

## اثر آدنین بر ترکیب شیمیایی سرم و اسمولالیتة ادراری در موشهای نر تازه تولد یافته نژاد Sprague-Dawly

حبیب‌اله جوهری \*، دکتر شهریانو عریان \*\*، دکتر کاظم پریور \*\*\*،

دکتر علی حائری روحانی \*\*\*\*، دکتر نادر تنیده \*\*\*\*\*

### خلاصه

سابقه و هدف: نارسایی مزمن کلیوی سبب بروز ناهنجاریهای عملکردی متعدد در تنظیم ساختار مایعات بدن، پدیده‌های متابولیسم و دفع می‌گردد و سندرم اورمی را ایجاد می‌کند. با توجه به گزارشهایی که از اختلالات کلیوی مزمن توسط یک رژیم غذایی حاوی آدنین در جانوران وجود دارد، تحقیق حاضر به منظور تعیین اثر آدنین بر فعالیت شیمیایی سرم و اسمولالیتة ادراری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی تزریق ترکیب آدنین از روز دوم تا شانزدهم بعد از تولد در نوزادان نر موشهای صحرائی نژاد Sprague-Dawly به صورت داخل صفاقی در دوزهای متفاوتی صورت پذیرفت. میزان تاثیر آدنین با استفاده از اندازه‌گیری اسمولالیتة سرم، اسمولالیتة و حجم ادرار، عوامل شیمیایی سرم شامل گلوکز، اوره، کراتینین، سدیم، پتاسیم، هم چنین وزن بدن در روزهای متفاوتی تا سن صد و چهل روزگی ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان دادند که آدنین به صورت وابسته به دوز موجب افزایش معنی داری در اسمولالیتة سرم، غلظت اوره و کراتینین گردیده، موجب کاهش معنی داری در وزن بدن، اسمولالیتة ادرار و حجم ادرار نیز می‌شود ( $P < 0/001$ ). غلظت گلوکز، سدیم و پتاسیم تغییرات معنی داری را نشان نمی‌دهد.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: ماده آدنین در نارسایی کلیوی مزمن موجب عدم تعادل در بیشتر عوامل شیمیایی خون می‌گردد. انجام مطالعات وسیع‌تر در زمینه تاثیر آدنین در رژیم غذایی را بر سیر سندرم اورمی توصیه می‌نماید.  
واژگان کلیدی: آدنین، اسمولالیتة ادرار، نارسایی کلیه، اورمی

### مقدمه

متابولیک بدن و هم چنین دستگاه‌های ادراری - تناسلی اعمال می‌نماید (۱).

بازهای مورد نیاز ستر آدنین دارای دو منشا خارجی و داخلی می‌باشند. منشا خارجی این ترکیبات، آدنین موجود در مواد

آدنین خالص به صورت کریستالهای سفید بدون بو می‌باشد که به عنوان یک ماده شیمیایی در تمام بافتهای بدن وجود دارد. تغییرات گوناگون در غلظت آن که معمولا از طریق مواد غذایی ایجاد می‌شود، تاثیرات متفاوتی را بر دستگاه‌های

\* دانشجوی دکترای فیزیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی تهران

\*\*\* استاد گروه بافت‌شناسی، دانشگاه تربیت معلم تهران

\*\* استاد گروه فیزیولوژی، دانشگاه تربیت معلم تهران

\*\*\*\* استادیار گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

\*\*\*\*\* استاد گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

در گروه شاهد بررسی شدند. نوزادان در کنار مادر در درجه حرارت کنترل شده  $2 \pm 23$  درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شده و آب و غذای کافی همواره در دسترس حیوانات قرار داشت. تمامی نوزادان از روز دوم تا شانزدهم بعد از تولد یعنی به مدت پانزده روز مورد تزریق درون صفاقی ماده آدنین (گروه مورد) و یا تزریق محلول نمکی نورمال (گروه شاهد) قرار گرفتند.

برای تهیه آدنین به صورت محلول، پودر سفید رنگ آدنین را در آب گرم و محلولهای رقیق هیدروکسیدهای قلیایی مانند هیدروکسید سدیم (NaOH) به کمک حرارت و همزن حل کرده تا اینکه pH محلول مورد نظر به حدود pH طبیعی بدن برسد. دوز تزریق محلول آدنین در این تحقیق در گروه مورد ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود و دوز نهایی به دست آمده طی این آزمایشات ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود.

