نقش محافظتی اتیل پیروات و ویتامین E در برابر سمیت کلیوی ناشی از فنیل‌هیدرازین در موش سفید کوچک آزمایشگاهی

حجت عنبرا*[۱]، رسول شهروز[۲]، علی‌اکبر مظفری[۳]، حسن ملکی نژاد[۴]، حسن مروتی[۵]،
محمدتقی شیبانی[۶]، صادق سعادتی[۷]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی بافت‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- استاد، بخش بافت‌شناسی و جنین‌شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۳- دکترای تخصصی بافت‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۴- استاد، بخش فارماکولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۵- استاد، بخش بافت‌شناسی و جنین‌شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۶- دانشیار، بخش بافت‌شناسی و جنین‌شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۷- دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

یافته / دوره بیستم / شماره ۱ / بهار ۹۷ / مسلسل ۷۵

چکیده

دریافت مقاله: ۹۶/۱۱/۱ پذیرش مقاله: ۹۶/۱۲/۱۹

مقدمه: فنیل‌هیدرازین به‌عنوان یک ترکیب همولیتیک موجب سمیت در بافت‌های متعدد می‌گردد. مطالعه حاضر به‌منظور ارزیابی اثرات محافظتی احتمالی اتیل‌پیروات و ویتامین E در برابر آسیب‌های کلیوی ناشی از فنیل‌هیدرازین در موش انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: موش‌های نر بالغ به صورت تصادفی به هشت گروه هشت سری تقسیم شدند. گروه کنترل سرم فیزیولوژی (۰/۱ ml, IP) به طور روزانه دریافت نمودند. گروه دوم فنیل‌هیدرازین با دوز ۶۰ mg/kg/48h به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. گروه سوم به همراه فنیل‌هیدرازین، ویتامین E با دوز ۱۰۰ mg/kg/day به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. گروه چهارم به همراه فنیل‌هیدرازین، اتیل‌پیروات با دوز ۴۰ mg/kg/day به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه پنجم به همراه فنیل‌هیدرازین، ویتامین E و اتیل‌پیروات با دوز مشابه گروه‌های قبلی، دریافت کردند. گروه ششم ویتامین E، گروه هفتم اتیل‌پیروات و گروه هشتم اتیل‌پیروات و ویتامین E با دوزهای مشابه گروه‌های قبلی بدون تزریق فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند. پس از ۳۵ روز نمونه‌های سرمی و بافتی تهیه شده و جهت ارزیابی‌های بیوشیمیایی، بافت‌شناسی و هیستومورفومتری مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: فنیل‌هیدرازین به شکل معنی‌داری موجب افزایش سطح سرمی مالون‌دی‌آلدئید، کراتینین، اوره و نیز کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام سرم و آلبومین گردید (P<۰/۰۵). به‌علاوه، فنیل‌هیدرازین افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در قطر حفره میانی لوله‌های پیچیده نزدیک و نیز کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در ارتفاع سلول‌های پوششی این لوله‌ها ایجاد کرد. تجویز ویتامین E و اتیل‌پیروات به شکل قابل توجهی تغییرات مشاهده شده در فراسنجه‌های مذکور را بهبود بخشید.

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد اتیل‌پیروات و ویتامین E به عنوان یک مهارکننده رادیکال آزاد می‌تواند سمیت کلیوی ناشی از فنیل‌هیدرازین در موش را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: اتیل‌پیروات، ویتامین E، فنیل‌هیدرازین، کلیه، موش.

*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه.
پست الکترونیک: hojat.anbara@ut.ac.ir

مقدمه

هیدرازین‌ها که به شکل گسترده‌ای در صنایع شیمیایی، دارویی، کشاورزی و آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌توانند آسیب‌های سلولی برگشت‌ناپذیری را موجب گردند (۱). فنیل‌هیدرازین که به واسطه اثرات همولیتیک واجد کاربرد بالینی در درمان پلی‌سیتمی نیز می‌باشد، طیف وسیعی از عوارض جانبی نظیر کم‌خونی همولیتیک، هیپوکسی، اختلالات عروقی، کبدی، کلیوی، تنفسی، دستگاه عصبی مرکزی و خود ایمن، بدخیمی‌ها، ناهنجاری‌های ژنتیکی و واکنش‌های آماسی را سبب می‌شود (۱-۵). اتو اکسیداسیون فنیل‌هیدرازین منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های مشتق شده از فنیل‌هیدرازین مانند رادیکال فنیل‌هیدرازیل می‌گردد (۶). علاوه بر گونه‌های فعال اکسیژن، متابولیت‌های فنیل‌هیدرازین نیز می‌توانند با غشاء سلولی وارد واکنش شوند و به واسطه پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئینی موجبات تخریب گلبول‌های قرمز و بروز کم‌خونی همولیتیک را فراهم آورند (۷). از سوی دیگر، افزایش فعالیت خون‌سازی و جذب آهن متعاقب کم‌خونی همولیتیک شدید ناشی از فنیل‌هیدرازین موجب افزایش ذخیره آهن در بافت‌ها می‌گردد که مقادیر بالای آهن بافتی نیز تولید گونه‌های فعال اکسیژن را تشدید می‌نماید و تغییرات پاتوفیزیولوژیک متعددی را رقم می‌زند (۱۰-۸). در همین راستا، مطالعات تجربی متعددی نیز نقش کم‌خونی همولیتیک و اختلالات عروقی ناشی از فنیل‌هیدرازین را در پی‌ریزی واکنش‌های آماسی سیستمیک و تغییرات هیستوپاتولوژیک در اندام‌های مختلف مانند کلیه مورد تأیید قرار داده است (۱۱-۱۳).

در عصر حاضر جهت ارزیابی کارآیی ترکیبات واجد ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانت در برابر آسیب‌های سلولی ناشی از عوامل اکسیدانت، پژوهش‌های بی‌شماری انجام می‌پذیرد. عملکردهای فیزیولوژیک ویتامین E به عنوان یک ویتامین محلول در چربی عمدتاً مربوط به خواص کاهندگی واکنش‌های اکسیداسیون می‌باشد (۱۴). ویتامین E دارای اعمال بیولوژیک مختلفی بوده و خاصیت آنتی‌اکسیدانتی آن مهمترین و بارزترین ویژگی آن به شمار می‌آید. اعمال دیگر آن شامل فعالیت آنزیمی، اعمال نورولوژیک و خواص آنتی آپاپتوتیک و آنتی فیبروتیک می‌باشد (۱۵،۱۴). پیروات سوبسترای چرخهٔ تری کربوکسیلیک اسید (TCA) می‌باشد و به عنوان میانجی متابولیسم و یک متابولیت نهایی از گلیکولیز است (۱۶). استفاده از پیروات به عنوان دارو به دلیل ناپایدار بودن محدود بوده به همین دلیل از اتیل پیروات که شامل اسید پیرووِیک و اتانول است استفاده می‌شود. اتیل پیروات که حاصل متابولیسم حد واسط گلوکز می‌باشد، دارای خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانتی بوده و به عنوان پاک کننده رادیکال‌های آزاد در داخل بافت‌ها عمل می‌کند (۱۸،۱۷). علاوه بر این، بررسی‌های صورت گرفته از کارآیی ویتامین E و اتیل پیروات در کاهش سمیت کلیوی و تخریب بافتی کلیه در موش (۱۹) و موش صحرایی (۲۰) حکایت دارند.

بر این اساس، هدف مطالعه حاضر ارزیابی اثرات محافظتی احتمالی ویتامین E و اتیل پیروات در برابر سمیت کلیوی ناشی از فنیل‌هیدرازین در موش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

همان‌گونه که پیش‌تر نیز عنوان شد، از آنجایی که فنیل‌هیدرازین به عنوان ماده‌ای مناسب جهت القاء کم‌خونی تجربی و مطالعه پیامدهای اختلال در روند خون‌رسانی بافتی در نظر گرفته می‌شود (۱)، در این مطالعه نیز فنیل‌هیدرازین (Sigma Aldrich P6926) جهت القاء کم‌خونی همولیتیک مورد استفاده قرار گرفت. ویتامین E از شرکت داروسازی اسوه (تهران-ایران) و داروی اتیل پیروات (Sigma Aldrich E47808) تهیه شد.

