ORIGINAL ARTICLE

Protective Effect of Pentoxifylline on Amikacin-Induced Renal Toxicity in Mice

Mohammad Shokati Sayad[1],
Zahra Ramezanpour[2],
Fereshteh Talebpour Amiri[3],
Sholeh Akbari[1],
Maloos Naderi[1],
Fatemeh Shaki[4,5,6]

[1] PhD Candidate of Toxicology, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Student of Pharmacy, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Associate professor, Department of Anatomy, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Associate professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[6] The Health of Plant and Livestock Products Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received October 9, 2022 ; Accepted July 16, 2023)

Abstract

Background and purpose: Amikacin (AMK) is a commonly used aminoglycoside antibiotic with rapid onset of action, low cost, and high antibacterial efficacy. However, its long-term use has been associated with kidney toxicity, which is a significant concern for patients. Hence, the present study was designed to evaluate the protective effect of pentoxifylline (PTX) against amikacin-induced nephrotoxicity in male mice.

Materials and methods: Forty-two Balb/c mice were allocated to seven groups as follows: I, control; II, AMK (500 mg/kg/day); III to V, received AMK plus PTX (50,100,200 mg/kg/day); VI, AMK plus vitamin C (500 mg/kg/day); and VII, PTX alone (200 mg/kg). All the treatment was done intraperitoneally for 15 consecutive days. Then, kidney tissues were separated and several factors including level of reactive oxygen species (ROS), protein carbonyl (PrC), lipid peroxidation (LPO), antioxidant content (glutathione), nitric oxide (NO) production, and expression of apoptosis-related genes (Bax and Bcl-2) were evaluated. Also, evaluation of biochemical parameters (BUN and Cr) as well as histopathological changes were performed.

Results: Administration of AMK led to significant changes in tissue pathology and the level of BUN and Cr. AMK significantly promoted ROS, LPO, PrC, and NO levels in kidney while it reduced GSH storage. Also, AMK injection led to significant increase in Bax/Bcl2 expression ratio. PTX alleviated oxidative stress markers and nitric oxide induced by AMK in kidney tissue. Moreover, AMK recovered biochemical and pathological changes associated with AMK. PTX treatment decreased the Bax expression and increased the expression of Bcl-2 significantly.

Conclusion: Pentoxifylline showed protective effects against amikacin-induced nephrotoxicity which may be attributed to its antioxidant activity and anti-apoptotic effects. So, it can be considered as a therapeutic approach against toxic effects of amikacin in kidney tissue.

Keywords: amikacin, pentoxifylline, renal toxicity, oxidative damage, apoptosis

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (225): 1-15 (Persian).

Corresponding Author: Fatemeh Shaki - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: fshaki.tox@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره 225 مهر سال 1402 (15-1)

اثر محافظتی پنتوکسی فیلین بر روی سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین در موش‌های سوری

محمد شوکتی صیاد[1]
زهرا رمضانپور[2]
فرشته طالب پور امیری[3]
شعله اکبری[1]
ملوس نادری[1]
فاطمه شکی[4و5و6]

چکیده

سابقه و هدف: آمیکاسین یک آنتی‌بیوتیک آمینوگلیکوزیدی رایج با شروع عمل سریع، هزینه کم و اثربخشی آنتی‌باکتریال بالا است. با این حال، مصرف طولانی مدت آن با سمیت کلیوی همراه می‌باشد که این امر نگرانی قابل توجهی برای بیمارن است. از این رو مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثر محافظتی پنتوکسی‌فیلین در برابر نفروتوکسیسیتی ناشی از آمیکاسین در موش‌های سوری نر طراحی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از 42 سر موش سوری نر بالغ نژاد Balb/c استفاده شد، که در 7 گروه تقسیم شدند. گروه‌ها شامل I (کنترل)، II(آمیکاسین 500mg/kg/day)، III تا V آمیکاسین با پنتوکسی فیلین (50، 100 و 200 mg/kg/day)، VI آمیکاسین با ویتامین C (500mg/kg/day) و VII (پنتوکسی‌فیلین به تنهایی با دوز 200mg/kg/day) بود. تمامی تجویزها به صورت داخل صفاقی برای 15 روز پشت سرهم انجام شد. سپس بافت‌های کلیه جدا شد و فاکتورهای مختلفی از جمله ذرات فعال اکسیژن (ROS)، پروتئین کربونیل (PrC)، لیپیدپراکسیداسیون (LPO)، محتوای آنتی‌اکسیدانی (گلوتاتیون) و بیان ژن‌های آپوپتوز (Bax و Bcl2) در این بافت ارزیابی شد. هم‌چنین، سطوح سرمی اوره خون و کراتینین و تغییرات بافت شناسی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه تجویز آمیکاسین منجر به تغییرات قابل توجه در پاتولوژی بافت و هم‌چنین سطح اوره و کراتینین شد. هم‌چنین باعث افزایش قابل توجهی در سطوح ROS، LPO و PrC در بافت کلیه شد و ذخایر گلوتاتیون احیا را کاهش داد(P<0/05). آمیکاسین باعث افزایش معنی‌داری در نسبت بیان Bax/Bcl2 نیز گردید(P<0/05). به‌علاوه، پنتوکسی فیلین مارکرهای استرس اکسیداتیو القا شده توسط آمیکاسین را تخفیف داد. علاوه بر این، تغییرات بیوشیمیایی و پاتولوژیک ناشی از آمیکاسین را بهبود بخشید. هم‌چنین، تیمار با پنتوکسی فیلین بیان ژن Bax را کاهش و بیان ژن Bcl2را به‌طور معنی‌داری افزایش داد(P<0/05).

