اثر تجویز اسانس گیاه مرزه خوزستانی بر شدت آسیب کلیوی ناشی از تجویز سیس‌پلاتین در موش‌های صحرایی

بهرام رسولیان[1]، مرجان جاویدنیا[2]، مینا پولادچنگ[2]، مرضیه رشیدی پور[3]، بهرام دلفان[4]، سمیرا گودرزی[2]

۱-استادیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
۲-دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
۳-دانشجوی کارشناسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم‌آباد، باشگاه پژوهشگران جوان، لرستان
۴-دانشیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره سیزدهم / شماره ۲ / تابستان ۹۰ / مسلسل ۴۸

چکیده

دریافت مقاله: ۹۰/۱/۲۰ ، پذیرش مقاله: ۹۰/۳/۱۴

* **مقدمه:** سیس‌پلاتین از داروهای اصلی شیمی‌درمانی انواعی از سرطان است و نفروپاتی مهمترین عارضه آن محسوب می‌شود. رادیکالهای آزاد اکسیژن نقش مهمی در ایجاد سمیت کلیوی ناشی از این دارو دارند. برخی اسانسهای گیاهی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدان هستند. هدف از این تحقیق تعیین اثر اسانس گیاه مرزه خوزستانی بر نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین است.

* **مواد و روش‌ها:** موشهای صحرایی نر ویستار ۳۰۰-۲۰۰ گرمی مورد استفاده قرار گرفتند. در گروه کنترل (n=۱۰) سیس‌پلاتین (۵mg/kg) و در گروههای مورد (در هر گروه n=۶) اسانس با دوزهای ۵۰mg/kg، ۱۰۰ و ۲۰۰ و سپس سیس‌پلاتین تزریق شد. در تعدادی از گروهها (در هر گروه n=۶-۹) نیز اسانس و سپس نرمال سالین (بجای سیس‌پلاتین) تزریق شد. ۳ روز بعد از تجویز سیس‌پلاتین (یا نرمال سالین) غلظت کراتینین و اوره پلاسما و کلیرانس کراتینین و کسر دفع سدیم بعنوان شاخصهای عملکرد کلیه سنجیده شد.

* **یافته‌ها:** تجویز اسانس با دوز ۲۰۰mg/kg همزمان با سیس‌پلاتین منجر به مرگ حیوانات شد. تزریق اسانس به مقدار ۱۰۰mg/kg نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین را تشدید کرد و در دوز ۵۰mg/kg شدت نفروپاتی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت. تزریق اسانس به‌تنهایی اثری بر عملکرد کلیه نداشت.

* **بحث و نتیجه‌گیری:** تجویز همزمان اسانس مرزه خوزستانی با سیس‌پلاتین سمیت کلیوی آنرا کم نمی‌کند و ممکن است در دوزهای بالاتر نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین را شدیدتر کند.

* **واژه‌های کلیدی:** سیس پلاتین، مرزه خوزستانی، نفروپاتی

آدرس مکاتبه: خرم آباد، انتهای خیابان رازی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی
پست الکترونیک: bahramrasoulian@gmail.com

مقدمه

سیس‌پلاتین در شیمی درمانی مبتلایان به انواعی از تومورهای توپر مثل سرطانهای بیضه، تخمدان، سر و گردن، مثانه، ریه و انواع لوسمی کاربرد دارد ولی نفروپاتی ناشی از آن مهمترین عاملی است که باعث محدودیت در مصرف آن می شود (۱و۲). با وجود بکارگیری اقدامات پیشگیرانه‌یی چون هیدراتاسیون باز هم درصد قابل توجهی از موارد نارسایی حاد کلیه در افراد بستری در بیمارستان ناشی از تجویز اجتناب ناپذیر این دارو می‌باشد (۵-۳). سیس‌پلاتین از طریق تشکیل رادیکال های آزاد و نیز سرکوب سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی یک بار اضافی اکسیدانت را به کلیه تحمیل می‌کند (۶و۷). هدف از تحقیق فعلی تعیین اثر اسانس گیاه مرزه خوزستانی (Satureja Khuzestanica) که حاوی مواد آنتی اکسیدان می‌باشد (۸)، بر نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین است. اسانس گیاه مرزه خوزستانی شامل کارواکرول، سیمن و ترپن و ترکیبات مختلف دیگر است. این گیاه قدرت غیر فعال کردن رادیکالهایی مثل آنیونهای سوپراکسید، هیدروکسیل و هیدروپروکسیل را دارد. کارواکرول که ماده مؤثره اصلی اسانس مرزه خوزستانی است، یک ماده فنولیک می‌باشد (۸و۹). از آنجایی که سیس‌پلاتین اثر کاهندگی قابل توجهی بر حجم تومور داشته و در میزان بقا بیماران اثرات بسزایی دارد، بررسیهایی از این قبیل می‌تواند راهگشای مشکلات بیماران باشد. در حال حاضر برای پیشگیری از نفروپاتی مریض هیدراته می‌شود و باید از تجویز نفروتوکسین‌های شناخته شده تا حد امکان خودداری شود و قبل از شروع درمان با این دارو یک آزمایش کامل ادراری به عمل بیاید؛ ولی باز هم با توجه به اقدامات فوق بسیاری از بیماران دچار درجاتی از آسیب غیر قابل بازگشت کلیوی می‌شوند (۱۰و۱۱).

