Archive of SID

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۰، شماره ۴، زمستان ۸۹، صفحات ۲۲۸ تا ۲۳۴

Original Article

مطالعه تاثیر داروی پنتوکسی‌فیلین بر آپوپتوزیس کلیوی متعاقب آسیب ایسکمی- خونرسانی مجدد در موش صحرایی

مهرداد هاشمی[۱]، حامد شفارودی[۲]، ملیحه انتظاری[۳]،یوسف دوستار[۴]، حسین زارع[۵]

[۱] استادیار، دکترای ژنتیک مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران
[۲] استادیار، دکترای فارماکولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، مرکز تحقیقات واحد علوم دارویی
[۳] استادیار، دکترای زیست شناسی سلولی- تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران
[۴] استادیار، دکترای پاتوبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز
[۵] دستیار تخصصی بیماری‌های داخلی دام‌های کوچک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

چکیده

سابقه و هدف: *ایسکمی- خونرسانی مجدد باعث القاء مرگ سلولی و واکنش آماسی می‌گردد، که از مسایل بسیار مهم بالینی مرتبط با نارسایی حاد کلیوی و پیوند کلیه می‌باشد. در این مطالعه، تاثیر داروی پنتوکسی‌فیلین درعملکرد و آسیب سلولی کلیه موش صحرایی متعاقب آسیب ایسکمی- خونرسانی مجدد ارزیابی شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، ۲۰ سر موش صحرایی از نژاد ویستار جنس نر با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم انتخاب و سپس بطور تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی تیمار و شاهد تقسیم گردیدند. در گروه شاهد، دسترسی به کلیه چپ از طریق سیلیوتومی از رهیافت خط وسط انجام پذیرفته و شریان و ورید کلیوی مسدودگردید. ۶۰ دقیقه بعد از ایجاد ایسکمی گرم، انسداد عروق بر طرف وکلیه راست نفرکتومی گردید. ۷۲ ساعت بعد از خونرسانی مجدد، جهت تهیه مقاطع بافتی از کلیه چپ، نمونه‌های بافتی اخذ گردید.تمامی این مراحل در گروه تیمار بعد از خوراندن ۴۵ میلی گرم/ کیلوگرم وزن بدن پنتوکسی فیلین (۳ ساعت قبل از عمل) عینا تکرار و در گروه تیمار هر ۱۲ ساعت یک بار تا ۳ روز ادامه داشت. تغییرات آپوپتوزیس گروه‌ها توسط آزمون آماری من ویتنی U با هم مقایسه و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.*

یافته‌ها: *در گروه تیمار تغییرات مرگ سلولی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *داروی پنتوکسی فیلین ممکن است در مهار آپوپتوزیس ناشی از ایسکمی- خونرسانی مجدد نقش داشته باشد.*

واژگان کلیدی: *پنتوکسی فیلین، آپوپتوزیس، موش صحرایی.*

مقدمه

ایسکمی– خونرسانی مجدد (Ischemia /Reperfusion) نوعی سندروم بالینی پیچیده است که در شرایط خاص ممکن است ارگان‌های مختلف بدن را تحت‌تأثیر قرار دهد و همان گونه که از اسم آن پیداست شامل یک مرحله کاهش یا توقف خون‌رسانی به بافت و بعد از مدتی بازگشت جریان خون به آن ارگان می‌باشد (۱). در صورتی که سلول‌ها دچار آسیب قابل برگشت شوند، برقراری مجدد جریان خون می‌تواند سبب بهبود سلول‌ها شود. با این حال، در شرایط خاصی برقراری مجدد جریان خون به بافت‌های دچار ایسکمی که از سایر جهات سالم هستند به شکل متناقضی سبب تشدید و وخامت آسیب درآنها می‌گردد. در نتیجه علاوه بر سلولهایی که تا انتهای دوره ایسکمی دچار آسیب غیرقابل برگشت

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، مهرداد هاشمی
(email: mhashemi@iautmu.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/٤/۲٦
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۷/۲۵

www.SID.ir

Archive of SID

شده بودند، سلول‌های دیگری نیز در بافت از بین می‌روند. این حالت که اصطلاحاً آسیب ناشی از ایسکمی/ برقراری مجدد جریان خون خوانده می‌شود، روند بالینی با اهمیتی است که نقش قابل ملاحظه‌ای در تخریب بافتی دارد، ولی با مداخلات درمانی می‌توان آن را کنترل کرد (۳،۲). با اینکه مکانیسم‌های دقیق این آسیب معلوم نشده‌اند، ولی یکی از دلایل ایجاد آسیب (ایسکمی/خونرسانی مجدد) در زیر آمده است.

