

## تأثیر پیش‌درمانی با مقادیر مختلف ال-آرژینین بر نفروپاتی ناشی از سیسپلاتین در موش‌های صحرایی نر

بهرام رسولیان<sup>۱</sup>، نسیم مرادی راد<sup>۲\*</sup>، فرناز بهرهی<sup>۳</sup>، محبوبه جباری<sup>۴</sup>  
مرضیه رشیدی پور<sup>۵</sup>، زینب خوشدل<sup>۶</sup>، مسعود علیرضایی<sup>۷</sup>

### چکیده

**مقدمه:** سیسپلاتین دارویی پرکاربرد در درمان سرطان است که به علت ایجاد نفروپاتی محدودیت مصرف دارد. در این تحقیق، اثر پیش‌درمانی با مقادیر مختلف ال-آرژینین بر آسیب عملکردی کلیه ناشی از سیسپلاتین بررسی شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۶۳ رت نر بالغ به ۷ گروه تقسیم شدند: در گروه‌های ۳ و ۴ و ۵ و ۶؛ ۶۰ دقیقه قبل از تزریق سیسپلاتین با دوز 5mg/kg، ال-آرژینین به ترتیب با مقادیر ۵۰۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. در گروه ۷ قبل از تزریق سیسپلاتین، نرمال‌سالین تجویز شد. در گروه‌های ۱ و ۲ بجای سیسپلاتین، نرمال‌سالین تزریق شد؛ در گروه ۲، ۶۰ دقیقه قبل از تزریق نرمال‌سالین، ال-آرژینین با دوز ۴۰۰ mg/kg تزریق شد و در گروه ۱ به جای ال-آرژینین هم نرمال‌سالین تزریق شد. تزریق‌ها داخل صفاقی انجام شدند. ۷۲ ساعت پس از تزریق سیسپلاتین خون‌گیری و جداسازی پلاسما انجام شد سپس نمونه ادرار از ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری توسط قفس متابولیک جمع‌آوری شد. میانگین مقادیر اوره و کراتینین پلاسما، کلیانس کراتینین (ml/day.kg) و کسردفع سدیم(%) به عنوان شاخص‌های عملکرد کلیه بین گروه‌ها مقایسه شدند.

**نتایج:** در مقایسه با گروه ۷، تزریق ال-آرژینین با دوز ۴۰۰ mg/kg باعث بهبود معنی‌دار همه شاخص‌ها شد. ال-آرژینین با دوز ۲۰۰ mg/kg فقط باعث کاهش معنی‌دار اوره پلاسما و کسردفع سدیم و با دوز ۱۰۰ mg/kg فقط باعث بهبود معنی‌دار کسردفع سدیم شد. ال-آرژینین با دوز ۵۰ mg/kg باعث بهبود معنی‌دار همه شاخص‌های عملکرد کلیه به جز کلیانس کراتینین شد.

**نتیجه‌گیری:** تزریق ال-آرژینین به ترتیب با مقادیر ۴۰۰ mg/kg و ۵۰ mg/kg بیشترین اثر در کاهش نفروپاتی ناشی از تجویز سیسپلاتین را داشت. علت اینکه ال-آرژینین با دوزهای حد واسط یعنی ۱۰۰ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg تأثیر کمتری در کاهش نفروپاتی ناشی از سیسپلاتین داشته به بررسی بیشتری نیاز دارد.

واژه‌های کلیدی: ال-آرژینین، سیسپلاتین، سمیت کلیوی، نفروپاتی

- ۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی و گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد
  - ۲،۳،۴- پزشک، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد
  - ۵،۶- کارشناس ارشد شیمی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد
  - ۷- استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد
- \* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۶۶۳۳۲۰۴۰۰۷، پست الکترونیکی: nassim.moradi22@gmail.com  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱/۱۹

