

اثر لوزارتان بر آپوتوز در بافت کلیه، متعاقب انسداد کامل یک طرفه ی حالب در موش صحرایی

دکتر میرهادی خیاط نوری^۱، دکتر مهرداد نشاط قراملکی^۲، دکتر غفور موسوی^۳، دکتر یوسف دوستار^۴

نویسنده ی مسئول: تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده ی دامپزشکی، گروه فارماکولوژی khayat_nouri@yahoo.com

دریافت: ۸۷/۴/۱۱ پذیرش: ۸۷/۷/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: هرگونه اختلال در جریان طبیعی ادرار تحت عنوان اوروپاتی انسدادی خوانده می شود. انسداد در نهایت می تواند به هیدرونفروز، آتروفی و حتی تخریب کامل عملکرد کلیه منجر شود. لوزارتان داروی مهارکننده ی گیرنده ی نوع I آنژیوتانسین II می باشد. از این دارو برای درمان فشار خون بالا و کنترل نارسایی احتقانی قلب استفاده می شود. از طرف دیگر نشان داده اند که لوزارتان دارای اثر حفاظتی در بعضی از بافت ها متعاقب آسیب های مختلف است. هدف از این مطالعه تعیین اثر لوزارتان بر آپوتوز در بافت کلیه متعاقب انسداد کامل یک طرفه ی حالب در موش صحرایی می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، موش های صحرایی نر نژاد اسپراگ دالی به صورت تصادفی به پنج گروه ده تایی تقسیم شدند. در گروه اول یا کنترل، حلال دارو، در گروه دوم (unilateral ureteral obstruction, UUU) بعد از انسداد یک طرفه ی حالب، حلال دارو و در گروه سوم (UUU/LOS UUO/losartan) لوزارتان با دوز ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم تجویز شد. در گروه چهارم (Sham) و پنجم (Sham/LOS) حیوانات جراحی شدند، ولی مجرای حالب مسدود نشد. کلیه ی داروها یک بار در روز به مدت پانزده روز (شروع یک روز قبل از جراحی) به صورت خوراکی تجویز شدند. تغییرات آپوتوتیک بافت کلیه، در روز چهارده بعد از جراحی در کلیه ی چپ گروه های مختلف به روش تانل بررسی شد.

یافته ها: نتایج مطالعات پاتولوژیک نشان داد که در گروه UUO، انسداد یک طرفه ی حالب موجب القای آپوتوز ($10/52 \pm 1/33$) در سلول های توبولی بافت کلیه می شود. تجویز لوزارتان حین انسداد حالب در گروه UUO/LOS توانست تعداد سلول های آپوتوتیک ($0/24 \pm 0/93$) را متعاقب انسداد حالب در بافت کلیه به طور معنی دار ($p < 0/05$) کاهش دهد. تفاوت معنی دار بین گروه کنترل ($0/91 \pm 0/26$)، Sham ($1/17 \pm 0/29$) و Sham/LOS ($2/1 \pm 0/47$) مشاهده نشد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که انسداد حالب باعث القای آپوتوز در بافت کلیه گردید و تجویز همزمان لوزارتان باعث کاهش تعداد سلول های آپوتوتیک شد.

واژگان کلیدی: انسداد یک طرفه ی حالب، آپوتوز، لوزارتان، کلیه، موش صحرایی

۱- دکترای تخصصی فارماکولوژی، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

۲- دکترای تخصصی بیماری های داخلی دام های کوچک، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

۳- دکترای تخصصی جراحی دامپزشکی، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

۴- دکترای تخصصی پاتولوژی، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

مقدمه

هر گونه اختلال در جریان طبیعی ادرار و پی آمدهای ناشی از آن تحت عنوان اوروپاتی انسدادی خوانده می شود. انسداد و توقف ادرار در مسیر مجاری ادراری اهمیت زیادی در آسیب به عملکرد کلیه از دیدگاه اورولوژی دارد. هر نوع انسدادی در نهایت می تواند به هیدرونفروز، آتروفی و حتی تخریب کامل عملکرد کلیه منجر شود. علاوه بر این انسداد می تواند باعث عفونت شده و آسیب ناشی از انسداد را دو چندان نماید. بیماری های متعددی باعث انسداد جریان ادرار می شود که پیشگویی آن ها متغیر بوده، بسته به محل و شدت انسداد، واکنش بدن در مقابل این پدیده، بیماری های مختلفی را بوجود می آورد. بنابراین اوروپاتی انسدادی باید به عنوان یک بیماری قلمداد شود تا در تدابیر درمانی آن با مشکلات کمتری مواجه شویم. هر چه محل انسداد بالاتر باشد، کلیه بیشتر تحت تاثیر قرار می گیرد. اثرات انسداد بر عملکرد کلیه در درمان و پیشگویی آن حائز اهمیت است. مکانیسم دقیق تغییرات عملکرد کلیه دقیقاً مشخص نشده، مورد توجه محققین مختلف می باشد (۱ و ۲).

داروهای مهارکننده گیرنده های نوع I آنژیوتانسین II همچون لوزارتان، والسارتان و تلمیسارتان در قیاس با مهارکننده های آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACEI) تمایل بیشتری برای مهار گیرنده های آنژیوتانسین دارند. از این داروها برای درمان فشار خون بالا و کنترل نارسایی احتقانی قلب استفاده می شود (۳-۵). مطالعات مختلف نشان داده اند که مهار کننده های گیرنده های آنژیوتانسین همچون لوزارتان دارای اثرات حفاظتی در بعضی از بافت ها متعاقب آسیب های مختلف می باشند (۳). به طوری که مشخص شده است مهارکننده های گیرنده های آنژیوتانسین می توانند در پیشگیری از ضایعات بعد از سکته های قلبی و مغزی سودمند باشند (۳). همچنین لوزارتان می تواند اثرات ضد تجمع پلاکسی، ضد دیابتی، ضد پلاک های دیواره ی عروقی، کاهش دهنده ی

