مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۱، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۲
صفحه: ۵۳۲-۵۲۳

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 21, No. 4, Sep-Oct 2013
Pages: 523-532

بررسی تأثیر پیش‌درمانی با اکسیژن بر مهار نفروتوکسیسیتی حاد القا شده به وسیله جنتامایسین در رت

مجید طوافی[۱]، حسن احمدوند[۲]، سمیرا گودرزی*[۳]، بهرام رسولیان[۴]

۱- دانشیار گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی لرستان، لرستان، ایران
۲- دانشیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی لرستان، لرستان، ایران
۳- دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی لرستان، لرستان، ایران
۴- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی لرستان، لرستان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۶

چکیده

مقدمه: به نظر می‌رسد سمیت جنتامایسین به علت تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن ROS درون سلول‌ها باشد. شواهدی است که پیش درمانی با اکسیژن میزان و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی را افزایش می‌دهد. در این مطالعه به بررسی تأثیر پیش درمانی با اکسیژن در مهار نفروتوکسیسیتی جنتامایسینی پرداخته شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۸ راس رت ماده بالغ (نژاد اسپراگ) به طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه اول، به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد و برای سایر گروه‌ها دوزهای مختلف اکسیژن به همراه ۱۰۰ mg/kg جنتامایسین به مدت ۸ روز به صورت داخل صفاقی استفاده شد. بعد از آخرین تزریق، ادرار ۲۴ ساعته تهیه، نمونه خون گرفته و کلیه طرف چپ حیوان در محلول فرمال سالین فیکس گردید. مالون دی‌الدهید (MDA)، کراتینین و اوره سرم و نیز کراتینین ادرار اندازه‌گیری شد. برش‌های بافتی ۵ میکرونی از نواحی متفاوت کلیه به طریقه PAS رنگ‌آمیزی گردید. دانسیته حجمی لوله‌های خمیده نزدیک، نکروز توبولی و انفیلتراسیون لنفوسیتی بافت بینابینی به طریقه نیمه کمی بررسی شد. جهت مقایسه داده‌ها بین گروه‌ها از آزمون Mann Withney استفاده شد.

نتایج:پیش درمانی با اکسیژن در مهار MDA سرمی، بهبود کراتینین و اوره سرمی و ادراری، حفظ دانسیته حجمی توبولی،کاهش نکروز توبولی و کاهش انفیلتراسیون لنفوسیتی توانسته است در گروه‌های ۶ و ۴ نسبت به گروه ۲ به طور معنی‌داری مؤثر باشد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: پیش درمانی و کاربرد همزمان اکسیژن، نفروتوکسیسیتی جنتامایسینی را بهبود می‌بخشد ولی نمی‌تواند آنها را در سطح کنترل حفظ کند.

واژه‌های کلیدی: جنتامایسن، پیش درمانی با اکسیژن، رادیکال‌های آزاد، آنتی اکسیدانت

*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۶۶۲-۳۵۳۵۸۹۷، پست الکترونیکی: Godarzi128@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌های آمینو نوکلئوزیدی به طور وسیعی برای درمان عفونت‌های شدید باکتری‌های گرم منفی به کار می‌رود و پرکاربردترین این دسته داروها، جنتامایسین است. مهم‌ترین عوارض این دارو نفروتوکسیسیتی است که مسئول ۲۰-۱۰ درصد نارسایی کلیوی حاد در ۲۰-۱۰ درصد افراد است. ۳۰ درصد از بیماران درمان شده با جنتامایسین برای بیش از ۷ روز علایم نفروتوکسیسیتی را نشان می‌دهند و این مسئله مصرف این دارو را محدود کرده است(۱). هرچند مصرف روزانه این دارو، خطر نفروتوکسیستی این دارو را نسبت به تزریق یک باره کم کرده است اما همچنان شیوع نارسایی حاد کلیوی با جنتامایسین بالا است. نفروتوکسیسیتی با جنتامایسین پدیده پیچیده‌ایی است که با افزایش کراتینین سرم- کاهش (GFR: Glomerular Filtration Rate) - افزایش نیتروژن اوره خون (BUN: Blood Urea Nitrogen) و نکروز شدید لوله‌های خمیده نزدیک و به دنبال اینها با نارسایی کلیوی همراه است (۴-۲). به نظر می‌رسد سمیت جنتامایسین به علت تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS: Reactive Oxygen Species) درون سلول‌ها باشد(۷-۲). از طرفی ROS به عنوان عامل سببی مرگ سلولی در شرایط پاتولویک متفاوت معرفی شده است. شواهدی است که جنتامایسین می‌تواند موجب تکثیر سلول‌های مزانژال داخل گلومرولی و نیز موجب انقباض سلول‌های مزانژال شود(۱). از طرفی نتایج برخی بررسی‌ها نشان داده است عوامل آنتی‌اکسیدانت نظیر ویتامین E و پروبوکول(۸،۶،۴) آمینوگوانیدین(۷) لیکوپن(۳) می‌توانند در کاهش سمیت جنتامایسین مؤثر باشد. شواهدی است که پیش درمانی با اکسیژن میزان و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی را افزایش و توان جاندار را در مقابله با رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد(۱۲-۹)، لذا در این مطالعه به بررسی اثر پیش درمانی با اکسیژن را برای اول بار در مهار نفروتوکسیسیتی جنتامایسینی پرداخته شده است.

