شدن اثرات سمی این مولکول‌ها در آن وجود دارد.^۴ Yildirim پیشنهاد کرده که در خرگوش معالجه با دهیدرواپی آندروسترون اثرات مفیدی در جهت دفاع آنتی‌اکسیدانی از بافت کبد در مقابل صدمات کبدی بعد از آسیب‌های ایسکمی- ری پرفیوژن کلیوی

مطالعات متعددی در مورد جواب موضعی کلیه به آسیب‌های ایسکمی- ری پرفیوژن ischemia- reperfusion انجام شده است. اما اثرات دوردست آسیب ایسکمی- ری پرفیوژن کلیه روی کبد به بررسی بیشتری احتیاج دارد. نارسایی حاد کلیه مرتبط با بیماری کبدی یک مشکل شایع بالینی با اتیولوژی‌های مختلف و میزان مرگ و میر بالاست. آسیب‌های ایسکمی- ری پرفیوژن ایجاد پاسخ التهابی می‌کند که موجب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده و به بافت موضعی یا ارگان‌های دوردست صدمه می‌زند. یک عملکرد مهم رادیکال‌های آزاد اکسیژن احتمالاً تغییر در بیان ژن کبدی بعد از القای درجات مختلفی از آسیب ایسکمی- ری پرفیوژن در کلیه است.^۱ Miyazawa نشان داد که وقتی عروق کلیه مسدود می‌شود تجمع نوتروفیل‌ها و

دقیقه- ری پرفیوژن ۶۰ دقیقه، ۳- ایسکمی ۴۵ دقیقه- ری پرفیوژن ۶۰ دقیقه، ۴- ایسکمی ۶۰ دقیقه- ری پرفیوژن ۶۰ دقیقه.

روش جراحی: موش‌های صحرایی روی یک تخت جراحی که دمای بدن حیوان را در حد $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ نگه می‌داشت قرار داده شده و با پنتوباریتال سدیم (۶۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم به‌صورت زیرجلدی به‌اضافه ۶mg به‌ازای هر کیلوگرم در ساعت به‌صورت داخل‌وریدی) بیهوش شدند. برای تسهیل تنفس تراکتومی انجام گردید. شریان فمورال راست کانوله شد و جهت اندازه‌گیری فشار متوسط شریانی به یک ترانس‌دوسر فشار وصل شد. ورید دمی برای تزریق نرمال سالین کانوله شد. یک شکاف روی قسمت میانی شکم داده شد و شریان‌های کلیوی به‌دقت از بافت اطراف جدا گردید. مثانه برای جمع‌آوری ادرار کانوله شد. بعد از کامل شدن مراحل جراحی به‌منظور ثابت شدن شرایط بدن، حیوان ۳۰ دقیقه در همین وضعیت حفظ شد. در گروه‌های ایسکمی- ری پرفیوژن شریان کلیوی به‌وسیله یک کلمپ مخصوص به‌مدت ۳۰، ۴۵ یا ۶۰ دقیقه مسدود شد و سپس یک ساعت ری پرفیوژن انجام گردید. برای مطمئن شدن از انسداد کامل می‌توان رنگ‌پردگی کلیه و برای اطمینان از برقراری مجدد جریان برافروخته شدن رنگ کلیه را مدنظر داشت. در حیوانات کنترل، تمامی مراحل اولیه جراحی تا جدا کردن عروق کلیوی از بافت اطراف انجام شد ولی انسداد عروقی داده نشد. در پایان آزمایشات در همه گروه‌ها پلازما جهت اندازه‌گیری BUN و کراتینین جمع‌آوری و بخشی از بافت کلیه و کبد برای آزمایشات بعدی برداشته شد.

فشارخون شریانی و ضربان قلب از طریق کانول شریان فمورال که به ترانس‌دوسر فشار و دستگاه پاورلب متصل بود اندازه‌گیری شد. روش‌های بیوشیمیایی: غلظت خونی کراتینین، اوره، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و اسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) با روش رنگ‌سنجی توسط کیت‌های تجارتي اندازه‌گیری شد.

