



## بهبود سمیت کلیوی و کبدی ناشی از سیس پلاتین توسط پالماتین در موش‌های صحرایی نر

ناصر مقربیان<sup>۱</sup>، مهدی خاکساری<sup>۲</sup>، سید محمد بلادی نژاد<sup>۳</sup>، بهزاد گرمابی<sup>۴</sup>، اکرم اسدپور<sup>۵</sup>، حسین خواستار<sup>۶</sup>

۱- استادیار- مرکز تحقیقات سلامت جنسی و باروری- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.

۲- دانشیار- دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.

۳- کمیته تحقیقات دانشجویی- دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.

۴- استادیار- مرکز تحقیقات مطالعه و درمان ریتم‌های سیرکادین- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.

۵- استادیار- مرکز تحقیقات علوم رفتاری و اجتماعی در سلامت- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.

۶- بیمارستان امام حسین (ع)- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.

۷- دانشیار- مرکز تحقیقات سلامت جنسی و باروری- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۱۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۴

### چکیده

**مقدمه:** اگرچه سیس پلاتین (CP) به‌عنوان یک ماده شیمی درمانی مؤثر در برابر بدخیمی‌های متعدد شناخته می‌شود، اما مصرف آن می‌تواند اثرات تخریبی شدید بر روی کلیه و کبد داشته باشد. پالماتین یک ترکیب آلکالوئیدی است که از چندین گیاه دارویی سنتی به‌دست می‌آید. هدف از تحقیق حاضر ارزیابی اثرات پالماتین بر سمیت کبدی و مسمومیت کلیوی ناشی از CP در موش صحرایی است.

**مواد و روش‌ها:** حیوانات (n=۵۲) در ۴ گروه طبقه‌بندی شدند: (۱) گروه کنترل (۲) گروه CP (۶ میلی‌گرم در کیلوگرم)؛ (۳) و (۴) گروه‌های CP+ پالماتین (به ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم). پس از انجام آزمایشات نمونه‌های ادرار، کلیه، خون و کبد برای ارزیابی جمع‌آوری شدند.

**نتایج:** نتایج نشان داد که CP باعث افزایش آلانین ترانس آمیناز (ALT) آسپاراتات ترانس آمیناز (AST)، کسر دفعی سدیم، کسر دفعی پتاسیم، کراتینین و BUN پلاسما و کاهش کلیرنس کلیوی کراتینین و همچنین کاهش میزان جریان ادرار در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. افزایش در مالون دی‌آلدئید بافت کبدی و کلیوی به‌همراه کاهش در سطح گلوتاتیون در گروه CP نشان‌دهنده استرس اکسیداتیو در این بافت‌ها می‌باشد. ارزیابی بافت‌های کبدی و کلیوی با استفاده از روش TUNEL/الفا آپوپتوز در حیوانات گروه CP را نشان داد.

**نتایج:** نتایج گروه‌های CP + palmartine نشان داد درمان با استفاده از پالماتین منجر به کاهش ALT، کلیرنس کلیوی کراتینین، میزان جریان ادرار، مالون دی‌آلدئید کلیوی و کبدی و افزایش گلوتاتیون کلیوی و کبدی، کسر دفعی سدیم و پتاسیم، BUN و کراتینین پلاسما در مقایسه با گروه CP می‌شود. آپوپتوز در بافت‌های کبدی و کلیوی در گروه CP + palmartine نیز کاهش یافت.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های ما نشان داد که آسیب‌های کلیوی و کبدی با مهار آپوپتوز و استرس اکسیداتیو توسط پالماتین کاهش می‌یابد.

**واژه‌های کلیدی:** سیس پلاتین، پالماتین، سمیت نفروتوکسی، سمیت کبدی، استرس اکسیداتیو.

\*نویسنده مسئول: شاهرود، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، مرکز تحقیقات سلامت جنسی و باروری، تلفن: ۰۲۳-۲۲۳۹۵۰۵۴، نمابر: ۰۲۳-۲۲۳۹۵۰۵۴، Email: hkhashtar@shmu.ac.ir

**ارجاع:** ناصر مقربیان، خاکساری مهدی، بلادی نژاد سید محمد، گرمابی بهزاد، خواستار حسین. بهبود سمیت کلیوی و کبدی ناشی از سیس پلاتین توسط پالماتین در موش‌های صحرایی نر. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۰؛ ۱۶(۲): ۱۱-۱۹.

## مقدمه

سیس پلاتین (CP) حاوی یک اتم پلاتین به همراه گروه‌های آمونیاک و همچنین اتم‌های کلر می‌باشد که در موقعیت سیس آنرا احاطه نموده‌اند (۱). CP یک داروی رایج برای درمان بدخیمی‌هایی مانند سرطان‌های بیضه، سر و گردن، تخمدان و ریه می‌باشد. علیرغم اثرگذاری مثبت آن اما نتایج ارزیابی‌های بالینی نشان می‌دهد که سمیت کلیوی، سمیت کبدی و مسمومیت عصبی از جمله عوارض جانبی این دارو می‌باشد (۳ و ۴).

در مطالعات مختلف آسیب بافتی و عملکردی در موش‌های تحت درمان با CP گزارش شده است. همچنین نتایج تحقیقات حیوانی نشان می‌دهد که شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در بافت‌های کبدی تحت درمان با CP کاهش معنی‌داری داشته است. بررسی‌ها نشان می‌دهد تزریق CP می‌تواند باعث بروز ناهنجاری‌های بافت شناختی، از قبیل نکروز در کبد شود. همچنین CP نسبت پروتئین‌های سیتوپلاسمی Bcl-2/Bax را افزایش می‌دهد (Bcl-2: B-cell lymphoma protein 2, Bax: Bcl-2-associated X protein) که این خود نشان‌دهنده آپوپتوز کبدی است. علاوه بر این، تزریق CP سطح آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و اسپاراتات ترانس آمیناز (AST) را افزایش می‌دهد (۲ و ۴).