برای انجام این مطالعه که به صورت یک کارآزمایی تجربی تصادفی شده شاهد دار طرح ریزی شده بود، تعداد

۶۴ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ با وزن ۲۰-۲۵ گرم از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. حیوانات تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰±۵۰٪ در قفس‌هایی با پوشش خاک چوب نگهداری شدند. تمام حیوانات در شرایط تغذیه‌ای یکسان با ذرت، گندم، جو و پلت به نسبت‌های برابر تغذیه شده و امکان دسترسی آزاد به آب آشامیدنی نیز برای تمامی آنها وجود داشت. کلیه ضوابط و شرایط نگهداری و انجام آزمایشات روی حیوانات نیز بر اساس دستورالعمل‌های مصوب کمیته اخلاق دانشکده صورت پذیرفت. متعاقب دو هفته سازگاری با شرایط محیط، حیوانات به صورت تصادفی به هشت گروه هشت سری به شکل زیر تقسیم شدند و این دوره درمانی به مدت ۳۵ روز انجام شد:

۱- گروه کنترل (Control): شامل موش‌هایی هستند که روزانه سرم فیزیولوژی به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

۲- گروه فنیل‌هیدرازین (PHZ): حیوانات این گروه فنیل‌هیدرازین را به میزان ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت به‌منظور ایجاد کم‌خونی همولیتیک دریافت کردند (۲۱).

۳-گروه سوم (PHZ+Vit E): حیوانات این گروه علاوه بر فنیل‌هیدرازین، ویتامین E را نیز به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی چهار ساعت قبل از تجویز فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند (۲۲).

۴-گروه چهارم (PHZ+EP): حیوانات این گروه علاوه بر فنیل‌هیدرازین، اتیل پیروات را نیز به میزان ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی چهار ساعت قبل از تجویز فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند (۲۳).

۵-گروه پنجم (PHZ+Vit E+EP): حیوانات در این گروه علاوه بر فنیل‌هیدرازین، ویتامین E را به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی همراه با اتیل پیروات به میزان ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی چهار ساعت قبل از تجویز فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند.

۶-گروه ششم (Vit E): شامل موش‌هایی هستند که ویتامین E با دوز مشابه گروه‌های قبلی، بدون تزریق فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند.

۷-گروه هفتم (EP): شامل موش‌هایی هستند که اتیل پیروات با دوز مشابه گروه‌های قبلی، بدون تزریق فنیل‌هیدرازین دریافت نمودند.

۸- گروه هشتم (Vit E+EP): شامل موش‌های هستند که اتیل پیروات را همراه با ویتامین E با دوزهای مشابه گروه‌های قبل بدون تزریق فنیل‌هیدرازین دریافت کردند.

تمامی موش‌های موجود در هشت گروه ذکر شده ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، آسان‌کشی شدند سپس وزن بدن حیوانات و وزن کلیه‌ها توسط ترازوی دقیق آزمایشگاهی (در حد میلی‌گرم) اندازه‌گیری شد و نمونه‌های خون توسط سرنگ‌های استریل به‌صورت مستقیم از قلب جمع‌آوری گردیدند. جهت استحصال سرم، نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از کالبدگشایی، نمونه‌های بافتی کلیه با رعایت اصول استریل برداشت و جهت ثبوت به محلول ثبوتی فرمالین ۱۰٪ منتقل شدند.

به‌منظور ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام سرم (TAC)، روش FRAP مورد استفاده قرار گرفت. در این روش در pH اسیدی ایجاد شده توسط بافر استات، رنگ آبی تولید شده به واسطه احیای یون‌های فریک (Fe^{3+}) کمپلکس Fe^{3+}-TPTZ و تبدیل آنها به یون‌های فرو

(Fe^{2+})، در طول‌موج ۵۹۳ نانومتر و به صورت اسپکتروفتومتریک مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد (۲۴).

جهت تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی، مقادیر تولید مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در نمونه‌های سرمی بر اساس واکنش با اسید تیوباربیتوریک و تولید محصولی رنگی با حداکثر جذب نوری در ۵۳۲ نانومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و بر اساس منحنی کالیبراسیون استاندارد MDA محاسبه گردید (۲۵). همچنین برای ارزیابی بیوشیمیایی، فعالیت‌های سرمی آلبومین، کراتینین و اوره با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی مورد سنجش قرار گرفت.

نمونه‌های بافتی کلیه پس از ثبوت، به همراه مشخصات درون ظروف مخصوص قرار گرفته و متعاقب طی مراحل پاساژ بافتی، با استفاده از پارافین مذاب قالب‌گیری شدند. سپس، با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۷ میکرومتر از قالب‌های پارافینی تهیه گردید و درنهایت رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین جهت رنگ‌آمیزی نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

مطالعه هیستولوژی شامل بررسی حالت بافت بینابینی و شکل ساختاری قسمت‌های مختلف نفرون‌ها بود. مطالعه مورفومتری نیز شامل اندازه‌گیری قطر کلافه مویرگی، قطر جسمک کلیوی، قطر لومن لوله پیچیده دور، ارتفاع سلول بافت پوششی لوله پیچیده دور، قطر لومن پیچیده نزدیک، ارتفاع سلول‌های لوله پیچیده نزدیک، فضای ادراری، قطر هسته‌های لوله پیچیده دور و قطر هسته‌های پیچیده نزدیک بود که جهت مورفومتری پارامترهای نامبرده شده در بالا از میکروسکوپ دیجیتال Dino-Lite (Dino-Lite Digital Microscope, AnMo Electronics Corporation, Taiwan) مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند و نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار بیان شدند. جهت مقایسه بین گروه‌ها آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن تست تکمیلی Tukey مورد استفاده قرار گرفت و معیار استنتاج آماری $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج وزن بدن و کلیه

مقایسه میانگین وزن حیوانات در پایان مطالعه نشان داد که گروه فنیل‌هیدرازین کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل داشتند. استفاده از ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و با هم به همراه فنیل‌هیدرازین موجب افزایش معنی‌دار وزن حیوانات نسبت به گروه فنیل‌هیدرازین شد. مقایسه میانگین وزن کلیه در گروه‌های مختلف نشان داد که افزایش مشاهده شده در گروه فنیل‌هیدرازین نسبت به گروه کنترل معنی‌داری نمی‌باشد. کاهش ناشی از تجویز ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و با هم به همراه فنیل‌هیدرازین در وزن کلیه نیز در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین معنی‌دار نبود (جدول ۱).

نتایج مورفومتری

در بررسی‌های مربوط به قطر جسمک‌های کلیوی، کاهش اندازه جسمک‌های کلیوی در گروه دریافت کننده فنیل‌هیدرازین با دیگر گروه‌های آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار بود (نمودار ۱). قطر کلافه مویرگی در گروه دریافت کننده فنیل‌هیدرازین در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان داد که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار ۲). همچنین در مقایسه قطر لومن لوله پیچیده دور (نمودار ۳)، ارتفاع سلول‌های بافت پوششی لوله پیچیده دور (نمودار ۴)، فضای ادراری (نمودار ۵)، قطر هسته‌های لوله پیچیده دور (نمودار ۶) و قطر هسته‌های پیچیده نزدیک (نمودار ۷) نیز اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نگردید. می‌توان بیان نمود که تنها تغییرات مشاهده شده در قطر لومن لوله پیچیده نزدیک و ارتفاع سلول‌های پیچیده نزدیک بود، بدین ترتیب که در بررسی‌های مربوط به قطر لومن لوله پیچیده نزدیک مشاهده شد که گروه دریافت کننده

فنیل‌هیدرازین افزایش قطر لومن لوله پیچیده نزدیک را، نسبت به گروه کنترل نشان داد و با این گروه دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). گروه‌های دریافت کننده فنیل‌هیدرازین همراه با ویتامین E و اتیل پیروات دارای اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و هم گروه فنیل‌هیدرازین بودند (P<۰/۰۵)، همچنین در گروه‌های دریافت کننده ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و با هم بدون فنیل‌هیدرازین قطر لومن لوله پیچیده نزدیک در حد گروه کنترل شده ولی با گروه فنیل‌هیدرازین دارای اختلاف معنی‌دار بودند (P<۰/۰۵) (نمودار ۸).

در بررسی ارتفاع سلول‌های پیچیده نزدیک نیز گروه‌های دارای اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، گروه دریافت کننده فنیل‌هیدرازین و گروه‌های دریافت کننده فنیل‌هیدرازین همراه با ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و با هم بود (P<۰/۰۵). همچنین در گروه‌های دریافت کننده ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و با هم بدون فنیل‌هیدرازین دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) با گروه فنیل‌هیدرازین بودند (نمودار ۹).

