

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

بهرام رسولیان^۱، مرجان جاویدنیا^۲، مینا پولادچنگ^۳، مرضیه رشیدی پور^۳، بهرام دلفان^۴، سمیرا گودرزی^۲

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: ۹۰/۱/۱۰، پذیرش مقاله: ۹۰/۱۳/۱۴

*** مقدمه:** سیس پلاتین از داروهای اصلی شیمی درمانی انواعی از سرطان است و نفع‌رسانی 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 نفع‌رسانی ناشی از سیس پلاتین است.

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

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

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

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

آدرس مکاتبه: خرم‌آباد، انتهای خیابان رازی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی

پست الکترونیک: bahramrasoulia@gmail.com

مقدمه

گروه با حداقل ۶ رت در هر گروه تقسیم شدند. رت‌ها در تمام طول دوره بررسی در اتاق حیوانات با درجه حرارت کنترل شده 23 ± 2 درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت 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. گروه ۷ و ۸ دریافت کننده اسانس مرزه خوزستانی (به ترتیب با دوزهای mg/kg ۵۰ و ۱۰۰) و سپس سیس پلاتین بودند. گروه ۹ (کنترل) دریافت کننده نرمال سالین و سیس پلاتین است.

سیس پلاتین در شیمی درمانی مبتلایان به انواعی از تومورهای توپر مثل سرطانهای بیضه، تخمدان، سر و گردن، مئانه، ریه و انواع لوسمی کاربرد دارد ولی نفع‌رسانی ناشی از آن مهمترین عاملی است که باعث محدودیت در مصرف آن می‌شود (۱ و ۲). 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). سیس پلاتین از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد و نیز سرکوب سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی یک بار اضافی اکسیدانت را به کلیه تحمیل می‌کند (۶ و ۷). هدف از تحقیق فعلی تعیین اثر اسانس گیاه مرزه خوزستانی (Satureja Khuzestanica) که حاوی مواد آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۸)، بر نفع‌رسانی ناشی از سیس پلاتین 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 (۸ و ۹). از آنجایی که سیس پلاتین 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 نفع‌رسانی مریض هیدراته می‌شود و باید از تجویز نفع‌رسانی‌های 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 (۱۰ و ۱۱).

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

یافته‌ها

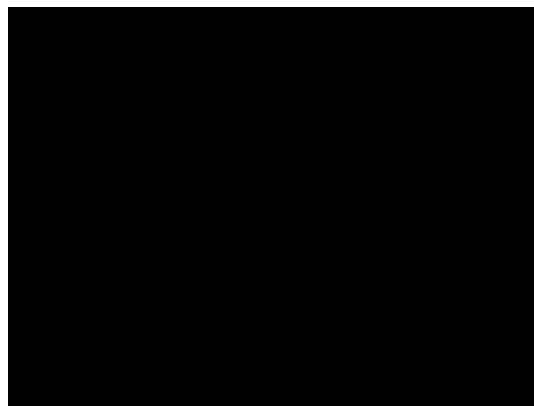
نتایج آنالیز اسانس گیاه ساتورجا خوزستانی که به روش GC.Mass انجام شده است در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. چنانچه ملاحظه می‌گردد بیش از ۷۰ درصد از اسانس مورد نظر را ترکیب کارواکرول تشکیل داده است.