تزریق CP منجر به افزایش سطح سرمی کراتینین، مالون دی‌آلدئید (MDA) و نیتروژن اوره خون (BUN) در بافت کلیه می‌شود. بررسی‌ها نشان می‌دهد در موش‌های تحت درمان با CP سطح بیان اینترلوکین ۱، پروتئین کیناز ۴ فعال شده با میتوزن (MKK4) و MKK7 (فعال کننده JNK) و همچنین MKK3، MKK4 و MKK6 (فعال کننده ژن‌های P38 MAPK) افزایش می‌یابد (۵).

امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها جهت کاهش آسیب بافت‌های ناشی از داروها شایع شده است (۶ و ۷) پالماتین به‌عنوان یک آکالوئید ایزوکینولین می‌باشد که معمولاً از گیاهان دارویی سنتی مانند بربریس (زرشک)، کوپتیدیس ریزوم، و کوپتیس چاینزیس استخراج می‌شود. نتایج تحقیقات نشان داده است که پالماتین در درمان سرطان پروستات متاستاتیک تأثیرگذار می‌باشد (۸).

بررسی‌ها نشان می‌دهد تزریق پالماتین سبب مهار سیتوکین‌های التهابی شده و به‌این ترتیب بر روی سرطان‌های کولورکتال اثر درمانی دارد. همچنین تغییرات دیسپلاستیک در بافت روده بزرگ و روده کوچک را کاهش می‌دهد (۹).

پالماتین بر روی التهاب ناشی از تزریق لیپوپلی ساکارید در سلول‌های اپیتلیال آندومتر بز نیز تأثیرگذار بوده و سبب القا فعالیت‌های زیستی ضدالتهابی می‌شود (۱۰).

نتایج نشان می‌دهد درمان با استفاده از پالماتین می‌تواند از طریق کاهش سطح گیرنده‌های P2X7 (یکی از رستورهای پورینژیک تیپ دو) در هیپوکامپ سبب کاهش موارد افسردگی و درد نوروپاتیکی دیابتی شود. رهایش اینترلوکین- $\beta 1$  و سرکوب فاکتور نکروز توموری آلفا ممکن است در بروز مکانیسم آن نقش داشته باشد (۱۱).

وانگ و همکاران اثرات محافظتی پالماتین بر روی زخم معده را از طریق ایجاد تأثیرات ضد التهابی و محافظت از مخاط معده با افزایش پروستاگلاندین E2 و کاهش فاکتور فعال‌کننده پلاکت گزارش کرده است (۱۲).

در مورد مواد شیمیایی که قادر به کاهش عوارض جانبی سیس پلاتین هستند مقالات گسترده‌ای وجود دارد، اما از آنجا که پالماتین در بسیاری از داروهای سنتی وجود دارد و دارای ارزش دارویی بالایی است لذا تحقیق حاضر برای بررسی بیشتر اثرات درمانی این دارو و تشویق به استفاده از آن به‌عنوان کمک درمان جهت کاهش عوارض جانبی ناشی از CP صورت گرفته است. به‌این ترتیب این مطالعه عمدتاً با هدف ارزیابی اثرات محافظتی کلیوی و کبدی پالماتین به‌دنبال آسیب‌های ناشی از تزریق سیس پلاتین در موش‌های صحرایی نر انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۵۲ سر موش صحرایی نر با نژاد Sprague-Dawley (۲۵۰-۲۰۰ گرم) براساس اصول کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شاهرود تحت درمان قرار گرفتند (کد اخلاق: IR.SHMU.REC.1397.117). موش‌ها به‌صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: (۱) گروه کنترل. (۲) گروه CP (میلان فرانسه) (۶ میلی‌گرم در کیلوگرم، تک‌دوز). (۳) گروه CP (۶ میلی‌گرم در کیلوگرم، داخل صفاقی، تک‌دوز) + گروه پالماتین (سانتا کروز بیوتکنولوژی) (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، داخل صفاقی، به‌مدت هفت روز) و (۴) گروه CP (۶ میلی‌گرم در کیلوگرم، داخل صفاقی، تک‌دوز) + گروه پالماتین (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، داخل صفاقی، به‌مدت هفت روز).

در روز هشتم آزمایش، نمونه‌های ادرار ۲۴ ساعته جمع‌آوری شد. در پایان آزمایش نیز تمام موش‌ها بیهوش شدند و نمونه خون از قلب گرفته شد. بافت کبد و کلیه برای رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی و ارزیابی بیوشیمیایی گرفته شد.

در نمونه‌های خون، شاخص‌های عملکردی کبد و کلیه مورد بررسی قرار گرفت: BUN، Cr، AST و ALT (۱۳ و ۱۴). اوره کراتینین در

به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی استفاده شد. به دنبال آن، با PBS شسته شدند و ۵۰-۱۰۰ میکرولیتر از ۰/۰۵٪ DAB (۳،۳-دی-آمینوبنزیدين) بستر به عنوان کروموژن در ۱۰ دقیقه اضافه شد و با PBS شسته شد. سپس برش‌ها با استفاده از یک میکروسکوپ نوری (Olympus AX-70) بررسی شدند. با استفاده از میکروسکوپ نوری، کمی‌سازی سلول‌های TUNEL مثبت در بزرگ‌نمایی ۴۰۰ انجام شد. از ImageTool-2 برای تجزیه و تحلیل تصاویر استفاده شد. علاوه بر این، سلول‌های دارای TUNEL مثبت در امتداد مقاطع ۴۰۰ میکرومتر (۰/۱۶۰ میلی‌متر مربع) کلیه و کبد محاسبه شدند. عمل شمارش به صورت کور انجام شد.

