Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

Arak Medical University Journal (AMUJ)
Summer 2010; 13(2): 141-154

Original Article

Contribution of A_1-adenosine receptor in the development of renal functional disturbances during the early hours of reperfusion following ischemia in anaesthetized rats

Najafi H[1], Shid-Moosavi SM [2*]

1- PhD student of Physiology, Physiology Department, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
2- Associate professor, PhD of Physiology, Physiology Department, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Received 2 Jan 2009 Accepted 10 Feb 2010

Abstract

Background: This investigation was designed to determine the effects of a selective A_1-AR antagonist (DPCPX) on renal hemodynamic and excretory dysfunctions induced during the early hours of ischemia/reperfusion (I/R).

Materials and Methods: In this experimental research, rats were anaesthetized by sodium pentobarbital, and their renal arteries were, then, occluded for 30 min, four hours after the reperfusion period. There was a clearance period during the last one hour of reperfusion period throughout which urine was collected under 30-mm of paraffin, and arterial blood samples were taken during its beginning and end. Animals were divided into four groups; DPCPX (2 mg/kg) or normal saline were injected 30 min before renal ischemia to the two groups of I/R+DPCPX and I/R, respectively, and to DPCPX and Sham groups which were subjected to surgery without clamping of renal arteries, respectively.

Results: I/R resulted in elevations of plasma osmolality, plasma concentrations of Na, K, creatinine, and urea, fractional excretions of Na, K, and bicarbonate, absolute bicarbonate excretion, and urinary pH, but it induced reductions in arterial bicarbonate concentration, pH and Pco_2, creatinine clearance, absolute excretions of Na and urea, free-water re-absorption, and urinary osmolality in the I/R group in comparison to the Sham group. Comparison between I/R+DPCPX and I/R groups showed that applying DPCPX could improve I/R-induced alterations in most of these parameters.

Conclusion: Activation of A_1-AR during the early hours of reperfusion following renal ischemia definitely contributes to the development of disorders in hemodynamics, tubular Na re-absorption, as well as excretions of K, urea, and acid-base.

Keywords: Acid-base equilibrium, A_1-adenosine receptor, Glomerular filtration rate, Ischemia/ reperfusion, Urine concentrating ability

*Corresponding author:
Email: mmoosavi@sums.ac.ir
Address: Physiology Department, Shiraz Medical School, Zand Avenue, Shiraz, Iran

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال 13، شماره 2 (شماره پیاپی 51)، تابستان 1389، 154-141

مشارکت گیرنده A_1 آدنوزین در برقراری اختلالات عملکردی کلیه طی ساعات اولیه خونرسانی مجدد به دنبال ایسکمی در رتهای بیهوش

هوشنگ نجفی[1]، دکتر سید مصطفی شید موسوی[2*]

1- دانشجوی دکترای فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

2- دانشیار، دکترای فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت 88/10/12، تاریخ پذیرش 88/11/21

چکیده

زمینه و هدف: تحقیق حاضر در جهت تعیین اثرات یک مهار کننده اختصاصی A_1-AR (DPCPX) بر روی اختلالات همودینامیک و عملکرد دفعی ناشی از ایسکمی/خونرسانی مجدد (I/R) کلیوی طی ساعات اولیه طراحی شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، رت‌ها با پنتوباربیتال سدیم بیهوش شده و سپس شریان‌های هر دو کلیه به مدت 30 دقیقه مسدود و به دنبال آن 4 ساعت دوره خونرسانی مجدد صورت پذیرفت. یک دوره کلیرانس طی یک ساعت آخر دوره خونرسانی مجدد وجود داشت. جمع‌آوری ادرار زیر 30 میلی‌متر پارافین در سرتاسر دوره و گرفتن نمونه‌های خون شریانی در ابتدا و انتهای آن صورت پذیرفت. حیوانات به 4 گروه تقسیم گردیدند: DPCPX (2 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) یا نرمال سالین به ترتیب به دو گروه I/R+DPCPX و I/R در زمان نیم ساعت قبل از برقراری I/R همچنین به ترتیب به دو گروه DPCPX و شاهد قرار گرفته تحت جراحی بدون انسداد شریان‌های کلیوی داده شدند.

یافته‌ها: I/R منجر به بالا رفتن اسمولالیته پلاسما، غلظت‌های پلاسمایی سدیم، پتاسیم، کرآتینین و اوره، دفع نسبی سدیم، پتاسیم و بیکربنات، دفع مطلق بیکربنات و pH ادرار، اما کم شدن غلظت بیکربنات، pH و فشار CO_2 خون شریانی، کلیرانس کرآتینین، دفع مطلق اوره و پتاسیم، بازجذب آب آزاد و اسمولالیته ادرار در گروه I/R نسبت به گروه شاهد گردید. مقایسه بین گروه‌های I/R+DPCPX و I/R مشخص نمود که استفاده از DPCPX توانست تغییرات ناشی از I/R بر روی اکثر این پارامترها را بهبود بخشد.

نتیجه‌گیری: فعالیت A_1-AR طی ساعات اولیه خونرسانی مجدد بدنبال ایسکمی کلیوی در برقراری اختلالات همودینامیک، بازجذب توبولی سدیم همچنین دفع پتاسیم، اوره و اسید- باز به طور کاملاً بارزی مشارکت می‌نماید.

واژگان کلیدی: تعادل اسید-باز، گیرنده A_1 آدنوزین، میزان فیلتراسیون گلومرولی، ایسکمی/خونرسانی مجدد، قدرت تغلیظ کنندگی ادراری

***نویسنده مسئول:** شیراز، خیابان زند، دانشکده پزشکی شیراز، گروه فیزیولوژی

Email: mmoosavi@sums.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

مقدمه

نارسایی حاد کلیوی (Acute Renal Failure-ARF) یک سندروم شایع کلینیکی با میزان مرگ و میر حدود 50 درصد هنوز جزء مشکلات عمده بالینی است. یکی از علل شایع ARF ایسکمی کلیوی در نتیجه کاهش شدید یا قطع خونرسانی به کلیه می‌باشد. بدیهی است که برای بقای بافت ایسکمیک شده خونرسانی مجدد ضروری است اما خود آسیب مضاعفی را ایجاد می‌کند که تحت عنوان ضایعات ناشی از ایسکمی/خونرسانی مجدد (Ischemia Reper Fusin-I/R) نامیده شده است(1).

به دنبال ایسکمی بافتی و برقراری ضایعات میتوکندریایی، ذخایر انرژی داخل سلولی تخلیه می‌گردد که طی آن تجزیه سریع ATP به ADP و سپس AMP و نهایتاً به آدنوزین صورت می‌پذیرد. افزایش میزان آدنوزین بافت کلیه بعد از انسداد شریان کلیوی در چندین مطالعه گزارش شده است(2، 3). چهار نوع گیرنده برای آدنوزین شناسایی شده‌اند که عبارتند از A_1، A_{2a}، A_{2b} و A_3 که همگی آنها در کلیه وجود دارند. تحریک گیرنده A_1 آدنوزین (A_1-AR) در آرتریول‌های آوران و سلول‌های مزانژیال باعث افزایش انقباض و در نتیجه کاهش جریان خون و فیلتراسیون گلومرولی می‌شود ولی در توبول‌های کلیوی منجر به افزایش بازجذب در توبول‌های پروگزیمال (Proximal Tubule-PT) و دیستال (Distal Tubule-DT) و کاهش آن در بخش ضخیم بالارونده مدولاری (Medullary Thick ascending Limb-mTAL) می‌گردد(3).