مواد و روش‌ها

مطالعه از نوع تجربی بود و بر روی موش‌های صحرایی نر ۳۰۰-۲۰۰ گرمی انجام شد. موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به ۹ گروه با حداقل ۶ رت در هر گروه تقسیم شدند. رتها در تمام طول دوره بررسی در اتاق حیوانات با درجه حرارت کنترل شده ۲ ± ۲۳ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی نگهداری شدند. در ضمن آب و غذای کافی در تمام مدت در اختیار آنها قرار داشت. مرزه خوزستانی از رویشگاه‌های طبیعی استان لرستان جمع‌آوری شده و در آزمایشگاه فیتوشیمی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی اسانس‌گیری شد. نمونه‌یی از اسانس برای آنالیز شیمیایی توسط دستگاه GC-Mass به دانشگاه لرستان ارسال شد. گروه‌بندی رت‌ها در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱. گروه بندی رتها. NS نرمال سالین، TWN توئین، SKE اسانس مرزه خوزستانی (منظور از عددهای ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ دوزهای تزریقی اسانس با مقیاس mg به ازای یک kg وزن رت است).

گروه	مواد و داروی دریافتی
۱	NS+NS
۲	TWN+ NS
۳	SKE20+NS
۴	SKE50+NS
۵	SKE100+NS
۶	SKE200+NS
۷	SKE50+CP
۸	SKE100+CP
۹	NS+CP

گروه ۱ دریافت کننده نرمال سالین در دو نوبت است. گروه ۲ دریافت کننده امولسیفایر اسانس(مخلوط توئین ۲۰ با نرمال سالین) و سپس نرمال سالین است. گروه‌های ۳، ۴، ۵ و ۶ گروه‌های دریافت کننده اسانس گیاه مرزه خوزستانی و سپس نرمال سالین هستند که به ترتیب دوزهای mg/kg ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ از اسانس به موشها تزریق شد. گروه۷ و ۸ دریافت کننده اسانس مرزه خوزستانی (به ترتیب با دوزهای mg/kg ۵۰ و ۱۰۰) و سپس سیس‌پلاتین بودند. گروه ۹ (کنترل) دریافت کننده نرمال سالین و سیس‌پلاتین است.

در هر گروه فاصله تزریق سیس‌پلاتین یا نرمال سالین با تزریق قبلی یک ساعت است. در گروهی حاوی ۴ عدد رت که اسانس با دوز ۲۰۰mg/kg و سپس سیس‌پلاتین تزریق شد هر ۴ موش مردند و به همین دلیل این گروه عملا از بررسی حذف شده و داده‌یی برای آن وجود ندارد. همه تزریقها به صورت داخل صفاقی انجام شد. دوز سیس‌پلاتین تزریقی (در گروههای ۹-۷) ۵ mg/kg بود و در گروه‌های ۶-۱ در نوبت دوم تزریق با حجمی معادل حجم سیس‌پلاتین تزریقی، نرمال سالین بجای سیس‌پلاتین تزریق شد. از آنجایی که اسانس مرزه خوزستانی از آب سبک‌تر بوده و با آن مخلوط نمی‌شود، از محلول توئین ۲۰ درصد به‌همراه نرمال سالین برای مخلوط کردن اسانس با محلول آبی و تزریق آن استفاده شد (گروه‌های ۸-۳). همه تزریق‌ها به صورت داخل صفاقی انجام شد. بعد از سه روز نمونه خون موش از آئورت گرفته و پلاسمای آن جدا شد. ۲۴ ساعت قبل از خون-گیری موش‌ها در قفس متابولیک با آب و غذای کافی قرار داده می‌شدند. این قفس جهت جدا کردن ادرار و مدفوع موش و جمع آوری ادرار ۲۴ ساعته استفاده می‌گردد. شاخصهای کراتینین، اوره و سدیم پلاسما و سدیم و کراتینین ادرار اندازه‌گیری شد. سنجش اوره و کراتینین پلاسما و ادرار توسط کیت‌های تجاری موجود در بازار و دستگاه اتوآلایزر انجام شد. سنجش سدیم و پتاسیم پلاسما و ادرار توسط دستگاه الکترولیت آنالایزر انجام شد. کلیرانس کراتینین و کسر دفع سدیم (FENa%) از فرمول‌های استاندارد مربوطه محاسبه شد.