شاخص آپوپتوتیک (درصد آپوپتوز به کل سلول) تعداد سلول‌ها در طول ترانسکت ۴۰۰ میکرومتر از بافت‌ها انجام شد. سه لام در هر بافت (۶ موش در هر گروه) برای رنگ‌آمیزی TUNEL شمارش شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  SEM ارائه می‌شوند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، آزمون‌های توکی و ANOVA یک طرفه انجام شد. نتایج با  $P < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### نتایج

درمان CP در مقایسه با گروه کنترل، سطح ALT و AST پلاسما را افزایش داد. علاوه بر این، MDA بافت کبدی افزایش یافت در حالی که سطح GSH در گروه CP کاهش یافت (جدول ۱). درمان با ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پالماتین منجر به کاهش ALT و AST در پلاسما در مقایسه با گروه CP شد. درمان با ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پالماتین هیچ تغییر قابل توجهی در GSH ایجاد نکرد، اما باعث کاهش MDA در بافت‌های کبدی شد. در مقابل، درمان با ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پالماتین باعث افزایش GSH و کاهش MDA شد (جدول ۱).

بر اساس یافته‌ها، تعداد سلول‌های TUNEL مثبت در بافت‌های کبدی به طور قابل توجهی در گروه CP (۳۹٪) در مقایسه با گروه کنترل (۴٪) افزایش یافته است. این نشان می‌دهد که آپوپتوز توسط CP در کبد ایجاد می‌شود. در مقابل، تعداد سلول‌های TUNEL مثبت در گروه‌های درمانی دریافت‌کننده ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پالماتین (به ترتیب ۲۷ و ۳۱ درصد) در مقابل گروه CP کاهش یافت ( $P < 0/05$ ) (شکل‌های ۱ و ۲).

ادرا و BUN، AST و ALT در پلاسما توسط دستگاه اتوآنالیزر اندازه‌گیری شد.

از هفت حیوان در هر گروه نمونه بافت کلیه و کبد برای تعیین شاخص‌های استرس اکسیداتیو گرفته شد، از جمله مالون‌دی‌آلدهید که نشانگر مهم پراکسیداسیون لیپید می‌باشد (۱۵ و ۱۶)، گلووتاتیون که یک پپتید است که قادر به جلوگیری از آسیب به اجزای مهم سلولی ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن است (۱۷ و ۱۸).

سطح مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در بافت کبد از طریق واکنش آن با اسید تیوباربتوریک طبق روش Esterbauer و Cheeseman ارزیابی شد (۱۹). گلووتاتیون (GSH) با استفاده از روش Griffith5 مورد سنجش قرار گرفت، Dithiobis2-nitrobenzoic-50 اسید به عنوان کروموژن استفاده شد و میزان جذب کروموژن کاهش یافته در ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (۲۰ و ۲۱).

برای ۶ حیوان دیگر در هر گروه، پرفیوژن از طریق قلب با استفاده از سالین ۰/۹ درصد و سپس پارافورمالدئید ۰/۴ درصد در ۰/۱ مولار بافر فسفات انجام شد. نمونه‌ها پس از استخراج کبد و کلیه به مدت یک شب در پارافین قرار داده شدند. سپس به منظور رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی، قسمت‌های قرار گرفته در پارافین با استفاده از میکروتوم برش (۷ میکرومتر) داده شدند.

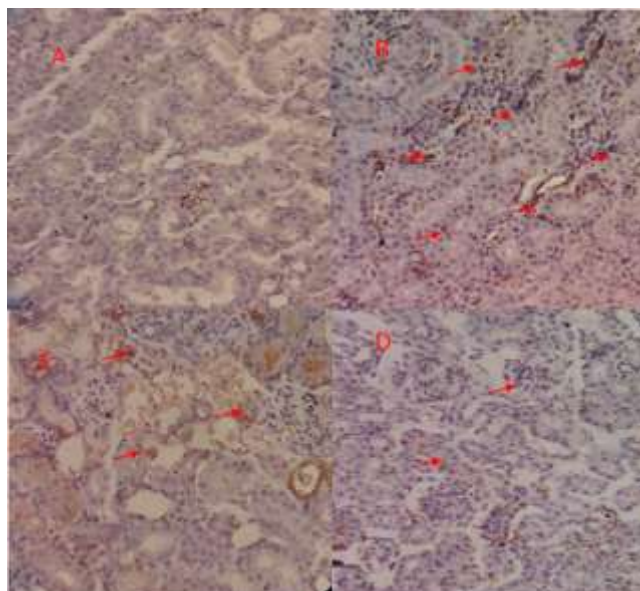
روش TUNEL برای بررسی قطعه قطعه شدن DNA و آپوپتوز سلولی انجام شد (۲۲). برای رنگ‌آمیزی TUNEL از یک کیت تشخیص مرگ سلولی (روشه، آلمان) استفاده شد، که یک ابزار معمول برای تعیین کمیت آپوپتوز با توجه به برچسب‌گذاری شکستگی رشته‌های DNA است. به طور خلاصه، پس از دپارافینه شدن سه برش از هر حیوان با استفاده از زایلین (سیگما)، نمونه‌ها با الکل هیدراته شده و سپس با بافر فسفات (PBS) شستشو داده شدند و در نهایت به مدت نیم ساعت در پروتئیناز K ۱۰ میلی‌مولار در دمای اتاق نفوذپذیر شدند. پس از آن، برش‌ها شسته شدند و انکوباسیون در تاریکی به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از  $H_2O_2$  ۰/۳٪ در متانول برای جلوگیری از پراکسیداز درون‌زا انجام شد.