مطالعات متعددی بر روی اثرات مهار A_1-AR به دنبال ایسکمی در کلیه صورت گرفته است. تحقیقات اولیه با استفاده از آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده‌های آدنوزین (تئوفیلین) یا مهار کننده‌های برداشت سلولی آدنوزین (دی پیریدامل) در ARF القا شده با ایسکمی (4، 5) و آنتاگونیست اختصاصی A_1-AR (DPCPX) در ARF القا شده با توکسین‌ها(6، 7) نشان دادند که آدنوزین از طریق فعال کردن A_1-AR بر روی آرتریول‌های آوران منجر به کاهش جریان خون کلیوی و GFR و نتیجتاً تشدید آسیب‌های بافتی و نقص عملکرد کلیوی در ARF می‌شود. اما در یک سری مطالعات که اخیراً توسط لی و همکاران بر روی موش‌های فاقد ژن A_1-AR (8)، موش‌ها(9) و رت‌های(10) درمان شده با آنتاگونیست (DPCPX) یا آگونیست (CCPA) اختصاصی A_1-AR انجام شده، مشاهده گردید که فعال شدن A_1-AR دارای اثرات محافظتی و مفید در برابر ضایعات کلیوی حاصل از I/R می‌باشد. نکته مهم آن که در تمام آزمایشات آنها A_1-AR به صورت اختصاصی حذف، بلاک یا تحریک شدند و دوره خونرسانی مجدد 24 ساعته به دنبال 30 دقیقه ایسکمی کلیوی وجود داشت در حالی که در اکثر آزمایشات قبلی از آنتاگونیست‌های غیر اختصاصی گیرنده‌های آدنوزین یا دی پیریدامل استفاده گردید و دوره‌های خونرسانی مجدد بین 1 الی 3 ساعت بودند. در همین راستا تحقیقی اخیراً در این آزمایشگاه انجام شد(11) که در آن ایسکمی 30 دقیقه‌ای و خونرسانی مجدد 4 ساعته در رت‌ها برقرار گردید و نشان داده شد که تجویز DPCPX به عنوان آنتاگونیست اختصاصی A_1-AR باعث بهبودی نسبی در عملکردهای همودینامیک و دفعی کلیه و همچنین کاهش آسیب‌های بافتی با استفاده از میکروسکوپ نوری و ضایعات ماورای سلولی توسط میکروسکوپ الکترونی گردید. اما در این مطالعه DPCPX به صورت مداوم از نیم ساعت قبل از برقراری ایسکمی کلیوی و تا پایان دوره خونرسانی مجدد از طریق داخل وریدی تزریق گردید و دوز انتخابی هم قبلاً نشان داده شده بود(12) که به طور موثر پاسخ‌های A_1-AR را مهار می‌نماید و هیچگونه اثری بر روی گیرنده A_2 آدنوزین ندارد؛ ولی لی و همکاران DPCPX را به صورت یکجا نیم ساعت قبل از اعمال ایسکمی و به طور داخل صفاقی تزریق کرده بودند لذا این احتمال می‌تواند مطرح گردد که بلاک A_1-AR طی I/R کلیوی دارای اثرات مفید در چند ساعت ابتدایی و اثرات مضر در مدت 24 ساعت از خونرسانی مجدد باشد. از آنجایی که آنها دلیل تناقض بین یافته‌های خود و تحقیقات قبلی را مرتبط به وجود اختلافات اساسی در طراحی آزمایشات دانستند(9)، هدف از انجام این

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

مطالعه آن است که در شرایط آزمایشی مشابه و با دوز و روش تجویز DPCPX استفاده شده درتحقیقات صورت پذیرفته(10) و با تنها تفاوت در طول دوره خونرسانی مجدد، تاثیر مهار اختصاصی A_1-AR در طول 30 دقیقه ایسکمی دو طرفه کلیوی و 4 ساعت خونرسانی مجدد بر روی GFR، دفع آب و املاح، قدرت تغلیظ کنندگی کلیه و نیز پارامترهای دیگری از جمله دفع اسید و بیکربنات که در تحقیق قبلی بررسی نشده بود، در یک ساعت آخر دوره خونرسانی مجدد مورد بررسی قرار گیرد و به علاوه اثرات تجویز این دوز از DPCPX به حیوانات نرمال را هم بر روی تمامی پارامترهای ذکر شده مشخص نماید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی بر روی 26 رت نر از نژاد اسپراگودولی (Sprague-Dawley) در محدوده وزنی 350-280 گرم و تهیه شده از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز صورت پذیرفت که در شرایط 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی و در محدوده حرارتی 2±23 درجه سانتی‌گراد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می‌شدند. حیوانات پس از توزین، به وسیله تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم (Sigma-Aldrich) با مقدار 60 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم بیهوش شده و سپس یک برش با استفاده از کوتری (Surgistat - ایران) در ناحیه خط وسط شکمی ایجاد و شریان و ورید هر دو کلیه با دقت در زیر میکروسکوپ استریوتاکسی (ET-Olympus-SZ2- ژاپن) از هم جدا می‌شدند. در گروه‌هایی که تحت I/R قرار می‌گرفتند، شریان‌های کلیوی به طور هم‌زمان به وسیله دو کلمپ مسدود و در پایان 30 دقیقه جریان خون دوباره برقرار می‌گردید. سپس یک کانول پلی اتیلنی با قطر مناسب در نای به منظور ایجاد راه هوایی مطمئن قرار داده و یک ماسک متصل به کپسول اکسیژن بر روی این کانول در تمام طول مراحل جراحی و آزمایش گذاشته می‌شد و جریان اکسیژن در حدی تنظیم می‌گردید تا فشار اکسیژن خون شریانی در محدوده 130-100 میلی متر جیوه باشد. با قرار دادن یک پروب مقعدی (physitemp BAT-12 - امریکا) درجه حرارت حیوان اندازه‌گیری و با استفاده از یک لامپ گرمایی و صفحه حرارتی، دمای بدن حیوان در محدوده 1±37 درجه سانتی‌گراد حفظ می‌شد. کانول‌های هپارینه شده (20 واحد در میلی لیتر) در شریان و ورید رانی راست گذاشته و به ترتیب به ترانسدیوسر فشار (Statham 23DC- امریکا) و پمپ تزریق (Syring infusion pump SEP-105 - اسلونی) متصل می‌گردیدند. نمونه خون شریانی در مواقع معین از کانول شریانی گرفته می‌شد و از طریق کانول وریدی نرمال سالین با سرعت 3 میلی‌لیتر در ساعت در تمام طول آزمایش و داروی بیهوشی در صورت لزوم تزریق می‌گردیدند. یک برش کوچک هم در مثانه با استفاده از کوتر ایجاد و کانولی جهت جمع‌آوری ادرار در آن گذاشته می‌شد. انجام این مراحل حدود یک ساعت به طول می‌انجامید و به دنبال آن 2 ساعت استراحت جهت متعادل شدن وضعیت حیوان طی می‌شد. در آخرین ساعت از دوره 4 ساعته خونرسانی مجدد یک دوره کلیرانس یک ساعته همراه با ثبت مداوم فشار خون شریانی توسط کامپیوتر و با استفاده از سیستم PowerLab (ADInstruments-4sp - استرالیا) صورت می‌پذیرفت(13، 14). طی همین مدت جمع‌آوری ادرار در زیر 30 میلی‌متر پارافین مایع انجام می‌گرفت و در پایان یک ساعت دو نمونه خون شریانی مجزا گرفته می‌شد که یکی به دستگاه Blood-Gas داده می‌شد و دیگری بلافاصله سانتریفیوژ و پلاسمای آن در 20- درجه سانتی‌گراد حفظ می‌گردید. در خاتمه آزمایش هر دو کلیه بیرون آورده و توزین می‌گردیدند و حیوان با تزریق دوز بالای داروی بیهوشی کشته می‌شد. در این تحقیق اصول کلی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت می‌گردید و تمامی مراحل آزمایش مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز بود.

یکی از نمونه‌های خون شریانی گرفته شده بلافاصله به دستگاه Easy Blood-Gas (Medica - آمریکا) داده می‌شد تا مقادیر فشار اکسیژن (P_aO_2)، فشار

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

گاز کربنیک (P_aCO_2) و pH_a را اندازه‌گیری و غلظت بیکربنات ($[HCO_3^-]_a$) آن را تعیین نماید. سپس توزین ادرارهای جمع‌آوری شده در زیر پارافین به منظور مشخص نمودن حجم ادرار انجام شده و مقداری از آن توسط سوزن اسپاینال بیرون آورده و سریعاً توسط دستگاه Easy Blood-Gas فشار گاز کربنیک ادراری (P_UCO_2) و با استفاده از pH-meter مخصوص (Sentron Argus-X - هلند) مقدار pH_U اندازه‌گیری می‌شدند. غلظت بیکربنات ادراری ($[HCO_3^-]_U$) با در نظر گرفتن ضریب حلالیت CO_2 (α_{CO2}) در ادرار (0/03090) و با استفاده از معادله هندرسون-هاسلباخ ($pH = 6.1 + \log [HCO_3^-]_U / \alpha_{CO2} \times P_UCO_2$) تعیین می‌گردید(15). برای تمام نمونه‌های ادراری و پلاسمایی جمع‌آوری شده غلظت‌های کرآتینین و اوره توسط دستگاه Autoanalyzer (مدل RA-1000، Technicon-آمریکا)، غلظت‌های سدیم و پتاسیم توسط دستگاه فلیم فوتومتر (Hycel phf 104- فرانسه) و اسمولالیته توسط دستگاه Osmometer (مدل Osmomat 010، Gonotec-آلمان) اندازه‌گیری می‌گردیدند. به علاوه با استفاده از فرمول‌های استاندارد، کلیرانس کرآتینین به عنوان شاخص GFR، میزان جریان ادرار و مقادیر دفع مطلق و نسبی سدیم، پتاسیم، اوره و بیکربنات و همچنین میزان‌های کلیرانس اسمولی و بازجذب آب آزاد برای دوره کلیرانس یک ساعته محاسبه می‌شدند(11، 14).