در مورد نمونه‌های شاهد نیز از طریق سرنگ انسولین، محلول نمکی نورمال با همان حجم تزریق گردید.

اندازه‌گیری اسمولالیتیه ادرار با استفاده از دستگاه اسمومتر (Osmomat 030) انجام گرفت و سنجش عوامل خونی با استفاده از دستگاههای حساس Clinical flame photometer مدل ۴۰۵C در مورد سدیم و پتاسیم و دستگاه دیجیتالی Technicom RA-1000 جهت سنجش گلوکز، اوره و کراتینین انجام گرفت.

به طور کلی، چهار مرحله آزمایش بر روی نوزادان انجام گرفت:

الف - آزمون کلیرانس کلیوی که در روزهای ۷، ۱۰، ۱۳ و بعد از تولد بر روی نوزادان گروه مورد و شاهد صورت پذیرفت. برای انجام این عمل در هر یک از روزهای مذکور نوزادان از مادر جدا گردیده، وزن شده و ادرار آنها طی یک دوره دو ساعتی جمع آوری شد. پس از جمع آوری خون، سرم جدا

غذایی است و منشا داخلی، ستر آدنین توسط سلول‌ها با استفاده از ماده اولیه ۵ - فسفو ریبوزیل ۱ - پیروفسفات می‌باشد و دیگری که طی بیوسنتز و تبدیل داخلی پلی آمین‌ها توسط سلول‌ها به انجام می‌رسد. آدنین در تمام بافتهای بدن وجود دارد و تغییرات گوناگون در غلظت آن که اغلب از طریق مواد غذایی ایجاد می‌شود، تاثیرات گوناگونی را بر سیستم‌های متابولیک بدن اعمال می‌کند (۲). محصول نهایی کاتابولیسم آدنین در بدن پستانداران اسید اوریک می‌باشد (۳). نوکلئوتید آدنین خارج سلولی، از طریق اعمال متقابلشان با یونورسپتورهای اختصاصی محدوده وسیعی از پاسخهای سلولی و متابولیک را در بیشتر سلول‌ها تحریک می‌کنند و این عمل را اغلب از طریق رسپتورهای P1 و P2 و با واسطه G پروتئین‌ها به انجام می‌رسانند (۴).

نوکلئوتید فسفونیل متوکسی اتیل آدنین (PMEA) به عنوان رده جدیدی از ترکیبات با فعالیت ضد ویروسی در برابر هرپس ویروس‌ها و رترو ویروس‌ها می‌باشد که عمل خود را از طریق القای فسفاتاز قلیایی انجام می‌دهند (۵). نارسایی کلیوی مزمن باعث ناهنجاری‌های مختلف در متابولیسم مانند شکستن محصولات پروتئینی و آسیب به دستگاه تولید مثل می‌گردد (۶). با توجه به این که طبیعت اورمی به طور کامل روشن نشده است و گزارشهایی از اختلالات کلیوی مزمن توسط یک رژیم غذایی حاوی آدنین در جانوران وجود دارد، تکوین و رشد الگوهای حیوانی کاربردی خواهد بود.

در این ارتباط، اثرات آدنین به روش القای مزمن بر فعالیت‌های شیمیایی سرم، اسمولالیتیه ادراری و حجم ادرار مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

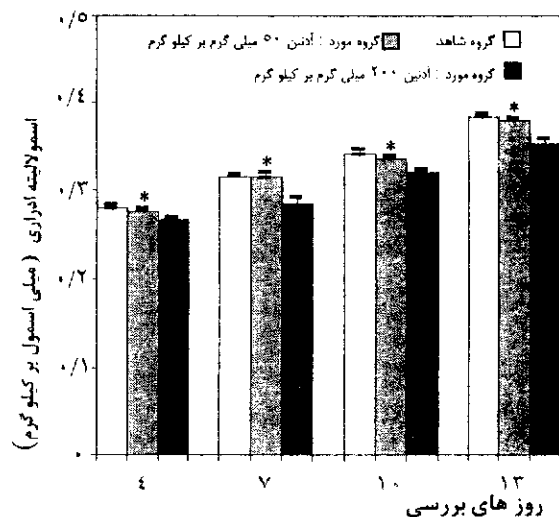
در این تحقیق تجربی از نوزادان نر موش‌های صحرایی (Rat) نژاد Sprague - Dawly از سن دو روزگی به بعد استفاده شد. حدود ۴۰۰ نمونه در گروه مورد و همین تعداد نیز

سدیم و پتاسیم در خون بررسی گردیدند.