روش هموژن کردن بافت: تکه‌ای از کبد در بافر کلرید پتاسیم (برای اندازه‌گیری FRAP) و تکه دیگر در محلول تری کلرو استیک اسید (برای اندازه‌گیری گلوکاتایون) هموژن شد. سپس ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شده و مایع رویی جهت بررسی‌های بیوشیمیایی برداشته شد.

اندازه‌گیری گلوکاتایون: گلوکاتایون احیا شده با متد Tietze اندازه‌گیری شد.^۹ کاهش DTNB (dithiobis 2-nitrobenzoic acid - ۵/۵) در ۴۱۲ نانومتر با اسپکترومتری سنجیده شد. مقادیر گلوکاتایون مربوط به هر

دارد که احتمالاً به‌دلیل افزایش دادن سطح گلوکاتایون و کاهش تولید MDA (مالون دی‌آلدید، شاخص پراکسیداسیون چربی‌ها) است.^۳ اثرات خارج کلیوی نارسایی حاد کلیه را بررسی کرد. این اثرات ممکن است در نتیجه افزایش تولید سیتوکین‌ها مثل TNF- α و عوامل رشد مثل عامل رشد سلول‌های کبدی (HGF) تولید شده توسط اعضای غیر از کلیه باشد. به‌علاوه در اثر ایسکمی کلیوی پاسخ التهابی به‌وجود می‌آید که باعث صدمات ثانویه می‌شود.^۴ ایسکمی کلیوی همچنین باعث افزایش فراوانی mRNA اینترلوکین ۶، تولید اینترلوکین ۶ کلیوی و بیان ژن گیرنده‌های اینترلوکین ۱۰ می‌گردد.^۵ اینترلوکین ۶ تولید اینترلوکین ۱۰ به‌وسیله کبد را تحریک می‌کند که صدمات کلیوی را بهبود می‌بخشد. پیامدهای تولید اینترلوکین ۶ توسط بافت آسیب دیده پیچیده است. اینترلوکین ۶ اثرات التهابی یا ضدالتهابی دارد.^۶ پیشنهاد شده که نتیجه نهایی موجب یک اثر پاراکرین موضعی محرک التهاب و یک اثر اندوکرین عمومی مهارکننده التهاب می‌شود.^۷ موش‌هایی که ژن اینترلوکین ۶ آنها حذف شده مستعد صدمات شدیدتری از آسیب‌های ایسکمیک کلیه می‌باشند و همچنین کبد آنها اینترلوکین ۱۰ کمتری تولید می‌کند. بررسی دقیق‌تر تغییرات ایجاد شده در کبد متعاقب نارسایی کلیوی می‌تواند ما را جهت جلوگیری از این تغییرات کمک کند. بنابراین میزان تغییرات کبدی به‌هنگام القای درجات مختلفی از آسیب کلیوی مطالعه می‌شود. از آن‌رو که بیماری کبدی ممکن است سیر آسیب کلیوی را تغییر بدهد، تجویز خارجی عوامل تنظیمی تولید شده توسط اعضای غیر از کلیه می‌تواند اثرات درمانی برای نارسایی حاد کلیه داشته باشد.^{۴،۸} هدف مطالعه حاضر اثرات دوره‌های ایسکمی- ری پرفیوژن کلیوی در سطح سیتوکین‌ها و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد به‌عنوان یک عضو دوردست می‌باشد.

روش بررسی

مطالعه از نوع تجربی در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران در فصل بهار و تابستان بر روی موش‌های نر تهیه شده از حیوان‌خانه گروه فیزیولوژی انجام شده است. تعداد ۲۰ موش صحرایی به‌طور تصادفی در چهار گروه پنج‌تایی بررسی شدند. تکنیک جراحی در بیهوشی کامل و براساس منشور ملاحظات اخلاقی تحقیقات دانشگاه انجام گردید. حجم نمونه با محاسبه بر اساس واریانس مطالعات مشابه به‌دست آمد. ۱- کنترل جراحی، ۲- ایسکمی ۳۰