جدول شماره ۲: نتایج آنالیز اسانس گیاه مرزه خوزستانی

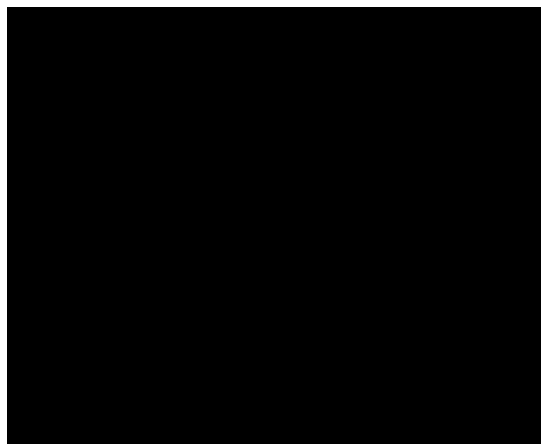
شماره	ترکیبات	درصد
۱	α - Thujene	۰/۱۱
۲	α - Pinene	۰/۰۸
۳	Myrcene	۱/۱۱
۴	6-Methyl-3, 5 Heptadine-2- one	۰/۴۷
۵	α - Terpinene	۰/۲۱
۶	Para - cymene	۳/۲۳
۷	β - Phellandrene	۰/۱۵
۸	γ - Terpinene	۲/۲۷
۹	Trans , sabinene hydrate	۰/۹۹
۱۰	Troineolene	۰/۱۵
۱۱	Linalool	۲/۴۵
۱۲	4-terpineol	۲/۸۵
۱۳	Linalyl propionate	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-phenethyl	۰/۲۶
۱۰۰	جمع	

در هر گروه فاصله تزریق سیس پلاتین یا نرمال سالین با تزریق قبلی یک ساعت است. در گروهی حاوی ۴ عدد رت که اسانس با دوز ۲۰۰ mg/kg و سپس سیس پلاتین تزریق شد هر ۴ موش مردند و به همین دلیل این گروه عملاً از بررسی حذف شده و داده‌یی برای آن وجود ندارد. همه تزریقها به صورت داخل صفاقی انجام شد. دوز سیس پلاتین تزریقی (در گروههای ۹-۷) ۵ mg/kg بود و در گروههای ۶-۱ در نوبت دوم تزریق با حجمی معادل حجم سیس پلاتین تزریقی، نرمال سالین بجای سیس پلاتین تزریق شد. از آنجایی که اسانس مرزه خوزستانی از آب سبکتر بوده و با آن مخلوط نمی‌شود، از محلول توئین ۲۰ درصد به همراه 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 پلاسمای و کراتینین ادرار اندازه‌گیری شد. سنجش اوره و کراتینین پلاسمای و ادرار توسط کیت‌های تجاری موجود در بازار و دستگاه اتوالایزر انجام شد. سنجش سدیم و پتاسیم پلاسمای 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 معنی دار بودن نتایج از تست آماری من-ویتنی برای مقایسه گروهها با گروه ۹ و سایر مقایسه‌های بین ۲ گروهی استفاده شد. $p < 0.05$ بعنوان سطح معنی دار 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.



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. $p < 0.08$ به معنی $0.05 < p$ (معنی دار بودن به میزان مرزی) است.

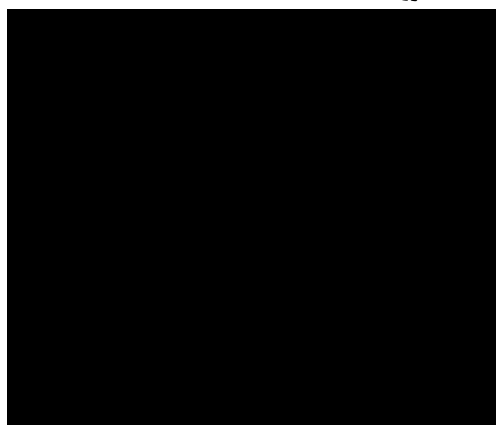


نمودار شماره ۱. کراتینین پلاسما (بر حسب میلی گرم در دسی لیتر) در گروههای مورد بررسی. علامت ستاره نشانه معنادار بودن اختلاف با گروه شاهد (گروه ۹) است.

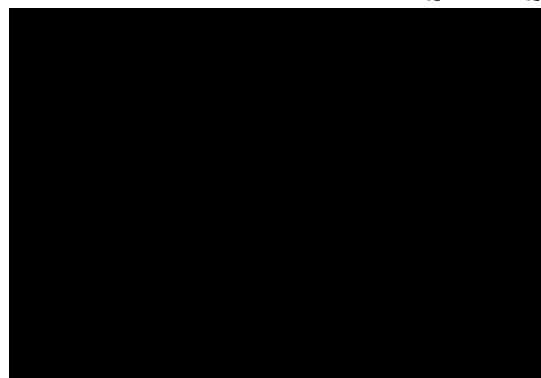
بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق که در مدلی از نوروباتی ناشی از سیس پلاتین در موشهای صحرایی انجام شد حاکی از این است که هر چند اسانس مرزه خوزستانی به تنهایی در تجویز داخل صفاقی تا دوز 200 mg/kg اثر قابل توجهی بر عملکرد کلیه ندارد ولی مصرف همزمان آن با سیس پلاتین نه تنها نوروباتی ناشی از سیس پلاتین را در رتها کاهش نخواهد داد بلکه موجب بدتر شدن نوروباتی یا حتی مرگ رتها به علتی نامشخص خواهد شد.

