

اثر آدنین بر ترکیب شیمیایی سرم و اسمولالیتۀ ادراری در موشهای نر تازه تولد یافته نژاد Sprague-Dawley

حبیب‌اله جوهری *، دکتر شهربانو 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 اسمولالیتۀ 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 صحرایی نژاد Sprague-Dawley به صورت داخل صفاقی در دوزهای متفاوتی صورت پذیرفت. میزان تاثیر آدنین با استفاده از اندازه‌گیری اسمولالیتۀ سرم، اسمولالیتۀ و حجم ادرار، عوامل شیمیایی سرم شامل گلوکز، اورۀ، 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 اسمولالیتۀ سرم، غلظت اورۀ و کراتینین گردیده، موجب کاهش معنی داری در وزن بدن، اسمولالیتۀ 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 کاهش آدنین در رژیم غذایی را بر سیر سندرم اورمی توصیه می‌نماید. واژگان کلیدی: آدنین، اسمولالیتۀ ادرار، نارسایی کلیه، اورمی

مقدمه

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

بازهای مورد نیاز ستر آدنین دارای دو منشأ خارجی و داخلی می‌باشند. منشأ 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 معمولاً از طریق مواد غذایی ایجاد می‌شود، تاثیرات متفاوتی را بر دستگاه‌های

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

*** استاد گروه فیزیولوژی، دانشگاه تربیت معلم تهران

** استاد گروه فیزیولوژی، دانشگاه تربیت معلم تهران

**** استاد گروه فیزیولوژی، 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 ± 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 نرمال (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 نرمال با همان حجم تزریق گردید. اندازه‌گیری اسمولالریته 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 و ۱۳ 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 ساعته جمع آوری شد. پس از جمع آوری خون، سرم جدا

غذایی است و منشا داخلی، ستر آدنین توسط سلول ها با استفاده از ماده اولیه ۵ - فسفو ریبوزیل ۱ - پیروفسفات می باشد و دیگری که طی بیوسنتز و تبدیل داخلی پلی آمین ها توسط سلول ها به انجام می رسد. آدنین در تمام بافتهای بدن وجود دارد و تغییرات گوناگون در غلظت آن که اغلب از طریق مواد غذایی ایجاد می شود، تاثیرات گوناگونی را بر سیستم های متابولیک بدن اعمال می کند (۲). محصول نهایی کاتابولیسم آدنین در بدن پستانداران اسید اوریک می باشد (۳). نوکلئوتید آدنین خارج سلولی، از طریق اعمال متقابلشان با یونورسپتورهای اختصاصی محدوده وسیعی از پاسخهای سلولی و متابولیک را در بیشتر سلول ها تحریک می کنند و این عمل را اغلب از طریق رسپتورهای P1 و P2 و با واسطه G پروتئین ها به انجام می رسانند (۴).

نوکلئوتید فسفونیل متوکسی اتیل آدنین (PMEA) به عنوان رده جدیدی از ترکیبات با فعالیت ضد ویروسی در برابر هرپس ویروس ها و رترو ویروس ها می باشد که عمل خود را از طریق القای فسفاتاز قلیایی انجام می دهند (۵). نارسایی کلیوی مزمن باعث ناهنجاری های مختلف در متابولیسم مانند شکستن محصولات پروتئینی و آسیب به دستگاه تولید مثل می گردد (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 فعالیت های شیمیایی سرم، اسمولالریته ادراری و حجم ادرار مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

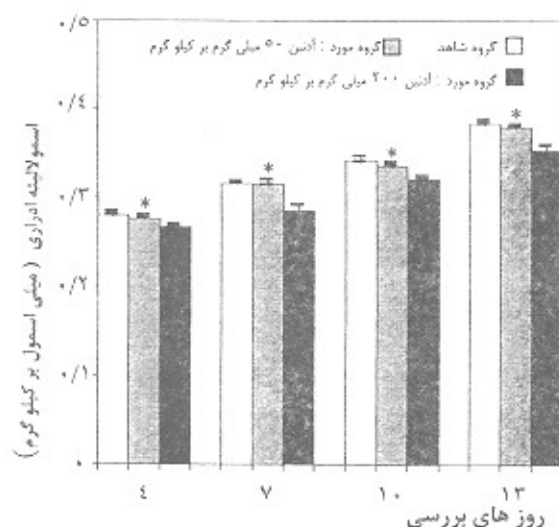
در این تحقیق تجزیه از نوزادان نر موش های صحرایی (Rat) نژاد Sprague - Dawly از سن دو روزگی به بعد استفاده شد. حدود ۴۰۰ نمونه در گروه مورد و همین تعداد نیز

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 اسمولالیت و حجم ادرار، اسمولالیت سرم، عوامل شیمیایی سرم و وزن بدن ایجاد نکرده ولی دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی دار اسمولالیت و حجم ادرار و وزن بدن شد ($P < 0.001$).