پرفوزیون مجدد خون در ایسکمی/ خونرسانی مجدد سبب تشدید جذب موضعی سلول‌های التهابی می‌گردد. این سلول‌ها مقادیر زیادی از ریشه‌های فعال مشتق از اکسیژن را آزاد می‌کنند و سبب پیشبرد روند تخریب غشاء و نفوذپذیری میتوکندریایی می‌شوند. افزایش نفوذپذیری میتوکندری‌ها و تشکیل سوراخ‌هایی در غشاء میتوکندری سبب کاهش پتانسیل غشاء و همچنین کاهش تولید آدنوزین تری فسفات و تورم میتوکندری می‌گردد. افزایش نفوذپذیری غشاهای خارجی میتوکندری سبب آزاد شدن محرک شروع کننده آپوپتوز، یعنی سیتوکروم C به داخل سیتوزول سلول می‌شود. این روند ادامه یافته و رویدادهای پروتئولیتیکی را به حرکت درآورده و باعث القاء آپوپتوزیس می‌گردد (۴).

نارسایی حاد کلیه ایسکمیک سندروم بالینی است که به دنبال قطع یا کاهش جریان خون کلیه ایجاد می شود و علی‌رغم اقدامات پیشگیرانه ودرمانی هنوز این بیماری با مرگ ومیر بالایی همراه است (۵). آسیب بافتی از همان فاز ایسکمیک آغاز می‌شود. نکروز و آپوپتوزیس دو فرم آسیب سلولی هستند. در نکروز، عناصر داخل سلول از آن خارج شده و به بافت‌های مجاور آسیب می‌رسانند. در طی آپوپتوزکه یک مرگ برنامه‌ریزی شده می باشد، عناصر هسته و سیتوپلاسم در داخل واکوئول‌های آپوپتوتیک قرار گرفته و بعد توسط ماکروفاژها بلعیده شده، بدون اینکه به بافت‌های اطراف آسیب برسد (۷،۶). بازگشت مجدد جریان خون به دنبال فاز اولیه ایسکمی موج جدیدی از آسیب در ارگان را به بار می‌آورد. به همین دلیل این دو مجموعه با هم Ischemic Reperfusion (IR) نامیده می‌شود (۷). یافته‌های جدید در این زمینه تکیه بر نقش مهم التهاب در آسیب ایسکمیک خونرسانی مجدد دارد (۱،۲). در فاز ایسکمیک، در بافت مدیاتورهای آماسی متعددی آزاد می‌گردد که مهم‌ترین آنها فاکتور نکروز دهنده آلفا (TNF-α)، اینترلوکین یک و اینترلوکین ۶ هستند. این مدیاتورها سبب ایجاد و گسترش التهاب درفاز خونرسانی مجدد می گردند. با افزایش مولکول‌های اتصالی (ICAM-1) در سطح سلول‌های آندوتلیال سبب کشیده شدن سلول‌های چند هسته‌ای به داخل بافت ایسکمیک می‌شوند. ورود سلول‌های التهابی چند هسته‌ای به بافت با تولید آنزیم میلوپراکسیداز همراه است و سپس ترکیب نیتریک اکساید با رادیکال‌های سوپراکساید و تولید پراکسی نیتریت خود سبب اضافه شدن فرآیند استرس اکسیداتیو به فرآیند التهاب می‌شود که به دامنه آسیب ایسکمیک می‌افزاید و این نشان دهنده نقش محوری التهاب در آسیب به دنبال ایسکمیک خونرسانی مجدد است (۹،۸). در این مطالعه، نقش داروی پنتوکسی فیلین در عملکرد مرگ سلول‌های کلیه متعاقب آسیب ایسکمی- خونرسانی مجدد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، ۲۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار بالغ انتخاب شد و سلامتی این حیوانات از نظر عملکرد کلیه با اندازه‌گیری کراتینین و ازت اوره خون مورد ارزیابی قرر گرفت. موش‌ها بصورت تصادفی به دو گروه شاهد (n=۱۰) و گروه درمان با پنتوکسی فیلین (n =۱۰) اختصاص یافتند. در گروه شاهد برای القاء بیهوشی از کتامین به میزان ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به روش تزریق داخل صفاقی استفاده شد. برای دسترسی به کلیه از رهیافت خط سفید استفاده و سپس کلیه چپ جدا و شریان و ورید این کلیه بسته شد. پس از ۶۰ دقیقه ایسکمی، عروق باز و برقراری مجدد جریان خون صورت گرفت. سپس کلیه راست با استفاده از عمل نفرکتومی برداشته شد. مدت زمان پرفوزیون مجدد خون در این مطالعه ۳ روز بود. پس از جراحی به حیوانات اجازه داده شد که دسترسی آزاد به آب داشته باشند. در گروه درمان با پنتوکسی‌فیلین تمامی اعمال ذکر شده در بالا صورت گرفت، با این تفاوت که ۳ ساعت قبل از عمل، پن‌توکسی‌فیلین با دوز ۴۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی تجویز شد. این درمان هر ۱۲ ساعت یک بار به مدت ۳ روز ادامه یافت. برای انجام مطالعات ریزبینی، در پایان دوره آزمایش و ۷۲ ساعت بعد از خونرسانی مجدد ،کلیه چپ موش‌ها پس از آسان‌کشی با ایجاد دررفتگی در مهره‌های گردن، جدا و پس از پایدارسازی در فرمالین بافری ۱۰ درصد به آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز ارسال گردید. از بطن چپ قلب موش‌ها، مقاطع پی‌درپی با ضخامت ۵ میکرون جهت رنگ‌آمیزی اختصاصی تانل تهیه و مقاطع هیستوپاتولوژیک توسط میکروسکوپ نوری مدل نیکون (ECLIPSE E200، ساخت کشور ژاپن) مورد ارزیابی قرار گرفت. سلول‌هایی که ار لحاظ وقوع آپوپتوز مثبت بودند، با استفاده از میکروسکوپ نوری شمارش و آنالیز گردیدند. برای شمارش سلول‌های آپوپتوتیک، در هر مقطع ۵ میدان