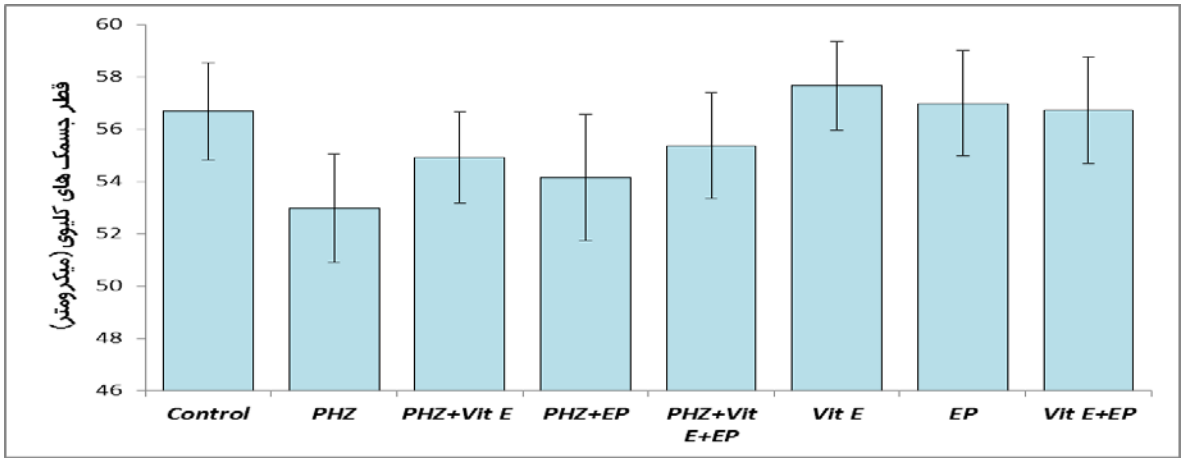
جدول ۱. نتایج میانگین وزن بدن و میانگین وزن کلیه در گروه‌ها بر حسب گرم

گروه	میانگین وزن گروه‌ها قبل از تزریق	میانگین وزن گروه‌ها بعد از تزریق	میانگین اختلاف وزن گروه‌ها قبل و بعد از تزریق	میانگین وزن کلیه
کنترل	۲۲/۰±۱۳/۵	۳۹/۰±۱۶/۴	۱۶/۰±۸۸/۴	۰/۰±۱۴۲۱/۰۱
فنیل‌هیدرازین	۲۲/۰±۸۹/۴	۳۳/۰±۳۳/۷[a]	۱۰/۰±۴۱/۶[a]	۰/۰±۱۵۹۱/۰۱
فنیل‌هیدرازین + ویتامین E	۲۳/۰±۰۸/۶	۳۷/۰±۸۳/۴[b]	۱۴/۰±۶۵/۵[a,b]	۰/۰±۱۵۳۱/۰۱
فنیل‌هیدرازین + اتیل پیروات	۲۲/۰±۹۱/۵	۳۸/۰±۰۴/۵[b]	۱۵/۰±۰۳/۴[a,b]	۰/۰±۱۵۴۴/۰۱
فنیل‌هیدرازین + ویتامین E + اتیل پیروات	۲۳/۰±۳۸/۵	۳۸/۰±۶۶/۴[b]	۱۴/۰±۹۱/۴[a,b]	۰/۰±۱۵۴۰/۰۱
ویتامین E	۲۲/۰±۹۰/۴	۳۹/۰±۵۰/۵[b]	۱۶/۰±۴۲/۸[b]	۰/۰±۱۴۵۳/۰۱
اتیل پیروات	۲۲/۰±۳۵/۶	۳۹/۰±۳۳/۴[b]	۱۷/۰±۰۶/۷[b]	۰/۰±۱۴۲۱/۰۱
ویتامین E + اتیل پیروات	۲۳/۰±۱۳/۷	۴۰/۰±۱۶/۳[b]	۱۶/۰±۹۸/۵[b]	۰/۰±۱۴۳۳/۰۱

داده‌ها بر اساس میانگین± انحراف معیار بیان شده‌اند.

a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵)

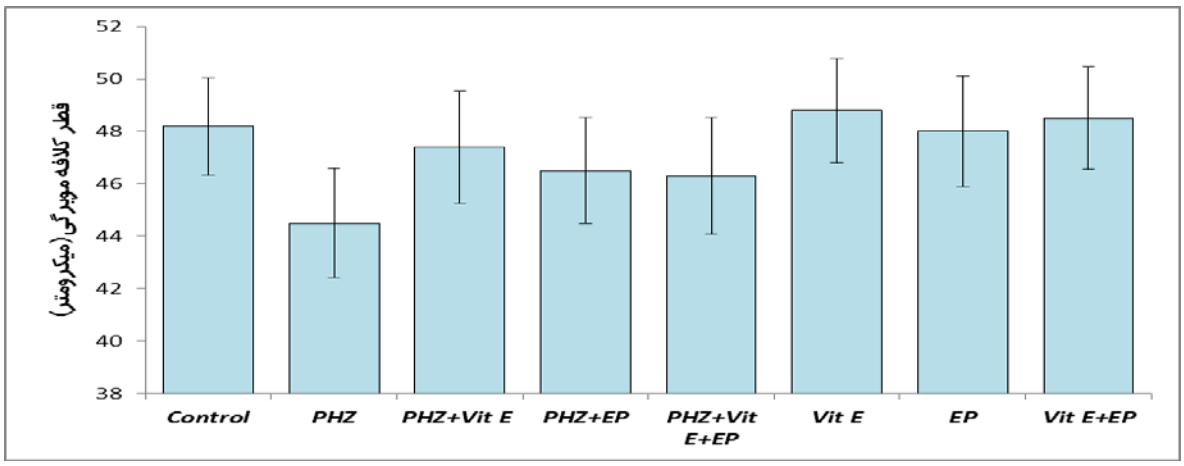
b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین (P<۰/۰۵)



نمودار ۱. میانگین قطر جسمک‌های کلیوی در گروه‌های مختلف آزمایشی بر حسب میکرومتر

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E،EP: اتیل پیروات، Con: کنترل

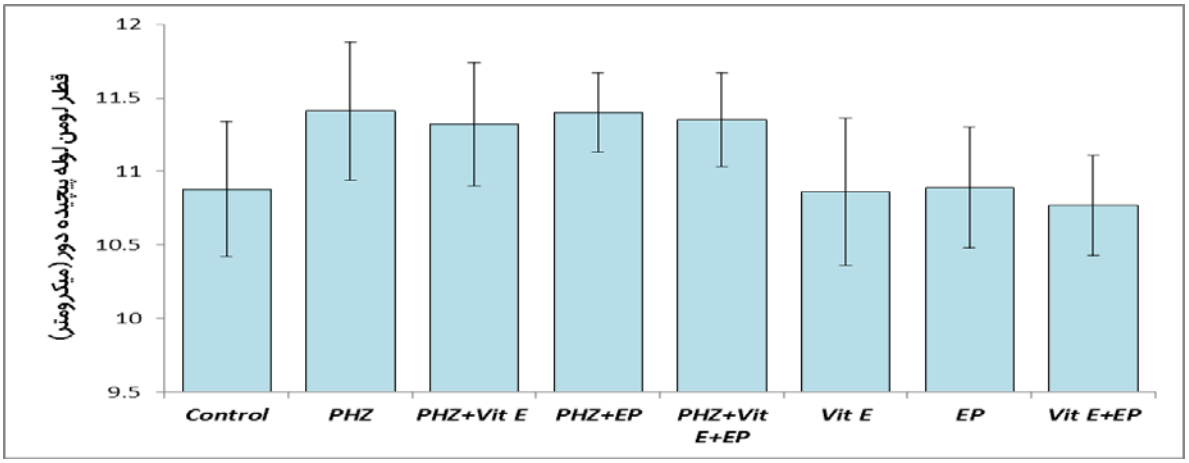
داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



نمودار ۲. میانگین قطر کلافه مویرگی در گروه‌های مختلف آزمایشی بر حسب میکرومتر

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E،EP: اتیل پیروات، Con: کنترل