روش بررسی

۴۸ رت ماده نژاد اسپراگ دو ماهه که بعد از انتقال از دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی به خرم آباد، به مدت یک هفته نگهداری شدند تا با شرایط جدید تطبیق داده شوند. بر اساس فرمول $\phi^2 = \frac{nD^2}{2a\delta}$ (**n**=تعداد در هر گروه) (a=تعداد گروه‌ها) (δ= انحراف معیار) (D= تفاوت دو میانگین) تعداد حجم نمونه ۵ به دست آمد که با توجه به مرگ و میر احتمالی و نتایج مطمئن‌تر هر گروه ۳ حیوان بیشتر در نظر گرفته شد. بر همین اساس ۴۸ عدد رت ماده بالغ به طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند و طبق گروه‌بندی زیر مورد بررسی قرار گرفتند.

گروه اول: (کنترل) قرارگیری در محفظه با جریان هوای معمولی و ۲۴ ساعت بعد تزریق داخل صفاقی سالین به مدت ۸ روز.

گروه دوم: قرارگیری در محفظه با جریان هوای معمولی و ۲۴ ساعت بعد شروع تزریق روزانه جنتامایسین mg/kg ۱۰۰ به مدت ۸ روز.

گروه سوم: روزی ۲ ساعت در برابر اکسیژن به مدت ۲ روز و سپس تزریق روزانه جنتامایسین mg/kg ۱۰۰ به مدت ۸ روز.

گروه چهارم: روزی ۴ ساعت در برابر اکسیژن به مدت ۲روز و سپس تزریق روزانه جنتامایسین mg/kg ۱۰۰ به مدت ۸ روز.

گروه پنجم: روزی ۴ ساعت به مدت ۴ روز در معرض اکسیژن و سپس تزریق روزانه جنتامایسین mg/kg ۱۰۰ به مدت ۸ روز.

گروه ششم: دو روز پیش درمانی با اکسیژن و از روز سوم هر روز ۲ ساعت قبل از تزریق جنتامایسین در معرض اکسیژن قرار گرفتند. اکسیژن توسط دستگاه Super Oxygen HMS-5 با خلوص ۹۰ درصد و دبی ۲ لیتر بر دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. بعد از آخرین تزریق، رت‌ها در قفس متابولیک قرار گرفتند و ادرار ۲۴ ساعته آنها جمع‌آوری شد.

دستگاه اکسیژن از محفظه مخصوصی با ابعاد (۲۰cm×۲۵×۳۵) از جنس پلکسی‌گلاس تهیه شد که دارای یک سوراخ ورودی و یک سوراخ خروجی بود و در هنگام بسته بودن درب محفظه مخصوص، به غیر از این دو سوراخ ارتباطی با محیط بیرون نداشت. پروب اکسیژن‌متر به گونه‌یی درون محفظه مخصوص جای داده شده بود که رت‌ها نتوانند آسیبی

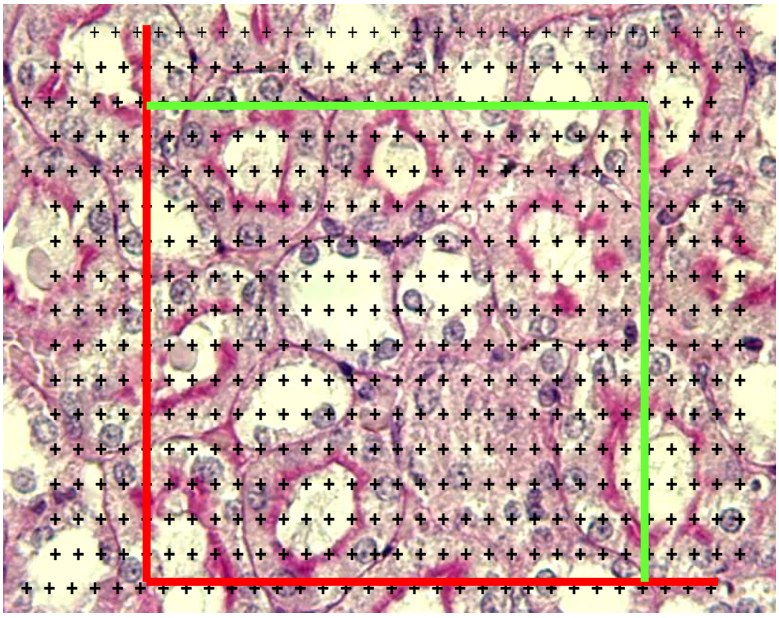
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

به آن وارد کنند. بعد از کالیبره کردن دستگاه اکسیژن‌متر، رت‌ها در محفظه مخصوص قرار داده شدند و سپس برای ایجاد محیط هیپراکسیک یک شیلنگ مرتبط با کپسول حاوی اکسیژن با خلوص بالا (≥٪۸۵) به سوراخ ورودی متصل شد، سپس به مدت حدود ۱۰ دقیقه با برقراری جریان نسبتاً بالای اکسیژن (≥۵lit/min) هوای درون محفظه تخلیه شده و درصد خلوص اکسیژن به حدود ۹۰ درصد می‌رسید.

۴۸ ساعت بعد از ثبوت کلیه‌ها به روش معمول پروسس داده شد و از آنها برش‌های ۵ میکرونی تهیه و سپس تحت رنگ‌آمیزی PAS قرار گرفتند. دانسیته حجمی لوله‌های خمیده نزدیک با استفاده از یک پروب نقطه (مستطیل ۱۳×۱۴ دارای ۳۶۰ نقطه) و روش شمارش نقطه برآورد گردید. به کمک میکروسکوپ دارای دوربین و با اتصال به کامپیوتر تصویر میدان دید در بزرگنمایی ۴۰۰ به مونیتور و روی پروب منتقل شد. لوله‌های خمیده نزدیک (واجد حاشیه مسواکی ارغوانی رنگ) که در داخل پروب بودند، مورد شمارش نقطه واقع شدند و اگر لوله‌ای با اضلاع پروب برخورد کرده بود، مواردی که با اضلاع بالا و راست پروب برخورد نموده، مورد شمارش نقطه واقع می‌شدند و اگر لوله‌ای با اضلاع پایین و چپ پروب برخورد داشت از محاسبه کنار گذاشته می شد. در واقع نقاطی(+) شمارش می‌شد که با پوشش لوله خمیده نزدیک برخورد داشته و یا اینکه بالا و راست نقطه در داخل پوشش لوله قرار می‌گرفت(۱۳) (تصویر ۱). در مجموع بین ۷۰-۴۰ میدان دید از لام‌های هر کلیه مورد شمارش نقطه قرار گرفت. دانسیته حجمی لوله‌های خمیده نزدیک با استفاده از فرمول $\Sigma Pt/Vv = \Sigma Pp$ برآورد گردید(۱۴)