داده‌ها به صورت میانه (مینیمم-ماکزیمم) گزارش شده‌اند. برای مقایسه آماری داده‌ها از تست آماری کروسکال والیس استفاده شد و در صورت معنی‌دار بودن نتایج از تست آماری من- ویتنی برای مقایسه گروهها با گروه۹ و سایر مقایسه‌های بین ۲ گروهی استفاده شد. $p<0.05$ بعنوان سطح معنی‌دار بودن از لحاظ آماری در نظر گرفته شد. برای مقایسه آماری و گزارش توصیفی داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS استفاده شد و نمودارها به کمک نرم افزار Graph pad prism 5 رسم شد.

یافته‌ها

نتایج آنالیز اسانس گیاه ساتورجا خوزستانیکا که به روش GC.Mass انجام شده است در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. چنانچه ملاحظه می‌گردد بیش از ۷۰ درصد از اسانس مورد نظر را ترکیب کارواکرول تشکیل داده است.

جدول شماره ۲: نتایج آنالیز اسانس گیاه مرزه خوزستانی

شماره	ترکیبات	درصد
۱	α - Thujene	۰/۱۱
۲	α - Pinene	۰/۰۸
۳	Myrcene	۱/۱۱
۴	6-Methyl-3 , 5 Heptadine-2- one	۰/۴۷
۵	α - Terpinene	۰/۲۱
۶	Para - cymene	۳/۲۳
۷	β - Phellandrene	۰/۱۵
۸	γ -Terpinene	۲/۲۷
۹	Trans , sabinene hydrate	۰/۹۹
۱۰	Troineolene	۰/۱۵
۱۱	Linalool	۲/۴۵
۱۲	4-terpineol	۲/۸۵
۱۳	Linalyl propionate	۰/۲۰
۱۴	Rosifiliol	۱/۲۱
۱۵	Trans , dihydro carvone	۰/۱۸
۱۶	Carvacrol	۷۰/۷۶
۱۷	Durenol	۰/۹۴
۱۸	β - caryophyllene	۰/۲۶
۱۹	Geranyl acetone	۰/۲۹
۲۰	Farnesene	۰/۳۷
۲۱	β - bisabolene	۲/۴۸
۲۲	α - bisabolene	۰/۴۵
۲۳	Caryophyllene oxide	۰/۹۶
۲۴	α - bisabolol	۰/۱۵
۲۵	Farnesyl acetone a	۳/۲۷
۲۶	Geranyl linalool isomer b	۴/۱۵
۲۷	Benzonitrile, m-phenthyl	۰/۲۶
	جمع	۱۰۰



نمودار شماره ۱. کراتینین پلاسما (بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر) در گروههای مورد بررسی. علامت ستاره نشانه معنادار بودن اختلاف با گروه شاهد (گروه ۹) است.



نمودار شماره ۲. اوره پلاسما (بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر) در گروههای مورد بررسی. علامت ستاره نشانه معنادار بودن اختلاف با گروه شاهد (گروه ۹) است.



نمودار شماره ۳. کلیرانس کراتینین (برحسب میلی‌لیتر در ۲۴ ساعت به ازای یک کیلوگرم وزن بدن رت) در گروههای مورد بررسی. علامت ستاره نشانه معنی‌دار بودن اختلاف با گروه شاهد (گروه ۹) است. a به معنی $0.05 > p > 0.08$ (معنی‌دار بودن به میزان مرزی) است.