اسید اوریک خون و عمل ضد فیبریلایسیون دهلیزی را از خود نشان دهد (۳). همچنین در بیماران مبتلا به بیماری های مزمن کلیه و فشار خون، با تجویز لوزارتان از شدت آسیب کلیوی کاسته می شود (۶). همچنین متعاقب نارسایی مزمن کلیوی تجربی و فشار خون بالا در موش صحرایی، لوزارتان توانست پروتئینوری و گلومرولواسکلروزیس را مهار کند (۷). در مطالعه ی دیگری، در مدل برداشت یک طرفه ی کلیه، لوزارتان گلومرولواسکلروزیس، پروتئینوری، آلبومینوری و هیپرکلسترولمی را کاهش داد (۴). در تحقیق دیگری نشان داده اند که لوزارتان قادر است آسیب های ناشی از ایسکمی و استرس اکسیداتیو را کاهش داده، از پرولیفراسیون سلول های توبولی و نفوذ ماکروفاژها به پارانشیم کلیه جلوگیری کند و سطح کراتینی نین و اوره ی خون را کاهش دهد (۸ و ۹). در سمیت کلیوی ناشی از یک نوع گیاه سمی چینی (Chinese Herb Mu-Tang) در موش صحرایی، لوزارتان باعث کاهش فیبروز بافت بینابینی شد (۱۰). در یک مطالعه ی دیگر بر روی موش های صحرایی مبتلا به نفروپاتی دیابتی تجربی مشخص شد که لوزارتان رسوب کلاژن و پروتئینوری را کاهش داد (۱۱). مشخص شده است که متعاقب انسداد حالب یک طرفه کوتاه و طولانی مدت سیستم رنین - آنژیوتانسین دچار تنظیم افزایشده، برعکس سیستم کینین - کالی کرئین دچار تنظیم کاهشده می شود، و لوزارتان قادر است از افزایش فشار خون سیستمی متعاقب انسداد حالب جلوگیری کند (۱۲-۱۴). همچنین مشخص شده است که متعاقب انسداد حالب به دلیل افزایش آنژیوتانسین II، سلول های کلیوی دچار پرولیفراسیون و آپوپتوز توبولی می شوند (۱۵). با توجه به نقش لوزارتان در مهارگیرنده های آنژیوتانسین II (۳-۵)، هدف از این مطالعه، تعیین اثر لوزارتان بر آپوپتوز کلیه متعاقب انسداد کامل یک طرفه حالب در موش صحرایی بود.

روش بررسی

این مطالعه‌ی تجربی بر روی ۵۰ سر موش صحرایی نژاد SD (Sprague-Dawley) با وزن 300 ± 10 گرم انجام گرفت. موش‌ها از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تبریز تهیه گردیدند و در شرایط یکسان در قفس‌های مخصوص نگهداری موش صحرایی، با دوازده ساعت روشنایی و دوازده ساعت تاریکی در درجه‌ی حرارت 23 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. تغذیه‌ی حیوانات توسط پلیت‌های مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت. غذا و آب به صورت آزادانه در دسترس بود. در این مطالعه از داروهای لوزارتان، کتامین هیدروکلراید، زایلازین و اتر استفاده گردید. برای حل کردن لوزارتان، از نسبت یک به دو اتانول و سرم فیزیولوژی استفاده شد. لوزارتان از شرکت سیگما و اتانول و اتر از شرکت مرک و کتامین هیدروکلراید و زایلازین از شرکت آلفاسان هلند تهیه گردیدند.

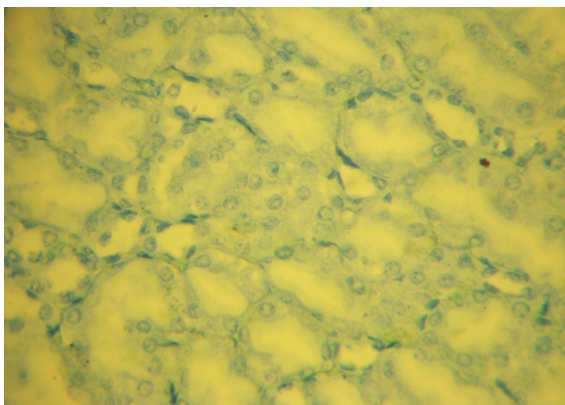
روش آزمایش: در این مطالعه‌ی تجربی حیوانات به صورت تصادفی به پنج گروه ده تایی در قفس‌های جداگانه تقسیم شدند. در گروه اول یا کنترل (Control) حیوانات به صورت خوراکی روزانه به مدت پانزده روز (شروع یک روز قبل از جراحی) حلال دارو را با حجم ۱۰ میلی‌لیتر در کیلوگرم از طریق گاوژ دریافت کردند. در گروه دوم [Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)] حیوانات بعد از انسداد یک‌طرفه‌ی حالب، حلال دارو را به مدت پانزده روز (شروع یک روز قبل از جراحی) روزانه با حجم ۱۰ میلی‌لیتر در کیلوگرم دریافت کردند. در گروه سوم [(UUO/Losartan) (UUO/LOS)] حیوانات بعد از انسداد یک‌طرفه‌ی حالب، لوزارتان را با دوز ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم یک‌بار در روز به مدت پانزده روز (شروع یک روز قبل از جراحی) به صورت خوراکی دریافت کردند. در گروه چهارم (Sham) و پنجم (Sham/LOS) حیوانات همانند

گروه‌های دوم و سوم جراحی شدند، ولی مجرای حالب مسدود نشد. برای حذف اثر حجم تجویز دارو، لوزارتان در حجم ۱۰ میلی‌لیتر در کیلوگرم تنظیم و به صورت خوراکی تجویز شد.