ΣPp = مجموع تعداد نقاط که با پوشش لوله های خمیده نزدیک در n میدان تحت بررسی برخورد داشته‌اند .

ΣPt = مجموع تعداد نقاط پروب در n میدان دید تحت بررسی $=360\times n$



تصویر ۱: تصویر میکروسکوپی کورتکس کلیه واقع بر پروب نقطه
لوله‌های خمیده نزدیک با ساختار طبیعی دارای حاشیه مسواکی در راس سلول‌های پوشش لوله می‌باشند. رنگ آمیزی پاس و بزرگنمایی ۴۰۰×

برای بررسی اندازه‌گیری نکروز توبولی از روش Farombi استفاده گردید(۲). برش‌های کلیه هر حیوان که از نواحی متفاوت کلیه تهیه شده بودند در زیر میکروسکوپ بین ۱۲-۱۷ میدان دید تصادفی با بزرگنمایی ۴۰۰ از کورتکس کلیه بررسی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

گردید. این روش یک روش نیمه کمی است که از یک رتبه‌بندی ۰-۴ استفاده می‌گردد. در این روش ۰= عدم وجود سلول نکروزی در لوله‌های خمیده نزدیک در میدان دید، ۱= وجود یک سلول نکروزی در لوله‌های خمیده نزدیک در لوله‌های پراکنده در میدان دید، ۲= بیش از یک سلول نکروزی در لوله‌های خمیده نزدیک، ۳= لوله‌های با نکروز کامل (ریزش پوشش) به طور پراکنده و ۴= نکروز کامل (در میدان دید تمام لوله‌های خمیده ریزش پوشش را نشان می‌دهند.

برای بررسی ارتشاح لنفوسیتی، برش‌های کلیه هر حیوان در زیر میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر میدان دیدهای تصادفی از کورتکس انتخاب و بر اساس وسعت پراکنش لنفوسیت‌ها در میدان دید، شدت ارتشاح آن به روش زیر بین ۰ تا ۴ رتبه‌بندی شد: در این رتبه‌بندی ۰= فاقد ارتشاح لنفوسیتی، ۱= ۰-۲۵٪ میدان دید دارای ارتشاح لنفوسیتی، ۲= ۲۵٪-۵۰٪ میدان دید دارای ارتشاح لنفوسیتی، ۳= ۵۰٪-۷۵٪ میدان دید دارای ارتشاح لنفوسیتی و ۴= ۷۵٪-۱۰۰٪ میدان دید دارای ارتشاح لنفوسیتی(۱۵).

مقدار اوره و کراتینین با استفاده از کیت‌های آماده (ایران/ پارس آزمون) اندازه‌گیری گردید. هر کیت اوره حاوی سه محلول R1، R2 و R3 و یک محلول استاندار بود. برای سنجش اوره ادرار مطابق با دستور کیت ابتدا ۹۹ میلی‌لیتر از محلول R1 را با یک میلی‌لیتر از محلول R2 مخلوط تا محلول اولیه تهیه گردید. سپس داخل لوله شماره یک ۱۰ میکرولیتر ادرار یا سرم و در لوله شماره دو ۱۰ میکرولیتر از محلول استاندارد ریخته شد. در ادامه به هر دو لوله ۱۰۰ میکرولیتر از محلول اولیه اضافه و با کمک ورتکس محتویات لوله‌ها مخلوط شدند. پس از آن لوله¬ها به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرفتند. سپس به هر لوله ۱۰۰ میکرولیتر از محلول R3 اضافه شد. پس از مخلوط شدن با ورتکس لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرارداده شدند. برای خواندن میزان جذب اوره ادرار از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل shimadzu, uv-160/Japan) و طول موج ۵۷۸ نانومتر استفاده شد.

در کیت آماده کراتینین دو محلول R1 و R2 و یک محلول استاندار وجود داشت. برای آماده‌سازی نمونه‌ها داخل لوله شماره یک ۱۰۰ میکرولیتر محلول R1 و داخل لوله شماره دو نیز ۱۰۰ میکرولیتر محلول R2 ریخته شد. بعداز گذشت ۲۵ ثانیه محتویات دو لوله با هم مخلوط گردید. سپس به هر لوله ۲۰ میکرولیتر سرم یا ادرار اضافه شد در لوله شماره سه نیز ۲۰ میکرولیتر ماده استاندارد اضافه گردید. سپس جذب نوری نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر و با استفاده از طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. کلیه مراحل بالا برای تمام نمونه‌های سرمی و ادرارهای جمع‌آوری شده، انجام شد. به منظور کاهش خطای اندازه‌گیری از سرم یا ادرار هر موش دو نمونه برای قرارگیری در دستگاه اسپکتروفتومتری تهیه و میانگین جذب نوری آنها گزارش گردید.