در این مطالعه از 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine (DPCPX, Sigma- آمریکا) به عنوان آنتاگونیست اختصاصی A_1-AR استفاده گردید و حیوانات به چهار گروه مختلف تقسیم شدند. در رت‌های قرار گرفته تحت ایسکمی/خونرسانی مجدد درمان شده (گروه I/R+DPCPX) یا درمان نشده (گروه I/R) به ترتیب DPCPX حل شده در نرمال سالین به میزان 2 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن یا نرمال سالین تنها و هر دو با حجم 1 میلی لیتر به صورت یک تزریق داخل صفاقی در زمان نیم ساعت قبل از برقراری ایسکمی دوطرفه کلیوی تجویز گردیدند(10) تعداد برابر 7 نمونه در هر گروه بود. در رت‌هایی که شریان و ورید کلیوی از هم جدا می‌شدند ولی انسداد شریان‌های کلیوی صورت نمی‌پذیرفت و 4 ساعت دوره معادل خونرسانی مجدد را طی می‌نمودند، نرمال سالین در گروه شاهد و DPCPX حل شده در نرمال سالین با همان دوز درگروه DPCPX و هر کدام با حجم 1میلی لیتر به صورت داخل صفاقی در زمان نیم ساعت قبل از دوره معادل ایسکمی کلیوی تزریق شدند (تعداد برابر 6 نمونه در هر گروه).

نتایج به صورت میانگین و خطای معیار گزارش شده اند. توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه 11/5، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست دانکن جهت مقایسه بین گروهی و با در نظر گرفتن $p<0/05$ به عنوان سطح معنی‌دار استفاده گردید. برای تعیین میزان دقیق اختلاف آماری نیز آزمون LSD به کار گرفته شد.

یافته‌ها

جدول 1 میانگین فشار متوسط شریانی طی دوره کلیرانس یک ساعته و مقادیر پارامترهای پلاسمایی در انتهای این دوره را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. مقادیر فشار متوسط شریانی در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با همدیگر نداشتند، بنابراین اختلافات در بین گروه‌ها برای پارامترهای پلاسمایی و عملکرد کلیوی نمی‌تواند ناشی از تغییرات فشار خون شریانی باشد. غلظت‌های پلاسمایی سدیم، پتاسیم و کرآتینین و همچنین اسمولالیته پلاسما بین گروه‌های شاهد و DPCPX تفاوت معنی‌داری نداشتند، ولی غلظت اوره پلاسما در گروه DPCPX کمتر از گروه شاهد بود ($p<0/01$). نیم ساعت انسداد دوطرفه شریان کلیوی و 4 ساعت خونرسانی مجدد در گروه I/R باعث افزایش در غلظت‌های پلاسمایی پتاسیم ($p<0/05$)، سدیم، کرآتینین و اوره و همچنین اسمولالیته پلاسما (همگی $p<0/001$) نسبت به گروه شاهد گردید. استفاده از مهارکننده A_1-AR در گروه I/R+DPCPX منجر به کاهش مقادیر تمام پارامترهای پلاسمایی نسبت به گروه I/R گردید (همگی $p<0/01$)، به طوری که

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

غلظت‌های پلاسمایی پتاسیم و اوره به حد گروه شاهد رسیدند ولی غلظت‌های پلاسمایی کرآتینین (p<0/001) و سدیم و اسمولالیته پلاسما (هر دو p<0/01) هنوز بیشتر از مقادیر آنها در گروه شاهد بودند.

جدول 1. مقایسه میانگین تغییرات حاصل از ایسکمی/خونرسانی مجدد کلیوی بر روی فشار خون شریانی و پارامترهای پلاسمایی و اثرات مهار کننده گیرنده A_1 آدنوزین (DPCPX) بر روی آنها

	Posm میانگین (انحراف معیار)	$[Na^+]_p$ میانگین (انحراف معیار)	$[K^+]_p$ میانگین (انحراف معیار)	$[Cr]_p$ میانگین (انحراف معیار)	$[UN]_p$ میانگین (انحراف معیار)	MAP میانگین (انحراف معیار)
Sham	(2)298	(0/8)139/3	(0/07)4/07	(0/03)0/47	(2/1)25/5	(5)107
DPCPX	(2)298	(1/0)140/7	(0/07)3/89	(0/03)0/53	(0/7)17/3**	(4)107
I/R	(2)322***	(0/7)146/0***	(0/18)4/47*	(0/05)1/11***	(2/6)40/2***	(3)101
I/R+DPCPX	(1)310**††	(0/6)142/9**††	(0/08)3/92††	(0/07)0/87***††	(1/8)30/6††	(1)105

مقادیر برای اسمولالیته پلاسما (Posm) و غلظتهای پلاسمائی سدیم ($[Na^+]_p$)، پتاسیم ($[K^+]_p$)، کرآتینین ($[Cr]_p$) و اوره ($[UN]_p$) در انتها و همچنین فشار متوسط شریانی (MAP) طی یک ساعت آخر از دوره چهار ساعته خونرسانی مجدد بدنبال نیم ساعت انسداد دوطرفه شریان کلیوی در رتهای دریافت کننده DPCPX به میزان 2 mg/kg (گروه I/R+DPCPX، تعداد=7) یا نرمال سالین (گروه I/R، تعداد = 7) و همچنین در زمانهای معادل در رتهایی قرار گرفته تحت جراحی ولی بدون انسداد شریانهای کلیوی دریافت کننده DPCPX (گروه DPCPX، تعداد = 6) یا نرمال سالین در گروه شاهد (گروه Sham، تعداد =6) می باشند.

*P<0/05، **P<0/01، ***P<0/001 اختلاف معنی دار با گروه شاهد مربوطه.

†P<0/05، ††P<0/01، †††P<0/001 اختلاف معنی دار بین گروه I/R با گروه I/R+DPCPX.

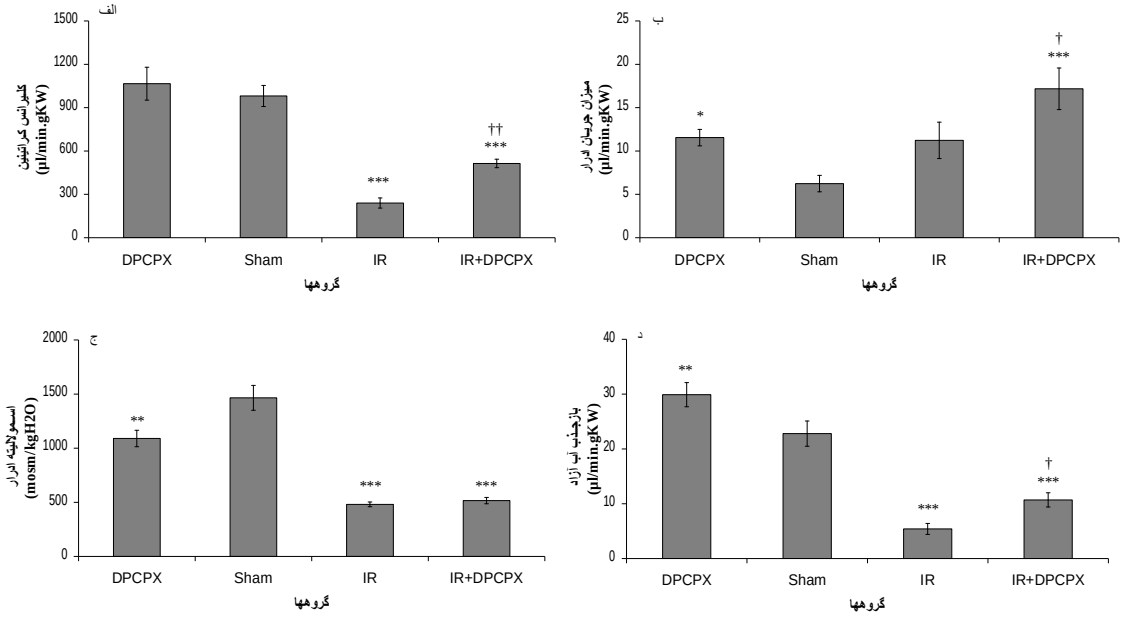
هرکدام از نمودارهای ارایه شده در شکل 1 نشان دهنده مقایسه بین گروهی برای یکی از پارامترهای عملکرد کلیوی در طول یک ساعت آخر از دوره 4 ساعته خونرسانی مجدد یا معادل خونرسانی مجدد می‌باشد. نمودار 1- الف بیانگر آن است که مقدار کلیرانس کرآتینین طی این یک ساعت در گروه شاهد برابر با 74±981 میکرولیتر بر دقیقه در گرم وزن کلیه بود و با مقدار آن در گروه DPCPX تفاوت نداشت. در گروه I/R کلیرانس کرآتینین به میزان حدود 77 درصد از مقدار آن در گروه شاهد کمتر شد (p<0/001). مهار A_1-AR باعث افزایش حدود 2/2 برابری مقدار کلیرانس کرآتینین در گروه I/R+DPCPX نسبت به گروه I/R گردید (p<0/01) که البته نسبت به گروه شاهد هنوز به میزان حدود 48 درصد کمتر بود (p<0/001).