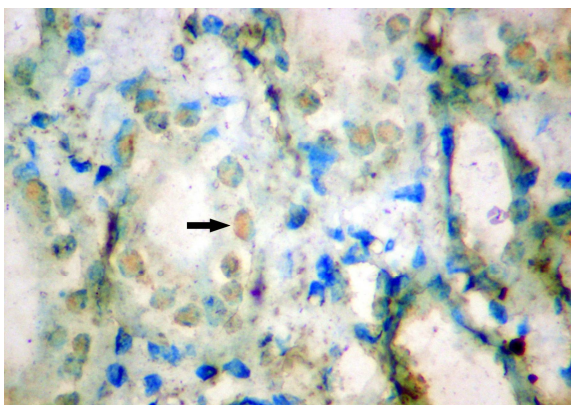
روش جراحی: برای ایجاد بیهوشی از ترکیب کتامین هیدروکلراید (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و زایلازین هیدروکلراید (۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی استفاده گردید. سپس برشی به طول سه سانتی‌متر بر روی پوست ناحیه‌ی خط وسط شکم و سپس بر روی خط سفید شکمی ایجاد شد. بعد از مشاهده و آزاد کردن کلیه از اتصالات زیرین، سرخرگ، سیاهرگ کلیوی و حالب مشخص گردید. سپس حالب با استفاده از نخ بخیه‌ی سیلک دو صفر ساخت کارخانه‌ی سوپا به طور کامل مسدود شد. بعد از برگرداندن کلیه و احشا به موقعیت طبیعی خود خط سفید شکمی با استفاده از نخ بخیه قابل جذب سنتتیک پلی‌گلاکتین ۹۱۰ (۲-۰) ساخت کارخانه‌ی سوپا به صورت ساده و سرتاسری بخیه گردید. پوست ناحیه با استفاده از نخ بخیه دو صفر سیلک به صورت تکی ساده بخیه شد. در گروه Sham شکم حیوان باز شده و جراحی صورت گرفت ولی حالب فقط دست‌کاری شده، بسته نشد (۱۸-۱۶).

روش نمونه برداری و تکنیک‌های تشخیصی: در روز چهارده بعد از جراحی، حیوانات با داروی دی اتیل اتر بیهوش شده، پس از کالبد شکافی، نمونه‌ی کلیه‌ی چپ برای تهیه‌ی مقاطع هیستولوژیک به محلول فرمالین نمکی ۱۰ درصد (Merck، آلمان) منتقل گردید. پس از فیکس شدن، مراحل مختلف پاساژ بافت بر روی نمونه‌ها انجام شده، پس از قالب گیری با پارافین از آنها مقاطع سریال با ضخامت ۳ میکرومتر تهیه گردید. مقاطع مذکور به روش تانل با استفاده از کیت استاندارد شرکت Roche و طبق روش کارخانه‌ی سازنده کیت، رنگ‌آمیزی گردید. همچنین برای رنگ آمیزی زمینه‌ی بافت، از روش تولوئیدین بلو (Merck، آلمان) استفاده شد.

در گروه UUO متعاقب انسداد حالب، افزایش شدید تعداد سلول‌های آپوتوتیک ($15/52 \pm 1/33$) در سلول‌های توبولی کلیه مشاهده گردید (شکل ۲). میانگین تعداد سلول‌های آپوتوتیک در گروه UUO در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار ($P < 0/05$) نشان داد (نمودار ۱). تجویز لوزارتان حین انسداد حالب در گروه UUO/LOS توانست تعداد سلول‌های آپوتوتیک ($5/24 \pm 0/93$) ناشی از انسداد حالب را در بافت کلیه در مقایسه با گروه UUO به طور معنی‌دار ($P < 0/05$) کاهش دهد (نمودار ۱ و شکل ۳).



شکل ۱: نمای ریزینی از سلول‌های توبولی کلیه‌ی گروه کنترل که تغییرات آپوتوزیس سلول‌های توبولی منفی می‌باشد (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی $\times 40$).

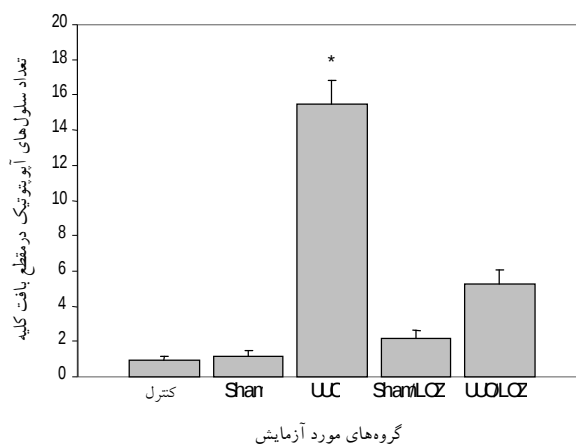


شکل ۲: نمای ریزینی از سلول‌های آپوتوتیک توبولی در کلیه‌ی گروه UUO (فلش). سلول‌های تانل مثبت در نگاره به رنگ قهوه‌ای قابل مشاهده می‌باشند (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی $\times 40$).

در ادامه، سلول‌های آپوتوتیک که به رنگ قهوه‌ای مشاهده می‌شدند، در قسمت‌های مختلف بافت کلیه مورد مطالعه قرار گرفتند و از میان مقاطع، ۲۰ میدان میکروسکوپی با بزرگ‌نمایی $\times 40$ به صورت تصادفی انتخاب شده، میانگین تعداد سلول‌های آپوتوتیک در آنها ثبت گردید (۱۹). **آنالیز آماری:** بعد از انجام آزمایش، داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده، از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن تست‌های مقایسه‌ای چندگانه توکی جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید. مقدار $P < 0/05$ برای تعیین سطح معنی‌داری بین گروه‌ها در نظر گرفته شد (۱۸).