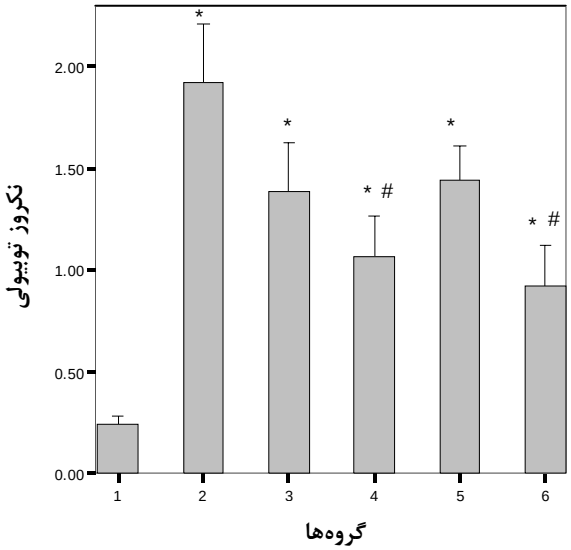
در تحقیق حاضر به منظور ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از استرس اکسیداتیو مقدار مالون دیالدهید سرمی(MDA) سرم به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری شد. مقدار MDA بر اساس میزان تشکیل کمپلکس MDA با تیوباربیتوریک اسید (TBARS) و رسوب پروتئین‌ها با تری‌کلرو استیک اسید (TCA) سنجیده گردید. مقدار TBARS به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتری و طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

جهت مقایسه متغیرهای هیستوپاتولوژیک و عوامل بیوشیمیایی خون و ادرار به دلیل عدم توزیع نرمال داده‌ها از تست ناپارامتری Mann-Witnny استفاده گردید. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

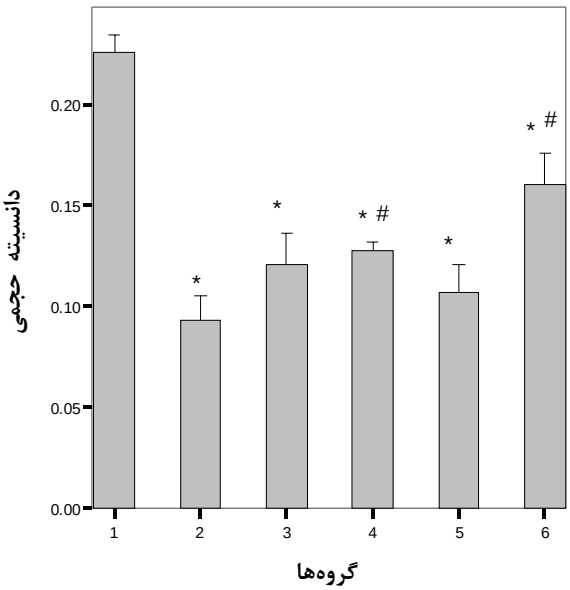
جنتامایسین موجب افزایش معنی‌دار نکروز توبیولی نسبت به گروه کنترل شده است ($p<۰/۰۵$). اکسیژن درمانی در گروه چهارم (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۴ ساعت همراه با جنتامایسین به مدت ۸ روز) و گروه ششم (پیش درمانی و درمان هر روزه با اکسیژن همراه با جنتامایسین) توانسته نسبت به گروه ۲ (جنتامایسین بدون درمان) به طور معنی‌دار از افزایش نکروز توبیولی جلوگیری کند ولی نتوانسته آن را در حد کنترل حفظ کند($p<۰/۰۵$) (نمودار ۱).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]



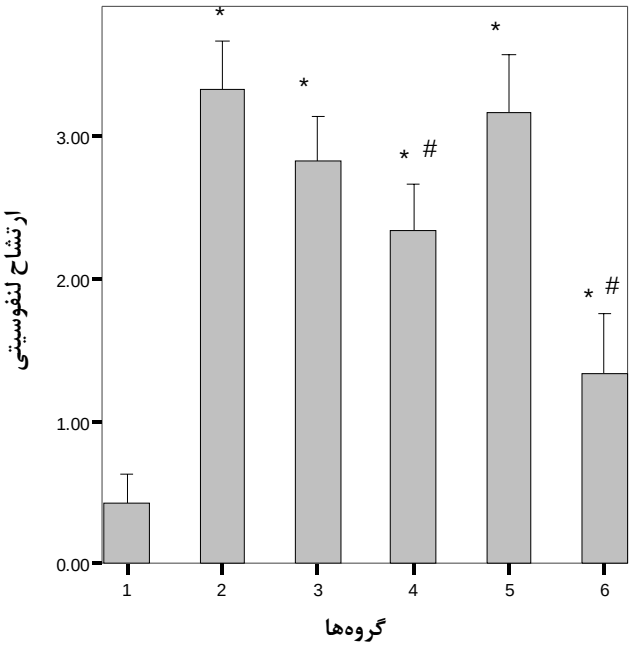
نمودار ۱: مقایسه نکروز توبیولی لوله‌های خمیده نزدیک

جنتامایسین موجب کاهش معنی‌دار دانسیته حجمی لوله‌های خمیده نزدیک نسبت به گروه کنترل شده است (p<۰/۰۵). در گروه چهارم (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۴ ساعت همرا با جنتامایسین به مدت ۸ روز) و گروه ششم (پیش درمانی و درمان هر روزه با اکسیژن همراه با جنتامایسین) اکسیژن درمانی توانسته است نسبت به گروه ۲ (جنتامایسین بدون درمان) به طور معنی‌دار از کاهش دانسیته حجمی لوله‌های خمیده نزدیک جلوگیری کند (p<۰/۰۵) ولی نتوانسته آنرا در حد کنترل حفظ کند (نمودار ۲).