www.SID.ir

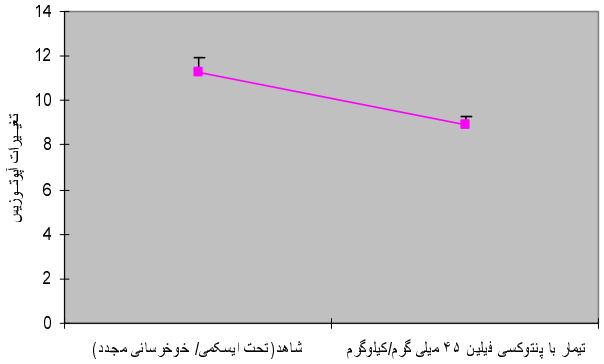
Archive of SID

میکروسکوپی از منطقه بطن چپ به‌طور تصادفی انتخاب و با بزرگ‌نمایی ۴۰× مورد بررسی قرار گرفت. تکنیک تشخیصی آپوپتوز بر اساس دستورالعمل کیت تانل (Insitu cell death detection kit, POD، کمپانی Roche، ساخت کشور آلمان) انجام پذیرفت. به‌طور خلاصه، برش‌ها پارافین‌زدایی و آب‌گیری شده، سپس در آب مقطر شستشو داده شدند. بافت‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه و در دمای اتاق با ۲۰ گرم بر میلی‌لیتر پروتئین‌کیناز K (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) مجاور گردیدند. فعالیت پراکسیداز آندوژن نیز با انکوباسیون آن در ۳ میلی‌لیتر بر لیتر هیدروژن پروکسید/متانول، به‌مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بلوکه گردید. برش‌ها با دِاُکسی نوکلئوتیدیل ترانسفراز انتهایی به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس dUTP (Deoxyuridine triphosphate) کونژوگه شده با دی‌اکسیژنین، به انتهاهای 3-OH مولکول DNA فراگمانته افزوده شد. از آنتی‌بادی آنتی-دی‌اکسیژنین پراکسیداز برای تشخیص نوکلئوتیدهای نشاندار استفاده شد. برش‌ها توسط DAB (Diaminobenzidine) رنگ‌آمیزی شده و برای رنگ‌آمیزی زمینه نیز از هماتوکسیلین استفاده شد (۱۰).

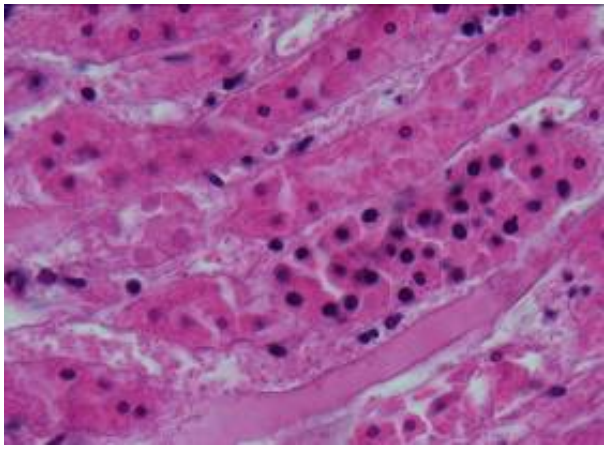
نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه گردید. تفاوت بین گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey برآورد شد. $p<0/05$ به عنوان حداقل سطح معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. جهت بررسی کمی سلول‌های آپوپتوتیک در ۵ میدان میکروسکوپی به طور تصادفی تعداد سلول‌های آپوپتوتیک تعیین و میانگین آنها به عنوان نسبت سلول‌های آپوپتوتیک به کل سلول بیان و برای آنالیز نتایج حاصل از گروه‌های چهارگانه از آزمون ANOVA یک‌طرفه و در صورت وجود برای تعیین گروه‌های دارای تفاوت از آزمون Tukey استفاده شد. تحلیل داده‌ها با نرم افزار SPSS-13.0 صورت گرفت.