نمودار شماره ۴. کسر دفع سدیم (بر حسب درصد) در گروههای مورد بررسی. علامت ستاره نشانه معنادار بودن اختلاف با گروه شاهد (گروه ۹) است. a به معنی $0.05 > p > 0.08$ (معنی‌دار بودن به میزان مرزی) است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق که در مدلی از نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین در موشهای صحرایی انجام شد حاکی از این است که هر چند اسانس مرزه خوزستانی به تنهایی در تجویز داخل صفاقی تا دوز ۲۰۰ mg/kg اثر قابل توجهی بر عملکرد کلیه ندارد ولی مصرف همزمان آن با سیس‌پلاتین نه تنها نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین را در رتها کاهش نخواهد داد بلکه موجب بدتر شدن نفروپاتی یا حتی مرگ رتها به علتی نامشخص خواهد شد.

از آنجا که یکی از مکانیسمهای اصلی نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین، آسیب ناشی از رادیکالهای آزاد است (۶و۷)، انتظار اولیه کاهش آسیب کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین در اثر تجویز مواد آنتی اکسیدان است. این انتظار در بررسیهای متعددی به اثبات رسیده است و مواد آنتی اکسیدان شناخته شده‌ای چون ویتامینهای E و C و داروی ان-استیل-سیستئین در کاهش نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین مؤثر بوده‌اند (۱۵-۱۲). روشهایی مانند پیش‌درمانی با اکسیژن نیز با همین منطق توانسته است با افزایش قدرت مکانیسمهای دفاعی ذاتی بافتی،

نوعی حالت آماده‌باش در برابر آسیب کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین در موشهای صحرایی ایجاد کند (۱۶).

بسیاری از آنتی اکسیدانهای گیاهی هم در زمینه کاهش نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین مؤثر بوده‌اند: کروسین از ترکیبات کاروتنوئیدی موجود در زعفران است و نشان داده شده است که تجویز آن، سمیت کلیوی ناشی از تجویز تک دوز سیس‌پلاتین با دوز mg/kg ۵ را کاهش داده است. پیشنهاد داده شده است که کروسین از طریق مهار رادیکالهای آزاد، مهار استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش سنتز گلوتاتیون می‌تواند باعث کاهش آسیب توبولی و در نتیجه پیشگیری از سمیت حاد کلیوی سیس‌پلاتین گردد (۱۷).

در بررسی بیرانوند و همکاران نیز نشان داده شد که تجویز عصاره برگ زیتون می‌تواند بطور نسبی از شدت آسیب عملکردی کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین در موشهای صحرایی بکاهد (۱۸).

در مطالعه ای دیگر اثر گیاه علف شیر بر نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین مورد بررسی قرار گرفته است. این گیاه به دلیل ترکیبات فلاونوئیدی و وجود گلیکوزیدهای آنتراکینون به عنوان داروی مدر مورد استفاده قرار می‌گیرد. تجویز ۴ دوز مختلف این گیاه با مقادیر ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی گرم بر کیلوگرم نیم ساعت قبل از تجویز داروی سیس‌پلاتین کاهش معنی دار آسیب کلیوی در این گروهها را در مقایسه با گروه سیس‌پلاتین نشان داده است. یافته های استریولوژیک و هیستوپاتولوژیک مؤید این ادعاست (۱۹).

تلاش ما در این تحقیق نیز بر کاهش آسیب اکسیدان ناشی از سیس‌پلاتین بر کلیه معطوف شده بود و تصور اولیه بر این بود که اسانس گیاه مرزه خوزستانی که حاوی مواد آنتی اکسیدان است (۸) در کاهش نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین مؤثر باشد. منتهی به نظر می‌رسد که اسانس گیاه مرزه خوزستانی بطور بالقوه اثرات مضری بر بافت کلیه داشته باشد که هر چند این اثر در تجویز اسانس به تنهایی مشهود نبوده است ولی موجب تشدید نارسایی کلیوی در مصرف همزمان دوزهای بالاتر اسانس با سیس‌پلاتین شده است. علت مرگ رتها در تجویز همزمان اسانس با دوز mg/kg ۲۰۰ با سیس‌پلاتین نیاز به بررسی بیشتر دارد و ممکن است مربوط به مشکلات کلیوی باشد.