نمودار ۲: مقایسه دانسیته حجمی لوله‌های خمیده نزدیک کلیه رت‌ها

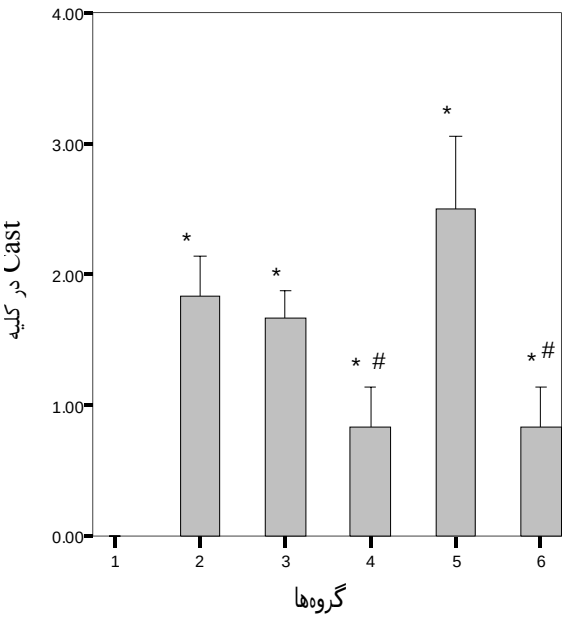
جنتامایسین موجب افزایش معنی دار ارتشاح لنفوسیتی نسبت به گروه کنترل شده است (p<۰/۰۵). اکسیژن درمانی در گروه چهارم (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۴ ساعت همراه با جنتامایسین به مدت ۸ روز) و گروه ششم (پیش درمانی و درمان هر روزه با اکسیژن همراه با جنتامایسین) درمان توانسته است نسبت به گروه ۲ (جنتامایسین بدون درمان) به طور معنی‌دار از افزایش ارتشاح لنفوسیتی جلوگیری کند (p<۰/۰۵) ولی نتوانسته آن را در حد کنترل حفظ کند(نمودار ۳).



نمودار ۴: مقایسه ارتشاح لنفوسیتی درکلیه رت‌ها

جنتامایسین موجب افزایش معنی‌دار Cast در کلیه رت‌ها نسبت به گروه کنترل شده است (p<۰/۰۵). اکسیژن درمانی در گروه چهارم (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۴ ساعت همراه با جنتامایسین ۸ روز) و گروه ششم (پیش درمانی و درمان هر روزه با اکسیژن همراه با جنتامایسین) توانسته است نسبت به گروه ۲ (جنتامایسین بدون درمان) به طور معنی‌دار از افزایش ارتشاح لنفوسیتی جلوگیری کند (p<۰/۰۵) ولی نتوانسته آن را در حد کنترل حفظ کند (نمودار ۴).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]



نمودار ۴: مقایسه میزان cast درکلیه رت‌ها (رتبه بندی ۴-۰)

جنتامایسین موجب افزایش معنی‌دار کراتینین سرم نسبت به گروه کنترل شده است. در گروه ۴ (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۴ ساعت همراه با جنتامایسین به مدت ۸ روز) و گروه ۶ (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۲ ساعت و ۲ ساعت اکسیژن روزانه در طی ۸ روز همراه با جنتامایسین به مدت ۸ روز) کاهش معنی‌دار کراتینین سرم نسبت به گروه جنتامایسن بدون درمان دیده می‌شود ولی نتوانسته است کراتینین سرم را به سطح کنترل و نرمال برساند (جدول۱).

جنتامایسین موجب افزایش معنی‌دار اوره سرم نسبت به گروه کنترل شده است. در گروه ۴ (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی۴ ساعت همراه با جنتامایسین به مدت ۸ روز) و گروه ۶ (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲روز، روزی ۲ ساعت و ۲ساعت اکسیژن روزانه در طی ۸ روز همراه با جنتامایسین به مدت ۸ روز) کاهش معنی‌دار اوره سرم نسبت به گروه جنتامایسن بدون درمان دیده می‌شود ولی نتوانسته است اوره سرم را به سطح کنترل و نرمال برساند (جدول۱).

جدول۱: اثر پیش درمانی با اکسیژن بر کراتینین، اوره، مالون دیالدهید سرمی و کراتینین ادراری در نفروتوکسیسیتی جنتامایسینی

	کراتینین سرمی (mg/dl) (انحراف معیار ± میانگین)	اوره سرمی (mg/dl) (انحراف معیار ± میانگین)	مالون دیالدهید سرمی (nmol/mg protein) (انحراف معیار ± میانگین)	کراتینین ادرار (mg/dl) (انحراف معیار ± میانگین)
گروه یک	۰/۶۹±۰/۰۴	۵۶/۸±۵/۱۴	۰/۲۳ ± ۰/۰۲۷	۴۰/۲۵ ±۵/۹۹
گروه دو	۲/۹۸±۰/۲۵*	۱۹۸/۴۲±۵۸/۱۶ *	۰/۷۰۱ ± ۰/۰۵۶ *	۹۸/۴ ±۷/۶۹ *
گروه سه	۲/۷±۰/۴۰ *	۱۶۰/۱۴±۱۳/۲۱ *	۰/۵۴۳± ۰/۰۴۵ *	۸۱/۷۵ ±۱۴ /۲۵ *
گروه چهار	۱/۶۰±۰/۰۶ * #	۱۲۰/۵± ۵/۲۵ * #	۰/۴۱۳±۰/۰۳۴ * #	۶۹/۰۸±۸/۸۵ *#
گروه پنج	۲/۷۷±۰/۴۵ *	۱۹۲/۳±۱۷/۶۳ *	۰/۵۰۵±۰/۰۵۱ *	۸۳/۱۱±۸/۳۱ *
گروه شش	۱/۷۷±۰/۱۷ * #	۱۱۷/۶۶±۵/۳۸ * #	۰/۴۱۴±۰/۰۲۶ * #	۶۶/۳۳±۵/۷۵ *#