مقدمه

سیسپلاتین یکی از داروهای پرکاربرد در درمان تومورهای solid، خصوصاً کارسینوماهای تخمدان و بیضه است. این دارو، یک کمپلکس پلاتینیوم غیر ارگانیک و محلول در آب است که بعد از هیدرولیز دستخوش تغییر می‌شود، با DNA واکنش می‌دهد و همانندسازی و ترجمه را مختل می‌کند. سمیت سلولی ناشی از آن وابسته به مرگ سلولی در فاز G2 از سیکل سلولی است. سیسپلاتین در درمان سرطان‌هایی مانند ریه، مثانه، تخمدان، گردن رحم و سرو گردن کاربرد دارد. آسیب کلیوی (نفروتوکسیسیته) ناشی از این دارو مهم‌ترین عارضه آن بوده و مقدار مصرف آن را محدود می‌سازد (۱) علی‌رغم بکار بردن جدی روش‌های پیشگیرانه فعلی، آسیب کلیوی که با کاهش فیلتراسیون گلومرولی و آسیب توبولی مشخص می‌شود (۲) در حدود یک سوم بیماران رخ خواهد داد (۳-۵). لذا علاقه زیادی در سطح دنیا برای یافتن روش‌های جدید کاهش سمیت کلیوی آن وجود دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی امکان کاهش آسیب کلیوی ناشی از سیسپلاتین به وسیله تجویز هم‌زمان مولکول پیش‌ساز NO یعنی اسید آمینه ال-آرژینین است. ال-آرژینین به غیر از کاهش مختصر فشارخون (به عنوان مثال حداکثر ۸mmHg در تزریق بولوس ۳گرم از آن) فاقد عوارض جانبی مهم است و در مورد افراد سالم داوطلب (۶) و حتی خانم‌های باردار مبتلا به پره اکلامپسی (۷-۹) می‌تواند بدون مشکل اخلاقی مورد مصرف تزریقی (i.v.) قرار گیرد. در مطالعات حیوانی قبلی اثربخشی دوزهای نسبتاً بالای ال-آرژینین در کاهش نفروتوکسیسیته ناشی از سیسپلاتین به اثبات رسیده است (۲)؛ هدف از تحقیق فعلی بررسی مجدد نتایج خارق‌العاده گزارش شده از مطالعات قبلی و نیز مقایسه اثر دوزهای پایین‌تر این دارو با اثر حداقل دوز مفید گزارش شده در مطالعات قبلی است. از آنجا که اشکال تزریقی این دارو بسیار گران قیمت هستند این بررسی منطقی به نظر می‌رسد. در حال حاضر بیماران قبل از دریافت سیسپلاتین هیدراته می‌شوند و داروهای دیورتیک یا ان‌استیل سیستئین دریافت می‌کنند ولی پیشگیری از نفروپاتی کامل نیست (۱،۳).

روش بررسی

این مطالعه تجربی بر روی ۶۳ موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن  $200 \pm 32$  گرم انجام شد. طرح در شورای پژوهشی و نیز کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی لرستان مورد تصویب قرار گرفت و رت‌ها در طول مطالعه در شرایط استاندارد نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش‌های صحرایی به ۷ گروه ۸ تا ۱۰ تایی تقسیم شدند. در گروه‌های ۳ تا ۶ تزریق ال-آرژینین با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش ۶۰ دقیقه قبل از تزریق سیسپلاتین انجام شد، در گروه ۷ (کنترل یا Sal+CP) به جای ال-آرژینین نرمال سالیین تزریق شد. در گروه ۱ (Sal+Sal) هم به جای ال-آرژینین نرمال سالیین تزریق شد و هم به جای سیسپلاتین. در گروه ۲ (L-Arg400+Sal) ال-آرژینین با بالاترین دوز یعنی ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش تزریق شده و به جای سیسپلاتین نرمال سالیین تزریق شد.

سیسپلاتین با دوز  $5 \text{ mg/kg}$  به صورت ip تزریق شد و همان‌گونه که ذکر شد در گروه‌های شم (۱ و ۲) نرمال سالیین با همان حجم استفاده شد. تزریق ال-آرژینین هم به صورت ip انجام شد و تزریق سیسپلاتین یا معادل حجمی نرمال سالیین ۱ ساعت بعد از تجویز ال-آرژینین (یا نرمال سالیین در گروه‌های ۱ و ۲) انجام شد.

سه روز بعد از تجویز سیسپلاتین حیوانات تحت بیهوشی قرار گرفتند و نمونه خون از آئورت گرفته شده و از بافت کلیه نمونه‌برداری شد. سرم با سانتریفوژ کردن خون جدا شده و نمونه‌های سرم تا روز آنالیز در فریزر نگهداری شدند. نمونه ادرار از ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری از حیوان توسط قرارگیری در قفس متابولیک جمع‌آوری شد.

با کمک دستگاه اتوآنالایزر (Hitachi 902, Japan) میزان اوره فقط در پلاسما و کراتینین در ادرار و پلاسما با کیت‌های تجاری (پارس آزمون، ایران) به ترتیب با روش‌های Berthelot و Jaffe تسنجیده شد. میزان سدیم پلاسما و ادرار با دستگاه

سیسپلاتین، ۵۰ یا ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ال-آرژینین دریافت کرده بودند؛ کاهش معنی‌داری در سطح کراتینین پلاسما نسبت به گروه کنترل (گروه ۷ یا همان Sal+CP) ایجاد شده بود. دریافت ال-آرژینین با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تأثیر معنی‌داری بر سطح کراتینین پلاسما در مقایسه با گروه کنترل نداشت.

#### اوره پلاسما

مقادیر اوره پلاسما در گروه‌های مورد بررسی در شکل 1B نشان داده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود در گروه‌های شام (Sal+Sal و L-Arg400+Sal) که سیسپلاتین دریافت نکرده بودند و نیز گروه‌هایی که قبل از دریافت سیسپلاتین ۵۰، ۲۰۰ یا ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ال-آرژینین دریافت کرده بودند؛ کاهش معنی‌داری در سطح اوره پلاسما نسبت به گروه کنترل (گروه ۷ یا همان Sal+CP) ایجاد شده بود. سطوح معنی‌داری مطابق علامت‌هایی که با تعداد متفاوت ستاره در نمودار مشخص شده است متفاوت است. دریافت ال-آرژینین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تأثیر معنی‌داری بر سطح اوره پلاسما در مقایسه با گروه کنترل نداشت.