در مرحله بعدی، انکوباسیون در یک مخلوط واکنش TUNEL در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت در فضای مرطوب انجام شد. پس از شستشوی بافر فسفات، از مبدل-POD (پراکسیداز) برای مشاهده برش‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در فضای مرطوب

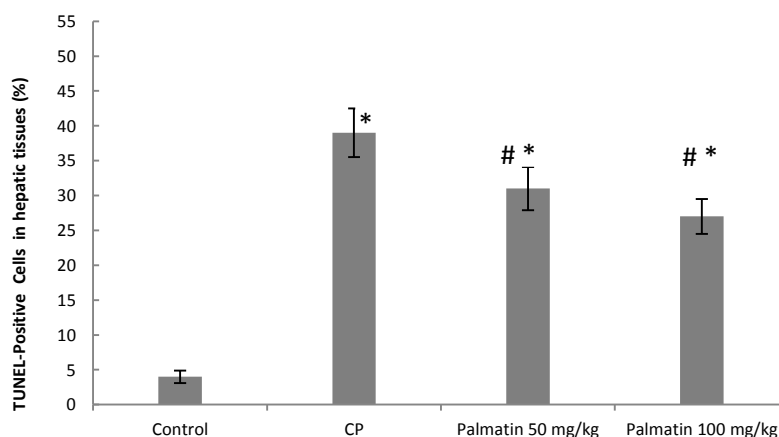
جدول ۱- شاخص‌های کلیوی در گروه‌های آزمایشی

| شاخص‌ها | کنترل      | CP            | CP + پالماتین (۵۰ mg/kg) | CP + پالماتین (۱۰۰ mg/kg) |
|---------|------------|---------------|--------------------------|---------------------------|
| u/l AST | ۲۴/۸ ± ۳/۱ | ۱۱۷/۹ ± ۹/۲ * | ۹۵/۴ ± ۵/۵ *             | ۹۷/۶ ± ۵/۷ *              |
| u/l ALT | ۳۲/۲ ± ۲   | ۱۰۳/۲ ± ۸/۴ * | ۸۵/۲ ± ۵/۶ *             | ۸۳/۷ ± ۶/۷ *              |

|                      |                      |                   |              |  |
|----------------------|----------------------|-------------------|--------------|--|
| $1/5 \pm 0/5^{* \#}$ | $1/5 \pm 0/3^{* \#}$ | $1/9 \pm 0/2^{*}$ | $0/8$        | MDA ( $\mu\text{m}/100\text{-mg tissue}$ ) |
| $28 \pm 5^{* \#}$    | $25 \pm 4^{*}$       | $21 \pm 2^{*}$    | $52 \pm 5/8$ | GSH ( $\mu\text{m}/100\text{-mg tissue}$ ) |



شکل ۱- عکس برداری از رنگ آمیزی TUNEL در کبد. (A) گروه کنترل (B) گروه CP (C) گروه پالماتین + CP (۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) و (D) گروه پالماتین + CP (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر).



شکل ۲- تأثیر درمان با پالماتین بر تعداد سلول‌های TUNEL مثبت کبدی در گروه‌ها (درصد کل سلول‌ها). \* در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری دارد ( $P < 0/001$ ) و # در مقایسه با CP تفاوت معنی‌داری دارد ( $P < 0/001$ ).

کاهش Cr، BUN، کسر دفعی Na، K و MDA بافت کلیوی در مقایسه با گروه CP شد (جدول ۲).

با توجه به روش TUNEL، در گروه CP (۴۶٪) تعداد سلول‌های TUNEL مثبت در بافت‌های کلیه در مقایسه با گروه کنترل (۴٪) به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. این یافته تأیید کرد که آپوپتوز توسط CP در کلیه ایجاد می‌شود. از طرف دیگر، تعداد سلول‌های مثبت TUNEL در گروه‌های پالماتین + CP در بافت‌کننده

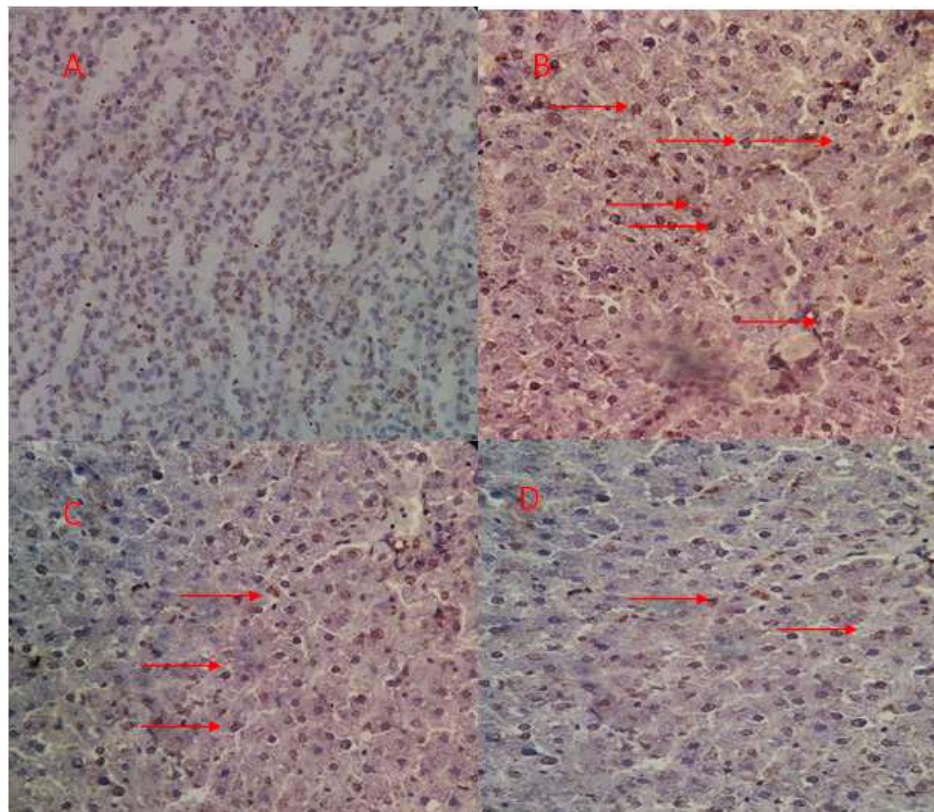
درمان با ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پالماتین هیچ تغییر قابل توجهی در BUN پلاسما، دفع کسری سدیم، میزان جریان ادرار و کلیترنس کراتینین ایجاد نکرد. در این گروه، کسر دفعی K و MDA کاهش یافت و GSH در مقایسه با گروه CP افزایش یافت (جدول ۲).