از آنجا که یکی از مکانیسمهای اصلی نوروباتی ناشی از سیس پلاتین، آسیب ناشی از رادیکالهای آزاد است (۷۶)، انتظار اولیه کاهش آسیب کلیوی ناشی از سیس پلاتین در اثر تجویز مواد آنتی اکسیدان است. این انتظار در بررسیهای متعددی به اثبات رسیده است و مواد آنتی اکسیدان شناخته شده ای چون ویتامینهای E و C و داروی ان-استیل-سیستئین در کاهش نوروباتی ناشی از سیس پلاتین مؤثر بوده اند (۱۵-۱۲). روشهایی مانند پیش درمانی با اکسیژن نیز با همین منطق توانسته است با افزایش قدرت مکانیسمهای دفاعی ذاتی بافتی،



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



نمودار شماره ۳. کلیرانس کراتینین (بر حسب میلی لیتر در ۲۴ ساعت به ازای یک کیلوگرم وزن بدن رت) در گروههای مورد بررسی. علامت ستاره نشانه معنی دار بودن اختلاف با گروه شاهد (گروه ۹) است. $p < 0.08$ به معنی $0.05 < p$ (معنی دار بودن به میزان مرزی) است.

خوزستانی بطور بالقوه اثرات مضر 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 سیس پلاتین شده است. علت مرگ رتها در تجویز همزمان اسانس با دوز 200 mg/kg با سیس پلاتین 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.

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

بسیاری از آنتی‌اکسیدانهای گیاهی هم در زمینه کاهش نفروپاتی ناشی از سیس پلاتین 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 سیس پلاتین با دوز 5 mg/kg 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 سیس پلاتین 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 سیس پلاتین در موشهای صحرایی بکاهد (۱۸).

در مطالعه ای دیگر اثر گیاه علف شیر بر نفروپاتی ناشی از سیس پلاتین 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 میلی‌گرم بر کیلوگرم نیم ساعت قبل از تجویز داروی سیس پلاتین کاهش معنی‌دار آسیب کلیوی در این گروهها را در مقایسه با گروه سیس پلاتین نشان داده است. یافته‌های استریولوژیک و هیستوپاتولوژیک مؤید این ادعاست (۱۹).

تلاش ما در این تحقیق نیز بر کاهش آسیب اکسیدان ناشی از سیس پلاتین بر کلیه معطوف شده بود و تصور اولیه بر این بود که اسانس گیاه مرزه خوزستانی که حاوی مواد آنتی‌اکسیدان است (۸) در کاهش نفروپاتی ناشی از سیس پلاتین مؤثر باشد. منتهی به نظر می‌رسد که اسانس گیاه مرزه

References

- Livingston R. Cisplatin in the treatment of solid tumors: effect of dose and schedule. *J Natl Cancer I.* 1989;81(10):724.
- Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol* 2003;23(5):460-4.
- Berns JS, Ford PA. Renal toxicities of antineoplastic drugs and bone marrow transplantation. *Semin Nephrol* 1997;17(1):54-6
- 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.
- Taguchi T, Nazneen A, Abid MR, Razzaque MS. Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathological events. *Contrib Nephrol* 2005;148:107-21.
- 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.
- 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.
- 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
- Farsam H, Amanlou M, Radpour M, Salehnia 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.
- 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.
- Ries F, Klastersky J. Nephrotoxicity induced by cancer chemotherapy with special emphasis on cisplatin toxicity. *Am J Kidney Dis* 1986;8(5):368-79
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.