یافته‌ها

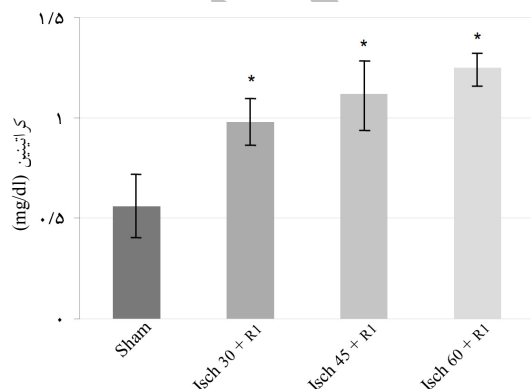
در هیچ‌یک از گروه‌ها میزان فشار متوسط شریانی در طی انجام آزمایشات نسبت به میزان پایه تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین نتایج آزمایشات عملکرد کبد در جدول ۱ نمایش داده شده است. چنانکه ملاحظه می‌شود در گروه ۳۰ دقیقه ایسکمی، سطح آنزیم‌ها با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. در گروه ۴۵ دقیقه سطح AST بالاتر ولی آنزیم دیگر تغییری نشان نداد. در حالی که ۶۰ دقیقه ایسکمی با افزایش بااهمیت هر دو آنزیم همراه بود. این نتایج موید عدم القای آسیب عملکردی کبدی در ۳۰ دقیقه و آسیب شدید در ۶۰ دقیقه و درجات بینابینی آسیب در ۴۵ دقیقه می‌باشد.

تاثیر ایسکمی کلیوی بر متغیرهای بیوشیمیایی پلاسما: پس از ۳۰ دقیقه ایسکمی و یک ساعت ری پرفیوژن متعاقب، BUN تغییری نکرد ولی کراتینین پلاسما در این گروه نسبت به گروه کنترل جراحی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (0.98 ± 0.11) به 0.55 ± 0.15 میلی‌گرم در دسی‌لیتر، ($p < 0.05$). در هر دو گروه ۴۵ و ۶۰ دقیقه ایسکمی و یک ساعت ری پرفیوژن افزایش معنی‌دار کراتینین پلاسما و BUN

جدول ۱- تغییرات غلظت ALT و AST پلاسما طی ایسکمی-پرفیوژن مجدد کلیه

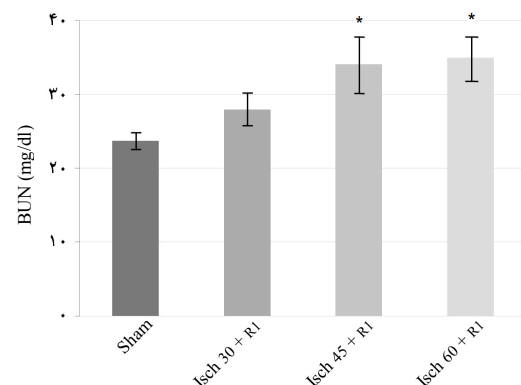
گروه‌ها	AST (U/l)	ALT (U/l)
شَم	263.7 ± 25.7	128 ± 27.5
ایسکمی ۳۰ دقیقه	275 ± 52.6	119 ± 20.8
ایسکمی ۴۵ دقیقه	$459.7 \pm 17.7^*$	128 ± 15.5
ایسکمی ۶۰ دقیقه	$491.5 \pm 74.8^*$	$444.6 \pm 198.6^*$

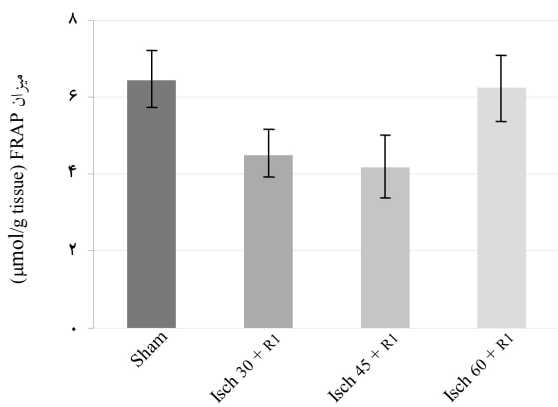
* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شَم در سطح $p \leq 0.05$ تعداد نمونه‌ها در هر گروه پنج می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین \pm SEM گزارش شده است.