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

نشان دهنده تفاوت معنی دار نسبت به گروه ۲ (جنتامایسینی بدون درمان)

در بررسی اثر پیش‌درمانی با اکسیژن بر مالون دیالدهید سرم مشاهده شد جنتامایسین موجب افزایش معنی‌دار مالون دیالدهید سرم نسبت به گروه کنترل شده است. در گروه ۴ (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۴ ساعت همراه با جنتامایسین ۸ روز) و گروه ۶ (پیش‌درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۲ ساعت و ۲ ساعت اکسیژن روزانه در طی ۸ روز همراه با جنتامایسین به مدت ۸ روز) کاهش معنی‌دار مالون دیالدهید سرم نسبت به گروه جنتامایسن بدون درمان دیده می‌شود ولی نتوانسته است مالون دیالدهید سرم را به سطح کنترل و نرمال برساند (جدول۱).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

همچنین در بررسی اثر پیش‌درمانی با اکسیژن بر کراتینین ادرار مشاهده گردید جنتامایسین موجب افزایش معنی‌دار کراتینین ادرار نسبت به گروه کنترل شده است. در گروه ۴ (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۴ ساعت همراه با جنتامایسین به مدت ۸ روز) و گروه ۶ (پیش‌درمانی با اکسیژن ۲ روز، روزی ۲ ساعت و ۲ ساعت اکسیژن روزانه در طی ۸ روز همراه با جنتامایسین به مدت ۸ روز) کاهش معنی‌دار کراتینین ادرار نسبت به گروه جنتامایسن بدون درمان دیده می‌شد ولی نتوانسته است کراتینین ادرار را به سطح کنترل و نرمال برساند (جدول۱).

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس کارهای انجام شده بر روش پیش‌درمانی با اکسیژن چنین به نظر می‌رسد که در دوزها و زمان‌های خاصی از اکسیژن درمانی، پراکسیداسیون لیپیدی کاهش یافته است. این مسئله مؤکد این نکته است که پیش درمانی با اکسیژن توانسته است به نحوی بدن را در کاهش و برداشت رادیکال‌های آزاد کمک کند و از افزایش مالون دی‌الدهید سرمی در مسمومسیت جنتامایسینی بکاهد. هر چند مطالعه حاضر بیانگر مکانیسم‌های مولکولی درگیر در چگونگی کاهش رادیکال‌های آزاد نیست ولی کاهش مالون دیالدهید سرمی افزایش توان بدن جاندار را در برداشت رادیکال‌های آزاد به دنبال اکسیژن درمانی را تأیید می‌کند. چنانچه از نتایج این تحقیق بر می‌آید در گروه سوم (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۲ روز، روزی ۲ ساعت) کاهش معنی‌داری در MDA سرمی ایجاد شده است و به موازات آن تأثیر معنی‌داری بر بهبود اوره و کراتینین سرم و ادار مشاهده نشده است که حاکی از این موضوع که این اندازه اکسیژن درمانی تحریک کافی برای سیستم آنتی‌اکسیدانتی نداشته است. از طرفی نتایج در گروه پنجم (پیش درمانی با اکسیژن به مدت ۴ روز، روزی ۴ ساعت) نامناسب بوده و حتی در بعضی موارد مثلاً میزان Cast در لوله‌ها و فیلتراسیون لکوسیتی حتی از گروه دریافت‌کننده جنتامایسن بدتر شده است که احتمالاً اثر نامطلوب این روش (روزی ۴ ساعت به مدت ۴ روز اکسیژن درمانی) حاصل آن است که این روش باعث ایجاد استرس اکسیداتیوی شده است که بدن توان مقابله با آن را نداشته است. به علاوه از نتایج به دست آمده بر می‌آید که با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی به طور معنی‌دار مارکرهای فعالیت کلیه بهبود یافته‌اند.

در مطالعاتی که در مورد ایسکمی- ریپرفیوژن بافت کلیه رت صورت گرفته است، مشخص شد که ایجاد حالت آماده باش زودرس قابل توجه در بافت کلیه با پیش درمانی ۱، ۳ یا ۶ ساعته با اکسیژن ممکن نیست. تجویز روزانه یک ساعت اکسیژن به مدت ۳ روز تا حدی مؤثر بود، ولی بیشترین تأثیر را تجویز روزانه یک ساعت اکسیژن به مدت ۵ روز داشت(۱۰). جنتامایسین هنوز هم یک آنتی‌بیوتیک مهم در مقابل عفونت‌های تهدیدکننده زندگی است و به دلیل عوارض، در مقابل نفروتوکسیسیتی آن بایستی در کلینیک تمهیداتی اندیشیده شود ولی به طور معمول در این مورد کوتاهی صورت می‌گیرد. در مطالعات زیادی گزارش شده است که رادیکال‌های آزاد اکسیژن از مدیاتورهای مهم در القای نارسایی حاد کلیوی به دنبال جنتامایسین می‌باشند(۳،۱۶).

ایجاد حالت آماده باش عبارت است از آماده سازی بافت‌هایی مانند قلب و کلیه و غیره در برابر آسیب عواملی چون ایسکمی- ریپرفیوژن. این آماده‌سازی می‌تواند توسط دوره‌های کوتاه مدت ایسکمی- ریپرفیوژن یا عوامل متعدد دیگری ایجاد شود. یکی از این عوامل، قرار دادن موقت حیوان در محیط اکسیژن خالص یا با درصدهای بالای اکسیژن است که به تازگی تحقیقاتی در مورد آن در بافت‌های قلب، مغز و کلیه صورت گرفته است(۱۹-۱۷).