#### یافته‌ها

نتایج حاصل نشان دهنده آن بودند که تزریق آدنین با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، اختلاف معنی داری بر میزان اسمولالیتیه و حجم ادرار، اسمولالیتیه سرم، عوامل شیمیایی سرم و وزن بدن ایجاد نکرده ولی دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی دار اسمولالیتیه و حجم ادرار و وزن بدن شد ( $P < 0/001$ ).

همان طور که از نمودار (۱) برمی آید، اسمولالیتیه ادراری در نوزادان با تزریق آدنین نسبت به نمونه‌های شاهد در هر یک از روزهای چهارم، هفتم، دهم و سیزدهم بعد از تولد کاهش معنی داری نشان می دهد.



\* $P < 0/001$

نمودار ۱- اثر تزریق درون صفاقی آدنین با دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر اسمولالیتیه ادرار در مقایسه با گروه شاهد

در نمودار (۲) کاهش معنی دار حجم ادرار در نوزادان گروه مورد نسبت به گروه شاهد دیده می شود ( $P < 0/001$ ).

گردید. بر روی نمونه سرم خون، عوامل شیمیایی شامل گلوکز، اوره، کراتینین، سدیم، پتاسیم تعیین گردید و نمونه‌های ادرار از نظر اسمولالیتیه ادراری مورد بررسی قرار گرفت.

جهت خون گیری از نوزادان، پس از قطع نمودن سر آنها توسط گیوتین با استفاده از لوله‌های میکروکاپیلاری اقدام به جمع آوری خون نموده و در مورد افراد بالغ با استفاده از وارد نمودن سرنگ به قلب پس از بیهوشی موقت این عمل صورت پذیرفت.

ب - آزمون ارزیابی تغلیظ ادرار که توانایی نوزادان را در دفع ادرار غلیظ اسموتیکی طی یک دوره محرومیت از مایع مورد بررسی قرار می دهد، در روزهای ۱۰، ۹، ۸، ۷، ۶ و ۱۳ انجام گرفت.

در این آزمایش نوزادان از مادر جدا شده، وزن گردیده و ادرار آنها طی دوره های زمانی صفر، چهار و شش ساعته جمع آوری شد و مجدداً به سمت مادرشان برای انجام مراحل بعدی آزمایش منتقل گردیدند. بر روی نمونه ادراری آزمایش سنجش اسمولالیتیه انجام گرفت.

ج - عوامل شیمیایی خون شامل گلوکز، اوره، کراتینین، سدیم، پتاسیم، وزن بدن نمونه‌های گروه مورد و شاهد در روزهای سی ام، سی و نهم، شصتم و صدم بعد از تولد بررسی شدند.

د - عمل پایه‌ای کلیه توسط جمع آوری ادرار طی یک دوره ۲۴ ساعته و توانایی تغلیظ ادرار توسط موشهای محروم از آب در عرض ۴۸ ساعت و بالاخره پاسخ کلیه به داروهای فوروزماید و استازولامید در دوره شش ساعته در موشهای دارای ۱۴۰ روز سن تعیین گردید.

تزریق دو داروی استازولامید و فوروزماید در روز صد و چهلم بعد از تولد به صورت زیر جلدی و در زیر پوست ناحیه پشت کردن انجام گرفت. برای به دست آوردن ادرار ۲۴ و ۴۸ ساعته در موشهای بالغ از قفسهای فیزیولوژیک استفاده گردید. پس از جمع آوری ادرار موشها کشته شدند و اسمولالیتیه ادرار و عوامل شیمیایی اوره، کراتینین، گلوکز،