#### کسر دفع سدیم

مقادیر کسر دفع سدیم در گروه‌های مورد بررسی در نمودار 1C نشان داده شده است. در همه گروه‌ها کاهش معنی‌داری در سطح کسر دفع سدیم (بر حسب %) نسبت به گروه کنترل (گروه ۷ یا همان Sal+CP) مشاهده می‌شود. سطوح معنی‌داری مطابق علامت‌هایی که با تعداد متفاوت ستاره در نمودار مشخص شده است، نشان داده شده است.

#### کلیرانس کراتینین

در گروه‌های شام (Sal+Sal و L-Arg400+Sal) که سیسپلاتین دریافت نکرده بودند و نیز گروه دریافت کننده سیسپلاتین که رت‌ها در آن قبل از تزریق سیسپلاتین ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ال-آرژینین دریافت کرده بودند (L-Arg400+CP)؛ افزایش معنی‌داری در سطح کلیرانس کراتینین نسبت به گروه کنترل (گروه ۷ از سمت راست یا همان

الکتروولیت آنالایزر (Convergent, Germany) سنجیده شد. مقدار کلیرانس کراتینین به‌عنوان شاخصی معتبر از برآورد میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) و نیز مقادیر کسر دفع سدیم (FENa) از روی فرمول‌های استاندارد مربوطه تعیین شدند. فرمول‌ها در زیر نشان داده شده‌اند. بعد از محاسبه، مقادیر کلیرانس کراتینین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش تصحیح شده است.

$$\text{Creatinine Clearance (ml/day)} = \text{CLCr} = (\text{UCr} \times \text{V}) / \text{PCr}$$

غلظت کراتینین ادرار = UCr

غلظت کراتینین پلاسما = PCr

حجم ادرار ۲۴ ساعته که توسط قفس متابولیک جمع آوری شده است = V

$$\text{Fractional Excretion of Na (\%)} = \text{FENa} = [(\text{UNa} \times \text{V}) / (\text{PNa} \times \text{CLCr})] \times 100$$

غلظت سدیم ادرار = UNa

غلظت سدیم پلاسما = PNa

حجم ادرار ۲۴ ساعته که توسط قفس متابولیک جمع آوری شده است = V

کلیرانس کراتینین = CLCr

#### روش‌های آماری

نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از تست One Way ANOVA به همراه تست Post-Hoc دانست یک طرفه (مقایسه با گروه کنترل یا همان گروه ۷) انجام شد. آنالیز آماری با نرم افزار SPSS 19 انجام شد و نمودارها با نرم‌افزار GraphPad Prism 5 رسم شدند.

#### نتایج

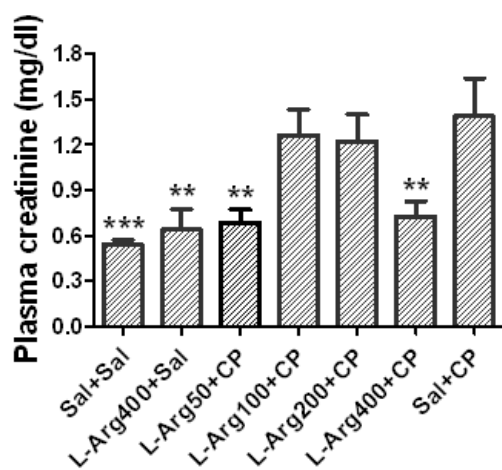
##### شاخص‌های عملکرد کلیه

##### کراتینین پلاسما

مقادیر کراتینین پلاسما در گروه‌های مورد بررسی در نمودار 1A نشان داده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود در گروه‌های شام (Sal+Sal و L-Arg400+Sal) که سیسپلاتین دریافت نکرده بودند و نیز گروه‌هایی که قبل از دریافت

ال-آرژینین با دوز ۵۰ با گروه کنترل، مقدار کلیرانس کراتینین بیشتر از گروه‌های دریافت‌کننده ال-آرژینین با دوزهای حد واسط و نیز گروه کنترل بود. میانگین مقادیر کلیرانس کراتینین در گروه‌های هفتگانه به ترتیب عبارت بود از: ۲۳۳۶، ۲۶۸۳، ۱۶۱۸، ۱۳۳۷، ۶۹۰، ۲۳۷۴ و ۶۵۸.

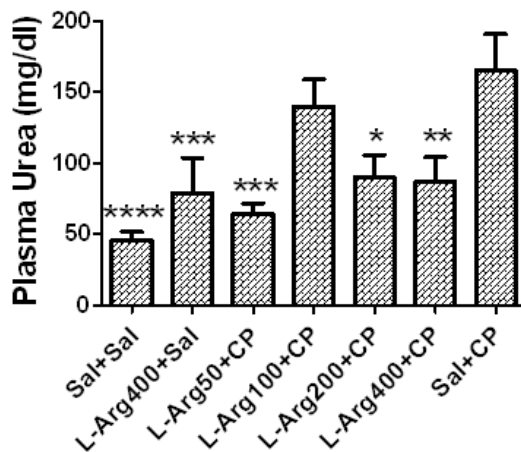
ایجاد شده بود. سطوح معنی‌داری مشابه بوده و در سطح بین ۵ صدم تا یک صدم بوده است. دریافت ال-آرژینین با سایر مقادیر قبل از تجویز سیسپلاتین تأثیر معنی‌داری بر سطح کلیرانس کراتینین در مقایسه با گروه کنترل نداشته است. در این مورد نیز علی‌رغم معنی‌دار نبودن اختلاف گروه دریافت‌کننده



نمودار ۱: مقادیر کراتینین پلاسما برحسب mg/dl در گروه‌های مورد بررسی.