یافته‌ها

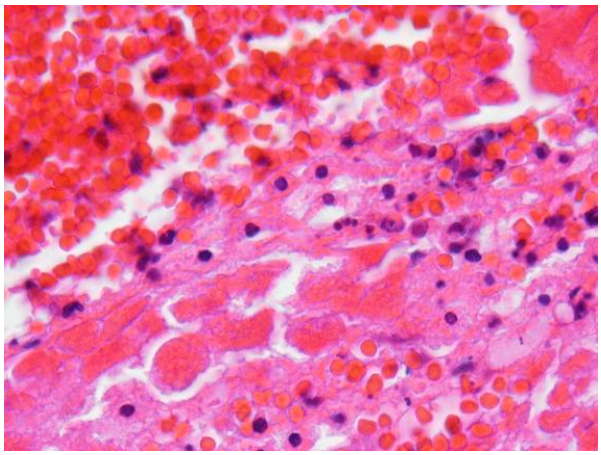
در گروه شاهد، ایسکمی/ خونرسانی مجدد باعث بروز تغییرات شدید آپوپتوز در سلول‌های توبول‌های کلیوی گردید. در رنگ‌آمیزی تانل، سلول‌های آپوپتوتیک به‌رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره قابل رویت بودند (شکل‌های ۱ تا ۴). میزان آپوپتوز در گروه شاهد ۰/۶۲±۱۱/۳ و در گروه تیمار با داروی پنتوکسی فیلین ۰/۱۷±۰/۳۴ بود و افزایش معنی‌داری را در گروه شاهد نشان داد ($p<0/001$).



نمودار ۱- میانگین تغییرات آپوپتوزیس در بافت کلیه گروه تیمار و شاهد (n=۱۰ در هر گروه). داده‌ها بصورت میانگین±خطای معیار نمایش داده شده است. *$p<0/05$ در مقایسه با گروه شاهد سالم.



شکل ۱- نمای میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرایی از گروه شاهد که تحت ایسکمی- خونرسانی مجدد قرار گرفته است. به سلولهای آسیب دیده با هسته پیکنوتیک و کاریورکتیک توجه نمائید. رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگنمائی ۴۰×

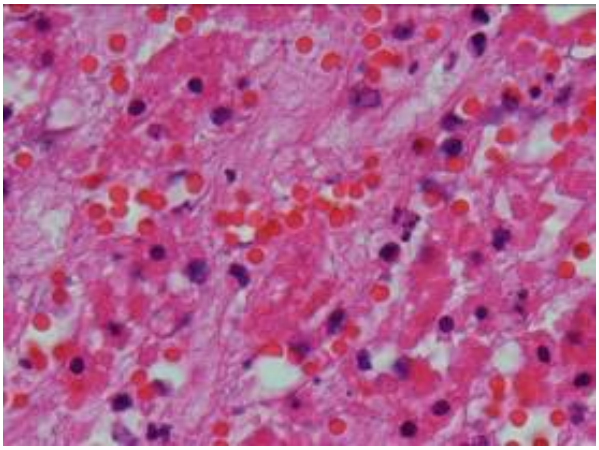


شکل ۲- نمای میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرایی از گروه شاهد که تحت ایسکمی- خونرسانی مجدد قرار گرفته است. به سلولهای آسیب دیده با هسته پیکنوتیک و کاریورکتیک توجه نمائید. رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگنمائی ۴۰×

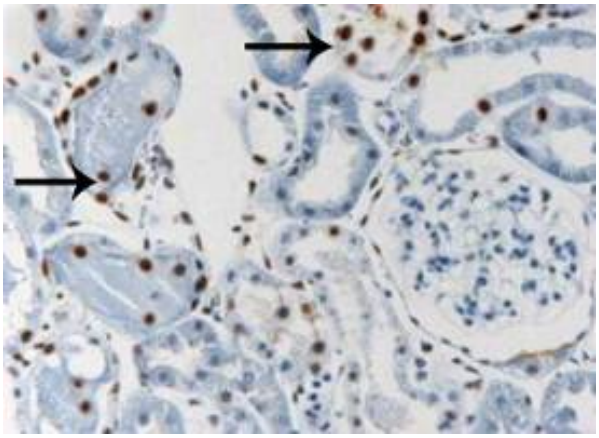
www.SID.ir

Archive of SID

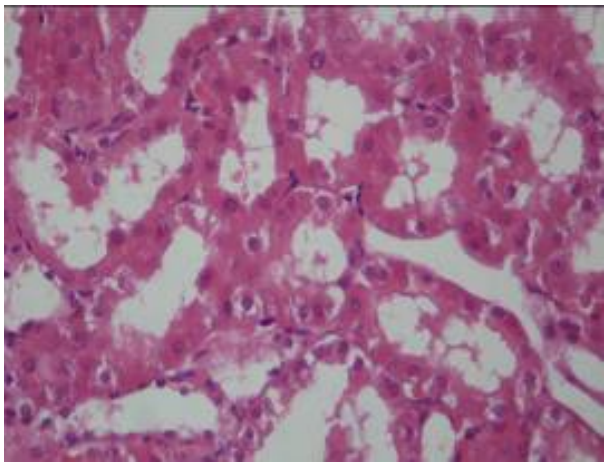
درگروه تیمار با داروی پنتوکسی‌فیلین به میزان ۴۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، دارو باعث کاهش شدت بروز آپوپتوز در اثر ایسکمی/ خونرسانی مجدد شد (شکل‌های ۴ و ۵)، به‌طوری که اختلاف معنی داری بین این گروه (۸/۹±۰/۳۵) با گروه شاهد (۱۱/۳±۰/۶۲) وجود داشت ($p<0/05$). مقایسه مقادیر میانگین و انحراف معیار آنها در گروه‌های شاهد و تیمار در نمودار ۱ آورده شده است.