همان طور که از نمودار (۱) برمی آید، اسمولالیت 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 می‌دهد.



* $P < 0.001$

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

در نمودار (۲) کاهش معنی دار حجم ادرار در نوزادان گروه مورد نسبت به گروه شاهد دیده می‌شود ($P < 0.001$).

گردید. بر روی نمونه سرم خون، عوامل شیمیایی شامل گلوکز، اوره، کراتینین، سدیم، پتاسیم تعیین گردید و نمونه‌های ادرار از نظر اسمولالیت 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 می‌دهد، در روزهای ۷، ۹، ۸، ۱۰ 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 اسمولالیت انجام گرفت.

ج - عوامل شیمیایی خون شامل گلوکز، اوره، کراتینین، سدیم، پتاسیم، وزن بدن نمونه‌های گروه مورد و شاهد در روزهای سی‌ام، 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 چهل بعد از تولد به صورت زیر جلدی و در زیر پوست ناحیه پشت گردن 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 اسمولالیت ادرار و عوامل شیمیایی اوره، کراتینین، گلوکز،

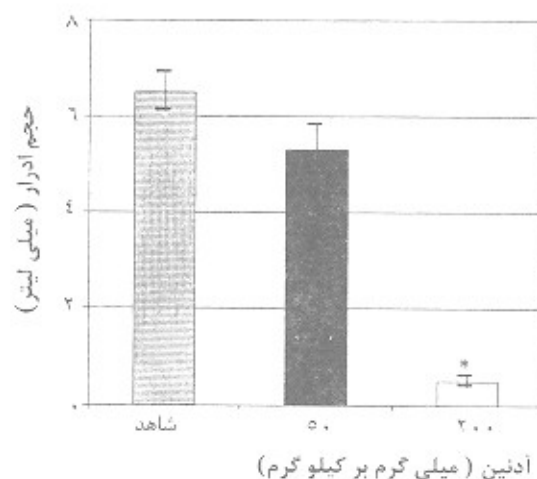
در اوره سرم در نوزادان گروه مورد نسبت به نمونه‌های شاهد وجود داشت. کراتینین سرم در نوزادان گروه مورد پس از تزریق ۲۰۰ میلی گرم آدنین (۱/۷۵ میلی گرم در دسی لیتر) نسبت به گروه شاهد (۰/۷۶ میلی گرم در دسی لیتر) افزایش معنی داری داشت ($P < ۰/۰۰۱$).

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 اسمولالیتۀ ادراری تاثیر گذارد.

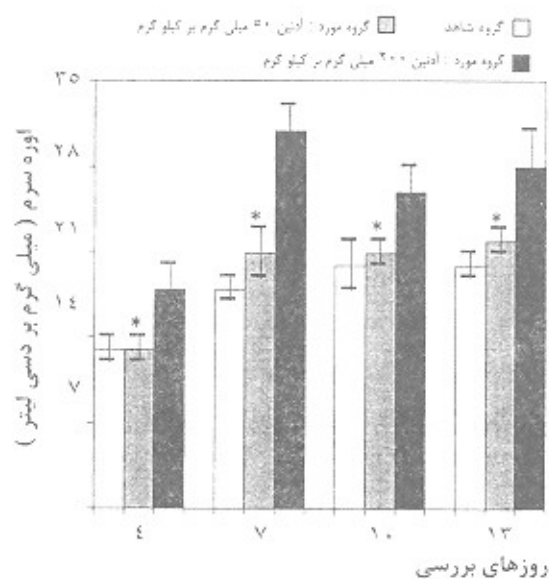
نوسکتوتید آدنین سلولی نقش مهمی را در تنظیم اکثر فرآیندهای داخل سلولی، سلول‌های کلیوی و در بیماری‌های صدمات سلولی همچون القای شیمیایی سمیت کلیوی و ایسکمی کلیوی بازی می‌کند (۷). اورنشین دکربوکسیلاز نقش اساسی را در بلوغ یافته‌های پستانداران به عهده دارد (۸). این آنزیم نقش مستقیمی در تنظیم بلوغ کارکردی نفرون‌های 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 اسمولالیتۀ ادراری را می‌توان در مهار آنزیم اورنشین دکربوکسیلاز جستجو کرد، به طوری که میزان کم این آنزیم، باعث کاهش تبدیل اورنشین 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 اسمولالیتۀ ادرار می‌شود. در ارتباط با



* $P < ۰/۰۰۱$

نمودار 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



* $P < ۰/۰۰۱$

نمودار 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.

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 فوروزماید 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 ۲۳۸-۲۹۵.

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

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.