در گروه‌های شم که سیسپلاتین دریافت نکرده بودند یعنی گروه‌های ۱ و ۲ از سمت راست و نیز گروه‌های دریافت‌کننده سیسپلاتین که قبل از سیسپلاتین ۵۰ یا ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ال-آرژینین دریافت کرده بودند؛ کاهش معنی‌داری در سطح کراتینین پلاسما نسبت به گروه کنترل (گروه ۷ از سمت راست یا همان Sal+CP) ایجاد شده بود. دریافت ال-آرژینین با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تأثیر معنی‌داری بر سطح کراتینین پلاسما در مقایسه با گروه کنترل نداشت.

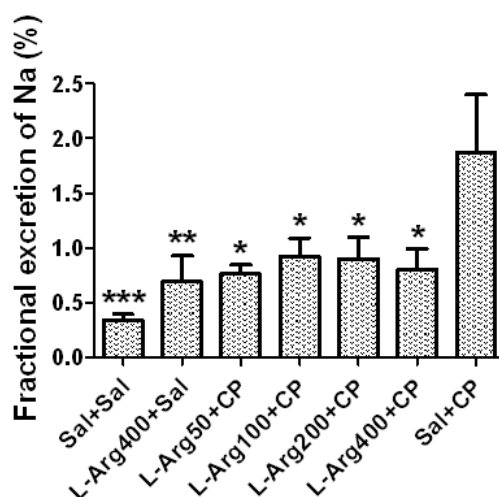
\*\*\*به معنی:  $P < 0.001$ ، \*\* به معنی:  $P < 0.01$ ، \* به معنی:  $P < 0.05$ .



نمودار ۲B: مقادیر اوره پلاسما برحسب mg/dl در گروه‌های مورد بررسی.

در گروه‌های شم که سیسپلاتین دریافت نکرده بودند یعنی گروه‌های ۱ و ۲ از سمت راست و نیز گروه‌های دریافت‌کننده سیسپلاتین که قبل از سیسپلاتین ۵۰، ۲۰۰ یا ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ال-آرژینین دریافت کرده بودند؛ کاهش معنی‌داری در سطح اوره پلاسما نسبت به گروه کنترل (گروه ۷ از سمت راست یا همان Sal+CP) ایجاد شده بود. سطوح معنی‌داری مطابق علامت‌هایی که با تعداد متفاوت ستاره مشخص شده است متفاوت بود. دریافت ال-آرژینین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تأثیر معنی‌داری بر سطح اوره پلاسما در مقایسه با گروه کنترل نداشت.

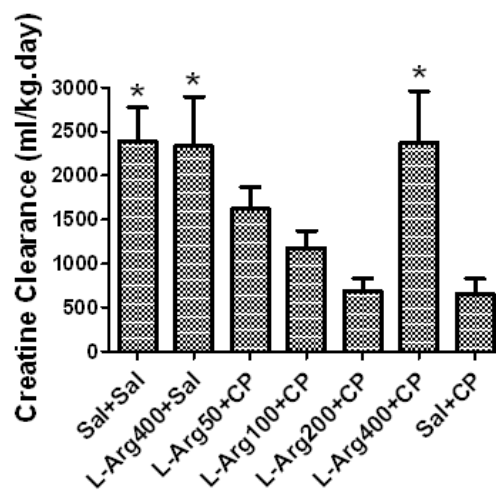
\*\*\*\*به معنی:  $P < 0.001$ ، \*\*\* به معنی:  $P < 0.005$ ، \*\* به معنی:  $P < 0.01$ ، \* به معنی:  $P < 0.05$ .



نمودار C1: مقادیر کسر دفع سدیم برحسب درصد در گروه‌های مورد بررسی

در گروه‌های شم که سیسپلاتین دریافت نکرده بودند یعنی گروه‌های ۱ و ۲ از سمت راست و نیز همه گروه‌های دریافت کننده سیسپلاتین که قبل از تجویز سیسپلاتین، ال-آرژینین دریافت کرده بودند؛ کاهش معنی‌داری در سطح کسر دفع سدیم نسبت به گروه کنترل (گروه ۷ از سمت راست یا همان Sal+CP) ایجاد شده بود. سطوح معنی‌داری مطابق علامت‌هایی که با تعداد متفاوت ستاره مشخص شده است، نشان داده شده است.

\*\*\* به معنی:  $0.001 \leq P < 0.005$     \*\* به معنی:  $0.005 \leq P < 0.01$     \* به معنی:  $0.01 \leq P < 0.05$



نمودار D1: مقادیر کلیرانس کراتینین بر حسب (ml/day.kg) در گروه‌های مورد بررسی.