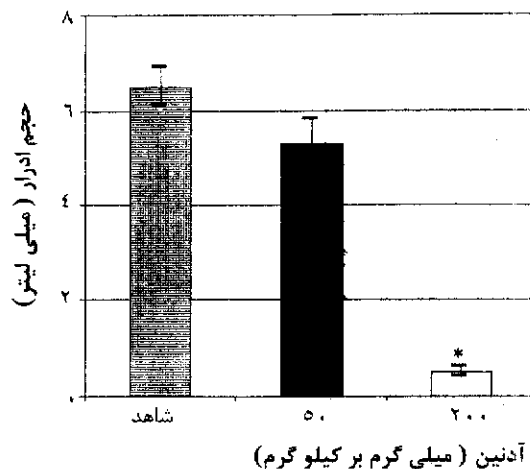
در اوره سرم در نوزادان گروه مورد نسبت به نمونه‌های شاهد وجود داشت. کراتینین سرم در نوزادان گروه مورد پس از تزریق ۲۰۰ میلی گرم آدنین (۱/۷۵ میلی گرم در دسی لیتر) نسبت به گروه شاهد (۰/۷۶ میلی گرم در دسی لیتر) افزایش معنی داری داشت ( $P < 0/001$ ).

نتایج هم چنین نشان دادند که با تزریق آدنین در دوزهای مختلف تغییر معنی داری در غلظت سرمی گلوکز، سدیم، پتاسیم در گروه مورد نسبت به گروه شاهد به وجود نمی‌آید.

#### بحث

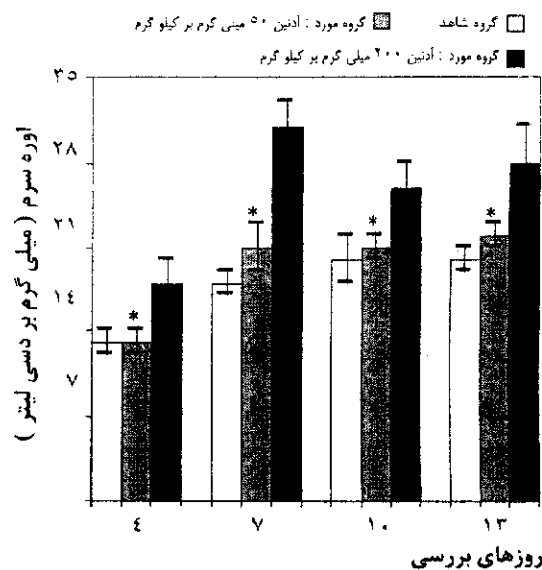
نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که آدنین به صورت وابسته به دوز قادر است بر عوامل شیمیایی خون و اسمولالیته ادراری تاثیر گذارد.

نوکلئوتید آدنین سلولی نقش مهمی را در تنظیم اکثر فرآیندهای داخل سلولی، سلول های کلیوی و در بیماریزایی صدمات سلولی همچون القای شیمیایی سمیت کلیوی و ایسکمی کلیوی بازی می‌کند (۷). اورنتین دکربوکسیلاز نقش اساسی را در بلوغ بافت‌های پستانداران به عهده دارد (۸). این آنزیم نقش مستقیمی در تنظیم بلوغ کارکردی نفرون های کلیه ایفا می‌کند. این ترکیب به عنوان تنظیم‌کننده داخل سلولی به طور عمده در سنتز ماکرومولکولهای تمایز یافته عمل می‌نماید و به صورت عمده در درون سلولهای لوله‌ای کلیه تمرکز دارد. مهارکننده‌های این آنزیم مانع رشد کلیوی شده ولی بلوغ کارکردی توبولی و گلو مریولی را تحت تاثیر قرار نمی‌دهند (۹). یکی از دلایل کاهش اسمولالیته ادراری را می‌توان در مهار آنزیم اورنتین دکربوکسیلاز جستجو کرد، به طوری که میزان کم این آنزیم، باعث کاهش تبدیل اورنتین به پوترسین می‌گردد و در نتیجه تولید اوره سرم افزایش می‌یابد و هم زمان میزان اوره دفع شده از کلیه کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، ناهنجاری در متابولیسم اوره و همچنین صدمات وارده به بخشهای مختلف لوله‌های کلیوی نیز باعث ناتوانی در تغلیظ ادرار و کاهش اسمولالیته ادرار می‌شود. در ارتباط با