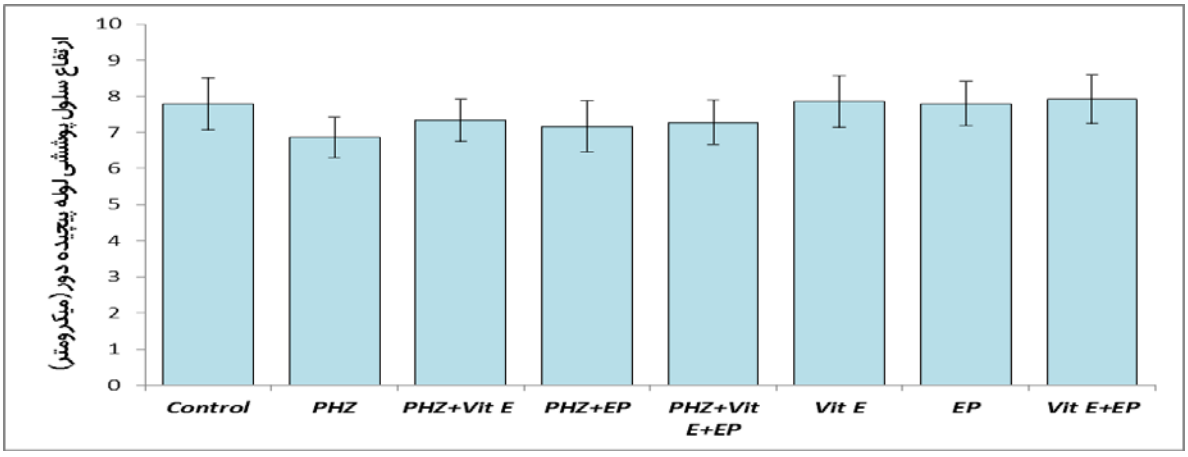
داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



نمودار ۳. میانگین قطر لومن لوله پیچیده دور در گروه‌های مختلف آزمایشی بر حسب میکرومتر

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E،EP: اتیل پیروات، Con: کنترل

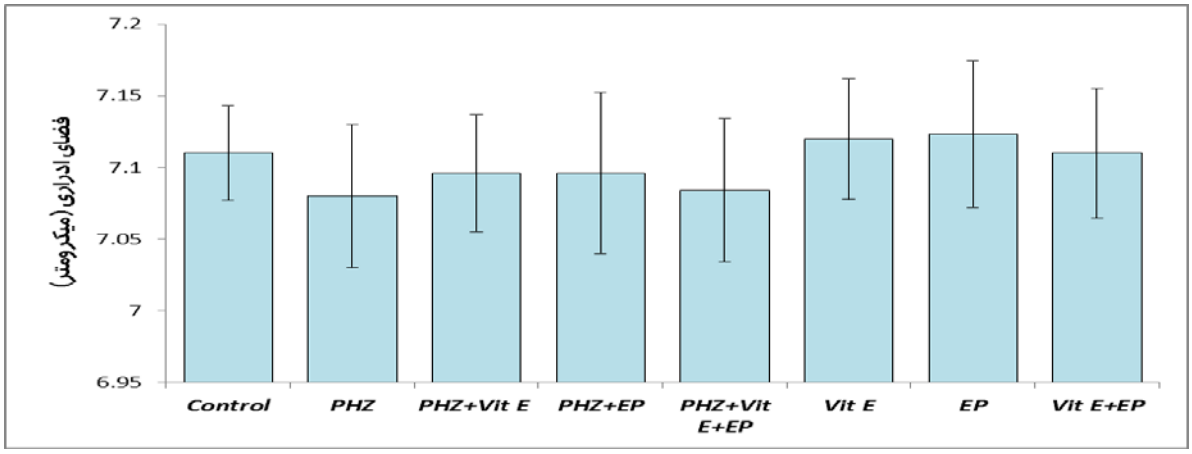
داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



نمودار ۴. ارتفاع سلول پوششی لوله پیچیده دور در گروه‌های مختلف آزمایشی بر حسب میکرومتر

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E، EP: اتیل پیروات، Con: کنترل

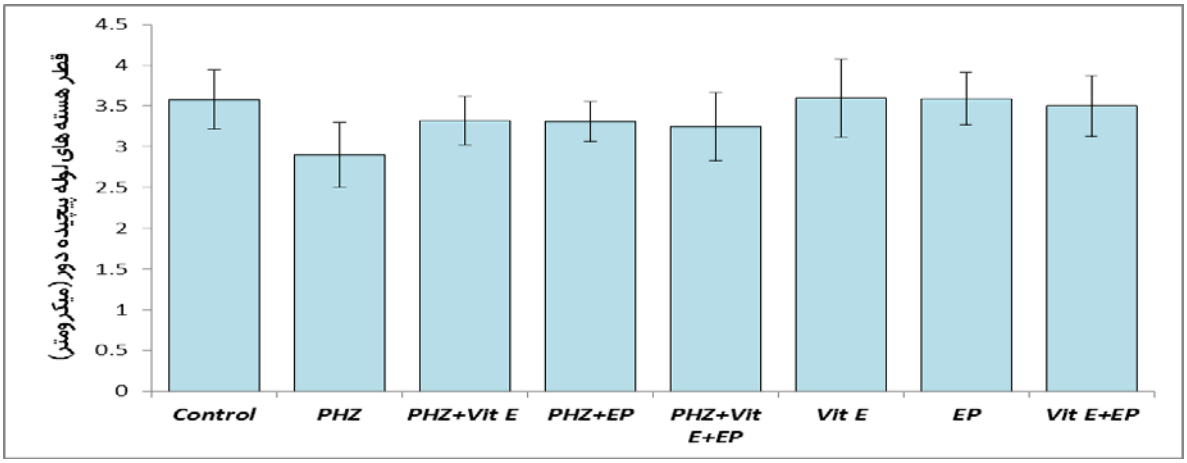
داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



نمودار ۵. میانگین فضای ادراری در گروه‌های مختلف آزمایشی بر حسب میکرومتر

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E،EP: اتیل پیروات، Con: کنترل

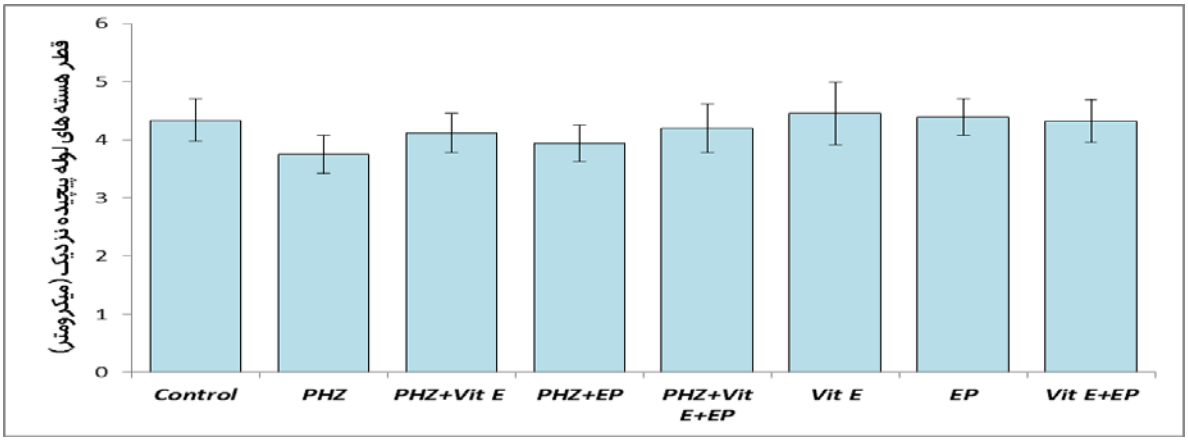
داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



نمودار ۶. قطر هسته‌های لوله پیچیده دور در گروه‌های مختلف آزمایشی بر حسب میکرومتر

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E،EP: اتیل پیروات، Con: کنترل

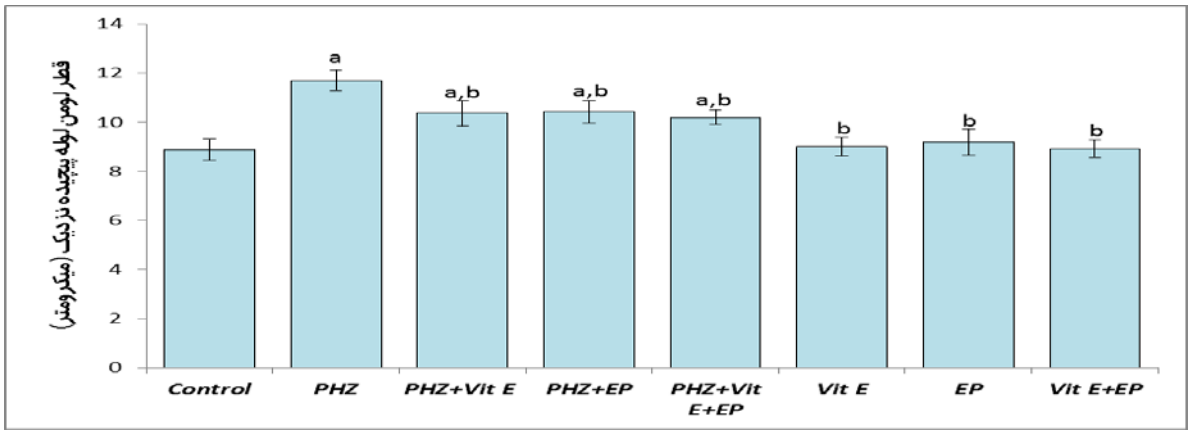
داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