در گروه‌های شم که سیسپلاتین دریافت نکرده بودند یعنی گروه‌های ۱ و ۲ از سمت راست و نیز گروه دریافت کننده سیسپلاتین که رت‌ها در آن قبل از سیسپلاتین ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ال-آرژینین دریافت کرده بودند؛ افزایش معنی‌داری در سطح کلیرانس کراتینین نسبت به گروه کنترل (گروه ۷ از سمت راست یا همان Sal+CP) ایجاد شده بود. سطوح معنی‌داری مطابق مشابه بوده و با یک ستاره مشخص شده است. دریافت ال-آرژینین با سایر مقادیر قبل از تجویز سیسپلاتین تأثیر معنی‌داری بر سطح کلیرانس کراتینین در مقایسه با گروه کنترل نداشته است. \* به معنی:  $0.01 \leq P < 0.05$

## بحث

در این مطالعه که در مدلی از سمیت حاد کلیوی ناشی از تزریق تک دوز بالای سیسپلاتین در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام شد، مشخص گردید که تجویز ال-آرژینین با دوز ۴۰۰ mg/kg شصت دقیقه قبل از تجویز سیسپلاتین بهترین اثر در کاهش آسیب عملکردی کلیوی ناشی از سیسپلاتین را دارا است. تجویز دوز بسیار کمتر یعنی ۵۰ mg/kg ال-آرژینین قبل از سیسپلاتین اثر تقریباً مشابهی در بهبود عملکرد کلیوی داشته است، با این تفاوت که بهبود هرچند قابل توجه شاخص کلیرانس کراتینین در این مورد معنی‌دار نبود ولی سایر شاخص‌های عملکرد کلیه یعنی اوره و کراتینین پلاسما و کسر دفع سدیم مانند دوز بالاتر بهبود معنی‌دار داشتند. دوزهای حد واسط ال-آرژینین یعنی ۱۰۰ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg اثر کمتری در بهبود شاخص‌های عملکرد کلیوی داشتند. این نخستین مطالعه‌ای است که نشان می‌دهد ال-آرژینین با دوزهایی در حدود یک پنجم حداقل دوزهای مفید گزارش شده قبلی می‌تواند در کاهش سمیت حاد ناشی از سیسپلاتین مؤثر باشد.

سیسپلاتین یکی از داروهای پرکاربرد در درمان تومورهای solid، خصوصاً کارسینوماهای تخمدان و بیضه است (۱۰-۱۲). هرچند سیسپلاتین می‌تواند منجر به اتوتوکسیسیته و نوروتوکسیسیته نیز بشود ولی نفروتوکسیسیته ناشی از آن مهم‌ترین عارضه آن بوده و مقدار مصرف آن را محدود می‌سازد و علی‌رغم بکار بردن جدی روش‌های پیشگیرانه فعلی، آسیب کلیوی که با کاهش فیلتراسیون گلومرولی مشخص می‌شود در حدود یک‌سوم بیماران رخ خواهد داد (۳). لذا علاقه زیادی در سطح دنیا برای یافتن روش‌های جدید کاهش سمیت کلیوی آن وجود دارد و مطالعات زیادی در این خصوص انجام شده و از به‌کارگیری عصاره‌های گیاهی گرفته تا کاربرد سلول‌های بنیادی (۱۳، ۱۴) در آن مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر مقایسه دوزهای مختلف ال-آرژینین خصوصاً دوزهای پایین‌تر از دوزهای مؤثر قبلی در کاهش احتمالی آسیب کلیوی ناشی از سیسپلاتین به‌وسیله تجویز مولکول

پیش‌ساز NO یعنی ال-آرژینین است. با توجه به بی‌خطر بودن داروی ال-آرژینین (۶، ۱۵) از یک سو و گران بودن شکل تزریقی دارو از سوی دیگر، مفید بودن احتمالی دوزهای بسیار پایین‌تر آن در مقاصد درمانی مانند کاهش آسیب حاد کلیوی ناشی از سیسپلاتین که از داده‌های فعلی استنباط می‌شود می‌تواند هدف قابل توجهی در مطالعات آینده انسانی باشد.

همان‌گونه که اثر مثبت تجویز پیش‌ساز NO یعنی ال-آرژینین بر کاهش نفروپاتی ناشی از سیسپلاتین نشان داده شده است؛ در مطالعه‌ای که اثر ۲-آمینو-۴-متیل پیریدین که یک مهار کننده تولید NO استرا بر شدت نفروتوکسیسته ناشی از سیسپلاتین بررسی کرده است نشان داده شد که مهار تولید NO نفروتوکسیسته ناشی از سیسپلاتین را تشدید می‌کند (۱۶). همچنین اثر حفاظتی برخی داروها نظیر گلايسين در برابر آسیب کلیوی سیسپلاتین به تولید NO بستگی دارد و با تجویز مهار کننده‌های سنتز NO از بین خواهد رفت (۱۷). اثر تجویز تنها مولکول پیش‌ساز NO یعنی ال-آرژینین در کاهش آسیب کلیوی ناشی از سیسپلاتین تاکنون در ۲ مطالعه حیوانی به اثبات رسیده است ولی مطالعات انسانی در مورد آن انجام نشده است. در یکی از این مطالعات از تزریق وریدی ال-آرژینین با دوز ۲۶۳۰-۲۶۰ mg/kg هم‌زمان با تزریق سیسپلاتین با دوز ۶ mg/kg استفاده شده است که در گروه‌های دریافت کننده ال-آرژینین اوره و کراتینین پلاسما به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده و همچنین تجویز ال-آرژینین باعث کاهش پلی‌اوری، افزایش کلیرانس اینولین و  $^{14}\text{C}$ -P