نمودار1- ب مشخص می‌نماید که میزان جریان ادرار در گروه شاهد معادل 6/24±0/95 میکرولیتر بر دقیقه در گرم وزن کلیه بود و در گروه DPCPX حدود 2 برابر بیشتر از مقدار آن در گروه شاهد (p<0/05) گردید. جریان ادرار در گروه I/R افزایش غیر معنی‌دار 1/8 برابری(p = 0/071) نسبت به گروه شاهد داشت. میزان جریان ادرار در گروه I/R+DPCPX حدود 1/5 برابر بیشتر از گروه I/R شد (p<0/05) به طوری که افزایش قابل ملاحظه‌ای را نسبت به میزان آن در گروه شاهد نشان داد(p<0/001).

میزان اسمولالیته ادرار در گروه شاهد برابر با 115±1465 میلی اسمول بر کیلوگرم آب بود (نمودار 1- ج)، و از مقادیر اسمولالیته ادرار در گروه DPCPX حدود 26 درصد(p<0/01)، گروه I/R حدود 67 درصد (p<0/001)، و گروه I/R+DPCPX حدود 65 درصد (p<0/001) بیشتر می‌باشد. استفاده از مهارکننده A_1-AR تاثیری بر میزان اسمولالیته ادرار در گروه I/R+DPCPX نسبت به گروه I/R نداشت.

میزان باز جذب آب آزاد در گروه شاهد (22/8±2/8 میکرولیتر بر دقیقه در گرم وزن کلیه) پایین‌تر از سطح آن در گروه DPCPX (p<0/01) بود (نمودار 1- د). مقدار بازجذب آب آزاد در گروه I/R حدود 76 درصد از گروه شاهد کمتر گردید(p<0/001). در گروه I/R+DPCPX، میزان بازجذب آب آزاد حدود 2 برابر نسبت به گروه I/R افزایش پیدا کرد(p<0/05)، ولی هنوز حدود 60 درصد از مقدار آن در گروه شاهد پائین‌تر بود(p<0/001).

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017



شکل 1. مقایسه میانگین الف) کلیرانس کرآتینین، ب) میزان جریان ادرار، ج) اسمولالیته ادرار و د) بازجذب آب آزاد طی یکساعت آخر از دوره چهار ساعته خونرسانی مجدد بدنبال نیم ساعت ایسکمی دوطرفه کلیوی در بین رتهای دریافت کننده DPCPX به میزان 2 mg/kg (گروه I/R+DPCPX، تعداد=7) یا نرمال سالین (گروه I/R، تعداد=7)، و همچنین در زمان معادل در رتهائی قرار گرفته تحت جراحی ولی بدون انسداد شریانهای کلیوی دریافت کننده DPCPX (گروه DPCPX، تعداد=6) یا نرمال سالین در گروه شاهد (گروه Sham، تعداد=6).

$*P<0/05$، $**P<0/01$، $***P<0/001$ اختلاف معنی دار با گروه شاهد مربوطه.

$^{\dagger}P<0/05$، $^{\dagger\dagger}P<0/01$، $^{\dagger\dagger\dagger}P<0/001$ اختلاف معنی دار بین گروه I/R با گروه I/R+DPCPX.

جدول 2 مقادیر پارامترهای عملکردی کلیه شامل دفع مطلق اوره، کلیرانس اسمولی و دفع مطلق و نسبی سدیم و پتاسیم را در انتهای 4 ساعت دوره خونرسانی مجدد یا دوره معادل در گروه‌های مربوطه نشان می دهد. همان گونه که مشاهده می‌گردد مقادیر دفع نسبی سدیم، دفع مطلق پتاسیم و دفع نسبی پتاسیم در گروه‌های شاهد و DPCPX تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اما مقادیر دفع مطلق اوره، کلیرانس اسمولی و دفع مطلق سدیم در گروه DPCPX به طور معنی‌دار بیشتر از گروه شاهد بوده است. اعمال نیم ساعت ایسکمی و 4 ساعت خونرسانی مجدد منجر به کاهش مقادیر دفع مطلق اوره($p<0/001$)، کلیرانس اسمولی($p<0/01$) و دفع مطق پتاسیم($p<0/001$) و افزایش مقادیر دفع نسبی سدیم($p<0/001$) و دفع نسبی پتاسیم($p<0/001$) در گروه I/R نسبت به گروه شاهد گردید. به کار گرفتن مهار کننده گیرنده A1 آدنوزین توانست باعث افزایش دفع مطلق اوره ($p<0/01$)، کلیرانس اسمولی ($p<0/05$)، دفع مطلق سدیم ($p<0/05$) و دفع مطلق پتاسیم ($p<0/05$) و کاهش دفع نسبی پتاسیم ($p<0/01$) در گروه I/R+DPCPX نسبت به مقادیر آنها در گروه I/R گردد، به نحویکه مقدار کلیرانس اسمولی به حد گروه شاهد رسید و فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند اما دفع مطلق اوره، دفع مطلق سدیم، دفع مطلق پتاسیم و دفع نسبی پتاسیم همچنان با مقادیر آنها در گروه شاهد تفاوت معنی دار داشت.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

جدول 2. مقایسه میانگین تغییرات حاصل از ایسکمی/خونرسانی مجدد کلیوی بر روی پارامترهای عملکرد دفعی کلیه و اثرات مهار کننده گیرنده A_1 آدنوزین (DPCPX) بر روی آنها

	$U_{BUN}V^{\circ}$ میانگین (انحراف معیار)	C_{OSM} میانگین (انحراف معیار)	$U_{Na}V^{\circ}$ میانگین (انحراف معیار)	FE_{Na} میانگین (انحراف معیار)	U_KV° میانگین (انحراف معیار)	FE_K میانگین (انحراف معیار)
Sham	(0/35)3/77	(3)29	(0/28)1/32	(0/24)0/99	(0/13)1/16	(3)29
DPCPX	(0/53)5/14*	(3)41**	(0/29)2/87**	(0/32)2/05	(0/09)1/25	(2)31
I/R	(0/19)1/16***	(3)17**	(0/34)1/59	(0/62)4/53***	(0/08)0/58***	(3)56***
I/R+DPCPX	(0/34)2/63*††	(3)28†	(0/42)2/70*†	(0/49)3/68**	(0/07)0/89*†	(2)44***††

مقادیر برای دفع مطلق اوره ($U_{BUN}V^{\circ}$)، کلیرانس اسمولی(C_{OSM})، دفع مطلق سدیم ($U_{Na}V^{\circ}$)، دفع نسبی سدیم (FE_{Na})، دفع مطلق پتاسیم (U_KV°) و دفع نسبی پتاسیم (FE_K) در انتهای دوره چهار ساعته خونرسانی مجدد بدنبال نیم ساعت انسداد دوطرفه شریان کلیوی در رتهای دریافت کننده DPCPX به میزان 2 mg/kg (گروه I/R+DPCPX، n= 7) یا نرمال سالین (گروه I/R، n= 7)، و همچنین در زمانهای معادل در رتهائی قرار گرفته تحت جراحی ولی بدون انسداد شریانهای کلیوی دریافت کننده DPCPX (گروه DPCPX، n= 6) یا نرمال سالین در گروه شاهد (گروه Sham، n= 6) می باشند.

*P<0/05، **P<0/01، ***P<0/001 اختلاف معنی دار با گروه شاهد مربوطه.