شکل ۱- تغییرات غلظت BUN و کراتینین پلاسما در گروه‌های مختلف هریک از ستون‌ها نمایانگر میانگین \pm خطای معیار BUN و کراتینین بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد. * اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه Sham در سطح $p < 0.05$ نشان می‌دهد. (n=5 در هر گروه)

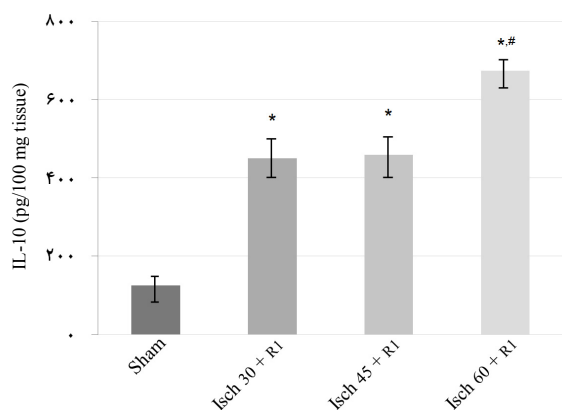
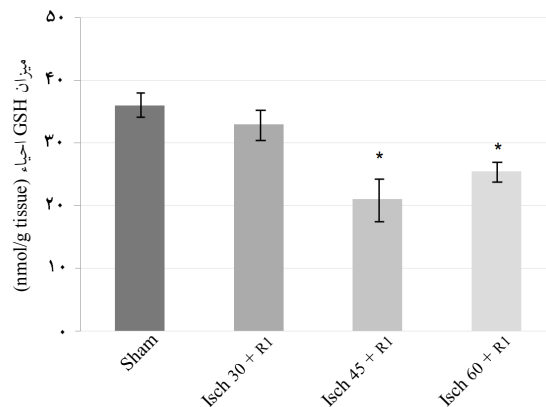
نمونه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید. اندازه‌گیری Ferric Reducing Ability (FRAP) در بافت کبد: با متد Benzie and Strain اندازه‌گیری شد.^{۱۰} به‌طور خلاصه $50 \mu\text{g}$ مایع استخراج شده از بافت هموژن شده کبد به $1/5$ میلی‌لیتر محلول تازه تهیه شده FRAP اضافه و میزان جذب در 593 نانومتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری غلظت سیتوکین‌ها در بافت کبد: TNF- α و اینترلوکین ۱۰ در بافت کبد با روش ELISA اندازه‌گیری شد (Rat IL-10 and TNF- α , ELISA kit, Diaclone A; Tepnel, Besancon, France). 0.1 میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر فسفات حاوی آنتی پروتاز (0.1 میلی‌مول در لیتر فینیل متیل سولفونیل فلوراید، 0.1 میلی‌مول در لیتر بنزتونیوم کلراید، 10 میلی‌مول در لیتر EDTA و 20 KI پروتئینین آ) و 0.05% توپین هموزن و 10 دقیقه با 3000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی پنج برابر در بافر فسفات رقیق گردیده و به پلیت مخصوص ELISA منتقل شد. پلیت در طول مدت شب قبل از آزمایش با آنتی‌بادی پلی کلونال گوسفندی ضد موش مربوط به TNF- α و اینترلوکین ۶ و 10 پوشانده شد. سپس پس از شستشو، با البومین سرم گاوی بلوک و نمونه (سیتوکین موش) در آن قرار داده شد و در مدت شب انکوبه گردید. آنتی‌بادی‌های پلی کلونال بیوتینه با رقت یک به 1000 تا یک به 2000 مورد استفاده قرار گرفت. حساسیت آزمایش 16 پیکوگرم در میلی‌لیتر بود. در این تحقیق نتایج بر اساس برنامه آماری SPSS ویراست ۱۱ و تست آنالیز واریانس یک‌طرفه بررسی و برای مقایسه چندگانه از شاخص Duncan استفاده شد. اختلاف معنی‌دار در سطح $p \leq 0.05$ بوده و تعداد نمونه‌ها در هر گروه پنج می‌باشد. نتایج به‌صورت (میانگین \pm انحراف معیار) بیان شد.