aminohippurate شده است. D-Arg به مقدار کمتری از L-Arg بر نفروتوکسیسته ناشی از سیسپلاتین مؤثر بوده است ولی بر خلاف ایزومر L اش نتوانسته روی همودینامیک کلیه اثر مثبتی داشته باشد (۱۸). در یک مطالعه حیوانی دیگر، ال-آرژینین با دوزی متفاوت از دوزهای بررسی شده در این مطالعه یعنی ۳۰۰ mg/kg در کاهش آسیب ناشی از سیسپلاتین (با دوز ۷ mg/kg) مؤثر بوده است. محقق در این مطالعه آسیب کلیوی وابسته به دوز سیسپلاتین را تا حدودی وابسته به تغییر در

(۲۴). مطالعه دیگری به بررسی همین موضوع در دو مرحله آزمایشگاهی و بالینی پرداخته است. نتایج حاصل از هر دو مطالعه نشان داده است که کمبود ال-آرژنین و اختلال عملکرد اندوتلیوم می‌تواند عامل زمینه ساز نارسایی حاد کلیوی باشند و درمان با ال-آرژنین این توانایی را دارد که شروع نارسایی حاد کلیوی را حداقل در گیرندگان جوان پیوند کنترل کند (۱۵).

با توجه به بی‌خطر بودن نسبی ال-آرژنین تزریقی، بررسی اثرات دوزهای مختلف و حتی پایین آن در پیشگیری از نفروپاتی کلیوی ناشی از سیسپلاتین در بیماران تحت درمانی قابل توصیه است. البته ابتدا باید ثابت شود که این رویکرد اثرات درمانی سیسپلاتین بر تومورهای مختلف را کاهش نمی‌دهد.

### نتیجه‌گیری

مطالعه فعلی که به بررسی اثر تک دوزهای مختلف ال-آرژنین تزریقی در مدل حیوانی نفروپاتی حاد ناشی از تزریق دوز واحد سیسپلاتین در موش‌های صحرایی نر پرداخته است برای اولین بار نشان داد که به‌کارگیری ال-آرژنین نه تنها با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن موش اثرات قابل توجهی در کاهش آسیب عملکردی کلیه ناشی از سیسپلاتین دارد، بلکه با دوز ۵۰ mg/kg یعنی معادل حدود یک پنجم حداقل دوز مؤثر گزارش شده در مطالعات قبلی (۲۶۰ mg/kg) نیز اثرات بسیار قابل توجهی در حفاظت از عملکرد بافت کلیوی دارد. اینکه چرا دوزهای حد واسط یعنی ۱۰۰ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg اثرات حفاظتی کمتری بر عملکرد کلیوی داشته‌اند نیاز به بررسی‌های بیشتر و طراحی مطالعاتی دارد که بر مکانیسم‌های آسیب کلیوی ناشی از سیسپلاتین و نیز اثرات حفاظتی ال-آرژنین متمرکز شده باشند.

### سپاسگزاری

نویسندگان مراتب تشکر خود از معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی لرستان که حمایت مالی از این طرح را بر عهده داشتند و نیز مسؤولین و کارشناسان مرکز تحقیقات داروهای گیاهی که زمینه آزمایشگاهی لازم برای انجام تحقیقات فراهم نموده‌اند را اعلام می‌دارند.

همودینامیک کلیه می‌داند و به همین دلیل به مقایسه اثر ال-آرژنین به عنوان یک منبع تولید نیتريت اکساید (NO) در بدن و یک مهار کننده تولید NO یعنی L-NAME (N-nitro-L-arginin methyl ster) بر شدت آسیب کلیوی ناشی از سیسپلاتین پرداخته است. بعد از عروزی از تزریق سیسپلاتین، آسیب ناشی از آن با افزایش اوره و کراتینین سرم ظاهر پیدا کرده و در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک هم آسیب تأیید شده و نیز در بافت کلیه کاهش سطح کل Nitrat/Nitrit دیده شده است. ال-آرژنین به طرز معنی‌داری باعث کم شدن استرس اکسیداتیو و به دنبال آن نفروتوکسیسیته ناشی از سیسپلاتین شده و از طرف دیگر L-NAME باعث تشدید نفروتوکسیسیته ناشی از سیسپلاتین می‌شود. محقق در آخر چنین نتیجه می‌گیرد که کاهش NO حداقل به طور نسبی در ایجاد آسیب کلیوی ناشی از تزریق سیسپلاتین مؤثر است و استفاده از ال-آرژنین می‌تواند در این زمینه اثر درمانی داشته باشد (۲).