نمودار ۷. قطر هسته‌های لوله پیچیده نزدیک در گروه‌های مختلف آزمایشی بر حسب میکرومتر

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E، EP: اتیل پیروات، Con: کنترل

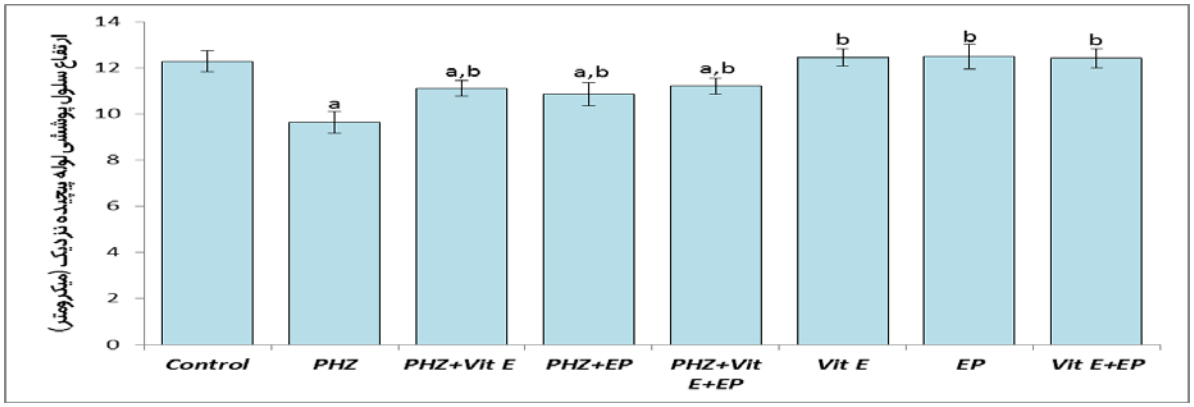
داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.



نمودار ۸. میانگین قطر لومن لوله پیچیده نزدیک در گروه‌های مختلف آزمایشی بر حسب میکرومتر

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E،EP: اتیل پیروات، Con: کنترل.

داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵)، b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین (P<۰/۰۵)



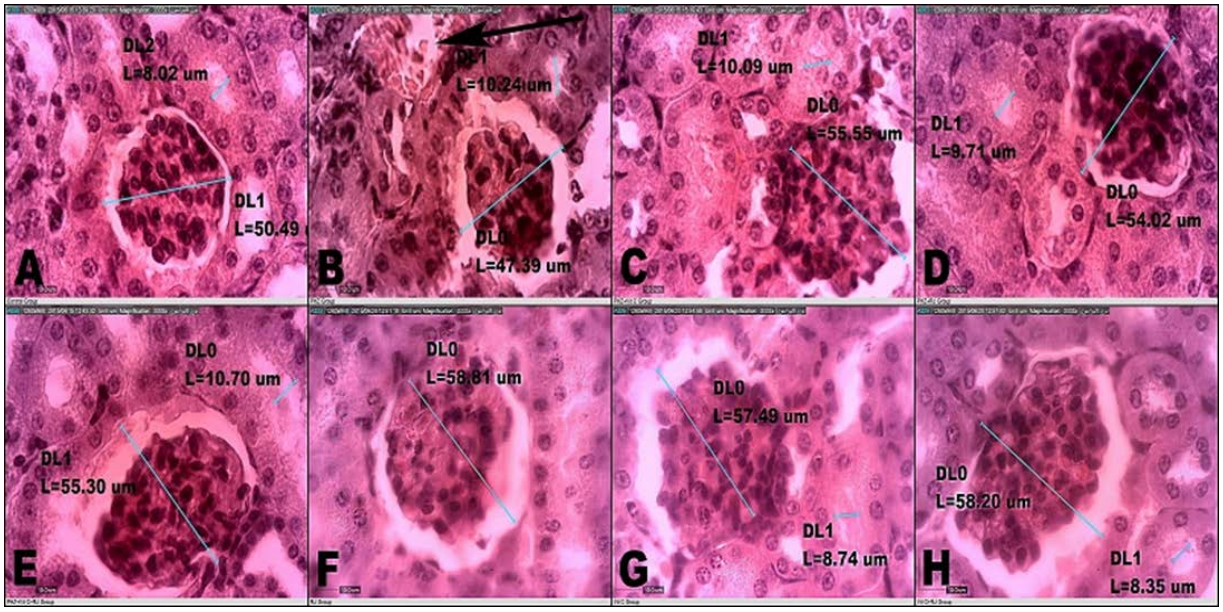
نمودار ۹. ارتفاع سلول پوششی لوله پیچیده نزدیک در گروه‌های مختلف آزمایشی بر حسب میکرومتر

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E،EP: اتیل پیروات، Con: کنترل.

داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵)، b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین (P<۰/۰۵)

مطالعه هیستولوژی

در نتایج مربوط به هیستولوژی گروه‌های دریافت کننده فنیل‌هیدرازین، ساختار سلولی در لوله پیچیده نزدیک دارای هسته هتروکروماتین و بازوفیل‌تری نسبت به گروه کنترل بود. همچنین سیتوپلاسم در این سلول‌ها اسیدوفیل کم‌رنگ بودند. همچنین این سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل شکل مکعبی کوتاه داشتند (تصویر ۱). این ویژگی‌ها در سلول‌های پوششی لوله پیچیده نزدیک حاکی از کاهش فعالیت این سلول‌ها است که تحت تأثیر هیپوکسی ناشی از آنمی می‌تواند باشد. همچنین در مورد سلول‌های پوششی لوله پیچیده نزدیک در گروه‌های دریافت کننده فنیل‌هیدرازین همراه با ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و با هم همانند گروه کنترل دارای هسته یوکروماتین با یک یا دو هستک مشخص می‌باشند. این سلول‌ها دارای سیتوپلاسم اسیدوفیل پررنگ بودند و رأس سلول‌ها نیز دارای حالت برآمده بود. همه این ویژگی‌ها حاکی از این است که در سلول‌های پوششی لوله پیچیده نزدیک احتمالاً ویتامین E و اتیل پیروات تا حدودی توانسته‌اند از اثرات هیپوکسی ناشی از فنیل‌هیدرازین پیشگیری نماید. لازم به توضیح است که در سایر سلول‌های پوششی بخش‌های دیگر نفرون‌های کلیوی از لحاظ هیستولوژی در مقایسه با گروه کنترل ویژگی متفاوت و بارزی مشاهده نگردید (تصویر ۱).



تصویر ۱. رنگ‌آمیزی H&E و ریخته‌سنجی از طریق میکروسکوپ مجهز به دستگاه و نرم‌افزار دینولیت.

قسمت A: گروه کنترل (۴۰۰x).

قسمت B: گروه فنیل‌هیدرازین تزریق شده با فنیل‌هیدرازین (۴۰۰ x).

قسمت C و D و E: گروه‌های دریافت کننده ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و با هم به همراه فنیل‌هیدرازین (۴۰۰x).

قسمت F و G و H: گروه‌های دریافت کننده ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی (۴۰۰x).

نتایج آزمایشات سرمی و بیوشیمیایی

در مقایسه با گروه کنترل، تجویز فنیل‌هیدرازین به شکل معنی‌داری موجب افزایش سطوح سرمی کراتینین و اوره و کاهش مقادیر سرمی آلبومین در موش‌ها گردید ($P<۰/۰۵$). گروه‌های دریافت کننده ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و باهم بدون فنیل‌هیدرازین دارای اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) با گروه فنیل‌هیدرازین بودند (جدول ۲).