درمان با ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پالماتین منجر به افزایش کلیترنس کراتینین، GSH بافت کلیوی و میزان جریان ادرار و

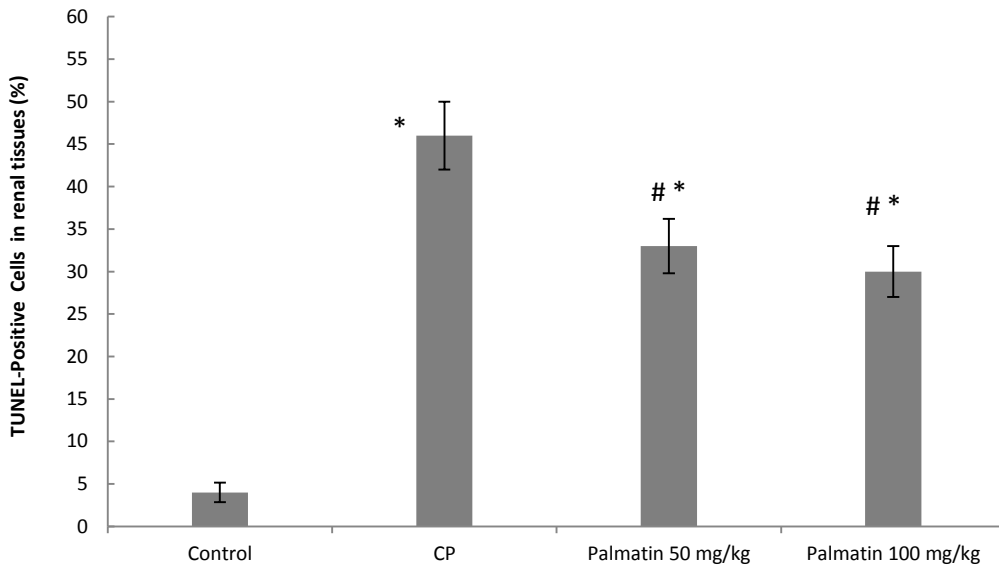
۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (به ترتیب ۳۳٪ و ۳۰٪) در مقایسه با (۴).  
گروه CP کاهش معنی‌داری داشته است ( $P < 0.05$ ). (شکل‌های ۳ و

جدول ۲- شاخص‌های کلیوی در گروه‌های آزمایشی

| شاخص‌ها                                     | کنترل      | CP           | پالماتین CP + (۵۰ mg/kg) | پالماتین CP + (۱۰۰ mg/kg) |
|---|------------|--------------|--------------------------|---------------------------|
| کراتینین پلاسما mg/dl                       | ۰/۶ ± ۰/۰۴ | ۳/۵ ± ۰/۲ *  | ۲/۹ ± ۰/۳ * #            | ۲/۶ ± ۰/۴ * #             |
| BUN پلاسما mg/dl                            | ۲۵ ± ۲/۳   | ۱۱۶ ± ۶/۵ *  | ۱۰۱ ± ۹*                 | ۱۰۲ ± ۸/۶ * #             |
| میزان جریان ادرار $\mu\text{l}/\text{min}$  | ۴۴ ± ۳/۰   | ۱۸/۶ ± ۱/۶*  | ۲۲/۹ ± ۳/۶*              | ۲۷/۶ ± ۲/۸* #             |
| کلیرنس کراتینین $\mu\text{l}/\text{min}$    | ۸/۲ ± ۰/۱  | ۲/۵ ± ۰/۱*   | ۳ ± ۰/۳*                 | ۳/۹ ± ۰/۲* #              |
| درصد کسر دفعی NA                            | ۰/۶        | ۲/۸ ± ۰/۳*   | ۱/۹ ± ۰/۱*               | ۱/۸ ± ۰/۲* #              |
| درصد کسر دفعی K                             | ۱۸/۱ ± ۲/۵ | ۳۹/۹ ± ۲/۹ * | ۳۳/۲ ± ۳* #              | ۳۳/۶ ± ۲/۲* #             |
| MDA ( $\text{mg tissue } 100 \mu\text{m}$ ) | ۰/۵        | ۱/۵ ± ۰/۲*   | ۱ ± ۰/۲* #               | ۱ ± ۰/۲* #                |
| GSH ( $\text{mg tissue } 100 \mu\text{m}$ ) | ۳۵ ± ۳/۳   | ۱۸/۲ ± ۳/۲*  | ۲۴ ± ۲/۱* #              | ۲۶ ± ۳* #                 |



شکل ۳- عکس برداری از رنگ‌آمیزی TUNEL در کلیه. (A) گروه کنترل (B) گروه CP (C) گروه پالماتین CP + (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و (D) گروه پالماتین CP + (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر)



شکل ۴- تأثیر درمان با پالماتین بر تعداد سلول‌های TUNEL مثبت کلیوی در گروه‌ها (درصد کل سلول‌ها). \* در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری دارد ( $P < 0.001$ ) و # در مقایسه با CP تفاوت معنی‌داری دارد ( $P < 0.01$ ).

## نتایج

گروه CP در مقایسه با گروه کنترل شود. بافت‌های کلیوی در گروه CP تغییرات بافت شناختی داشتند که شامل نکروز، خونریزی، رنگ‌آمیزی اتوزینوفیلیک و سلول‌های هسته پیکنوتیک و ازدحام بود (۴). این یافته‌ها نیز با نتایج ما همسو می‌باشد. در پژوهش ما نشان داده شد که سیس پلاتین علاوه بر آسیب اکسیداتیو و عملکردی، منجر به آپوپتوز سلولی در بافت کبد می‌گردد.