یافته‌ها

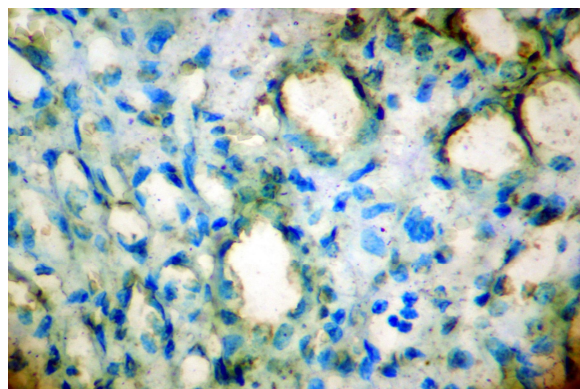
مطالعه‌ی مقاطع بافتی گروه‌های مختلف نشان داد که آپوتوز در سلول‌های توبولی بافت کلیه مشاهده می‌شود. آنالیز آماری سلول‌های آپوتوتیک در گروه‌های مختلف آزمایشی نشان داد که بین گروه‌های کنترل ($0/91 \pm 0/26$)، شم ($1/17 \pm 0/29$) و Sham/LOZ ($2/16 \pm 0/47$) اختلاف معنی‌دار وجود ندارد (نمودار ۱).



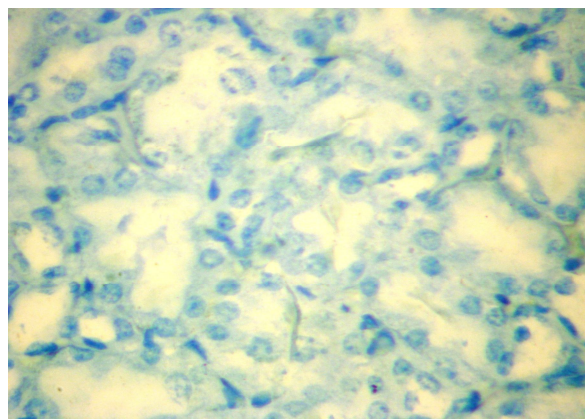
نمودار ۱: میانگین تعداد سلول‌های آپوتوتیک در مقطع بافت کلیه پس از عمل UUO در مقایسه با گروه کنترل و UUO/LOS است ($P < 0/05$).

بحث

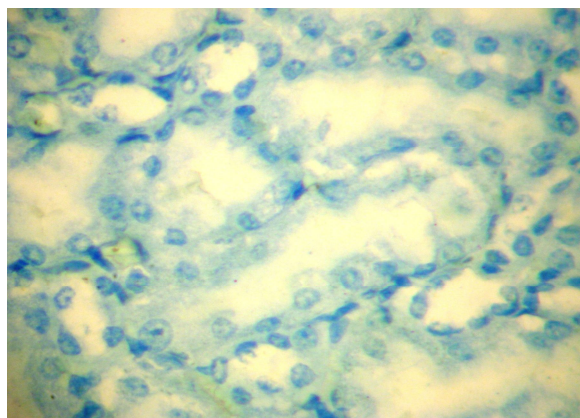
نتایج این مطالعه نشان داد که انسداد حالب باعث القای آپوپتوز در بافت کلیه می‌شود. تجویز همزمان لوزارتان توانست تعداد سلول‌های آپپتوتیک را کاهش دهد. مطالعات فراوانی بر روی بافت کلیه در افرادی که دچار عارضه‌ی انسداد حالب بوده، یا پس از ایجاد تجربی آن به روش جراحی در انسان و حیوانات مختلف، صورت گرفته است. مطالعات گذشته نشان داده است که انسداد یک‌طرفه حالب در موش صحرایی می‌تواند منجر به فیروز توبولی بینابینی، گلومرولواسکلروزیس، نفوذ سلول‌های التهابی و التهاب بافت بینابینی گردد. کلار و همکاران نشان دادند که متعاقب انسداد حالب فیروز توبولی بینابینی، اتساع فضای کپسول بومن، آتروفی شدید گلومرولی و توبولی و تجمع سلول‌های تک‌هسته‌ای روی می‌دهد (۱ و ۲). کانتو و همکاران و نیز گونزالس و همکاران نشان دادند که بعد از انسداد حالب فیروز و التهاب بافت بینابینی کلیه روی می‌دهد (۱۶ و ۲۰). ماریاما و همکاران و نیز اسپراندیو و همکاران نشان دادند که انسداد حالب باعث نفوذ سلول‌های التهابی و فیروز بافت بینابینی کلیه می‌شود (۱۷ و ۲۱). در مطالعه‌ی حاضر، مرگ برنامه‌دار سلولی یا آپپتوز در سلول‌های توبولی بافت کلیه پس از ایجاد انسداد تجربی حالب مورد بررسی قرار گرفت. به نظر می‌رسد که استرس اکسیداتیو نقش کلیدی در آغاز و ادامه‌ی التهاب بعد از انسداد دارد که نتیجه‌ی آن آسیب توبول‌های کلیوی، فیروز بافت بینابینی، نکروز و آپپتوز می‌باشد (۲۱-۲۴). چرا که نشان داده‌اند، بعد از استفاده از آنتی اکسیدان‌هایی مثل بیوفلاونوئیدها (کوآرستین) آسیب و استرس اکسیداتیو و بیان ژن‌های آپپتوتیک در کلیه‌ای که انسداد ایجاد شده است، کاهش می‌یابد (۲۳). به دنبال ایجاد استرس اکسیداتیو فعالیت آنزیم‌های آندونوکلاز موجب تخریب DNA می‌گردد. در طی این روند DNA به قطعاتی با طول ۱۸۰ تا ۲۰۰ جفت باز شکسته می‌شود که این قسمت‌ها



شکل ۳: نمای ریزینی از سلول‌های توبولی کلیه‌ی گروه UUO تیمار شده با داروی لوزارتان (UUO/LOS) که سلول‌های تانل منفی توبولی قابل مشاهده می‌باشند (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی ۴۰×).



شکل ۴: نمای ریزینی از سلول‌های توبولی کلیه‌ی گروه شم که تغییرات آپپتوزیس سلول‌های توبولی منفی می‌باشد (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی ۴۰×).



شکل ۵: نمای ریزینی از سلول‌های توبولی کلیه‌ی گروه شم تیمار شده با داروی لوزارتان (Sham/LOS) که سلول‌های تانل منفی توبولی قابل مشاهده می‌باشند (رنگ آمیزی تانل، بزرگنمایی ۴۰×).