می‌توان چنین تصور کرد که پیش درمانی کوتاه مدت با اکسیژن باعث استرس اکسیداتیو خفیف شده(۱۷) و این استرس منجر به تحریک مکانیزم‌های دفاعی ذاتی بافت علیه آسیب رادیکال‌های آزاد اکسیژن خواهد شد. این مکانیسم‌ها شامل مواد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است. از آنجا که بخش عمده‌ای از آسیب ایسکمی- ریپرفیوژن به علت رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شود، این امر می‌تواند منجر به مقاومت بیشتر بافت در برابر ایسکمی شود.

در مطالعاتی که در مورد ایسکمی- ریپرفیوژن بافت کلیه رت

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

صورت گرفته است، مشخص شد که ایجاد حالت آماده باش زودرس قابل توجه در بافت کلیه با پیش درمانی ۱، ۳ یا ۶ ساعته با اکسیژن ممکن نیست. تجویز روزانه یک ساعت اکسیژن به مدت ۳ روز تا حدی مؤثر بود، ولی بیشترین تأثیر را تجویز روزانه یک ساعت اکسیژن به مدت ۵ روز داشت(۱۰). احتمال ایجاد حالت ایجاد آماده باش تأخیری در بافت کلیه در برابر آسیب ایسکمی- ریپرفیوژن با تجویز اکسیژن نیز ثابت شده است(۲۰). برای اولین بار در سال ۲۰۰۱ میلادی در بررسی‌هایی که توسط Tahepold و همکاران و نیز Kim و همکاران انجام شد، نشان داده شد که قرارگیری یک یا سه ساعته رت‌ها در محیط هایپراکسیک می‌تواند موجب ایجاد هر دو مرحله زودرس و تأخیری PC در بافت قلب ایزوله شود(۱۷،۲۱).

اخیراً مطالعه‌ای در مورد پیش‌درمانی با محیط با اکسیژن هایپرباریک بر آسیب ایسکمی- ریپرفیوژن کلیه توسط Gurer در کشور ترکیه انجام شده است که البته در آن این پیش درمانی (۷۵ دقیقه در فشار ۲/۸ اتمسفر، ۳۰ دقیقه قبل از ایسکمی) فقط درجه آسیب بافتی کلیه را کاهش داده است ولی در بهبود عملکرد کلیه بی‌تأثیر بوده است(۲۲). در مورد بافت نخاع خرگوش با تجویز روزانه یک ساعت اکسیژن نورمو باریک به مدت ۵ روز و در مورد بافت مغز رت قرارگیری طولانی مدت در محیط هیپراکسیک (۲۴ ساعته) توانسته است مقاومت در برابر ایسکمی را القا کند(۲۰،۲۳).

پیش‌درمانی و کاربرد همزمان اکسیژن تغییرات بافتی کلیه، اوره و کراتینین سرمی در نفروتوکسیسیتی جنتامایسینی را بهبود می‌بخشد ولی نمی‌تواند آنها را در سطح کنترل حفظ کند.

سپاسگزاری

از دانشگاه علوم پزشکی لرستان بابت حمایت‌های مالی و همچنین از زحمات اساتید گرانقدر کمال قدردانی را داریم.

References:

1- Salgado CM, Hernandes FL, Novoa JM. ***Glomerular nephrotoxicity of amino nucleosides.*** Toxicol Applied Pharmacol 2007; 223: 86-98.

2- Farombi EO, Ekor M. ***Curcumin attenuates gentamicin induced renal oxidative damage in rats.*** Food Chem Toxicol 2006; 44(9): 1443-8.

3- Karahan I, Ateşşahin A, Yilmaz S, Ceribaşi AO, Sakin F. ***Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats.*** Toxicology 2005; 215(3): 198-204.

4- Vijay KK, Naidu MU, Anwar A, Ratnakar KS. ***Probucol protects against gentamicin induced nephrotoxicocity in rats.*** Indian J Pharmacol 2000; 32(2): 108-13.

5- Banday AA, Farooq N, Priyamvada S, Yusufi AN, Khan F. ***Time dependent effects of gentamicin on the enzymes of carbohydrate metabolism, brush border membrane and oxidative stress in rat kidney tissues.*** Life Sci 2008; 82(9–10): 450-59.

6- Kadkhodaee M, Khastar H, Arab HA, Ghaznavi R, Zahmatkesh M, Mahdavi-Mazdeh M. ***Antioxidant vitamins preserve superoxide dismutase activities in gentamicin-induced nephrotoxicity.*** Transplant Proc 2007; 39(4): 864-65.

7- Polat A, Parlakpinar H, Tasdemir S, Çolak C, Vardi N, Ucer M, et al. ***Protective role of aminoguanidine on gentamicin-induced acute renal failure in rat.*** Acta Histochemica 2006; 108(5): 365-71.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

8- Abdel Niam A, Abdelvahab MH, AttiaF F. ***Protective effects of vitamin E and probucol against gentamicin induced nephrotoxicity in rats.*** Pharmacological Res 1999; 40(2): 183-7.

9- Wang L, Li W, Kang Z, Liu Y, Deng X, Tao H, et al. ***Hyperbaric oxygen preconditioning attenuates early apoptosis after spinal cord ischemia in rats.*** J Neurotrauma 2009; 26(1): 58-66.

10- Rasoulian B, Mohammadhosseniakbari H, Kadkhodaee M, Mofid M, Baqeri G, Bigdeli MR, et al. ***Preconditioning with oxygen attenuates rat renal ischemia-reperfusion injury.*** J Surg Res 2008; 146(2): 282-8.