اطلاعات ما نشان داد که تزریق CP منجر به نارسایی حاد کلیه نیز می‌شود. افزایش کسر دفعی K، Na، Cr و BUN پلاسما، همچنین کاهش کلیرنس کلیوی Cr و سرعت جریان ادرار، نشان‌دهنده آسیب عملکرد کلیه در گروه CP است. این شاخص‌ها وقوع آسیب عملکرد کلیه را تأیید کردند. GSH و MDA شاخص‌های اصلی استرس اکسیداتیو هستند، از این رو، افزایش MDA و کاهش GSH در بافت‌های کلیوی استرس اکسیداتیو را نشان داد. همچنین آپوپتوز توسط CP در سلول‌های کلیوی ایجاد شد.

شماره و همکاران گزارش کردند که CP سطح BUN، Cr و MDA را افزایش داده و محتوای CAT، SOD، GSH و بافت کلیوی را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، درمان CP باعث تکه تکه شدن DNA می‌شود. مطالعه بافت‌شناسی تغییر شکل بافت در کلیه‌ها را نشان داد (۲۶).

درمان با پالماتین تأثیر محافظتی در آسیب کلیوی ناشی از CP داشت. پالماتین در هر دو دوز (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) منجر به کاهش AST، ALT و MDA بافت‌های کلیوی، در مقایسه با گروه

سیس پلاتین به‌عنوان یک داروی شیمی درمانی مؤثر و قدرتمند در درمان تومورهای بدخیم می‌باشد. با این حال مصرف آن می‌تواند به چندین عارضه جانبی منجر شود که این عوارض شامل صدمات کلیوی و کلیوی در انسان و حیوان است (۲۳ و ۲۴).

کبد نقشی اساسی در سم‌زدایی از دارو و هموستاز ارگانسیم دارد (۲۵). در این مطالعه، تزریق CP منجر به افزایش MDA در بافت کبد و کاهش محتوای GSH شد که نمایانگر استرس اکسیداتیو در بافت‌های کلیوی است. شاخص‌های عملکرد کبد، مانند ALT و ST، در گروه CP افزایش یافت که نشان‌دهنده آسیب عملکرد کلیوی می‌باشد. علاوه بر این، آپوپتوز نیز توسط CP در هیپاتوسیت‌های کبد القا شد.

یافته‌های ما با نتایج پژوهش Akdemir و همکاران مطابقت دارد. آنها گزارش دادند که SOD و GSH در گروه تحت درمان با CP کاهش می‌یابد، در حالی که MDA در بافت‌های کلیوی افزایش می‌یابد. بررسی‌های آسیب‌شناسی بافتی نیز تخریب هیپروپیک، احتقان عروقی و اتساع سینوسی را نشان داد (۲۳). در مطالعه ما نیز افزایش مالون‌دی‌آلدهید و کاهش گلوکوتاتیون بیانگر القای استرس اکسیداتیو توسط سیس پلاتین می‌باشد و افزایش ALT و AST آسیب عملکرد کبد را نشان می‌دهد.

نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که CP می‌تواند باعث افزایش سطح TBARS در بافت کبد و کاهش محتوای CAT، GSH و SOD در

نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پالماتین هم سمیت کبدی ایجاد می‌کند و هم از سوی دیگر دارای اثرات محافظتی بر روی کبد می‌باشد. با جمع‌بندی نتایج پژوهش‌های پیشین، ما معتقدیم که این امر عمدتاً مربوط به غلظت و زمان تجویز پالماتین است. دوز بالا و تجویز طولانی مدت ممکن است سمیت کبدی ایجاد کند. علاوه بر این، دوز پالماتین همچنین در فراهمی زیستی پالماتین نیز تأثیرگذار است (۲۹).

در پایان تحقیق حاضر نشان داد که آسیب کلیوی و کبدی ناشی از CP می‌تواند با استفاده از پالماتین کاهش یابد که این امر احتمالاً ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی آن و کاهش آپوپتوز داخل صفاقی می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله ما از دانشگاه علوم پزشکی شاهرود برای حمایت از پژوهش خود و معاون پژوهشی برای اعطای گرنت تحقیقاتی به شماره ۹۶۹۳ قدردانی می‌کنیم.

### References

- Katanić J, Matic S, Pfersch-Wenzig E-M, Kretschmer N, Boroja T, Mihailović V, et al. Filipendula ulmaria extracts attenuate cisplatin-induced liver and kidney oxidative stress in rats: In vivo investigation and LC-MS analysis. *Food and Chemical Toxicology* 2017;99:86-102. doi:10.1016/j.fct.2016.11.018
- Boroja T, Katanić J, Rosić G, Selaković D, Joksimović J, Mišić D, et al. Summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract: Phytochemical profile and modulation of cisplatin-induced liver, renal and testicular toxicity. *Food and Chemical Toxicology* 2018;118:252-63. doi:10.1016/j.fct.2018.05.001
- Cao X, Nie X, Xiong S, Cao L, Wu Z, Moore PK, et al. Renal protective effect of polysulfide in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Redox Biol* 2018;15:513-21. doi:10.1016/j.redox.2018.01.012
- Ciftci O, Onat E, Cetin A. The beneficial effects of fish oil following cisplatin-induced oxidative and histological damage in liver of rats. *Iran J Pharm Res* 2017;16:1424.
- Alhoshani AR, Hafez MM, Husain S, Al-sheikh AM, Alotaibi MR, Al Rejaie SS, et al. Protective effect of rutin supplementation against cisplatin-induced Nephrotoxicity in rats. *BMC Nephrol* 2017;18:194.
- Mogharabian N, Khaksari M, Eslami T, Chashmi NA, Khastar H. Evaluation of Protective effects of usnic acid in cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 2020;15:10-5. doi:10.22100/jkh.v15i2.2421
- Zare Mehrjerdi F, Shoshtari A, Mohseni F, Khastar H, Norozi P, Asadi Y, et al. Sulfur dioxide reduces hippocampal cells death and improves learning and memory deficits in rat model of transient global ischemia/reperfusion. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2018;21:998-1003. doi:10.22038/IJBMS.2018.29404.7106
- Hambright HG, Bath IS, Xie J, Ghosh R, Kumar AP. Palmatine inhibits growth and invasion in prostate cancer cell: Potential role for rpS6/NFκB/FLIP. *Mol Carcinog* 2015;54:1227-34. doi:10.1002/mc.22192
- Ma WK, Li H, Dong CL, He X, Guo CR, Zhang CF, et al. Palmatine from *Mahonia bealei* attenuates gut tumorigenesis in *ApcMin/+* mice via inhibition of inflammatory cytokines. *Mol Med Rep* 2016;14:491-8. doi:10.3892/mmr.2016.5285
- Yan B, Wang D, Dong S, Cheng Z, Na L, Sang M, et al. Palmatine inhibits TRIF-dependent NF-κB pathway against inflammation induced by LPS in goat endometrial epithelial cells. *Int Immunopharmacol* 2017;45:194-200. doi:10.1016/j.intimp.2017.02.004