انسداد تجربی حالب منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی‌های سلولی گردید که به عنوان نشانه‌ای از بروز استرس اکسیداتیو می‌باشد. رادیکال‌های آزاد در طی متابولیسم طبیعی سلول‌های بدن تولید می‌شوند و تولید رادیکال‌های آزاد بیش از ظرفیت تدافعی آنتی اکسیدان‌ها، موجب بروز استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های غیر قابل برگشت مانند آپوپتوز یا نکروز در سلول‌های زنده می‌شود (۲۱ و ۲۲).

بحث

این مطالعه نشان داد که لوزارتان باعث کاهش تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در بافت کلیه متعاقب انسداد حالب شد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که لوزارتان دارای اثرات حفاظتی در بعضی از بافت‌ها می‌باشد، به طوری که چی‌سانت و همکاران نشان دادند که مهار کننده‌های گیرنده‌های آنژیوتانسین دارای اثرات محافظتی بعد از سکت‌های قلبی و مغزی می‌باشند و از ضایعات بعدی سکت پیش‌گیری می‌کنند. همچنین آن‌ها پیشنهاد کردند که لوزارتان می‌تواند اثرات ضد تجمع پلاکتی، ضد دیابتی، ضد پلاک‌های دیواره‌ی عروقی، کاهش دهنده‌ی اسید اوریک خون و عمل ضد فیبریلاسیون دهلیزی را از خود نشان دهد (۳). لینو و همکاران در بیمارانی مبتلا به نارسایی‌های مزمن کلیوی و فشارخون نشان دادند که لوزارتان دارای اثرات حفاظتی بر روی کلیه می‌باشد (۶). کوهزوی و همکاران نشان دادند که متعاقب ایجاد نارسایی مزمن کلیوی تجربی و فشارخون بالا در موش صحرایی، لوزارتان توانست پروتئینوری و گلومرولواسکلروزیس را به‌طور معنی‌دار مهار کند (۷). در مطالعه‌ی دیگری، جی و همکاران نشان دادند که مهار کننده‌های سیستم رنین آنژیوتانسین همانند لوزارتان قادر است گلومرولواسکلروزیس، پروتئینوری، آلبومینوری و هیپرکلسترولمی ناشی از برداشت یک‌طرفه‌ی کلیه را کاهش دهد (۴). در تحقیق دیگری، توکویاما و همکاران و هلر و همکاران نشان دادند که لوزارتان

در حقیقت، طولی از DNA است که به دور هستون‌ها در نوکلئوزوم پیچیده می‌شود. به عبارت دیگر DNA در نواحی اتصال ما بین نوکلئوزوم‌ها شروع به شکستن می‌کند، که به این حالت اصطلاحاً فراگمانتاسیون داخل نوکلئوزومی گفته می‌شود (۲۵). علاوه بر مکانیسم ذکر شده فوق، مکانیسم‌های دیگری نیز باعث بروز تغییرات کروماتینی در هسته‌ی سلول می‌شود. غیرفعال شدن آنزیم‌هایی که در تعمیر DNA نقش دارند، یکی از این موارد است. پلی‌آدنوزین دی فسفات پلیمرز (PADP)، اولین پروتئینی است که در آسیب‌های DNA وارد عمل شده و با چسبیدن به زنجیر باز شده‌ی DNA و تغییر پروتئین‌های هسته‌ای باعث تعمیر آسیب‌های وارده به DNA می‌شود. آنزیم کاسپاز ۳ که به دنبال آپوپتوز فعال می‌گردد، با شکستن آنزیم PADP عملکرد آن را در تعمیر DNA از بین می‌برد (۲۶). تغییرات آپوپتوتیک به دنبال ایجاد استرس اکسیداتیو، منحصراً مرتبط با تغییرات هسته سلول‌های آپوپتوتیک نبوده، میتوکندری‌ها نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در میتوکندری سلول‌های آپوپتوتیک، اختلال در پتانسیل انتقال و نفوذپذیری لایه‌ی داخلی غشا، قابل تشخیص است، به طوری که این لایه، توانایی جلوگیری از نشت برخی ملکول‌ها را از دست می‌دهد (۲۵). پروتئین P53 مرتبط با پوشش هسته بوده، در زمان استرس اکسیداتیو به داخل هسته منتقل می‌گردد و توقف چرخه‌ی سلولی و یا خودکشی سلولی با واسطه‌ی P53 رخ می‌دهد (۲۷). بنابراین آسیب‌های DNA به دنبال انسداد تجربی حالب و استرس اکسیداتیو در این سلول‌ها به دور از انتظار نیست. از طرف دیگر نشان داده‌اند که انسداد تجربی حالب در موش‌های صحرایی منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و غیرفعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود. پراکسیداسیون چربی‌ها و ایجاد رادیکال‌های آزاد اضافی، می‌تواند موجب آسیب پروتئین‌ها، DNA و القای آپوپتوز در سلول‌های بافت کلیه گردد (۲۱ و ۲۲). در یک بررسی انجام شده در موش صحرایی،