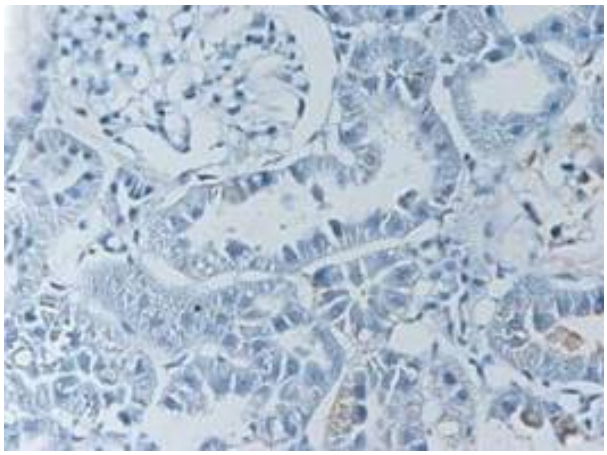
شکل ۳- نمای میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرایی از گروه شاهد که تحت ایسکمی- خونرسانی مجدد قرار گرفته است. به سلولهای آسیب دیده با هسته پیکنوتیک و کاریورکتیک توجه نمائید. رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگنمائی ۴۰×



شکل ۴- نمای میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرایی از گروه شاهد که تحت ایسکمی- خونرسانی مجدد قرار گرفته است. به سلولهای تانل مثبت یا آپوپتوتیک (فلش) توجه نمائید. رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگنمائی ۴۰×



شکل ۵- نمای میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرایی از گروه تیمار دریافت کننده داروی پنتوکسی‌فیلین (۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن). آسیب ملایمی در مقایسه با گروه شاهد قابل رویت است. رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگنمائی ۴۰×



شکل ۶- نمای میکروسکوپی بافت کلیه موش صحرائی از گروه تیمار دریافت کننده داروی پنتوکسی‌فیلین (۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن). در آن تعداد بسیار معدودی از سلول‌های تانل مثبت در مقایسه با گروه شاهد قابل رویت می‌باشد، رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگنمائی ۴۰×.

بحث

یکی از مسائل بسیار مهم در ایسکمی- خونرسانی مجدد، آسیب سلولی می‌باشد. برقراری مجدد جریان خون به شکل متناقضی باعث تشدید آسیب سلولی در بافت می‌گردد. بنابراین علاوه بر سلول‌هایی که تا انتهای دوره ایسکمی دچار آسیب غیرقابل برگشت شده بودند، سلول‌های دیگری نیز در بافت از بین می‌روند (۱۱). در مطالعه حاضر نیز نقش پنتوکسی‌فیلین در آسیب سلولی ارزیابی شد و نتایج معنی‌دار

www.SID.ir

Archive of SID

آن نشانگر کاهش مرگ سلولی در گروه تیمار با پنتوکسی‌فیلین می‌باشد.

در این مطالعه، مدت زمان ایسکمی گرم ۶۰ دقیقه انتخاب شد، زیرا در یک مطالعه مقدماتی که Hidehisa و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام دادند مشخص شد که در موش‌های صحرایی مورد مطالعه ایسکمی ۹۰ دقیقه به علت ایجاد نارسایی در کلیه باعث مرگ حیوان می‌شود و حیوان قادر به تحمل ایسکمی ۹۰ دقیقه نمی‌باشد. لذا در این مطالعه نیز مدت زمان ایسکمی گرم طبق مطالعه این محققین ۶۰ دقیقه انتخاب شد که این مدت زمان ۶۰ دقیقه‌ای باعث ایجاد آسیب ایسکمی/خونرسانی مجدد کافی در کلیه می‌شود (۱۲). Kelly و همکاران در سال ۱۹۹۶ و Daem و همکاران در سال ۱۹۹۹ به این نتیجه رسیدند که بیشترین آسیب عملکرد کلیه در ۲۴ یا ۴۸ ساعت بعد از خون‌رسانی مجدد می‌باشد (۱۳،۱۴). Basile و همکارانش در سال ۱۹۹۷ گزارش کردند که اولین موج آپوپتوز ایجاد شده توسط آسیب ایسکمی/خونرسانی مجدد کلیوی در روز سوم قابل توجه بود (۱۵).