تحت درمان با CP شد. براساس یافته‌ها، ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پالماتین هیچ تأثیری بر GSH ندارد، در حالی که در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، افزایش محتوای GSH کبد در مقایسه با گروه تحت درمان با CP مشاهده شد. علاوه بر این، درمان با پالماتین اثرات بهبودی خفیف بر آسیب کلیوی ناشی از CP داشت. درمان پالماتین در هر دو دوز (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) منجر به افزایش GSH در بافت کلیه و کاهش MDA، Cr، و کسر دفعی K شد. تجویز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پالماتین هیچ تأثیری بر BUN، کلیرنس کلیوی Cr، کسر دفعی سدیم و میزان جریان ادرار نداشت اما تجویز دوز بیشتر آن یعنی ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در مقایسه با گروه تحت درمان با CP میزان کلیرنس کلیوی Cr و میزان جریان ادرار را افزایش داد و در مقابل BUN و کسر دفعی Na را کاهش داد. نتایج نشان داد که CP منجر به آپوپتوز در سلول‌های کلیوی و کبدی می‌شود. از طرف دیگر، سلول‌های TUNEL مثبت در کلیه و کبد موش‌های تحت درمان با پالماتین، در مقایسه با گروه تحت درمان با CP کاهش می‌یابد.

نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که پالماتین به‌عنوان یک آلکالوئید پروتوبیرین دارای اثرات محافظتی در موش صحرائی است. یافته‌های ما با مطالعات دیگر همسو می‌باشد.

فروتن و همکاران گزارش دادند که پالماتین در بیماران دیابتی روند طبیعی بهبود زخم را تسریع می‌کند (۲۷). وی کان و همکاران نیز نشان دادند که پالماتین التهاب روده، شروع تومور و پیشرفت تومور را کاهش می‌دهد و در درمان‌های سرطان روده بزرگ ارزش بالینی دارد. آنها در مطالعات خود نشان دادند که پالماتین تغییرات دیسپلازی در سلول‌های روده بزرگ را کاهش داده و موجب کاهش میزان فاکتورهای التهابی می‌گردد (۹). در سال ۲۰۱۷، نوروزی و همکاران گزارش دادند که تزریق پالماتین در موش‌های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین می‌تواند سبب افزایش تعداد و تحرک سلول‌های اسپرم و سلول‌های اسپرماتوگونیک و همچنین افزایش تستوسترون در بافت‌های بیضه شود (۲۸). ژو و همکاران، در سال ۲۰۱۶، گزارش کردند که پالماتین چه در شرایط *in vitro* و چه در شرایط *in vivo* با جلوگیری از مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی دارای اثرات محافظتی در آرتروز می‌باشد (۱۰). یان و همکاران نیز تأیید کردند که پالماتین دارای فعالیت‌های زیستی ضدالتهابی در التهاب ناشی از لیپوپلی ساکارید در سلول‌های اپیتلیال آندومتر است. وانگ و همکاران، در سال ۲۰۱۷، اثرات محافظتی پالماتین در برابر زخم معده را با ایجاد تأثیرات ضدالتهابی و محافظت از مخاط معده با افزایش پروستاگلاندین E2 و کاهش فاکتور فعال کننده پلاکت، گزارش کردند (۱۲).