قادر است آسیب‌های ناشی از ایسکمی و استرس اکسیداتیو را کاهش داده، از پرولیفراسیون سلول‌های توبولی و نفوذ ماکروفاژها به پارانشیم کلیه جلوگیری کند و سطح کراتینین و اورهی خون را کاهش دهد (۸ و ۹). در سمیت کلیوی ناشی از یک نوع گیاه سمی چینی (Chinese Herb Mu-Tang) در موش صحرایی، زو و همکاران نشان دادند که لوزارتان باعث کاهش فیروز بافت بینابینی و سمیت کلیوی ناشی از این گیاه شد (۱۰). در یک مطالعه‌ی دیگر، یانگ و همکاران بر روی موش‌های صحرایی مبتلا به نفروپاتی دیابتی تجربی نشان دادند که لوزارتان از رسوب کلاژن در پارانشیم کلیه و پروتئینوری جلوگیری کرد (۱۱). مکانیسم‌های مختلفی را برای اثر حفاظتی لوزارتان در بافت‌های مختلف مطرح کرده‌اند. همانطور که گفته شد استرس اکسیداتیو نقش کلیدی در آغاز و ادامه‌ی التهاب بعد از انسداد دارد که نتیجه‌ی آن آسیب توبول‌های کلیوی، فیروز بافت بینابینی، نکروز و آپوپتوز می‌باشد (۲۴-۲۱). از طرف دیگر مطالعات نشان داده‌اند که لوزارتان دارای اثرات آنتی اکسیدانی در بافت کلیه متعاقب آسیب ناشی از مواد شیمیایی و جراحی می‌باشد (۲۸-۳۱). با توجه به نقش آنتی اکسیدانی لوزارتان چنین می‌توان پیشنهاد کرد که احتمالاً این دارو با مکانیسم مشابه باعث کاهش تعداد سلول‌های آپوپتوتیک متعاقب انسداد حالب می‌شود. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که آسیب ناشی از انسداد حالب را می‌توان با مهار گیرنده‌های AT1 و مهار عملکرد آنزیم مبدل آنژیوتانسین تقلیل داد (۱، ۲، ۵، ۱۶، ۲۰ و ۳۲). به‌طوری‌که کلار و همکاران پیشنهاد کردند که در موش‌های صحرایی به دنبال انسداد مزمن حالب استفاده از مهار کننده‌های گیرنده‌های آنژیوتانسین و مهار کننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین باعث کاهش فیروز بینابینی توبولی و افزایش فیلتراسیون گلومرولی می‌شود (۲). ناکایو و همکاران در یک مطالعه کنترل شده‌ی تصادفی بر روی ۳۳۶ بیمار مبتلا به ناراحتی کلیوی غیردیابتی نشان دادند که استفاده

همزمان از مهار کننده‌های گیرنده‌های آنژیوتانسین و مهار کننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین در مقایسه با تک‌تک داروها دارای اثرات جانبی کمتر بوده، باعث بهبود کارکرد کلیوی می‌شود. آن‌ها همچنین گزارش کردند که استفاده از تراندولاپریل به تنهایی دارای اثرات جانبی بیشتری در مقایسه با استفاده همزمان لوزارتان و تراندولاپریل در ناراحتی‌های کلیوی غیردیابتی است (۵). کانتو و همکاران در مطالعه بر روی موش‌های صحرایی نشان دادند که استفاده از انالاپریل در انسداد حالب تجربی باعث کاهش کلاژن نوع چهار در بافت کلیه و در نهایت کاهش فیروز توبولی بینابینی می‌شود (۱۶). کلر و همکاران نشان دادند که متعاقب انسداد حالب یک‌طرفه، فیروز و نفوذ ماکروفاژ در بافت کلیه ایجاد می‌شود و با استفاده از لوزارتان می‌توان از بیان پروتئین اختصاصی فیروبلاست‌ها و به دنبال آن فیروز کلیوی جلوگیری کرد (۳۳). همچنین مشخص شده است که متعاقب انسداد یک‌طرفه‌ی حالب، بیان فاکتور نکروز تومور-بتا (TNF-beta) در کلیه ای که عمل انسداد در آن انجام شده، افزایش می‌یابد (۳۴). از طرف دیگر مشخص شده است که TNF-beta توسط گیرنده‌های AT1 تنظیم می‌شود (۳۵). بنابراین استفاده از لوزارتان می‌تواند TNF-beta را کاهش داده، از بروز فیروز کلیوی متعاقب انسداد حالب جلوگیری کند (۳۴). ایم - اونگ و همکاران با مقایسه‌ی تاثیر انالاپریل و لوزارتان در موش‌های صحرایی مبتلا به انسداد حالب نشان دادند که هر دو دارو می‌تواند آپوپتوز را در لنفوسیت‌های گردش خون کاهش دهد. آن‌ها علت ایجاد آپوپتوز در لنفوسیت‌های گردش خون را آنژیوتانسین II ذکر کرده، پیشنهاد کردند که لوزارتان و انالاپریل با مهار آنژیوتانسین II از بروز آپوپتوز در این سلول‌ها جلوگیری می‌کند (۳۶). مانوچا و همکاران نشان دادند که در موش‌های صحرایی متعاقب انسداد یک‌طرفه‌ی حالب، میزان کلسترول اشباع و آزاد در قشر کلیه ای که عمل انسداد در آن انجام شده، در

اثرات ضدهیپرتانسیو می‌باشد. حتی در یک مطالعه نشان داده‌اند که تلمیسارتان از نظر ساختمانی شبیه لیگاند $PPAR\gamma$ بوده، بنابراین با تحریک گیرنده‌ی $PPAR\gamma$ به عنوان مهار کننده‌ی استرس اکسیداتیو عمل می‌کند (۳۹). بر خلاف مطالعات فوق، برخی محققین نیز گزارش کرده‌اند که لوزارتان اثری بر روی آپوپتوز متعاقب انسداد حالب ندارد (۴۲-۴۰ و ۱۵). به طوری‌که رادویک و همکاران با مقایسه‌ی اثر دو داروی لوزارتان و سیلازپریل بر روی موش‌های صحرایی مبتلا به انسداد یک‌طرفه‌ی حالب نشان دادند که هیچ یک از داروها باعث کاهش آپوپتوز در سلول‌های کلیه نشده، حتی سیلازپریل باعث افزایش معنی‌دار آپوپتوز می‌شود، در حالی که لوزارتان فاقد این اثر می‌باشد (۴۰). همچنین کولمن و همکاران با بررسی اثر لوزارتان بر روی موش‌های صحرایی نوزاد گزارش کردند که لوزارتان باعث افزایش آپوپتوز در کلیه‌ی مجاور شده و در کلیه‌ای که عمل انسداد انجام شده است، این دارو تاثیری ندارد (۴۱). چوالر و همکاران در یک بررسی بر روی موش‌های صحرایی نوزاد، بعد از استفاده از مهار کننده‌های اختصاصی گیرنده‌های $AT1$ (لوزارتان) و $AT2$ (PD-123319)، نشان دادند که برخلاف لوزارتان، مهار کننده‌ی گیرنده $AT2$ قادر است آپوپتوز ناشی از آنژیوتانسین II اگرژن را کاهش دهد (۱۵).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه نشان داد که انسداد حالب باعث القای آپوپتوز در بافت کلیه می‌شود و تجویز همزمان لوزارتان باعث کاهش تعداد سلول‌های آپوپتوتیک می‌شود.