Hidehisa و همکاران در سال ۲۰۰۲ بیان نمودند که ۷۲ ساعت بعد از ایسکمی در گروه شاهد توسط داپلر، جریان خون سطحی پارانشیم کلیه تا ۷۰ درصد سطح پیش از ایسکمی کاهش می‌یابد، اما در گروه FR167653 جریان خون کمتر کاهش می‌یابد. اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروز دهنده تومور احتمال می‌رود که فاکتورهای اصلی برای ترمبوز در عروق خونی کوچک و DIC باشند. چون داروی FR167653 مهار کننده تولید اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروزدهنده تومور است، بنابراین Hidehisa و همکاران این احتمال را مطرح کردند که داروی FR167653 به دلیل مهار تولید اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروز دهنده تومور ممکن است باعث بهبودی در جریان خون کلیه شود. در مطالعه حاضر نیز داروی پنتوکسی فیلین به واسطه کاهش تولید سایتوکاین‌های اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروز دهنده تومور از یک طرف و همچنین به دلیل افزایش انعطاف‌پذیری اریتروسیت‌ها، کاهش ویسکوزیته خون و بهبود گردش خون مویرگی و داشتن خاصیت فیبرینولیتیک از طرف دیگر ممکن است در بهبود جریان خون کلیه و در نتیجه در کاهش آسیب کلیوی ناشی از ایسکمی/خونرسانی مجدد نقش داشته باشد که به مطالعات و تحقیقات بیشتری در این زمینه نیاز است. اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروز دهنده تومور، سیتوکاین‌های پیش‌التهابی مشهور در ارتباط با نفریت ناشی از لوپوس اتوایمیون و آسیب ایسکمی/خونرسانی مجدد هستند. در آسیب ایسکمی/خونرسانی مجدد، اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروز دهنده تومور آزاد شده از ماکروفاژهای مقیم در کلیه و سلول‌های پارانشیم کلیوی می‌توانند باعث آسیب پارانشیم کلیه توسط آپوپتوز و به کارگیری نوتروفیل‌ها (که باعث آزاد شدن متابولیت‌های اکسیژن و پروتئازهای فعال می‌شوند) گردند. آپوپتوز سلول کلیوی و به کارگیری نوتروفیل‌ها به عنوان فرم‌های اصلی مرگ مرتبط با آسیب ایسکمی/خونرسانی مجدد کلیوی هستند و فاکتور نکروز دهنده تومور توسط اتصال به گیرنده تیپ ۱ فاکتور نکروز دهنده تومور یا لیگاند Fas و به دنبالش فعال شدن اندونوکلئاز داخل سلولی، آپوپتوز را در سلول‌های اپی‌تلیال کلیوی القاء می‌کند (۱۷،۱۶،۱۲). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پنتوکسی‌فیلین به دلیل اثر مهار کنندگی خود بر علیه فاکتور نکروز دهنده تومور ممکن است در کاهش اختلال در عملکرد کلیه توسط مهار مرگ سلولی به شکل آپوپتوز نقش داشته باشد. در مطالعه Zabel و همکارانش در سال ۱۹۹۱ نشان داده شد که داروی پنتوکسی‌فیلین از طریق کاهش تولید سوپراکسید توسط نوتروفیل‌ها مرگ سلولی را به شکل معنی‌داری کاهش می‌دهد. عوامل رادیکال آزاد و یا سوپر اکسید از طرق مختلفی باعث القا مرگ سلولی می‌گردند که مهم‌ترین این عوامل در غشای سلولی و میتوکندری می‌باشد. باید اشاره نمود که داروی پنتوکسی‌فیلین با کاهش تنش‌های اکسیداتیو به شکل معنی‌داری باعث کاهش مرگ سلولی می‌گردد (۱۸). یکی دیگر ازعوامل القاء مرگ سلولی متعاقب ایسکمی خونرسانی مجدد، سیتوکاین فاکتور نکروز دهنده تومور می‌باشد که با اتصال به گیرنده اختصاصی خود TNFR از مسیر خارج سلولی باعث القای مرگ سلولی می‌گردد. پیرامون موضوع نقش فاکتور نکروز دهنده تومور در آسیب‌های ایسکمیک خونرسانی مجدد، Koenig و همکارانش در سال ۲۰۰۶ مطالعه‌ای انجام دادند و نشان دادند که پنتوکسی‌فیلین به میزان معنی‌داری در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید از تولید فاکتور نکروز دهنده تومور می‌کاهد. باید اذعان داشت که این عملکرد پنتوکسی‌فیلین نه تنها می‌تواند در مهار مرگ سلولی نقش داشته باشد، بلکه در کاهش پاسخ‌های التهابی نیز مؤثر است (۱۹).

Savic و همکارانش مطالعه‌ای را بر روی تأثیر حمایتی داروی پنتوکسی‌فیلین در بیماران با نارسائی حاد کلیوی انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که پنتوکسی‌فیلین می‌تواند به واسطه مهار بیان پروتئین‌های وابسته به فاکتور نکروز دهنده تومور باعث کاهش مرگ سلولی گردد (۲۰). مجموع نظرات نشان دهنده هم‌خوانی نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات در این