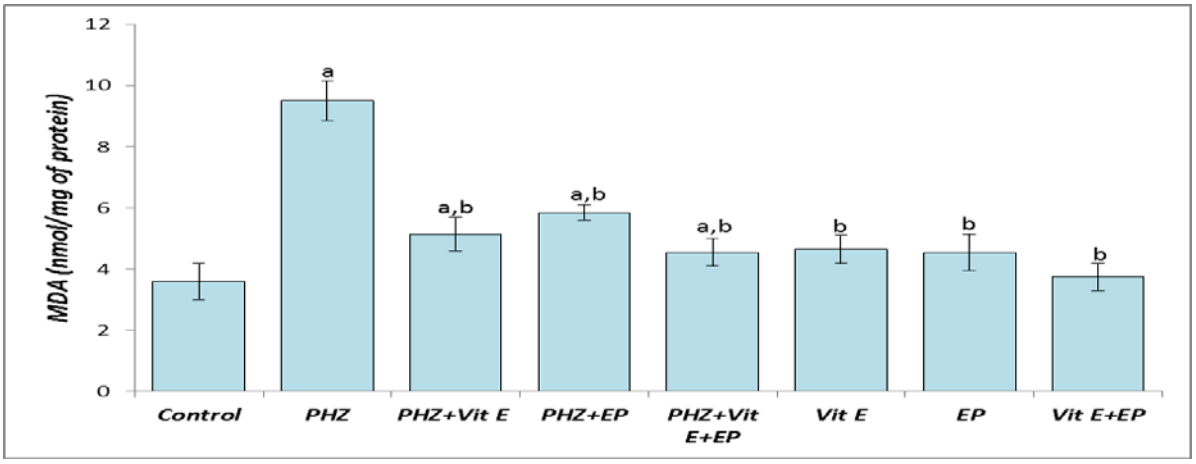
جدول ۲. نتایج میانگین آزمایشات بیوشیمیایی آنزیم‌های کلیوی در گروه‌های مختلف آزمایشی

گروه	کراتینین (mg/dl)	آلبومین (mg/dl)	اوره (mg/dl)
کنترل	۰/۰±۶۱/۰۸	۲/۰±۲۵/۳	۳۹/۸±۶۸/۴
فنیل‌هیدرازین	۰/۰±۷۶/۰۶[a]	۱/۴۱±۰/۲[a]	۶۴/۶±۷۳/۵[a]
فنیل‌هیدرازین + ویتامین E	۰/۰±۶۸/۰۸	۱/۷۷±۰/۶	۵۰/۷±۰۶/۵
فنیل‌هیدرازین + اتیل پیروات	۰/۰±۶۵/۰۷	۱/۹۷±۰/۴	۴۵/۹±۷۶/۱
فنیل‌هیدرازین + ویتامین E + اتیل پیروات	۰/۰±۶۵/۰۹	۱/۰±۹۱/۵	۴۹/۸±۸۳/۴
ویتامین E	۰/۰±۵۹/۰۶[b]	۲/۴۸±۰/۴[b]	۴۰/۶±۵۸/۱[b]
اتیل پیروات	۰/۰±۶۲/۰۴[b]	۲/۳۹±۰/۳[b]	۴۱/۹±۶۶/۷[b]
ویتامین E + اتیل پیروات	۰/۰±۶۰/۰۵[b]	۲/۰±۶۸/۲[b]	۴۴/۷±۵۸/۱[b]

داده‌ها بر اساس میانگین± انحراف معیار بیان شده‌اند. mg/dl: میلی‌گرم بر دسی‌لیتر.

a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵)، b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین (P<۰/۰۵).

بررسی‌های بیوشیمیایی سرمی صورت گرفته در گروه‌های مختلف آزمایشی آشکار ساخت که متعاقب تجویز فنیل‌هیدرازین، میزان MDA، افزایش (نمودار ۱۰) و میزان TAC، کاهش معنی‌داری (نمودار ۱۱) را در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد. تجویز ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و با هم به همراه فنیل‌هیدرازین، کاهش معنی‌داری در میزان MDA (نمودار ۱۰) و در عین حال افزایش معنی‌داری در میزان TAC (نمودار ۱۱) را در مقایسه با گروهی که تنها فنیل‌هیدرازین را دریافت کرده بودند، موجب گردید.



نمودار ۱۰. مقایسه میانگین میزان مالون‌دی‌آلدئید در سرم گروه‌های مختلف آزمایشی

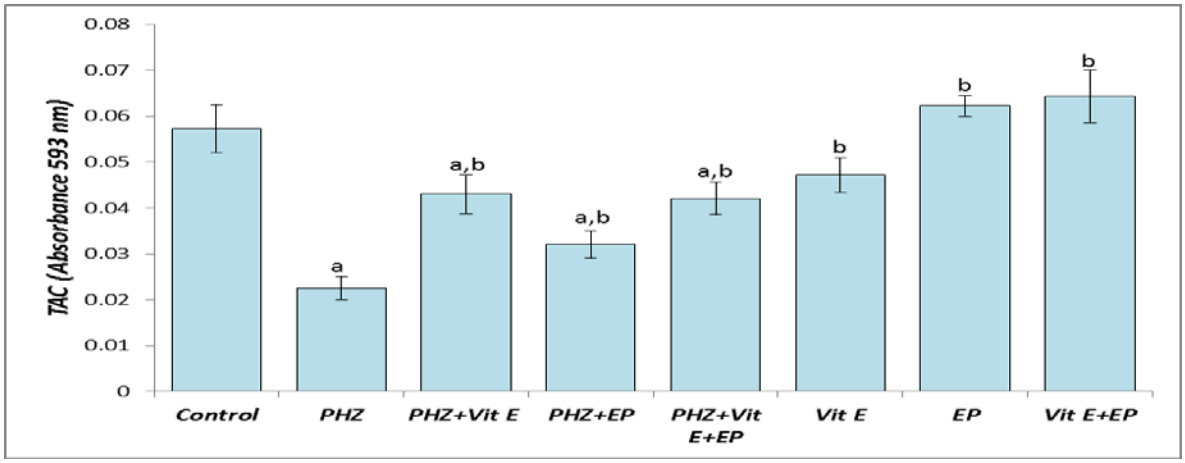
PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E،EP: اتیل پیروات، Con: کنترل

MDA: مالون‌دی‌آلدئید، nmol/mg of protein: نانومول بر میلی‌گرم پروتئین

داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵)

b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین (P<۰/۰۵)



نمودار ۱۱. مقایسه میانگین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام سرم در گروه‌های مختلف آزمایشی

PHZ: فنیل‌هیدرازین، Vit E: ویتامین E،EP: اتیل پیروات، Con: کنترل

TAC: ظرفیت آنتی‌اکسیدانت، Absorbance 593 nm: طول‌موج جذبی ۵۹۳ نانومتر

داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

a: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵)

b: وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه فنیل‌هیدرازین (P<۰/۰۵)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تزریق فنیل‌هیدرازین باعث آسیب بافتی در کلیه شده و شاخص‌های بیوشیمیایی، هیستولوژی و هیستومورفومتری را نسبت به گروه کنترل به شکل معنی‌داری تحت تأثیر قرار می‌دهد و همچنین در بخشی از مهم‌ترین یافته‌های مطالعه حاضر، مشخص گردید که مصرف ویتامین E و اتیل پیروات از تغییرات معنی‌دار اشاره شده در شاخص‌های بیوشیمیایی، هیستولوژی و هیستومورفومتری و همچنین آسیب‌های بافتی مشاهده شده جلوگیری کرد. جایگاه ویژه و بی‌همتای کلیه به عنوان اندامی مهم جهت تصفیه و دفع ترکیبات زنوبیوتیک نظیر داروها و همچنین تنظیم تعادل آب و الکترولیت‌ها، ارزیابی‌های بافت‌شناسی را به عنوان شاخصی جهت رصد سلامت این اندام مورد توجه قرار داده است (۲۶). مطالعات گذشته حاکی از این است که فنیل‌هیدرازین به واسطه ایجاد همولیز شدید، موجبات آزاد شدن مقادیر زیادی هموگلوبین را فراهم می‌آورد. هموگلوبین آزاد پلاسما و محصولات کاتابولیک آن همانند آهن که کاتالیزورهای بالقوه‌ای برای آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد محسوب می‌گردند، همراه با متابولیت‌های اکسیدانت فنیل‌هیدرازین موجب بروز آسیب‌های اکسیداتیو در بافت کلیه می‌گردند (۲۷). با در نظر گرفتن یافته‌های مطالعه حاضر که هم‌راستا با نتایج پژوهش‌های متعدد در این زمینه نیز می‌باشند، چنین به نظر می‌رسد که شکل‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی و نیز تضعیف دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانت بدن متعاقب تجویز فنیل‌هیدرازین، ازجمله مکانیسم‌های اصلی و دخیل در سمیت کلیوی این ترکیب می‌باشند.