مقایسه با کلیه‌ی مجاور و نرمال افزایش می‌یابد. آن‌ها این افزایش را به دلیل افزایش بیان گیرنده‌های آنژیوتانسین II ($AT1$) ارتباط دادند و با استفاده از لوزارتان از این افزایش کسترویل جلوگیری کردند (۳۷). آن‌ها در مطالعه‌ی دیگری نشان دادند که در کلیه‌ای که انسداد ایجاد شده، بیان mRNA گیرنده‌های $AT1$ و به دنبال آن فیروز کلیوی، بیان $TNF-\beta$ ، فعالیت سوپراکسیددسموتاز (SOD)، رادیکال‌های هیدروکسیل و رادیکال‌های آزاد اکسیژن افزایش می‌یابد. آن‌ها با تجویز لوزارتان توانستند استرس اکسیداتیو و فیروز کلیوی را کاهش دهند (۲۴). با اینحال مکانیسم‌های کنترل آسیب کلیه در اثر مسدود کردن مسیر رنین آنژیوتانسین به خوبی شناسائی نشده‌اند. به نظر می‌رسد که مهار کننده‌های گیرنده‌های آنژیوتانسین باعث تولید کلاژن‌های تیپ I و IV بافت بینابینی کلیه شده، از واحدهای $NADPH$ اکسیداز همانند $P22phox$ ، $P47phox$ و $P67phox$ که عامل استرس‌های اکسیداتیو در بافت کلیه هستند، می‌کاهند. علاوه بر این از تولید محصولات حاصل از پراکسیداسیون چربی توپول‌های کلیه هم جلوگیری می‌کنند (۵). به نظر می‌رسد که لوزارتان هم می‌تواند با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و مهار مسیر اکسیداتیو مربوط به $NADPH$ باعث اثرات حفاظتی روی کلیه شود (۳۸). حتی در یک مطالعه نشان داده‌اند که تلمیسارتان (با لوزارتان در یک خانواده قرار دارد) با مهار تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، می‌تواند باعث بهبود عملکرد کلیه شود (۳۸ و ۵). به نظر می‌رسد که تفاوت‌های ساختاری و فارماکولوژیکی مهار کننده‌های گیرنده‌های $AT1$ مهم‌ترین عامل تعیین کننده اثرات ضداکسیداتیو نسبت به

References

1- Klahr S. New insights into the consequences and mechanisms of renal impairment in

obstructive nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 1991; 18: 689-99.

2- Klahr S, Pukerson ML. The pathophysiology of

obstructive nephropathy, The role of vasoactive compounds in the hemodynamic and structural abnormalities of the obstructed kidney. *Am J Kidney Dis.* 1994; 23: 219-23.

3- Chrysant SG, Chrysant GS. The pleiotropic effects of angiotensin receptor blockers. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2006; 8:261-8.

4- Ji Z, Huang C, Liang C, et al. Protective effects of blocking renin-angiotensin system on the progression of renal injury in glomerulosclerosis. *Cell Mol Immunol.* 2005; 2: 150-4.

5- Nakao N, Yoshimura A, Morita H. Combination treatment of angiotensin-II receptor blocker and angiotensin-converting-enzyme inhibitor in non-diabetic renal disease (COOPERATE): a randomized controlled trial. *Lancet.* 2003; 361: 117-24.

6- Iino Y, Hayashi M, Kawamura T, et al. Japanese losartan therapy intended for the global renal protection in hypertensive patients (JLIGHT) study investigators. Renoprotective effect of losartan in comparison to amlodipine in patients with chronic kidney disease and hypertension--a report of the Japanese losartan therapy intended for the global renal protection in hypertensive patients (JLIGHT) study. *Hypertens Res.* 2004; 27: 21-30.

7- Kohzuki M, Kamimoto M, Wu XM, et al. Renal protective effects of chronic exercise and antihypertensive therapy in hypertensive rats with chronic renal failure. *J Hypertens.* 2001; 19: 1877-82.

8- Heller J, Kramer HJ, Cervenka L, et al. Losartan protects the rat kidney from ischemic injury. *Kidney Int Suppl.* 1996; 55: S113-4.

9- Tokuyama H, Kelly DJ, Zhang Y, et al. Macrophage infiltration and cellular proliferation in the non-ischemic kidney and heart following prolonged unilateral renal ischemia. *Nephron Physiol.* 2007; 106: 54-62.

10- Zhu S, Liu J, Chen L, et al. Chemopreventive effect of five drugs on renal interstitial fibrosis induced by an aristolochic acid-containing Chinese herb in rats. *Am J Nephrol.* 2005; 25: 23-9.

11- Yang L, Fan J, Mi X, et al. Protective effect of angiotensin II receptor blockage on rats with experimental diabetes nephropathy in early stage. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2003; 34: 317-9.

12- El-Dahr SS, Gee J, Dipp S, et al. Upregulation of renin-angiotensin system and downregulation of kallikrein in obstructive nephropathy. *Am J Physiol.* 1993; 264:F874-81.

13- Pimentel JL, Martinez-Maldonado M, Wilcox JN, et al. Regulation of renin-angiotensin system in unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int.* 1993; 44: 390-400.

14- Pimentel JL, Wang S, Martinez-Maldonado M. Regulation of the renal angiotensin II receptor gene in acute unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int.* 1994; 45: 1614-21.