†P<0/05، ††P<0/01، †††P<0/001 اختلاف معنی دار بین گروه I/R با گروه I/R+DPCPX.

جدول 3 مقادیر پارامترهای خون شریانی شامل $[HCO_3^-]_a$، pH_a، P_aCO_2 و P_aO_2 را در انتهای 4 ساعت دوره خونرسانی مجدد یا دوره معادل در گروه‌های مربوطه نشان می‌دهد. مشخص است که سطوح P_aO_2 در چهار گروه از لحاظ آماری تفاوتی با یکدیگر نداشتند. میزان‌های $[HCO_3^-]_a$، pH_a و P_aCO_2 بین دو گروه شاهد و DPCPX اختلافی را نشان ندادند. اما نیم ساعت ایسکمی دوطرفه کلیوی و 4 ساعت خونرسانی مجدد باعث کاهش $[HCO_3^-]_a$ (p<0/001)، pH_a (p<0/05) و P_aCO_2 (p<0/01) در گروه I/R نسبت به گروه شاهد گردید. مهار A_1-AR در گروه I/R+DPCPX توانست سبب افزایش $[HCO_3^-]_a$ (p<0/01) و P_aCO_2 (p<0/05) نسبت به گروه I/R شود، به نحوی که در این گروه P_aCO_2 و pH_a برابر ولی $[HCO_3^-]_a$ هنوز کمتر (p<0/05) از مقادیر آنها در گروه شاهد بودند.

جدول 3. مقایسه میانگین تغییرات حاصل از ایسکمی/خونرسانی مجدد کلیوی بر روی وضعیت اسید-باز و فشار گازهای خون شریانی و اثرات مهار کننده گیرنده A_1 آدنوزین (DPCPX) بر آنها

	$[HCO_3]_a$ میانگین(انحراف معیار)	pH_a میانگین(انحراف معیار)	P_aCO_2 میانگین(انحراف معیار)	P_aO_2 میانگین(انحراف معیار)
Sham	(0/5)23/3	(0/01)7/40	(1/0)37/8	(8)127
DPCPX	(0/7)24/3	(0/01)7/41	(1/3)38/6	(6)111
I/R	(1/6)16/3***	(0/01)7/37*	(3/0)28/6**	(6)131
I/R+DPCPX	(0/5)20/6*††	(0/01)7/38	(1/1)34/9†	(9)124

مقادیر برای غلظت بیکربنات ($[HCO_3]_a$)، اسیدیته (pH_a)، فشار دی اکسید کربن(P_aCO_2) و فشار اکسیژن (P_aO_2) خون شریانی در انتهای دوره چهار ساعته خونرسانی مجدد بدنبال نیم ساعت انسداد دوطرفه شریان کلیوی در رتهای دریافت کننده DPCPX به میزان 2 mg/kg (گروه I/R+DPCPX، n= 7) یا نرمال سالین (گروه I/R، n= 7)، و همچنین در زمانهای معادل در رتهائی قرار گرفته تحت جراحی ولی بدون انسداد شریانهای کلیوی دریافت کننده DPCPX (گروه DPCPX، n= 6) یا نرمال سالین در گروه شاهد (گروه Sham، n= 6) می باشند.

*P<0/05، **P<0/01، ***P<0/001 اختلاف معنی دار با گروه شاهد مربوطه.

†P<0/05، ††P<0/01، †††P<0/001 اختلاف معنی دار بین گروه I/R با گروه I/R+DPCPX.

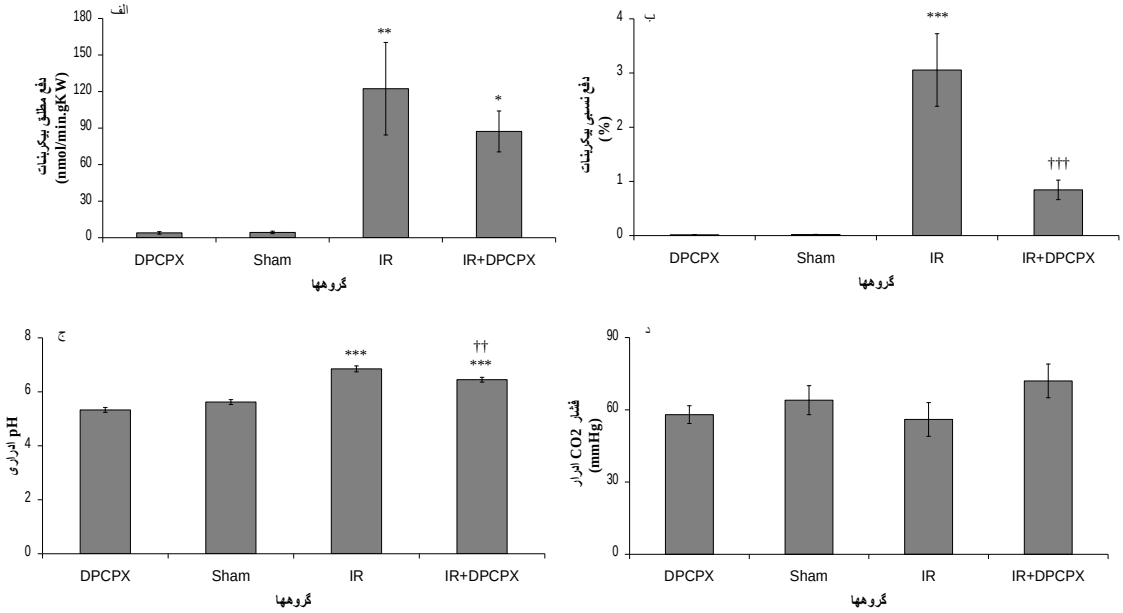
مقایسه بین گروهی پارامترهای تعیین کننده عملکرد کلیه در دفع اسید-باز طی یک ساعت آخر از دوره 4 ساعته خونرسانی مجدد یا معادل آن در هر یک از نمودارهای ارایه شده در شکل 2 مشخص شده‌اند. میزان دفع مطلق بیکربنات در گروه شاهد برابر با 4/33±0/99 نانومول بر دقیقه در گرم وزن کلیه بود و تفاوتی با گروه DPCPX نداشت (نمودار 2-الف). در گروه I/R افزایش حدود 30 برابری دفع مطلق بیکربنات نسبت به گروه شاهد وجود داشت(p<0/01). مهار A_1-AR در گروه I/R+DPCPX باعث افت 29 درصد در میزان دفع مطلق

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

بیکربنات نسبت به گروه I/R گردید ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نشد، و همچنان از مقدار آن در گروه شاهد بالاتر بود ($p<0/05$).

در نمودار 2-ب مشخص است که دفع نسبی بیکربنات در گروه شاهد برابر 0/019±0/003 درصد بود که با گروه DPCPX تفاوت معنی‌دار نداشت. به دنبال نیم ساعت ایسکمی و 4 ساعت خونرسانی مجدد کلیوی میزان دفع نسبی بیکربنات در گروه I/R شدیداً نسبت به گروه شاهد افزایش یافت($p<0/001$) و به حد 3/056±0/674 درصد رسید. مهار A_1-AR توانست میزان دفع نسبی بیکربنات را در گروه I/R+DPCPX (0/843±0/178 درصد) کاملاً نسبت به گروه I/R کاهش دهد($p<0/001$)، به نحوی که با مقدار آن در گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت.

نمودار 2- ج نشان دهنده آن است که pH_U در گروه شاهد (5/62±0/09) و گروه DPCPX (5/33±0/09) تفاوت معنی‌داری نداشتند. pH_U در گروه I/R (6/85±0/11) نسبت به گروه شاهد بیشتر گردید($p<0/001$)، درحالی که pH_U در گروه I/R+DPCPX (6/45±0/09) از مقادیر آن در گروه I/R کمتر($p<0/01$) و گروه شاهد بیشتر($p<0/001$) شد. نهایتاً نمودار 2-د مشخص می‌نماید که میزان‌های P_UCO_2 در گروه‌های مختلف از لحاظ آماری برابر بودند و تفاوتی نیز با مقدار آن در گروه شاهد (63/9±6/3 میلی‌متر جیوه) نداشتند.