11. Shen Y, Guan S, Ge H, Xiong W, He L, Liu L, et al. Effects of pimatine on rats with comorbidity of diabetic neuropathic pain and depression. *Brain Res Bull* 2018;139:56-66. doi:10.1016/j.brainresbull.2018.02.005
12. Wang L, Wang X, Zhang S-L, Zhu X-M, Liu Y-Q, Song Z-J, et al. Gastroprotective effect of pimatine against acetic acid-induced gastric ulcers in rats. *J Nat Med* 2017;71:257-64.
13. Kadkhodae M, Khastar H, Seifi B, Najafi A, Delavari F. Renal oxidative injury after leukocyte transfer from ischemia-reperfusion-induced kidney damage in Balb/c mice. *Acta Physiol Hung* 2013;100:99-106. doi:10.1556/APhysiol.100.2013.1.10
14. Khastar H. Protective effects of vitamin E against liver damage caused by renal ischemia reperfusion. *Ren Fail* 2015;37:494-6. doi:10.3109/0886022X.2015.1006084
15. Kadkhodae M, Khastar H, Seifi B, Najafi A, Delavari F. Recipient kidney damage after leukocyte transfer from inbred mice with renal ischemia-reperfusion injury. *Tehran Univ Med J* 2012;69:77.
16. Khastar H, Kadkhodae M, Sadeghipour HR, Seifi B, Hadjati J, Delavari F, et al. Leukocyte involvement in renal reperfusion-induced liver damage. *Ren Fail* 2011;33:79-83. doi:10.3109/0886022X.2010.541585
17. Hassanzadeh A, Shahvaisi K, Hassanzadeh K, Izadpanah E, Amini A, Moloudi MR. Effects of rebamipide and encapsulating rebamipide with chitosan capsule on inflammatory mediators in rat experimental colitis. *SJKU* 2015;20:94-104. doi:10.22102/20.3.94
18. Khastar H, Kadkhodae M, reza Sadeghipour H, Seifi B, Hadjati J, Najafi A, et al. Liver oxidative stress after renal ischemia-reperfusion injury is leukocyte dependent in inbred mice. *Iran J Basic Med Sci* 2011;14:534-539.
19. Esterbauer H, Cheeseman K. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxyonenal. *Abbreviation* 1990;186:407-21.
20. Garmabi B, Jafarisani M, Khastar H. Improvement of renal oxidative stress and function in lead acetate-induced renal toxicity in rats followed by ascorbic acid consumption. *Journal of Knowledge and Health in Basic Medical Sciences* 2019;14. doi:10.22100/jkh.v14i2.2162
21. Griffith OW. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem* 1980;106:207-12. doi:10.1016/0003-2697(80)90139-6
22. Erfani S, Aboutaleb N, Oryan S, Shamsaei N, Khaksari M, Kalalian-Moghaddam H, et al. Visfatin inhibits apoptosis and necrosis of hippocampus CA3 cells following transient global ischemia/reperfusion in rats. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 2015;21:223-8.
23. Ekinci Akdemir FN, Albayrak M, Çalik M, Bayir Y, Gülçin I. The protective effects of p-coumaric acid on acute liver and kidney damages induced by cisplatin. *Biomedicines* 2017;5:18. doi:10.3390/biomedicines5020018
24. Quesada A, O'Valle F, Montoro-Molina S, Gómez-Morales M, Caba-Molina M, González JF, et al. 5-aminoisoquinoline improves renal function and fibrosis during recovery phase of cisplatin-induced acute kidney injury in rats. *Biosci Rep* 2018;BSR20171313. doi:10.1042/BSR20171313
25. Nabavizadeh F, Moloudi R, Dehpour AR, Nahrevanian H, Shahvaisi K, Salimi E. The effects of cholestasis and cirrhosis on gastric acid and pepsin secretions in rat: Involvement of nitric oxide. *IJBMS* 2010;13:207-12. doi: 10.22038/IJBMS.2010.5115
26. Sharma S, Modi A, Narayan G, Hemalatha S. Protective effect of Exacum lawii on cisplatin-induced oxidative renal damage in rats. *Pharmacogn Mag* 2018;13:S807-16. doi:10.4103/pm.pm\_209\_17
27. Foruotan B, Molzemi S, Molzemi S, al-Hoda A, Sadat F, Ashenai AH, et al. Evaluation of pimatine effects on cutaneous wound healing in normal and diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2014;13:393-9.
28. Norouzi P, Kalalian Moghaddam H, Hojati V, Ahouei M. Effect of pimatine hydrochloride on testicular damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Inflammatory Diseases* 2017;21:4-12.
29. Long J, Song J, Zhong L, Liao Y, Liu L, Li X. Pimatine: A Review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics. *Biochimie* 2019;162:176-84. doi:10.1016/j.biochi.2019.04.008





## Nephrotoxicity and Hepatotoxicity Induced by Cisplatin Improved by Palmatine in Male Rats

Nasser Mogharabian (M.D.)<sup>1</sup>, Mehdi Khaksari (Ph.D.)<sup>2</sup>, Seyed Mohammad Beladi Nejad (M.D.)<sup>3</sup>, Behzad Garmabi (Ph.D.)<sup>4,5</sup>, Akram Asadpour (M.D.)<sup>6</sup>, Hossein Khastar (Ph.D.)<sup>1\*</sup>

1- Sexual Health and Fertility Research Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

2- Clinical Research Development Unit, Imam Hossein Hospital, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

3- Student Research Committee, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

4- Study and Treatment of Circadian Rhythms Research Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

5- Center for Health Related Social and Behavioral Sciences Research, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

6- Imam Hossein Hospital, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 7 April 2021, Accepted: 14 June 2021

### Abstract:

**Introduction:** Cisplatin (CP) is recognized as an effective chemotherapeutic agent against numerous malignancies. Though, it results in some impacts including renal and liver injuries. Palmatine is an alkaloid obtained from several traditional medicinal plants. The aim of the current work is evaluating the impacts of palmatine on hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by CP in rats.

**Methods:** The animals (n=52) were classified in 4 groups: 1) control group; 2) CP group (6 mg/kg); 3 and 4) CP + palmatine groups (50 and 100 mg/kg, respectively). Urine, kidney, blood, and liver samples were collected for assessment.

**Results:** CP caused an increase in alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), Na and K fractional excretion, and plasma creatinine and BUN and a reduction in the creatinine clearance and urine flow rate, in comparison with the control group. An increase was occurred in liver and renal tissue malondialdehyde while reduction happened in glutathione level in the CP group, which shows oxidative stress in these tissues. The TUNEL assay indicated inducing the apoptosis in the kidney and liver in the CP group. Palmatine treatment resulted in a decrease in plasma AST, ALT, creatinine clearance, urine flow rate, and renal and hepatic malondialdehyde along with an increase in renal and hepatic glutathione, fractional excretion of K and Na, and plasma BUN and creatinine in contrast to the CP group. Apoptosis in hepatic and renal tissues in CP + palmatine group was decreased.

**Conclusion:** Our findings showed that renal and liver injuries were decreased by palmatine through inhibiting apoptosis and oxidative stress.

**Keywords:** Cisplatin, Palmatine, Nephrotoxicity, Hepatotoxicity, Oxidative stress.

Conflict of Interest: No

\*Corresponding author: H. Khastar, Email: hkhastar@shmu.ac.ir

**Citation:** Mogharabian N, Khaksari M, Beladi Nejad SM, Garmabi B, Asadpour A, Khastar H. Nephrotoxicity and hepatotoxicity induced by cisplatin improved by palmatine in male rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2021;16(2):11-19.