به طور واضح مشخص شده است که کاهش توانایی کلیه در حفظ آب بدن و همچنین افزایش دفع ادرار به دنبال اختلال در خون‌رسانی کلیه، موجب کاهش وزن بدن می‌گردد که این امر با یافته‌های مطالعه حاضر نیز هم‌خوانی دارد و می‌تواند مؤید نقش کم‌خونی ناشی از فنیل‌هیدرازین در بروز نقایص عملکردی کلیه باشد (۲۸). از سوی دیگر، افزایش هر چند نامحسوس وزن کلیه در موش‌های دریافت کننده فنیل‌هیدرازین می‌تواند با

احتباس آب و مواد مغذی در بافت کلیه متعاقب اختلال در فعالیت طبیعی این اندام در ارتباط باشد (۲۹).

همچنین گزارشات فراوانی بر تأثیر همولیز داخل عروقی ناشی از تنش‌های اکسیداتیو در بروز آسیب‌های سلولی و تغییرات ساختاری در بافت کلیه حیوانات تیمار شده با فنیل‌هیدرازین صحه می‌گذارند (۲۷،۱۲). از سوی دیگر، بالا رفتن تولید رادیکال‌های آزاد به عنوان یکی از علل اصلی دژنراسیون توبولی کلیه به‌خصوص در لوله‌های پیچیده نزدیک در نظر گرفته می‌شود (۳۰). علاوه بر این، اختلال در متابولیسم آهن و افزایش رسوب آن در بافت کلیه، به واسطه پی‌ریزی پراکسیداسیون لیپیدی و نیز آسیب DNA، زمینه آسیب لوله‌های پیچیده نزدیک کلیه را فراهم می‌آورد (۳۱). از این روی، بر اساس نتایج ارزیابی‌های بافت‌شناسی مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد که شکل‌گیری تنش اکسیداتیو و نیز افزایش سطوح آهن آزاد در خون و بافت‌ها متعاقب تجویز فنیل‌هیدرازین، موجبات آسیب سلول‌های پوششی لوله‌های پیچیده نزدیک کلیه و نیز اتساع حفره میانی این لوله‌ها را به واسطه افزایش فشار هیدروستاتیک داخل حفره میانی ناشی از انسداد داخل توبولی فراهم می‌آورند (۳۲).

تجویز ویتامین E و اتیل پیروات به تنهایی و با هم به همراه فنیل‌هیدرازین در این مطالعه، موجب کاهش قابل ملاحظه جراحات کلیوی در موش‌های تیمار شده با فنیل هیدرازین گردید. یافته‌های حاصل از تحقیقات پیشین در این زمینه نیز کارایی ترکیبات واجد ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانت را در کاهش آسیب‌های کلیوی ناشی از فنیل‌هیدرازین مورد تأیید قرار داده است (۳۳،۲۷). به نظر می‌رسد ویتامین E و اتیل پیروات به سبب دارا بودن عملکردهای آنتی‌اکسیدانت و ضد آماسی، به واسطه مهار واکنش‌های آماسی و پراکسیداسیون لیپیدی و نیز تقویت فعالیت دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانت بدن می‌توانند موجب بهبود نسبی آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از فنیل‌هیدرازین در کلیه موش گردند (۳۴-۳۷). همچنان‌که مطالعات صورت پذیرفته در گذشته نیز نشان داده‌اند که ویتامین E در برابر سمیت کلیوی سلول‌های پوششی لوله‌های پیچیده نزدیک کلیه ناشی پارا نونایل‌فنل (۳۸) و نیز آسیب‌های کلیوی ناشی از کادمیوم در موش‌های صحرایی واجد اثرات محافظتی می‌باشد (۳۹) و اتیل پیروات قادر است جراحات اکسیداتیو و آسیب‌های بافتی ناشی از سیسپلاتین در کلیه موش‌های صحرایی (۴۰) و همچنین آسیب‌های کلیوی در موش‌های صحرایی دیابتی شده را (۴۱) را کاهش دهد.

با جمع‌بندی یافته‌های مطالعه حاضر چنین بر می‌آید که فنیل‌هیدرازین به واسطه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، پی‌ریزی تنش‌های اکسیداتیو، اختلال در متابولیسم آهن و نیز تضعیف دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانت بدن، موجبات آسیب‌های سلولی و اختلالات ساختاری کلیه موش را فراهم می‌آورد. در حالی که ویتامین E و اتیل پیروات به موجب قابلیت‌های آنتی‌اکسیدانت و ضدالتهابی، عوارض بافتی ناشی از تجویز فنیل‌هیدرازین در کلیه موش را کاهش می‌دهند. با این وجود، تأیید کارایی درمانی ویتامین E و اتیل پیروات در موارد بالینی کم‌خونی و مسمومیت‌های ناشی از فنیل‌هیدرازین نیازمند طرح‌ریزی مطالعات تجربی گسترده‌تر و نیز کارآزمایی‌های بالینی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه ارومیه به سبب تأمین مالی این مطالعه اعلام می‌دارند.

References

1. Karbownik M, Reiter RJ, Garcia JJ, Tan D. Melatonin reduces phenylhydrazine-induced oxidative damage to cellular membranes: evidence for the involvement of iron. Int J Biochem Cell Biol. 2000; 32(10): 1045-1054.
2. Berger J. Phenylhydrazine haematotoxicity. J Appl Biomed. 2007; 5: 125-130.
3. Pesquero J, Alfaro V, Palacios L. Acid-base analysis during experimental anemia in rats. Can J Physiol Pharmacol. 2000; 78(10): 774-780.
4. Luangaram S, Kukongviriyapan U, Pakdeechote P, Kukongviriyapan V, Pannangpetch P. Protective effects of quercetin against phenylhydrazine-induced vascular dysfunction and oxidative stress in rats. Food Chem Toxicol. 2007; 45(3): 448-455.
5. Shukla P, Yadav NK, Singh P, Bansode FW, Singh RK. Phenylhydrazine induced toxicity: a review on its haematotoxicity. Int J Basic Appl Med Sci. 2012; 2(2): 86-91.
6. Misra HP, Fridovich I. The oxidation of phenylhydrazine: superoxide and mechanism. Biochemistry. 1976; 15(3): 681-687.
7. Chakrabarti S, Sonaye B, Naik AA, Nadkarni PP. Erythrocyte membrane protein damage by oxidation products of phenylhydrazine. Biochem Mol Biol Int. 1995; 35: 255-263.
8. Itano HA, Hirota K, Hosokawa K. Mechanism of induction of haemolytic anaemia by phenylhydrazine. Nature. 1975; 256(5519): 665-667.
9. Latunde-Dada GO, Vulpe CD, Anderson GJ, Simpson RJ, McKie AT. Tissue-specific changes in iron metabolism genes in mice following phenylhydrazine-induced haemolysis. Biochim Biophys Acta. 2004; 1690(2): 169-176.
10. Hershko CM, Link GM, Konijn AM, Cabantchik ZI. Iron chelation therapy. Curr Hematol Rep. 2005; 4(2): 110-116.
11. Swann JW, Contrera JF. Depletion of cardiac norepinephrine during two forms of hemolytic anemia in the rat. Circ Res. 1976; 38(3): 179-184.
12. Sato H, Sakairi T, Fujimura H, Sugimoto J, Kume E, Kitamura K, et al. Hematological and morphological investigation of thrombogenic mechanisms in the lungs of phenylhydrazine-treated rats. Exp Toxicol Pathol. 2013; 65(4): 457-462.
13. Sato H, Terasaki N, Sakairi T, Tanaka M, Takahashi K. Gene expression profiling in the lungs of phenylhydrazine-treated rats: the contribution of pro-inflammatory response and endothelial dysfunction to acute thrombosis. Exp Toxicol Pathol. 2015; 67(2): 205-210.
14. Al-Attar AM. Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. Saudi J Biol Sci. 2011; 18(1): 63-72.
15. Zingg JM, Azzi A. "Non-antioxidant activities of vitamin E". Curr Med Chem. 2004; 11(9): 1113-1133.
16. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. Science. 2009; 324(5930): 1029-1033.