\* $P < 0/001$

نمونه ۲ - اثر تزریق درون صفاقی آدنین با دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر حجم ادرار در مقایسه با گروه شاهد همان گونه که نمودار (۳) نشان می‌دهد، در هر یک از روزهای چهارم، هفتم، دهم و سیزدهم بعد از تولد افزایش معنی داری



\* $P < 0/001$

نمونه ۳ - اثر تزریق درون صفاقی آدنین با دوزهای ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر غلظت سرمی اوره در مقایسه با گروه شاهد

مشخص و معنی دار در حجم ادرار تولیدی پس از شش ساعت در گروه مورد نسبت به گروه شاهد بیانگر صدمات وارد شده به نفرون های کلیه موشهای با تزریق آدنین می باشد. هم چنین وجود رسوبات در نواحی لوله ها، مانع از عملکرد مناسب نفرونها گردیده و در نتیجه، حجم کلی ادرار تولیدی در نمونه های مورد کاسته می شود.

در نهایت، به نظر می رسد ماده آدنین در تولید بسیاری از علائم سندرم اورمی نقش دارد و باعث عدم تعادل بیشتر در عوامل شیمیایی خون در نارسایی مزمن کلیوی می گردد. از این رو، پیشنهاد می شود تاثیر آدنین بر اعضای مانند کبد، طحال، تیموس و سایر اعضای داخلی و محورهای هیپوفیز با تیروئید، غدد جنسی، نوروهورمون های ضد ادراری (ADH) واکسی توسین مورد بررسی قرار گیرد.

کاهش وزن بدن می توان گفت مهار آنزیم اورنتین دکربوکسیلاز باعث کاهش اختصاصی وزن کل بافتها، از جمله کلیه و کاهش مشهود سطح پروتئین اندامها می گردد. علت افزایش عوامل شیمیایی سرم شامل اوره و کراتینین، کاهش دفع ادراری این مواد می باشد. یک مکانیسم احتمالی آن است که دفع ترکیبات نیتروژنی توسط انسداد لوله کلیوی که منسوب به ۲ و ۸ دی هیدروکسی آدنین می باشد، مهار می گردد. دلیل احتمالی پیدایش سنگهای ۲ و ۸ دی هیدروکسی آدنین آن است که تزریق محلول آدنین به موشهای گروه مورد باعث مهار فعالیت آنزیم آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز کلیوی شده که این خود باعث تولید سنگهایی به صورت کریستال در نواحی لوله ای می گردد. از آنجا که استازولامید و فوروزاماید عوامل فارماکولوژیکی هستند که برای ارزیابی میزان کارکرد قطعات نفرونی مورد استفاده قرار می گیرند (۱۰)، بنابراین کاهش

#### منابع

۱ - شهبازی پرویز، ملک نیا ناصر. *بیوشیمی عمومی*. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۶۹، صفحات ۲۹۵-۲۳۸.

- 2 - Murray RK, Granner DK. *Harper's Biochemistry*. Stamford: Appleton & Longe; 1996: 291.
- 3 - Pegg AE, Mccann PP. Polyamine metabolism and function. *Am J Physiol* 1982; 243: 212-21.
- 4 - Pintor J. Effect of adenine dinucleotids on recombinant P2X and P2Y purinoreceptors in xenopus oocytes. *Drug Dev R S* 1993; 37: 126-127.
- 5 - Holy A. Synthesis of 9,2 phosphonyl methoxyethyl adenine and related compound. *Collect czech chem comun* 1987; 52: 2801-9.
- 6 - Adachi I, Sasagawa T, Tateno M. Influence of adenine - induced chronic renal failure on testicular fansion in the rat. *Andrologia* 1998; 30:115-8.
- 7 - Pegg AE. Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem J* 1986; 234: 242-62.
- 8 - Slotkin TA. Control of nucleic acid and protein synthesis in developing brain and kidney of the neonatal rat: Effects of  $\alpha$  - difluoromethylornithine, a specific, irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase. *Teratology* 1984; 80: 211 -24.
- 9 - Fozard JR. L-ornithine decarboxylase: An essential role in early mammalian embryogenesis. *Science* 1980; 65: 379-91.
- 10 - Platt R, Roscoe MH. Experimental renal failure. *Clin Sci* 1982; 11: 217-31.