در پایان پیشنهاد می‌گردد روی دوزهای دیگر همین گیاه کار شود و در بررسیهای جداگانه از ترکیبات خالص اسانس مثل کارواکرول به صورت تزریقی و خوراکی استفاده شود و روی مصرف خوراکی عصاره گیاه مرزه خوزستانی نیز کار شود. بررسیهای دقیق در مورد میزان سمیت اسانس و عصاره این گیاه نیز توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بدلیل حمایت مالی تشکر می‌گردد. از سرکار خانم شهلا احمدی که زحمت تهیه و شناسایی گیاه را تقبل فرمودند نیز تشکر می‌شود. از سرکار خانم مهندس صفیه اوتادی نیز به جهت حمایتهای بی‌دریغشان تشکر می‌شود.

References

1. Livingston R. Cisplatin in the treatment of solid tumors: effect of dose and schedule. J Natl Cancer I. 1989;81(10):724.
2. Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. Semin Nephrol 2003;23(5):460-4.
3. Berns JS, Ford PA. Renal toxicities of antineoplastic drugs and bone marrow transplantation. Semin Nephrol 1997;17(1):54-6
4. Santoso JT, Lucci JA, 3rd, Coleman RL, Schafer I, Hannigan EV. Saline, mannitol, and furosemide hydration in acute cisplatin nephrotoxicity: a randomized trial. Cancer Chemother Pharmacol 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. Cetin R, Devrim E, Kılıçoğlu B, Avci A, Candır ? , et al. Cisplatin impairs antioxidant system and causes oxidation in rat kidney tissues: Possible protective roles of natural antioxidant foods. J Appl Toxicol 2006;26(1):42-6.
7. Sadzuka Y, Shoji T, Takino Y. Effect of cisplatin on the activities of enzymes which protect against lipid peroxidation. Biochem Pharmacol 1992;43(8):1872-5.
8. Abdollahi M, Salehnia A, Mortazavi S, Ebrahimi M, Shafiee A, Fouladian F, et al. Antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidemic, reproduction stimulatory properties and safety of essential oil of Satureja Khuzestanica in rat in vivo: a oxicopharmacological study. Medical science monitor: international medical J Exp Clin Research 2003;9(9): BR331-5
9. Farsam H, Amanlou M, Radpour M, Salehinia A, Shafiee A. Composition of the essential oils of wild and cultivated Satureja khuzistanica Jamzad from Iran. Flavour Frag J 2004;19(4):308-10.
10. Launay-Vacher V, Rey JB ,Isnard-Bagnis C, Deray G, Daouphars M. Prevention of cisplatin nephrotoxicity: state of the art and recommendations from the European Society of Clinical Pharmacy Special Interest Group on Cancer Care. Cancer Chemoth Pharm 2008;61(6):903-9.
11. Ries F, Klastersky J. Nephrotoxicity induced by cancer chemotherapy with special emphasis on cisplatin toxicity. Am J Kidney Dis 1986;8(5):368-79
12. 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.
13. Appenroth D, Frob S, Kersten L, Splinter FK, Winnefeld K. Protective effects of vitamin E and C on cisplatin nephrotoxicity in developing rats. Arch Toxicol 1997;71(11):677-83.
14. Appenroth D, Winnefeld K, Schr.ter H, Rost M. Beneficial effect of acetylcysteine on cisplatin nephrotoxicity in rats. J Appl Toxicol 1993;13(3):189-92.
15. Sheikh-Hamad D, Timmins K, Jalali Z. Cisplatin-induced renal toxicity: possible

reversal by N-acetylcysteine treatment. J Am Soc Nephrol 1997;8(10):1640-4.

16. Rasoulian B, Jafari M, Mahbod M, Dehaj ME, Nowrozi M, Wahhabaghai H, et al. Pretreatment with oxygen protects rat kidney from cisplatin nephrotoxicity. Renal Failure 2009;32(2):234-42.
17. Naghizadeh B, Boroushaki MT, Mofidpour H. Protective effect of Crocin against Cisplatin-induced acute renal damage in rat. Iran j Bas Med Sci 2007; 9(4 (32)):281-286 (In Persian)
18. Beiranvand A, Rasoulian B, Alirezaei M, Hashemi P, Pilevarian AA, Ezatpour B, et al. Pretreatment with Olive Leaf Extract partially attenuates cisplatin induced nephrotoxicity in rats. Yafte 2010; 11(5):35-44 (In Persian)
19. Zahiri Sh, Dezfoulian AR, Dehghani F. The Protective Role of Galium Aparine on Cisplatin – Induced Nephrotoxicity in Male Rats. Armaghane-danesh 2006;41(11): 17-26 (In Persian)

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.