نمودار 2. مقایسه میانگین الف) دفع مطلق بیکربنات، ب) دفع نسبی بیکربنات، ج) pH ادرار و د) فشار CO_2 ادرار طی یک ساعت آخر از دوره چهار ساعته خونرسانی مجدد به دنبال نیم ساعت ایسکمی دوطرفه کلیوی در بین رت های دریافت کننده DPCPX به میزان 2 mg/kg (گروه I/R+DPCPX، تعداد=7) یا نرمال سالین (گروه I/R، تعداد=7)، و همچنین در زمان معادل در رت هایی قرار گرفته تحت جراحی ولی بدون انسداد شریانهای کلیوی دریافت کننده DPCPX (گروه DPCPX، تعداد=6) یا نرمال سالین در گروه شاهد (گروه Sham، تعداد=6).

$*P<0/05$، $**P<0/01$، $***P<0/001$ اختلاف معنی دار با گروه شاهد مربوطه.

$^{\dagger}P<0/05$، $^{\dagger\dagger}P<0/01$، $^{\dagger\dagger\dagger}P<0/001$ اختلاف معنی دار بین گروه I/R با گروه I/R+DPCPX.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

بحث

در این مطالعه گروه DPCPX جهت مقایسه با گروه شاهد به منظور مشخص نمودن اثرات مهار A_1-AR در کوتاه مدت (حدود 5 ساعت) بر روی عملکرد کلیه در رت‌های نرمال در نظر گرفته شد. برابر بودن مقادیر کلیرانس کرآتینین و غلظت پلاسمایی کرآتینین در دو گروه حاکی از عدم تاثیر بلاک A_1-AR بر روی میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) در شرایط نرمال می‌باشد. در حالی که کاملاً مشخص شده است که آدنوزین از طریق تحریک A_1-AR باعث انقباض آرتریول‌های آوران(16) و سلول‌های مزانژیال می‌شود(17) و طبعاً با کاهش دادن جریان خون کلیوی و ضریب اولترافیلتراسیون مویرگ‌های گلومرولی (K_f) می‌تواند منجر به افت GFR گردد. مانگرو جکسون در تحقیقی علت عدم اثر بلاک A_1-AR بر روی GFR در رت‌های نرمال را با استفاده از تکنیک میکروپانچر بررسی نمودند و نشان دادند که مهار A_1-AR با منبسط نمودن آرتریول آوران منجر به افزایش فشار خون داخل گلومرولی می‌گردید ولی متناسب با آن K_f کاهش می‌یافت و درنتیجه GFR ثابت باقی ماند(18). از طرف دیگر عدم تغییر GFR به همراه بالاتر بودن دفع مطلق اوره در گروه DPCPX نسبت به گروه شاهد دلالت بر آن می‌نماید که فعالیت نرمال A_1-AR منجر به افزایش بازجذب توبولی اوره می‌شود و در نتیجه با مهار این گیرنده غلظت پلاسمایی اوره در گروه DPCPX افت یافته است. در شرایط نرمال و در حضور هورمون ضد ادراری، ادرار داخل مجاری جمع کننده مدولاری (Medullary Collecting Duct-MCD) با مایع میان بافت مدولای کلیه از لحاظ اسمولالیته به تعادل می‌رسند، بنابراین پایین‌تر بودن اسمولالیته ادرار در گروه DPCPX نسبت به گروه شاهد را می‌توان به عنوان شاخص کمتر شدن اسمولالیته میان بافت مدولا در نظر گرفت که کاهش بازجذب توبولی اوره و افت غلظت اوره در مایع میان بافت مدولا می‌تواند در آن دخیل باشد. منظور از آب آزاد، آب بدون املاح می‌باشد که بازجذب آن از MCD تراوا شده به آب حاصل از عملکرد هورمون ضد ادراری و تحت شیب اسمولالیته ناشی از برقراری هایپراسمولالیته میان بافت مدولا صورت می‌پذیرد و منجر به تغلیظ ادرار می‌شود(19). افزایش بازجذب آب آزاد علیرغم افت هایپراسمولالیته میان بافت مدولا در گروه DPCPX تا حدود زیادی نتیجه افزایش کلیرانس اسمولی است که طبق فرمول ریاضی (بازجذب آب آزاد = کلیرانس اسمولی - میزان جریان ادرار) بیشتر از ادرار دفعی افزایش یافته است(11). به عبارت دیگر مهار A_1-AR از طریق کاهش بازجذب توبولی املاح و آب همراه آنها در بخش‌های قبل از MCD منجر به افزایش میزان عرضه مایع به این مجاری شده است تا آب آزاد بیشتری را با وجود افت شیب اسمولالیته بازجذب نمایند. در این مطالعه بارزترین تغییرات عملکرد کلیوی حاصل از تجویز DPCPX به رت‌های نرمال، افزایش دفع سدیم و ادرار بود که بیان‌گر اثرات ناتریورتیک و دیورتیک گزارش شده حاصل از استفاده مهار کننده‌های A_1-AR می‌باشد(18). این اثرات با توجه به عدم تغییر GFR در گروه DPCPX تایید کننده نتایج به دست آمده از سایر تحقیقات است که نشان داده‌اند فعالیت A_1-AR در کلیه به طور مستقیم بازجذب توبولی سدیم و به دنبال آن آب را به خصوص در PT و احتمالا DT افزایش می‌دهد(3). از طرف دیگر کاهش بازجذب آب و سدیم در PT نه تنها منجر به کاهش بازجذب پتاسیم هم می‌شود، بلکه با افزایش دادن میزان مایع تحویلی به بخش‌های دیستال باعث تحریک ترشح پتاسیم نیز می‌گردد(19). لذا عدم تغییر دفع مطلق و نسبی پتاسیم در گروه DPCPX بیانگر آن است که مهار A_1-AR در توبول‌های دیستال انتهایی و مجاری جمع کننده کورتیکال مستقیماً ترشح پتاسیم را همراه با بازجذب سدیم کاهش می‌دهد، که در مطالعات دیگر نیز اشاره شده است(3). عدم تغییر در دفع نسبی و مطلق بیکربنات و همچنین pH_U در گروه DPCPX نشان دهنده آن است که فعالیت A_1-AR نقشی در تنظیم دفع کلیوی بیکربنات و اسید در شرایط نرمال ندارد لذا مقادیر پارامترهای اسید-باز خون شریانی نیز در این گروه در حد گروه شاهد بودند. فشار CO_2 در شرایط عادی در ادرار

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

بیشتر از خون می‌باشد که دلیل آن مرتبط با ترشح H^+ در CD توسط پمپ‌های H^+-ATPase و H^+/K^+-ATPase موجود در غشاء لومنی سلول‌های اینترکاله آلفا می‌باشد(20)؛ بنابراین عدم تغییر P_UCO_2 در گروه DPCPX بیان‌گر آن است که فعالیت نرمال A_1-AR تاثیری بر روی ترشح H^+ توسط سلول‌های اینترکاله آلفا در CD ندارد.

از لحاظ پاتوفیزیولوژی تحقیق قبلی انجام شده در این آزمایشگاه(11) و سایر مطالعات(1، 21) نشان داده‌اند که I/R کلیوی منجر به برقراری آسیب‌هایی در عروق و توبول‌ها می‌گردد. آسیب‌های لایه اندوتلیال عروق از یک طرف با به هم زدن تعادل بین تولید مواد منقبض کننده عروقی (نظیر آدنوزین و اندوتلین) و منبسط کننده عروقی (نظیر نیتریک اکساید و پروستاگلندین‌ها) باعث افزایش انقباض عروقی داخل کلیوی می‌شوند. از طرف دیگر با افزایش ملکول‌های اتصالی و چسبیدن لکوسیت‌ها، پلاکت‌ها و گلبول‌های قرمز منجر به احتقان داخل عروقی گردیده که مجموعاً باعث کاهش پایدار جریان خون کلیوی طی خونرسانی مجدد می‌شوند. آسیب‌های توبولی نیز شامل از بین رفتن لبه‌های بررسی (Brush border) غشاء اپیکال و ریزش آنها به داخل لومن، آسیب اتصالات بین سلولی که منجر به اختلال در عملکرد حصاری آنها و قطبیت غشاء سلول‌ها می‌شود و اتصالات سلول‌ها به غشاء پایه و ریزش آنها به داخل لومن می‌باشند. سلول‌های توبولی و لبه‌های برسی کنده شده با پروتئین‌ها تشکیل قالب‌های (Cast) داخل لومنی را می‌دهند که با ممانعت در برابر جریان مایع در توبول‌ها باعث افزایش فشار داخل کپسول بومن می‌شوند و همراه با افزایش نشت برگشتی از خلال لایه اپیتلیال آسیب دیده توبول‌ها و کاهش جریان خون کلیوی منجر به افت شدید GFR در ARF می‌گردند. کاهش 77 درصد کلیرانس کرآتینین و افزایش بیش از 2 برابری غلظت پلاسمایی کرآتینین در گروه I/R نسبت به گروه شاهد به طور قابل توجهی در گروه I/R+DPCPX تخفیف یافت. بنابراین 30 دقیقه ایسکمی دو طرفه کلیوی در طول یک ساعت آخر از دوره 4 ساعته خونرسانی مجدد باعث افت شدید GFR گردید که بخشی از آن حاصل فعالیت A_1-AR بوده است. فعال شدن A_1-AR موجود بر روی آرتریول‌های آوران طی مدت ایسکمی و ساعات اولیه خونرسانی مجدد کلیوی از طریق تشدید انقباض آنها و کاهش بیشتر جریان خون کلیوی مسقیماً با کمتر نمودن فشارخون و بالاتر بردن فشار آنکوتیک داخل گلومرولی و غیر مستقیم با تشدید آسیب‌های توبولی به خصوص تشکیل قالب‌های داخل لومنی و نشت برگشتی مسئول بخشی از افت GFR می‌باشد(1، 11).