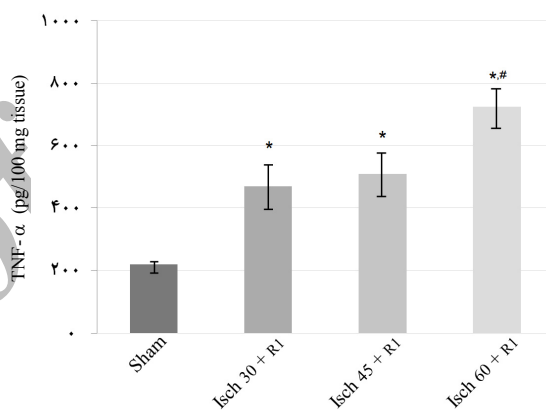
شکل-۲: تغییرات غلظت FRAP و GSH کبدی در گروه‌های مختلف

هر یک از ستون‌ها نمایانگر میانگین ± خطای معیار می‌باشد. * اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه Sham در سطح $p < 0.05$ نشان می‌دهد. (n=5 در هر گروه)



شکل-۳: تغییرات غلظت TNF-α و اینترلوکین ۱۰ در بافت کبد در گروه‌های مختلف

هر یک از ستون‌ها نمایانگر میانگین ± خطای معیار می‌باشد. * اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه Sham در سطح $p < 0.05$ نشان می‌دهد. # اختلاف معنی‌دار را نسبت به سایر گروه‌ها در سطح $p < 0.05$ نشان می‌دهد (n=5 در هر گروه)



اثرات ایسکمی کلیوی بر اینترلوکین-۱۰، ۳۰، ۴۵ یا ۶۰ دقیقه ایسکمی کلیوی و یک ساعت ری پرفیوژن اینترلوکین-۱۰ کبد را به طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین اینترلوکین-۱۰ کبد در گروه ۶۰ دقیقه ایسکمی کلیوی با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌دار داشت (شکل ۳).

بحث

در نارسایی حاد کلیه هنوز هم میزان مرگ و میر بالایی وجود دارد. صدمات ایسکمی- ری پرفیوژن کلیوی در حالات متعدد بالینی مانند پیوند، نفرکتومی ناقص، سپتی سمی، هیدرونفروز و جراحی‌های کلیه رخ می‌دهد. اگرچه مطالعات متعددی بر روی پاسخ‌های کلیه به این آسیب‌ها متمرکز شده، بررسی‌های جدیدتر نشان می‌دهد که صدمات ایسکمی- ری پرفیوژن کلیوی بر روی اعضای دیگر از جمله کبد

نسبت به گروه کنترل جراحی مشاهده شد (شکل ۱). اثرات ایسکمی کلیوی بر وضعیت اکسیداتیو بافت کبد: میزان گلوکوتایون بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی و یک ساعت ری پرفیوژن تغییری نکرد (شکل ۲). در هر دو گروه ۴۵ و ۶۰ دقیقه ایسکمی و یک ساعت ری پرفیوژن گلوکوتایون کبد نسبت به گروه کنترل جراحی کاهش پیدا کرد. شکل ۲ همچنین سطح FRAP کبد را نشان می‌دهد که در گروه‌های مختلف تفاوتی نداشت.

اثرات ایسکمی کلیوی بر TNF-α کبد: سطح کبدی TNF-α بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی کلیوی و یک ساعت ری پرفیوژن و نیز در گروه‌های ۴۵ یا ۶۰ دقیقه ایسکمی کلیوی و یک ساعت ری پرفیوژن به طور معنی‌داری افزایش یافت. این افزایش در گروه ۶۰ دقیقه ایسکمی به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از سایر گروه‌ها بود (شکل ۳).