از سوی دیگر در مطالعات حیوانی مختلف اثر حفاظتی ال-آرژنین بر انواع دیگری از آسیب کلیوی مثلاً آسیب ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن (۱۹)، سیکلوسپورین (۲۰)، جنتامایسین (۲۱) و انسداد یک طرفه حالب (۲۲) هم به اثبات رسیده است. در مطالعه‌ای که توسط ما صورت گرفت نیز اثر ال-آرژنین در کاهش نکرور بافتی ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن کلیه رت به اثبات رسید (۲۳). در یک مطالعه انسانی مشخص شده که وازودیلاتاسیون عروق کلیوی ناشی از ال-آرژنین می‌تواند در افراد دیابتیک اورمیک گیرنده پیوند کلیه و پانکراس و نه کلیه به تنهایی، اثرات حفاظتی داشته باشد. تولید فاکتورهای وازواکتیو می‌تواند با تغییر قطر عروق تغذیه کننده، نیاز موضعی کلیه را تأمین کند. در اندوتلیوم عروق بیماران دیابتی تولید مواد منقبض کننده نسبت به گشادکننده بیشتر انجام می‌شود. مهم‌ترین گشادکننده عروق NO است که توسط آنزیم NO سنتتاز (eNOS) از آمینو اسید پیش ماده آن یعنی ال-آرژنین ساخته می‌شود و در واقع در بیماران دیابتی میزان بالای قند خون باعث تخریب عملکرد آنزیم eNOS می‌شود

## References:

- 1- Ali BH, Al Moundhri MS. *Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: a review of some recent research*. Food Chem Toxicol 2006; 44(8): 1173-83.
- 2- Saleh S, El-Demerdash E. *Protective effects of L-arginine against cisplatin-induced renal oxidative stress and toxicity: role of nitric oxide*. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2005; 97(2): 91-7.
- 3- Oh G-S, Kim H-J, Shen A, Lee SB, Khadka D, Pandit A, et al. *Cisplatin-induced Kidney Dysfunction and Perspectives on Improving Treatment Strategies*. Electrolytes Blood Pressure; 12(2): 55-65.
- 4- Santoso JT, Lucci JA, Coleman RL, Schafer I, Hannigan EV. *Saline, mannitol, and furosemide hydration in acute cisplatin nephrotoxicity: a randomized trial*. Cancer ChemotherPharmacol 2003; 52(1): 13-8.
- 5- Taguchi T, Nazneen A, Abid MR, Razzaque MS. *Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathological events*. Contrib Nephrol 2005; 148: 107-21.
- 6- Cylwik D, Mogielnicki A, BuczkoWo. *L-arginine and cardiovascular system*. Pharmacol Rep 2005; 57(1): 14-22.
- 7- Dorniak-Wall T, Grivell RM, Dekker GA, Hague W, Dodd JM. *The role of L-arginine in the prevention and treatment of pre-eclampsia: a systematic review of randomisedtrials*. J human hypertension 2014; 28(4): 230-5.
- 8- Foo L, Tay J, Lees C, McEniery C, Wilkinson I. *Hypertension in Pregnancy: Natural History and Treatment Options*. Current hypertension reports 2015; 17(5): 1-18.
- 9- Abalos E, Duley L, Steyn DW. *Antihypertensive drug therapy for mild to moderate hypertension during pregnancy*. Cochrane Lib 2007; 1: CD002252
- 10- Rajan A, Carter CA, Kelly RJ, Gutierrez M, Kummar S, Szabo E, et al. *A phase I combination study of olaparib with cisplatin and gemcitabine in adults with solid tumors*. Clin Cancer Res 2012; 18(8): 2344-51.
- 11- McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, Kucera PR, Partridge EE, Look KY, et al. *Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer*. New En J Med 1996; 334(1): 1-6.
- 12- Haugnes HS, Bosl GJ, Boer H, Gietema JA, BrydÅ,y M, Oldenburg J, et al. *Long-term and late effects of germ cell testicular cancer treatment and implications for follow-up*. J Clinic Oncol 2012; 30(30): 3752-63.
- 13- Beiranvand A, Rasoulilian B, Alirezaei M, Hashemi P, Pilevarian A, Ezatpour B. *Pretreatment with Olive Leaf Extract partially attenuates cisplatin induced nephrotoxicity in rats*. Yafte 2010; 11(5): 35-44. [Persian]
- 14- Eliopoulos N, Zhao J, Bouchentouf M, Forner K, Birman E, Yuan S, et al. *Human marrow-derived mesenchymal stromal cells decrease cisplatinrenotoxicity in vitro and in vivo and enhance survival of mice post-intraperitonealinjection*. Am J Physiology-Renal Physiol 2010; 299(6): F1288-F98.