15- Chevalier RL, Thornhill BA, Wolstenholme JT. Renal cellular response to ureteral obstruction:

- role of maturation and angiotensin II. *Am J Physiol*. 1999; 277: 41-7.
- 16- Kaneto H, Morrissey J, McCracken R, et al. Enalapril reduces collagen type IV synthesis and expansion of the interstitium in the obstructed rat kidney. *Kidney Int*. 1994; 45: 1637-47.
- 17- Lange-Sperandio B, Forbes MS, Thornhill B, et al. A (2A) adenosine receptor agonist and PDE (4) inhibition delays inflammation but fails to reduce injury in experimental obstructive nephropathy. *Nephron Experimental Nephrology*. 2005; 100: e113-e23.
- 18- Vieira JM, Mantovani E, Rodrigues LT, et al. Simvastatin attenuates renal inflammation, tubular transdifferentiation and interstitial fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction. *Nephrol Dial Transplant*. 2005; 20: 1582-91.
- 19- Doustar Y, Toroghi R, Hashemi M, Haji Abalo V. Experimental study of renal tubular cells apoptosis subsequent to influenza virus (H9N2) in SPF chickens. *Medical Sciences Journal of Islamic Azad University*. 2007; 17: 127-31. Persian.
- 20- Gonzalez AG, Vadillo OF, Perez TR. Experimental diffuse interstitialrenal fibrosis. A biochemical approach. *Lab Invest*. 1988; 59: 245-52.
- 21- Moriyama T, Kawada N, Nagatoya K, et al. Oxidative stress in tubulointerstitial injury: therapeutic potential of antioxidants towards interstitial fibrosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2000; 6: 47-9.
- 22- Zhou Z, Kang YJ. Cellular and subcellular localization of catalase in the heart of transgenic mice. *J Histochem Cytochem*. 2000; 48: 585-94.
- 23- Jones EA, Shahed A, Shoskes DA. Modulation of apoptotic and inflammatory genes by bioflavonoids and angiotensin II inhibition in ureteral obstruction. *Urology*. 2000; 56:346-51.
- 24- Manucha W, Carrizo L, Ruete C, et al. Angiotensin II type I antagonist on oxidative stress and heat shock protein 70 (HSP 70) expression in obstructive nephropathy. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2005; 51:547-55.
- 25- Royere D, Guérif F, Laurent-Cadoret V, et al. Apoptosis in testicular germ cell. *Int Congr Ser*. 2004; 1266: 170-6.
- 26- Yin Y, Hawkins KL, Dewolf WC, et al. Heat stress causes testicular germ cell apoptosis in adult mice. *J Androl*. 1997; 18: 159-65.
- 27- Yin Y, Dewolf WC, Morgentaler A. Experimental cryptorchidism induces testicular germ cell apoptosis by p53-dependent and - independent pathways in mice. *Biol Reprod*. 1998; 58:492-6.
- 28- Bayorh MA, Ganafa AA, Socci RR, et al. Effect of losartan on oxidative stress-induced hypertension in Sprague-Dawley rats. *Am J Hypertens*. 2003; 16: 387-92.
- 29- Kedziora-Kornatowska K. Effect of angiotensin convertase inhibitors and AT1 angiotensin receptor antagonists on the development of oxidative stress in the kidney of diabetic rats. *Clin Chim Acta*. 1999; 287: 19-27.

- 30- Yamamoto T, Moriwaki Y, Takahashi S, et al. Effect of losartan potassium, an angiotensin II receptor antagonist, on renal excretion of oxypurinol and purine bases. *J Rheumatol*. 2000; 27: 2232-6.
- 31- Yilmaz MI, Korkmaz A, Kaya A, et al. Hyperbaric oxygen treatment augments the efficacy of a losartan regime in an experimental nephrotic syndrome model. *Nephron Exp Nephrol*. 2006; 104: e15-22.
- 32- Smith D, Chiu AT, Wong PC, et al. Pharmacology of nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1992; 32: 135-65.
- 33- Kellner D, Chen J, Richardson I, et al. Angiotensin receptor blockade decreases fibrosis and fibroblast expression in a rat model of unilateral ureteral obstruction. *J Urol*. 2006; 76:806-12.
- 34- Pimentel JL Jr, Sundell CL, Wang S, et al. Role of angiotensin II in the expression and regulation of transforming growth factor-beta in obstructive nephropathy. *Kidney Int*. 1995; 48: 1233-46.
- 35- Chung KH, Gomez RA, Chevalier RL. Regulation of renal growth factors and clusterin by AT1 receptors during neonatal ureteral obstruction. *Am J Physiol*. 1995; 268: F1117-23.
- 36- Eiam-Ong S, Udom J, Sueblinvong T, et al. Apoptosis of circulating lymphocyte in rats with unilateral ureteral obstruction: role of angiotensin II. *Nephrology (Carlton)*. 2005; 10: 464-9.
- 37- Manucha W, Carrizo L, Alvarez S, et al. Effect of losartan pretreatment on kidney lipid content after unilateral obstruction in rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2005; 51: 539-45.
- 38- Yang J, Dai C, Liu Y. Hepatocyte growth factor gene therapy and angiotensin II blockade synergistically attenuate renal interstitial fibrosis in mice. *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13:2464-77.
- 39- Benson SC, Pershadsingh HA, Ho CI. Identification of telmisartan as a unique angiotensin II receptor antagonist with selective PPARgamma-modulating activity. *Hypertension*. 2004; 43: 993-1002.
- 40- Radović N, Cuzić S, Knotek M. Effect of unilateral ureteral obstruction and anti-angiotensin II treatment on renal tubule and interstitial cell apoptosis in rats. *Croat Med J*. 2008; 49: 600-7.
- 41- Coleman CM, Minor JJ, Burt LE, et al. Angiotensin AT1-receptor inhibition exacerbates renal injury resulting from partial unilateral ureteral obstruction in the neonatal rat. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007; 293: F262-8.
- 42- Chevalier RL, Thornhill BA, Wolstenholme JT. Renal cellular response to ureteral obstruction: role of maturation and angiotensin II. *Am J Physiol*. 1999; 277: F41-7.