عملکرد کبد با ۳۰ دقیقه ایسکمی تقریباً تغییری نکرد ولی در ۴۵ دقیقه ایسکمی تا حدودی کاهش یافته و در ۶۰ دقیقه ایسکمی کلیوی کاهش معنی‌داری نشان داد. این نشان می‌دهد که در گروه ۶۰ دقیقه کبد آسیب‌های شدیدتری می‌بیند. سیتوکین‌ها در بافت کبد در ۳۰ و ۴۵ دقیقه ایسکمی کلیوی بالا رفتند و در گروه ۶۰ دقیقه خیلی افزایش پیدا کرد به طوری که با کنترل و سایر گروه‌های ایسکمی تفاوت معنی‌داری نشان داد. گلوپروتئین در همه گروه‌ها کاهش پیدا کرد که این کاهش در گروه ۴۵ و ۶۰ دقیقه ایسکمی بیشتر از گروه دیگر بود. FRAP هم کاهش نشان داد هر چند که معنی‌دار نبود. بالا رفتن FRAP در ۶۰ دقیقه ایسکمی ممکن است به دلیل شرکت اسید اوریک به‌عنوان جزئی از FRAP باشد. از مطالعه حاضر نتیجه می‌گیریم که ایسکمی کلیوی باعث تغییرات عملکرد، کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی و افزایش سیتوکین‌ها در کبد می‌گردد. جهت بررسی اثرات ضایعات کلیوی بر روی کبد به‌عنوان ارگان دوردست، حداقل ۴۵ دقیقه دوره ایسکمی لازم می‌باشد. با توجه به مشابهاات ساختمانی و عملکردی کلیه و کبد پستانداران به‌ویژه موش صحرایی با انسان، نتایج این مطالعه می‌تواند به‌عنوان مبنایی جهت تحقیقات مشابه در انسان باشد.

تأثیر گذاشته و همچنین توسط این اعضا تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر تغییرات عملکردی، بافت‌شناسی، میزان سیتوکین‌ها و وضعیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبد پس از مدت زمان‌های مختلف ایسکمی و ری پرفیوژن کلیه مورد بررسی قرار گرفت. Serteser نشان داد که در صدمات ایسکمی- ری پرفیوژن کلیوی TNF- α و مواد حاصل از اکسیداسیون در کبد موش افزایش پیدا می‌کند. پیشنهاد کرد که ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۶۰ دقیقه ری پرفیوژن برای دیدن اثرات آسیب‌ها در اعضای دیگر کافی است.^{۱۱} Jeyarajah نیز پیشنهاد کرد که تولید ایتروکین-۱۰ کبد و آنتاگونیست گیرنده ایتروکین-۱۰ در پاسخ به انسداد حاد مجرای صفراوی موجب بهبود نارسایی حاد کلیوی می‌شود.^{۱۲} Hoke نشان داد که فقدان حاد عملکرد کلیه موجب آسیب‌های ریوی می‌گردد که به ایسکمی کلیوی وابسته نیست و نقش احتمالی کلیه در تعادل سیتوکین‌ها و تنظیم عملکرد ریه‌ها را مورد نظر قرار دادند.^{۱۳} در سال ۲۰۰۹ نشان داده شد که آسیب کلیه چه از نوع ایسکمیک و چه غیر ایسکمیک می‌تواند موجب ضایعات کبدی شود.^{۱۴} در مطالعه حاضر، ایسکمی- ری پرفیوژن کلیوی موجب تغییرات وابسته به زمان از آسیب‌های عملکردی کبد و کلیه‌ها شد.