- 15- Schramm L, La M, Heidbreder E, Hecker M, Beckman JS, Lopau K, et al. *L-arginine deficiency and supplementation in experimental acute renal failure and in human kidney transplantation*. *Kidney Int* 2002; 61(4): 1423-32.
- 16- Saad SY, Najjar T, Daba MH, Al-Rikabi AC. *Inhibition of nitric oxide synthase aggravates cisplatin-induced nephrotoxicity: effect of 2-amino-4-methylpyridine*. *Chemotherapy* 2001; 48(6): 309-15.
- 17- Li Q, Bowmer C, Yates M. *The Protective Effect of Glycine in Cisplatin Nephrotoxicity: Inhibition with NG $\epsilon$ -Nitro $\epsilon$ -l $\alpha$ -arginine Methyl Ester*. *J pharmacy pharmacol* 1994; 46(5): 346-51.
- 18- Quan L, Bowmer CJ, Yates MS. *Effect of arginine on cisplatin-induced acute renal failure in the rat*. *Biochempharmacol* 1994; 47(12): 2298-301.
- 19- Chander V, Chopra K. *Renal protective effect of molsidomine and L-arginine in ischemia-reperfusion induced injury in rats*. *J Surgic Res* 2005; 128(1): 132-39.
- 20- Mansour M, Daba MH, Gado A, Al-Rikabi A, Al-Majed A. *Protective effect of L-arginine against nephrotoxicity induced by cyclosporine in normal rats*. *Pharmacological Res* 2002; 45(6): 441-6.
- 21- Can C, Åžen S, Boztok N, TuÇşlularIk. *Protective effect of oral L-arginine administration on gentamicin-induced renal failure in rats*. *Euro J Pharmacol* 2000; 390(3): 327-34.
- 22- Ito K, Chen J, Vaughan ED, Seshan SV, Poppas DP, Felsen D. *Dietary L-arginine supplementation improves the glomerular filtration rate and renal blood flow after 24 hours of unilateral ureteral obstruction in rats*. *J Urology* 2004; 171(2): 926-30.
- 23- Rasoulilian B. *Pretreatment with L-Arginine Protects Rat Renal Tubules from Ischemia-Reperfusion Injury*. 8<sup>th</sup> Ann Congress Iranian Society Pathology; Tehran, Iran2006. p. 236.
- 24- De Cobelli F, Fiorina P, Perseghin G, Magnone M, Venturini M, Zerbini G, et al. *L-arginine-induced vasodilation of the renal vasculature is preserved in uremic type 1 diabetic patients after kidney and pancreas but not after kidney-alone transplantation*. *Diabetes Care*2004; 27(4): 947-54.

## *The Effects of Pretreatment with Various Doses of L-Arginine on Cisplatin-Induced Nephropathy of Male Rats*

*Bahram Rasoulia*n (MD, PhD)<sup>1</sup>, *Nassim Moradi Rad* (MD)<sup>2</sup>, *Farnaz Behrahi* (MD)<sup>3</sup>, *Mahbube Jabari* (MD)<sup>4</sup>  
*Marzieh Rashidipour* (PhD Student)<sup>5</sup>, *Zeynab Khoshdel* (MSc)<sup>6</sup>, *Masoud Alirezaei* (PhD)<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Razi Herbal Medicines Research Center and Department of Physiology, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

<sup>2-6</sup> Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

<sup>7</sup> Division of Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

**Received:** 22 May 2015

**Accepted:** 7 Apr 2016

### **Abstract**

**Introduction:** Cisplatin is a widely used anti-cancer drug, which its application is limited by nephrotoxicity. In this study, the effect of pretreatment with different l-arginine doses on Cisplatin-induced renal functional injury was investigated.

**Methods:** 63 male rats were divided into 7 groups: In groups 3, 4, 5 and 6, 60 min before the Cisplatin injection (5mg/kg); L-Arginine with doses of 50,100,200 or 400mg/kg was injected, respectively. In group7, normal saline was injected before Cisplatin administration. In groups 1 and 2, normal saline was injected instead of Cisplatin. In group 2, 60min before normal saline injection, 400mg/kg L-Arginine was administered and in group1, instead of L-arginine, normal saline was injected too. Injections were intraperitoneal. 72h after Cisplatin injection, blood sampling and plasma separation were done. Urine sample was collected 24 hours before blood sampling by metabolic cage. The mean of plasma urea and creatinine levels and creatinine clearance (ml/day.kg) and fractional excretion of Na (FENa, %) were compared among different groups as renal functional parameters.

**Results:** In comparison to group 7, L-arginine injection in a dose of 400mg/kg led to significant amelioration of all parameters. 200 mg/kg L-arginine administration led to significant decrease in plasma urea level and FENa. 100mg/kg L-arginine caused significant improvement in fractional excretion of sodium. L-arginine injection with 50mg/kg dose, significantly ameliorate all renal function tests instead of creatinine clearance.

**Conclusion:** Pretreatment with L-arginine administration with 400 or 50 mg/kg doses, respectively, had the highest effect on reducing Cisplatin-induced nephropathy. L-arginine injection with intermediate doses i.e. 200 or 100 mg/kg had less effect in reducing Cisplatin-induced nephropathy and it needs more investigations.

**Keywords:** L-arginine; Cisplatin; Nephrotoxicity; Nephropathy

#### ***This paper should be cited as:***

Bahram Rasoulia, Nassim Moradi Rad, Farnaz Behrahi, Mahbube Jabari, Marzieh Rashidipour, Zeynab Khoshdel, Masoud Alirezaei. *The effects of pretreatment with various doses of l-arginine on cisplatin-induced nephropathy of male rats.* J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 24(6): 491-500.

**\*Corresponding author: Tel: +986633204007, email: nassim.moradi22@gmail.com**