اختلالات در عملکرد انتقالی توبول‌ها ناشی از I/R در نتیجه کاهش سطح لایه اپیتلیال توبول‌ها به دلیل ریزش لبه‌های برسی، کنده شدن سلول‌ها، آپوپتوز و نکروز سلول‌ها و همچنین معیوب شدن انتقال یک طرفه آب و املاح به علت از بین رفتن قطبیت غشاء سلول‌ها روی می‌دهد که باعث کاهش بازجذب سدیم، پتاسیم، اوره و آب در PT، mTAL و توبول‌های دیستال اولیه می‌گردند(1، 11، 21). البته افت شدید GFR و طبعاً بارفیلترای املاح عامل اصلی کاهش دفع مطلق اوره و پتاسیم در گروه I/R می‌باشد، که باعث افزایش غلظت‌های پلاسمایی اوره و پتاسیم هم شده‌اند. ولی در مورد سدیم به علت آن که افت در میزان‌های فیلترشده و بازجذب شده آن برابر بوده‌اند، دفع مطلق سدیم در گروه I/R ثابت مانده است، هرچند که افزایش شدید دفع نسبی سدیم نشان دهنده کاهش بازجذب آن بر اثر صدمات توبولی می‌باشد(11). در خصوص افزایش دفع نسبی پتاسیم در گروه I/R علاوه بر کاهش بازجذب توبولی پتاسیم، افزایش ترشح آن توسط سلول‌های اصلی واقع در بخش انتهایی توبول دیستال و مجاری جع کننده کورتیکال هم احتمالاً دخیل می‌باشد، که حاصل اثرات تحریکی بالا بودن غلظت پلاسمایی پتاسیم و هورمون آلدسترون می‌باشد(19). مهار A_1-AR به علت ایجاد بهبود نسبی در افت GFR ناشی از I/R و طبعاً افزایش بار فیلترای املاح، باعث بیشتر شدن دفع مطلق اوره و پتاسیم و کمتر شدن غلظت‌های پلاسمایی اوره و پتاسیم در گروه I/R+DPCPX نسبت به گروه I/R گردید. البته کمتر شدن

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

دفع نسبی پتاسیم در گروه I/R+DPCPX نسبت به گروه I/R تا حدود زیادی به علت افزایش بازجذب پتاسیم حاصل از کاهش آسیب‌های توبولی در این گروه است که در ادامه توضیح داده خواهد شد. دفع مطلق سدیم در گروه I/R+DPCPX نه تنها از گروه I/R بلکه از گروه شاهد هم بیشتر از دو برابر افزایش یافت. از آنجایی که GFR بهبود یافته در گروه I/R+DPCPX هنوز حدود نصف گروه شاهد می‌باشد و علی رغم بالاتر بودن اندک غلظت پلاسمایی سدیم، بار فیلترای سدیم در گروه I/R+DPCPX بسیار کمتر از گروه شاهد بوده است. بنابراین بیشتر بودن دفع مطلق سدیم به علت پایین‌تر بودن زیاد میزان بازجذب توبولی در گروه I/R+DPCPX نسبت به گروه شاهد می‌باشد که حاصل اثر ناتریورتیک DPCPX است که در گروه DPCPX هم مشاهده شد؛ از طرف دیگر با وجود اثر ناتریورتیک DPCPX و بالاتر بودن بارفیلترای سدیم، عدم افزایش دفع نسبی سدیم در گروه I/R+DPCPX نسبت به گروه I/R بیان‌گر کمتر شدن شدت آسیب‌های توبولی ناشی از I/R به علت مهار A_1-AR می‌باشد که مطالعات هیستوپاتولوژیک در تحقیق قبلی انجام شده در این آزمایشگاه نیز آن را نشان داده‌اند(11).

پایین‌تر بودن زیاد اسمولالیته ادرار در گروه I/R نسبت به گروه شاهد، بیان‌گر کاهش شدید قدرت تغلیظ کنندگی ادراری به علت افت زیاد در هایپراسمولالیته میان بافت مدولا می‌باشد که آسیب‌های شدید ناشی از I/R بر روی mTAL و اختلال در مکانیزم جریان مخالف تشدید شونده عامل اصلی آن می‌باشد(11، 22). بنابراین بازجذب آب آزاد از MCD به علت افت شیب اسمولایته در گروه I/R شدیداً کاهش یافته است. لذا با وجود کمتر شدن کلیرانس اسمولی حاصل از کاهش دفع املاحی نظیر اوره و پتاسیم و در نتیجه عرضه مایع کمتر به MCD، ولی به علت برداشت کمتر آب آزاد توسط این مجاری، ادراری با حجم تقریباً بیشتر و رقیق‌تر در گروه I/R نسبت به گروه شاهد دفع می‌گردد. به علاوه علیرغم عدم تغییر در دفع مطلق سدیم در گروه I/R نسبت به گروه شاهد، کاهش آب آزاد بازجذبی علت اصلی افزایش غلظت سدیم پلاسما می‌باشد که همراه با افزایش در غلظت پلاسمایی اوره منجر به بالا رفتن اسمولالیته پلاسما هم گردیدند. مهار A_1-AR طی دوره I/R در گروه I/R+DPCPX با وجود بهبود آسیب‌های توبولی و به خصوص در TAL که شواهد هیستوپاتولوژیکی هم آن را تایید می‌نماید(11)، نتوانست باعث افزایش اسمولالیته ادرار و طبعاً میان بافت مدولا گردد که می‌تواند به علت اثر افزایشی آن بر روی جریان خون کلیوی و به خصوص ناحیه مدولا و لذا برداشت بیشتر املاح بازجذبی در این ناحیه باشد(16، 23). بنابراین بیشتر شدن کلیرانس اسمولی در گروه I/R+DPCPX نسبت به گروه I/R که در نتیجه اثرات DPCPX در افزایش GFR و همچنین ناتریورتیک و دیورتیک بودن آن می‌باشد، علاوه بر افزایش جریان ادرار با عرضه بیشتر مایع تحویلی به MCD باعث افزایش بازجذب آب آزاد هم شده است. از طرف دیگر چون دفع سدیم و ادرار با هم در گروه I/R+DPCPX افزایش یافته‌اند، بیشتر شدن بازجذب آب آزاد منجر به کاهش غلظت پلاسمایی سدیم و اسمولالیته پلاسما در این گروه نسبت به گروه I/R گردیده است.