www.SID.ir

Archive of SID

زمینه می‌باشد. در روند بازگذشت مجدد جریان خون، سیتوکاین‌های التهابی نظیر اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروز دهنده تومور باعث ظهور مولکول‌های اتصالی در سطح آندوتلیوم عروق بافت ایسکمیک می‌شود. ICAM-1 یکی از مولکول‌های اتصالی مهم می‌باشد که فاکتور نکروز دهنده تومور باعث افزایش بیان و ظهور این ملکول اتصالی در سطح سلول‌های آندوتلیالی می‌شود که در نهایت سبب ورود سلولهای التهابی به ویژه سلول‌های چندهسته‌ای به بافت ایسکمیک شده و موج جدیدی از آسیب بافتی را ایجاد می‌کند. تولید میلوپراکسیداز از سلول‌های نوتروفیلی و واکنش بین NO و رادیکال سوپراکسید ناشی از فعالیت سلول‌های التهابی سبب تولید پراکسی‌نیتریت و اضافه شدن فرآیند استرس اکسیداتیو می‌شود که خود نیز نکروز سلول‌های توبولی را باعث می‌شود. از آنجایی که پنتوکسی‌فیلین باعث مهار تولید این سیتوکاین‌های آماسی می‌گردد (اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروز دهنده تومور)، بنابراین باعث کاهش پاسخ التهابی شده و بطور غیرمستقیم نیز باعث مهار آسیب سلولی می‌گردد که در نتایج مطالعات میکروسکوپی روند مرگ سلولی در گروه تیمار به شکل معنی‌داری آن را نشان داده است. Frank و همکارانش در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که به دنبال ایسکمی – خونرسانی مجدد، فاکتورهای رشد، سیتوکاین‌های آماسی و عوامل بیوشیمیایی متعددی آزاد می‌شوند که باعث القا مرگ سلولی می‌گردند. یکی از این عوامل، عامل فاکتور نکروز دهنده تومور می‌باشد که از دو طریق باعث القاء مرگ سلول‌های توبول کلیه متعاقب ایسکمی/خونرسانی مجدد می‌گردد: ۱- از مسیر سیتوکروم C، ۲- NF-KB. فاکتور نکروز دهنده تومور با تأثیر مثبت بر سیتوکروم C باعث راه‌اندازی مسیر Apaf-1 و کاسپاز ۹ می‌گردد که با فعال شدن کاسپاز ۳ مرگ سلولی اتفاق می‌افتد. فاکتور هسته‌ای B در رونوشت‌برداری ژن‌های مولد مرگ سلولی نقش تعیین کننده دارد و عامل فاکتور نکروز دهنده تومور را تشویق به راه‌اندازی و بیان پروتئین‌های مولد مرگ سلولی می‌کند. بنابراین با بیان مسیرهای مولکولی- سلولی نقش فاکتور نکروز دهنده تومور و مرگ سلولی، تأثیر مهارکنندگی پنتوکسی‌فیلین بسیار واضح برای نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. البته چون پنتوکسی‌فیلین باعث کاهش فرآیندهای التهابی می‌گردد، بنابراین بطور مستقیم باعث کاهش فاکتورهای رشد تولیدی از لکوسیت‌ها در مسیر فرآیند التهابی می‌گردد که بیان بیشتر FGF و IGF در روند ایسکمی- خونرسانی مجدد از مسیرهای دیگری باعث مرگ سلولی می‌گردد. FGF از مسیر MAPK و ERK باعث فعال شدن مسیر Bax و تشکیل کانال‌های میتوکندری گشته و با تسهیل خروج سیتوکروم C باعث القاء مرگ سلولی می‌گردد و IGF نیز از طریق PI3K باعث راه‌اندازی مسیر AKT/PKB و فعالیت پروتئین Bax و BCL2 می‌گردد و باز با تشکیل کانال غشاء میتوکندری و خروج سیتوکروم C مسیر مرگ سلولی آغاز می‌گردد. لیگاند Fas را نباید در القاء مرگ سلولی متعاقب برقراری مجدد جریان خون فراموش نمود که از مسیر FADD و کاسپازهای ۷، ۶، ۴ و۱ و کاسپازهای ۳و ۸ باعث القاء مرگ سلولی می‌گردد. چون همه عوامل بیان شده در مرگ سلولی توبول‌های کلیوی موثر می‌باشند، پرواضح است که پنتوکسی‌فیلین با تأثیر بر وقایع سلولی و عروقی روند آماسی و مهار بیان مولکولهای اتصالی و مهار خروج سلول‌های التهابی و کاهش تولید میانجی‌های آماسی، سیتوکاین‌ها (IL-α, 1 ,IL-1β , IL-6 , IL-8 , TNF-α) و فاکتورهای رشد می‌تواند در کاهش و مهار مرگ سلولی در گروه تیمار شده موثر باشد(۲۴،۲۲،۲۱).

این مطالعه پیشنهاد می‌کند که داروی پنتوکسی فیلین آسیب ایسکمی/خونرسانی مجدد کلیوی را کاهش می‌دهد و ممکن است به عنوان یک داروی درمانی در کاهش دادن عملکرد تأخیری بافت پیوندی مفید باشد. امروزه پیوند اعضا و رد پیوند به علت رخداد واکنش‌های آماسی و آسیب سلولی از مباحث بسیار مهم می‌باشد و داروی پنتوکسی فیلین به عنوان یک عامل مهار کنندهٔ فسفودی استراز می‌تواند در موارد پیوند کلیه به میزان معنی‌داری تولید TNF- α و IL-1 وIL-6 و IL-10 را کاهش داده و مانع رد پیوند در بیماران پیوندی گردد (۲۳،۱۸). بنابراین پیشنهاد می‌شود که مطالعات تکمیلی برای کاربرد این دارو در موارد پیوند اعضا آغاز گردد تا راه‌گشای سایر تحقیقات نوین در این زمینه گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی جهت تصویب و پرداخت هزینه طرح پژوهشی حاضرکمال تشکر را دارند.