17. Varma SD, Hegde KR, Kovtun S. Oxidative damage to lens inculture: reversibility pyruvate ethylpyruvate. Ophthalmologica. 2006; 220(1): 52-57.
18. Brand K. Aerobic glycolysis by proliferating cell:protection against oxidative stress at the expense of energy yield. J Bio Energ Biomember. 1997; 29: 355-364.
19. Miyaji T, Hu X, Yuen PS, Muramatsu Y, Iyer S, Hewitt SM, et al. Ethyl pyruvate decreases sepsis-induced acute renal failure and multiple organ damage in aged mice. Kidney Int. 2003; 64(5): 1620-1631.
20. Aslanturk A, Uzunhisarcikli M, Kalender S, Demir F. Sodium selenite and vitamin E in preventing mercuric chloride induced renal toxicity in rats. Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biol Res Assoc. 2014; 70: 185-190.
21. Gorustovich AA, Steimetz T, Giglio MJ, Guglielmotti MB. A histomorphometric study of alveolar bone modeling and remodeling under experimental anaemia and polycythaemia in rats. Arch Oral Biol. 2006; 51(3): 246-251.
22. Ganesh E, Chowdhury A, Malarvani T, Ashok vardhan N. Hepatoprotective effect of Vitamin- E & C in Albino rats. Int J Adv Lif Sci. 2012; 3: 21-26.
23. Atashfaraz E, Farokhi F, Najafi G. Protective effect of ethyl pyruvate on epididymal sperm characteristics, oxidative stress and testosterone level in methotrexate treated mice. J Reproduc Infertil. 2013; 14(4): 190-196.
24. Jalali AS, Hasanzadeh S, Malekinejad H. Achillea millefolium inflorescence aqueous extract ameliorates cyclophosphamide-induced toxicity in rat testis: stereological evidences. Chin J Nat Med. 2012; 10(4): 247-254.
25. Najafi G, Farokhi F, Jalali AS, Akbarizadeh Z. Protection against cyclosporine-induced reprotoxicity by Satureja khuzestanica essential oil in male rats. Int J Fertil Steril. 2016; 9(4): 548-557.
26. Noori A, Amjad L, Yazdani F. The effects of Artemisia deserti ethanolic extract on pathology and function of rat kidney. Avicenna J Phytomed. 2014; 4(6): 371-376.
27. Lim YK, Jenner A, Ali AB, Wang Y, Hsu SI, Chong SM, et al. Haptoglobin reduces renal oxidative DNA and tissue damage during phenylhydrazine-induced hemolysis. Kidney Int. 2000; 58(3): 1033-1044.
28. Vafapour M, Nematbakhsh M, Monajemi R, Mazaheri S, Talebi A, Talebi N, et al. Effect of γ-aminobutyric acid on kidney injury induced by renal ischemia-reperfusion in male and female rats: gender-related difference. Adv Biomed Res. 2015; 4: 158-162.
29. Bonventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. J Am Soc Nephrol. 2003; 14(8): 2199-2210.
30. Veljkovic M, Pavlovic DR, Stojiljkovic N, Ilic S, Petrovic A, Jovanovic I, et al. Morphological and morphometric study of protective effect of green tea in gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Life Sci. 2016; 147: 85-91.

31. Siddiqi A, Hasan SK, Nafees S, Rashid S, Saidullah B, Sultana S. Chemopreventive efficacy of hesperidin against chemically induced nephrotoxicity and renal carcinogenesis via amelioration of oxidative stress and modulation of multiple molecular pathways. Exp Mol Pathol. 2015; 99(3): 641-653.
32. Gotoh N, Yan Q, Du Z, Biemesderfer D, Kashgarian M, Mooseker MS, et al. Altered renal proximal tubular endocytosis and histology in mice lacking myosin-VI. Cytoskeleton (Hoboken). 2010; 67(3): 178-192.
33. Ozcan A, Atakisi E, Karapehlivan M, Atakisi O, Citil M. Effect of L-carnitine on oxidative damage to liver, kidney and spleen induced by phenylhydrazine in mice. J Appl Anim Res. 2007; 32: 97-100.
34. Chung KY, Park JJ, Kim YS. The role of high-mobility group box-1 in renal ischemia and reperfusion injury and the effect of ethyl pyruvate. Transplan Proceeds. 2008; 40(7): 2136-2138.
35. Rizzo MR, Abbatecola AM, Barbieri M, Vietri MT, Cioffi M, Grella R, et al. Evidence for anti-inflammatory effects of combined administration of vitamin E and C in older persons with impaired fasting glucose: impact on insulin action. J Am Coll Nutr. 2008; 27(4): 505-511.
36. Hussein AM, Saleh HA. Effect of sodium selenite and vitamin E on the renal cortex in rats: an ultrastructure study. Tissue & Cell. 2014; 46(3): 170-177.
37. Sobouti B, Hooman N, Movahed M. The effect of vitamin E or vitamin A on the prevention of renal scarring in children with acute pyelonephritis. Pediat Nephrol (Berlin, Germany). 2013; 28(2): 277-283.
38. Soleimani MM, Tavakolyan Z. Stereological Study of the Effect of Vitamin E on Rat Kidney Tissue Treated with Para-Nonylphenol. J Cell & Tissue. 2012; 3(4): 297-306.
39. Karabulut-Bulan O, Bolkent S, Yanardag R, Bilgin-Sokmen B. The role of vitamin C, vitamin E, and selenium on cadmium-induced renal toxicity of rats. Drug Chem Toxicol. 2008; 31(4): 413-426.
40. Kelle I, Akkoc H, Tunik S, Nergiz Y, Erdinc M, Erdinc L. Protective effects of ethyl pyruvate in cisplatin-induced nephrotoxicity. Biotechnol Equipm. 2014; 28(4): 674-680.
41. Ju KD, Shin EK, Cho EJ, Yoon HB, Kim HS, Kim H, et al. Ethyl pyruvate ameliorates albuminuria and glomerular injury in the animal model of diabetic nephropathy. Am J Physiol Renal. 2012; 302(5): 606-613.

Protective Effects of Ethyl Pyruvate and Vitamin E Against Phenylhydrazine-Induced Nephrotoxicity in Mice

***Anbara H*[*1], Shahrooz R[2], Mozafari AA[3], Malekinejad H[4], Morovvati H[5], Sheybani MT[6], Saadati S[7]**

1.PHD Student, Department of Comparative Histology & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran, hojat.anbara@ut.ac.ir.

2. Professor, Department of Comparative Histology & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

3. PHD, Department of Comparative Histology & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.

4. Professor, Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

5. Professor, Department of Comparative Histology & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

6. Associate Professor, Department of Comparative Histology & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

7. Doctor of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.

Received: *21 Jun 2018* Accepted: *10 March 2018*

Abstract

***Background* :** Phenylhydrazine (PHZ) as a well-known hemolytic compound causes toxicity in different tissues. The present study aimed to evaluate the probable protective effects of ethyl pyruvate (EP) and vitamin E (vit E) against the damage caused by PHZ in mice kidney.
Materials and Methods: The adult male mice were divided into eight groups, with 8 mice in each group. The control group received normal saline (0.1ml/day, IP). The second group received PHZ (60mg/kg/48h, IP). The third group received PHZ along with vitamin E (100mg/kg/day, IP). The fourth group received ethyl pyruvate (40mg/kg/day, orally) along with PHZ, and the fifth group received vitamin E and ethyl pyruvate at the same dose as the previous groups, along with PHZ. The sixth group received vitamin E, the seventh group received ethyl pyruvate and the eighth group received vitamin E and ethyl pyruvate, with the same doses as previous groups, without the PHZ. After 35 days of treatment, serum and kidney tissue were sampled for serological, histological and histomorphometrical study.

Results: PHZ treatment caused a significant elevation ($P<0.05$) in the serum concentration of malondealdehyde, creatinine, urea and decreased serum level of total antioxidant capacity and albumin. Moreover, PHZ significantly ($P<0.05$) increased the luminal diameter of the proximal convoluted tubule and decreased ($P<0.05$) their epithelial cells height. Administration of vitamin E and ethyl pyruvate significantly improved the observed changes in these parameters.
Conclusion: It seems that EP and vit E, as free radical inhibitors, decreased the kidney toxicity induced by PHZ in mice.

Keywords: Ethyl pyruvate, Vitamin E, Phenylhydrazine, Kidney, Mice.

Citation: Anbara H, Shahrooz R, Mozafari AA, Malekinejad H, Morovvati H, Sheybani MT, Saadati S. Protective Effects of Ethyl Pyruvate and Vitamin E Against Phenylhydrazine-Induced Nephrotoxicity in Mice. Yafte. 2018; 20(1):52-67.