دفع مطلق بیکربنات در گروه I/R شدیداً افزایش یافته و منجر به بالا رفتن pH_U هم شده است. با توجه به افت GFR و بار فیلترای بیکربنات، کاهش بازجذب توبولی بیکربنات دلیل افزایش دفع مطلق بیکربنات می‌باشد که باعث افزایش زیاد دفع نسبی بیکربنات هم شده است. از آنجایی که P_UCO_2 در گروه I/R با گروه شاهد برابر می‌باشد، بنابراین ترشح H^+ و بازجذب بیکربنات توسط سلول‌های اینترکاله آلفا موجود در مجاری جمع کننده و همچنین بخش انتهایی توبول دیستال دچار اختلال نگردیده‌اند و کاهش بازجذب بیکربنات بر اثر آسیب‌های ناشی از I/R در PT و TAL صورت پذیرفته است. بالا بودن دفع ادراری بیکربنات در طی دوره I/R منجر به کاهش زیاد $[HCO_3^-]_a$ در انتهای 4 ساعت خونرسانی مجدد و برقراری اسیدوز متابولیک در گروه I/R شده است که پاسخ جبرانی سیستم تنفس به آن از طریق افزایش تهویه

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

ریوی باعث پایین آمدن P_aCO_2 شده است. در گروه I/R+DPCPX، مهار A_1-AR که شدت آسیب‌ها در PT و TAL ناشی از I/R را کمتر نموده، توانسته دفع نسبی بیکربنات را با بهبود بازجذب توبولی آن به میزان زیاد کاهش دهد. ولی به علت افزایش GFR و طبعاً بار فیلترای بیکربنات، دفع مطلق بیکربنات را فقط حدود 30 درصد نسبت به گروه I/R کمتر نموده است. افت pH_U در گروه I/R+DPCPX نسبت به گروه I/R، کاهش یافتن دفع ادراری بیکربنات را تایید می‌نماید که باعث بالاتر شدن سطح بیکربنات خون شریانی در انتهای 4 ساعت خونرسانی مجدد هم شده است. البته پایین‌تر بودن غلظت $[HCO_3^-]_a$ در گروه IR+DPCPX نسبت به گروه شاهد با پاسخ جبرانی دستگاه تنفس و کم نمودن P_aCO_2 از افت معنی دار pH_a جلوگیری کرده است.

نتیجه گیری

فعالیت A_1-AR در کلیه حیوانات نرمال تاثیری بر روی GFR و دفع پتاسیم و اسید-باز ندارد، در حالی که بازجذب توبولی سدیم، اوره و آب آزاد را تحریک می‌نماید. در این مطالعه تک تزریق داخل صفاقی DPCPX به عنوان مهارکننده اختصاصی A_1-AR در قبل از برقراری نیم ساعت ایسکمی دو طرفه کلیوی ضمن تصحیح نسبی GFR باعث بهبود اختلالات عملکردی کلیه در یک ساعت آخر از دوره 4 ساعته خونرسانی مجدد گردید که همانند اثرات بهبودی بخش تزریق مداوم داخل وریدی آن در تمام دوره نیم ساعت ایسکمی دو طرفه کلیوی و 4 ساعته خونرسانی مجدد تحقیق قبل بود(11)، بنابراین فعالیت A_1-AR که با اثرات محافظت کنندگی از ضایعات کلیوی بعد از 24 ساعت خونرسانی مجدد به دنبال ایسکمی کلیوی گزارش شده است(10-8) دارای نقش مشارکتی کاملاً بارزی در برقراری اختلالات همودینامیک، بازجذب توبولی سدیم و همچنین دفع پتاسیم، اوره و اسید-باز در ساعات اولیه بعد از ایسکمی کلیوی می‌باشد. لذا انجام آزمایشاتی در آینده لازم است تا زمان و دلایل تغییر نقش فعالیت A_1-AR در روند پیشرفت ضایعات کلیوی طی دوره‌های خونرسانی مجدد بین 4 الی 24 ساعت به دنبال ایسکمی کلیوی را تعیین نمایند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه آقای هوشنگ نجفی دانشجوی دوره دکترای فیزیولوژی می‌باشد. از معاونت پژوهشی و دانشکده تحصیلات تکمیلی دانشگاه علوم پزشکی شیراز جهت فراهم نمودن هزینه مالی طرح پژوهشی به شماره 4196-87 کمال سپاسگزاری می گردد. از مسئولین محترم آزمایشگاه بیمارستان نمازی و همچنین آقای مجید بصیری نیز به منظور همکاری در اندازه‌گیری غلظت‌های کرآتینین، اوره، گلوکز و الکترولیت‌های نمونه‌ها تشکر می‌نماییم.

منابع

1. Brady HR, Brenner BM, Clarkson MR, Liberthal W. Acute renal failure, in: Brenner and Rectore's "the kidney". 7th ed. Saunders; 2004. p. 1213-1292.
2. Nishiyama A, Kimura S, He H, Miura K, Rahman M, Fujisawa Y, et al. Renal interstitial adenosine metabolism during ischemia in dogs. Am J Physiol Renal Physiol. 2001 Feb;280(2):F231-8.
3. Vallon V, Mühlbauer B, Osswald H. Adenosine and kidney function. Physiol Rev. 2006 Jul;86(3):901-40.
4. Lin J, Churchill P, Bidani A. Effect of theophylline on the initiation phase of postischemic acute renal failure in rats. J Lab Clin Med. 1986 Aug;108(2):150-4.
5. Lin J, Churchill P, Bidani A. The effect of dipyridamole on the initiation phase of postischemic acute renal failure in rats. Can J Physiol Pharmacol. 1987 Jul;65(7):1491-5.
6. Kellett R, Bowmer C, Collis M, Yates M. Amelioration of glycerol-induced acute renal failure in the rat with 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine. Br J Pharmacol. 1989 Nov;98(3):1066-74.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 1:13 +0330 on Wednesday September 27th 2017

7. Knight R, Collis M, Yates M, Bowmer C. Amelioration of cisplatin-induced acute renal failure with 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine. Br J Pharmacol. 1991 Dec;104(4):1062-8.
8. Lee H, Xu H, Nasr S, Schnermann J, Emala C. A1 adenosine receptor knockout mice exhibit increased renal injury following ischemia and reperfusion. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2004;286(2):298F-306F.
9. Lee H, Gallos G, Nasr S, Emala C. A1 adenosine receptor activation inhibits inflammation, necrosis, and apoptosis after renal ischemia-reperfusion injury in mice. J Am Soc Nephrol. 2004 Jan;15(1):102-11.
10. Lee H, Emala C. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A(1) and A(3) receptors. Am J Physiol Renal Physiol. 2000 Mar;278(3):F380-7.
11. Moosavi S, Bayat G, Owji S, Panjehshahin M. Early renal post-ischaemic tissue damage and dysfunction with contribution of A1-adenosine receptor activation in rat. Nephrology (Carlton). 2009 Apr;14(2):179-88.
12. Kuan C, Herzer W, Jackson E. An experimental paradigm for investigating the role of endogenous adenosine/A1 receptor interactions in vivo. J Pharmacol Exp Ther. 1992 Nov;263(2):657-62.
13. Shid Moosavi SM, Barmaki B, Gerami Zadeh B, Fallah Zadeh MH, Johns EJ. Effect of Endothelin-A receptor blockade on the early phase of ischemia/reperfusion induced acute renal failure in anesthetized rats. Iranian Journal Of Medical Sciences (IJMS). 2004;29(1):14-20.
14. Gholampour F, Shid Moosavi SM, Oji S, Hajizadeh S. Effect of angiotensin-II receptor type-1 antagonist on renal hemodynamic and tubular responses to ischemia/reperfusion injury in rat. Journal of Arak University of Medical Sciences(Rahavard-E danesh) 2007;10 (1): 99-107.
15. Guron G, Marcussen N, Friberg P. Urinary acidification and net acid excretion in adult rats treated neonatally with enalapril. Am J Physiol. 1998 Jun;274(6 Pt 2):R1718-24.
16. Nishiyama A, Inscho E, Navar L. Interactions of adenosine A1 and A2a receptors on renal microvascular reactivity. Am J Physiol Renal Physiol. 2001 Mar;280(3):F406-14.
17. Balakrishnan V, Coles G, Williams J. Effects of intravenous adenosine on renal function in healthy human subjects. Am J Physiol. 1996 Aug;271(2 Pt 2):F374-81.
18. Munger K, Jackson E. Effects of selective A1 receptor blockade on glomerular hemodynamics: involvement of renin-angiotensin system. Am J Physiol. 1994 Nov;267(5 Pt 2):F783-90.
19. Koppen BM, staton BA. Renal physiology. 4th ed. Mosby, Elesevier; 2007. p. 113-128.
20. Thirakomen K, Kozlov N, Arruda J, Kurtzman N. Renal hydrogen ion secretion after release of unilateral ureteral obstruction. Am J Physiol. 1976 Oct;231(4):1233-9.
21. Kribben A, Edelstein C, Schrier R. Pathophysiology of acute renal failure. J Nephrol. 1999 1999 Jul-Aug;12 Suppl 2:S142-51.
22. Solez K, Ideura T, Silvia C, Hamilton B, Saito H. Clonidine after renal ischemia to lessen acute renal failure and microvascular damage. Kidney Int. 1980 Sep;18(3):309-22.
23. Nishiyama A, Miyatake A, Aki Y, Fukui T, Rahman M, Kimura S, et al. Adenosine A(1) receptor antagonist KW-3902 prevents hypoxia-induced renal vasoconstriction. J Pharmacol Exp Ther. 1999 Dec;291(3):988-93.