11- Yu SY, Chiu JH, Yang SD, Yu HY, Hsieh CC, Chen PJ, et al. ***Preconditioned hyperbaric oxygenation protects the liver against ischemia-repefusion injury in rats.*** J Surg Res 2005; 128(1): 28-36.

12- Li J, Liu W, Ding S, Xu W, Guan Y, Zhang JH, et al. ***Hyperbaric oxygen preconditioning induces tolerance against brain ischemia–reperfusion injury by upregulation of antioxidant enzymes in rats***. Brain Res 2008; 1210: 223-29.

13- Puddephat M. ***Easy measure.*** 2005.www.easymeasure.co.uk/sos1.aspx.

14- Mandarim-de-Lacerda CA. ***Stereological tools in biomedical research.*** An Acad Bras Ciênc 2003; 75(4): 413.

15- Velasquez MT, Striffler JS, Abraham AA, Michaelis OE, Scalbert E, Thibault N. ***Perindopril ameliorates glomerular and renal tubulointerstitial injury in the SHR/N-corpulent rat.*** Hypertension 1997; 30(5): 1232-37.

16- Walker PD, Barri Y, Shah SV. ***Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity.*** Renal Failure 1988; 21(3-4); 433-42.

17- Tahepo ld P, Valen G, Starkopf J, Kairane C, Zilmer M, Vaage J. ***Pretreating rats with hyperoxia attenuates ischemia reperfusion injury of the heart.*** Life Sci 2001; 68(14): 1629-40.

18- Esmaili Dehaj M, Baharvand B, Rasoulian B, Foadaddini M, Asgari A, Noroozzadeh A, et al. ***Delayed protective effects of heperoxia against cardiac arrhythmias and infarction in anesthetized rats.*** J Invest Surg 2009; 151(1): 55-61.

19- Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Heidarianpour A, Rasoulian B, Asgari AR, et al. ***Normobarichyperoxia induces ischemic tolerance and upergulation of glutamate transporters in the rat braim and serum TNF–a level.*** Exp neurol 2008; 212(2): 298-306.

20- Wahhabaghai H, Rasoulian B, Esmaili M, Mehrani HA, Mohammadhosseniakbari H, Mofid M, etal. ***Hyperoxia induced protection against rat' renal ischemic damage; Relation to oxygen exposure time.*** Ren fail 2009; 31(6): 514-21.

21- Kim CH, Choi H, Chun YS, Kim GT, Park GW, Kim MS. ***Hyperbaric oxygenation pretreatment induces catalase and reduces infarct size in ischemic rat myocardium***. Pflugers Arch 2001; 442(4): 519-25.

22- Gurer A, Ozdogan M, Gomceli I, Demirag A, Gulbahar O, Arikok T, et al. ***Hyperbaric oxygenation attenuates rena ischemia reperfusion injury in rats.*** Transplant Proc 2006; 38(10): 33-7.

23- Zhang X, Xiong L, Hu W, Zheng Y, Zhu Z, Liu Y, et al. ***Preconditioning with prolonged oxygen exposure induces isshemic tolerance in the brain veaoxegen free radical formation***. Can J Anaesth 2004; 51(3): 258-63.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

Investigating the Effect of Pretreatment with Oxygen on Inhibition of Gentamycin-induced Nephrotoxicity in Rats

Tavafi M (PhD)[1], Ahmadvand H (PhD)[2], Goodarzi S (MD)[*3], Rasoulian B(PhD)[4]

[1]Department of Anatomy and Pathology, Lorestan University of Medical Sciences, Khoram Abad, Iran
[2]Department of Biochemistry, Lorestan University of Medical Sciences, Khoram Abad, Iran
[3]General Physicien, Lorestan University of Medical Sciences, Khoram Abad, Iran
[4]Department of Physiology, Lorestan University of Medical Sciences, Khoram Abad, Iran

Received: 17 Dec 2011 ***Accepted:*** 27 Dec 2012

Abstract

Introduction: The toxicity of gentamycin in the kidney seems to be related to the generation of reactive oxygen species (ROS). There is evidence that pretreatment with oxygen increases the rate and activity of antioxidant enzymes.

Methods: In this experimental study, forty eight female rats (Sprague Dawlley) were divided into 6 groups randomly (8 in each) as follows: group 1 was the control and for other groups different doses of oxygen with Gentamycin was used for 8 days intra-peritoneally (100 mg/kg). 24-hour urine samples were collected after the final injection. Blood samples were collected and serum was prepared. The left kidney was fixed in formal saline. Serum MDA, creatinin and urea, as well as urine creatinine were measured. 5-micron tissue sections were prepared and stained by Periodic Acid Shift method. Volume density of proximal tubules, necrosis of proximal tubules and lymphocytic infiltration were studied. The data were analyzed by Mann-Whitney test at significant level of $p < 0.05$.

Results: Pretreatment with oxygen was effective significantly in two groups of 6 and 4 compared to group 2. The effectiveness was found in inhibition of serum MDA, improving serum, urinary urea and creatinine, preserving tubular volume density, and reducing tubular necrotizing and lymphocyin filtration.

Conclusion: Pretreatment with oxygen and its concomitant use can improve renal tissue changes, serum urea and creatinine in gentamycin-induced nephrotoxicity, but cannot preserve them at the same level of control.

Keywords: Anti-oxidant; Free radicals; Gentamycin; Pretreatment with oxygen

This paper should be cited as:

Tavafi M, Ahmadvand H, Goodarzi S, Rasoulian B. ***Investigating the effect of pretreatment with oxygen on inhibition of gentamycin-induced nephrotoxicity in rats***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2013; 21(4): 423-32.

Corresponding author: Tel: +98 9167212606, Email: Godarzi128@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]