References

- Remick DG, Villarete L. Regulation of cytokine gene expression by reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates. *J Leukoc Biol* 1996;59(4):471-5.
- Miyazawa S, Watanabe H, Miyaji C, Hotta O, Abo T. Leukocyte accumulation and changes in extra-renal organs during renal ischemia reperfusion in mice. *J Lab Clin Med* 2002;139(5):269-78.
- Yildirim A, Gumus M, Dalga S, Sahin YN, Akcay F. Dehydroepiandrosterone improves hepatic antioxidant systems after renal ischemia-reperfusion injury in rabbits. *Ann Clin Lab Sci* 2003;33(4):459-64.
- Kielar ML, Rohan Jeyarajah D, Lu CY. The regulation of ischemic acute renal failure by extrarenal organs. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11(4):451-7.
- Nakatani T, Kim T, Uchida J, Kumata N, Kawashima H, Sugimura K. Hepatocyte growth factor ameliorates renal hemodynamic disorder after ischemia/reperfusion. *Int J Mol Med* 2002;10(2):217-9.
- Lemay S, Rabb H, Postler G, Singh AK. Prominent and sustained up-regulation of gp130-signaling cytokines and the chemokine MIP-2 in murine renal ischemia-reperfusion injury. *Transplantation* 2000;69(5):959-63.
- Meng ZH, Dyer K, Billiar TR, Tweardy DJ. Essential role for IL-6 in postresuscitation inflammation in hemorrhagic shock. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280(2):C343-51.
- Gupta S, Verfaillie C, Chmielewski D, Kim Y, Rosenberg ME. A role for extrarenal cells in the regeneration following acute renal failure. *Kidney Int* 2002;62(4):1285-90.
- Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 1969;27(3):502-22.
- Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996;239(1):70-6.
- Serteser M, Koken T, Kahraman A, Yilmaz K, Akbulut G, Dilek ON. Changes in hepatic TNF-alpha levels, antioxidant status, and oxidation products after renal ischemia/reperfusion injury in mice. *J Surg Res* 2002;107(2):234-40.
- Jeyarajah DR, Kielar ML, Zhou XJ, Zhang Y, Lu CY. Acute bile duct ligation ameliorates ischemic renal failure. *Nephron Physiol* 2003;95(2):28-35.
- Hoke TS, Douglas IS, Klein CL, He Z, Fang W, Thurman JM, et al. Acute renal failure after bilateral nephrectomy is associated with cytokine-mediated pulmonary injury. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(1):155-64.
- Golab F, Kadkhodae M, Zahmatkesh M, Hedayati M, Arab H, Schuster R, et al. Ischemic and non-ischemic acute kidney injury cause hepatic damage. *Kidney Int* 2009;75(8):783-92.

The effects of different periods of renal ischemia/reperfusion injury on rats' liver function, cytokine levels and antioxidant status

Received: February 11, 2009 Accepted: June 21, 2009

Abstract

Kadkhodae M.*
Golab F.
Zahmatkesh M.
Ghaznavi R.
Hedayati M.
Arab HA.
Soleimani M.

Department of Physiology, School of
Medicine

Tehran University of Medical
Sciences

Background: The effect of ischemia/reperfusion (I/R) injury on kidney has been under investigation for many years. But the changes in liver function and oxidative stress status in renal I/R injury is not well known. Recent studies suggest a crosstalk between liver and kidneys. The aim of the present study was to assess liver changes after induction of various degrees of renal I/R injury.

Methods: This is an experimental study conducted on 20 male rats that were obtained from animal house of Physiology Department. Twenty male rats were subjected to either sham operation or ischemia (30, 45 and 60 min) followed by 60 min reperfusion periods. Blood samples were drawn post-operatively and plasma creatinine, BUN, ALT and AST were measured. Hepatic glutathione (GSH) and FRAP (ferric reducing antioxidant power) levels and the concentration of IL-10 and tumor necrosis factor (TNF)-alpha were evaluated.

Results: Both 45 and 60 min ischemia followed by 1h reperfusion periods resulted in significant increases in plasma creatinine (11.1 ± 1.7 mg/dl and 1.24 ± 0.07 mg/dl vs 0.55 ± 0.15 mg/dl, $p < 0.05$) and BUN (34 ± 3.85 mg/dl and 35.0 ± 2.81 mg/dl vs 23.75 ± 1.1 mg/dl, $p < 0.05$). These rats showed a significant decrease in liver GSH as well as significant increase in TNF- α & IL-10 concentrations.

Conclusion: Renal ischemia causes changes in liver function and oxidative stress status. A minimum of 45 min ischemia is needed to study the effects of renal injury on liver as a remote affected organ.

Keywords: Kidney, Ischemia-reperfusion, liver, Cytokines.

* Corresponding author: Dept. of
Physiology, School of Medicine, Tehran
University of Medical Sciences, Tehran,
IRAN
Tel: +98-21-66419484
email: kadkhodm@tums.ac.ir