REFERENCES

1. Abramson SB, Weissmann G. The mechanisms of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Arthr Rheumat J 1989; 32: 1-7.

www.SID.ir

Archive of SID

2. Acker CG, Flick R, Shapiro R, Scantlebury VP, Jordan ML, Vivas C, et al. Thyroid hormone in the treatment of post-transplant acute tubular necrosis (ATN). Am J Transplant 2002; 2: 57–61.

3. Acker CG, Singh AR, Flick RP, Bernardini J, Greenberg A, Johnson JP. A trial of thyroxine in acute renal failure. Kidney Int 2000; 57: 293–98.

4. Zimmerman BJ, Granger DN. Mechanisms of reperfusion injury. Am J Med Sci 1994; 307: 284-92.

5. Cheng CW, Rifai A, Ka SM, Shui HA, Lin YF, Lee WH, et al. Calcium-binding proteins annexin A2 and S100A6 are sensors of tubular injury and recovery in acute renal failure. Kidney Int 2005; 68: 2694–703.

6. Devarajan P. Cellular and molecular derangements in acute tubular necrosis. Curr Opin Pediatr 2005; 17: 193–99.

7. Doi K, Suzuki Y, Nakao A, Fujita T, Noiri E. Radical scavenger edaravone developed for clinical use ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat kidney. Kidney Int 2004; 65: 1714–23.

8. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. Kidney Int 2004; 66: 486–90.

9. Goligorsky MS. Whispers and shouts in the pathogenesis of acute renal ischaemia. Nephrol Dial Transplant 2005; 20: 261–66.

10. Hamar P, Song E, Kökény G, Chen A, Ouyang N, Lieberman J. Small interfering RNA targeting *Fas* protects mice against renal ischemia-reperfusion injury. PNAS J 2004; 41: 14883-88.

11. Cotran SR, Kumar V, Robbins LS, Editors. Robbins pathologic basis of disease. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1989. p.1-50.

12. Kitada H, Sugitani A, Yamamoto H, Otomo N, Okabe Y, Inoue S, et al. Attenuation of renal ischemical reperfusion injury by FR167653 in dogs. Surgery 2002; 131: 654-62.

13. Kelly KJ, Williams WW, Colvin RB, Meehan SM, Springer TA, Gutierrez– Ramos JC, et al. Intercellular adhesion molecule- 1- deficient mice are protected against ischemic renal injury. J Clin Invest 1996; 97: 1056-63.

14. Daem MA, Wan de Ven MW, Heineman E, Buurman WA. Involement of endogenous interleukin– 10 and tumor necrosis factor– alfa in renal ischemia– reperfusion injury. Transplantation 1999; 67: 792-800.

15. Basile DP, Liapis H, Hammerman MR. Expression of bcl-2 and bax in regenerating rat renal tubules following ischemia injure. Am J Physiol 1997; 272: 640-47.

16. Donnahoo KK, Shames BD, Harken AH, Meldrum DR. Review article: the role of tumor necrosis factor in renal ischemia– reperfusion injury. J Urol 1999; 162: 196-203.

17. Jefayri MK, Grace PA, Mathie RT. Attenuation of reperfusion injure by renal schemic preconditioning: the role of nitric oxide. BJU Int 2000; 85: 1007-13.

18. Zabel P, Schonharting MM, Schade UF, Schlaak M. Effects of pentoxifylline in endoxinemia in human volunteers. Prog Biol Res 1991; 367: 207-13.

19. Koeing M, Cathebras P, Guy C, Rousset H. Pentoxifylline: a cheap substitute for anti-TNFα agents. La Revue de medicine interne 2006; 27: 400-405.

20. Savic V, Vlahovic P, Djordjevic V, Mitic-Zlatkovic M, Avramovic V. Nephroprotective effects of pentoxifylline in experimental myoglobinuric acute renal failure. Pathol Biol J 2002; 50: 599-607.

21. Karkar AM, Smith J, Pusey CD. Prevention and treatment of experimental crescentric glomerulonephritis by blocking tumor necrosis factor- alfa. Nephrol dial Transplant 2001; 16: 518-24.

22. Frank E, Benno R, Jockem W. Role of apoptosis in reperfusion injury. Cardiovasc Res 2004; 61: 414-26.

23. Stephen C, Jagan N, Paul A. Pentoxifylline is as effective as leukocyte depletion for modulating pulmonary reperfusion in jury. J Thorac cardiovasc sury 2003; 126: 2052-57.

24. Bonventre A, Zok A. Ischemic acute renal failure an inflammatory disea Kidney Int 2000; 66: 479-85.

www.SID.ir