استنتاج: پنتوکسی فیلین اثرات محافظتی قابل توجهی در برابر سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین نشان داد که احتمالا به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد آپوپتوتیک آن می‌باشد. بنابراین می‌توان آن را به‌عنوان یک عامل درمانی در برابر اثرات سمی ناشی از آمیکاسین در بافت کلیه موثر در نظر گرفت.

واژه های کلیدی: آمیکاسین، پنتوکسی فیلین، سمیت کلیوی، آسیب اکسیداتیو، آپوپتوز

مقدمه

آمیکاسین یک نوع آنتی‌بیوتیک پرمصرف از دسته آمینوگلیکوزیدها محسوب می‌شود، که در عفونت‌های باکتریایی مانند عفونت مفاصل، سپسیس، منتژیت، پنومونی و عفونت دستگاه ادراری استفاده می‌شود(1). عوارض

مولف مسئول: فاطمه شکی- ساری: کیلومتر 17 جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده‌ی داروسازی E-mail: fshaki.tox@gmail.com
1. دانشجوی دکترای تخصصی سم‌شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. دانشجوی دکترای عمومی داروسازی، گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. دانشیار، گروه آناتومی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
4. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
5. گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
6. مرکز تحقیقات سلامت فراورده های گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : 1401/9/18 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1402/1/26 تاریخ تصویب : 1402/4/25

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

جانبی آمیکاسین مشابه سایر آمینوگلیکوزیدها شامل آسیب کلیوی و سمیت گوش است که در 10-1 درصد از بیماران رخ می‌دهد(2). تصور می‌شود که سمیت کلیوی و گوش به دلیل تمایل آمینوگلیکوزیدها به تجمع در کلیه‌ها و گوش داخلی باشد(3). مکانیسم سمیت کلیوی ناشی از آمینوگلیکوزید در مطالعات مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است. تحقیقات قبلی نشان داد که آمینوگلیکوزیدها می‌توانند به‌طور ترجیحی در کلیه‌ها تجمع پیدا کنند و با اثر بر روی لوله‌های پروگزیمال کلیه باعث سمیت کلیوی شوند(4). در واقع، آمینوگلیکوزیدها ساختار قطبی دارند و می‌توانند به یک کاتیون یونیزه شوند و به‌صورت پینوسیتوز با واسطه گیرنده به جایگاه‌های آنیونی سلول‌های اپی تلیال توبول پروگزیمال متصل شوند. به این صورت غلظت آمیکاسین در قشر کلیه 10 برابر غلظت آمیکاسین در پلاسما می‌شود. سپس به احتمال زیاد با متابولیسم فسفولیپیدها در لیزوزوم‌ها تداخل می‌کند که باعث نشت آنزیم‌های هیدرولاز لیزوزومی به داخل سیتوپلاسم می‌شود. در نهایت، سمیت کلیوی منجر به افزایش کراتینین سرم، نیتروژن اوره خون، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید و هم‌چنین آلبومینوری، گلیکوزوری و الیگوری می‌شود(5).

از آن‌جا که آمیکاسین در بدن متابولیزه نمی‌شود و به مقدار زیادی از طریق ادرار دفع می‌شود، می‌تواند در لوله‌های پیچیده پروگزیمال تجمع یافته و باعث تولید رادیکال‌های آزاد در بافت کلیه شود(6). مکانیسم‌های متعددی برای بروز سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین پیشنهاد شده است که از جمله آن‌ها می‌توان التهاب، انسداد ترانسپورترها، تولید استرس اکسیداتیو و کاهش جریان خون کلیوی را نام برد(8،7).

مطالعات مختلفی نشان داده است که آمیکاسین می‌تواند منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف مانند کلیه و گوش شود که در نهایت منجر به آپوپتوز می‌شود که به نوبه خود باعث سمیت شنوایی و کلیوی می‌شود(12-9).

در مطالعه‌ای که توسط Ozer و همکاران در سال 2020 انجام شد، نشان داده شدکه سمیت کلیوی آمیکاسین با افزایش فاکتورهای استرس اکسیداتیو و پروتئین‌های آپوپتوزی در ارتباط است و در این مطالعه تیموکینون (Thymoquinone) از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانت منجر به کاهش سمیت کلوی ناشی از آمیکاسین در موش‌های صحرایی شد(6). هم‌چنین در مطالعه‌ی دیگری که در سال 2023 انجام شد تیموکینون باعث کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از آمیکاسین و در نتیجه مهار سمیت عصبی ناشی از آن در موش‌های صحرایی شد(13).

درمطالعه دیگری که توسط Parlakpinar و همکاران در سال 2003 در موش‌های صحرایی انجام شد، ملاتونین از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی و جاروب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد منجر به کاهش سمیت کلیوی ناشی از ملاتونین شد. بنابراین استفاده از ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی آپوپتوز می‌تواند در کاهش سمیت کلیوی آمیکاسین موثر باشند(12).

پنتوکسی‌فیلین (Pentoxifylline) یک مهارکننده فسفودی استراز غیراختصاصی است که باعث افزایش آدنوزین منوفسفات حلقوی (cAMP) می‌شود که منجر به گشادی عروق و بهبود خونرسانی به اندام شده و در درمان بیماری‌های عروقی استفاده می‌شود(14). این ترکیب یک مشتق گزانیتنی است که اثرت درمانی مختلفی مانند اثرات ضدالتهابی، ضد فیبروز و آنتی‌اکسیدانی از آن گزارش شده است(15).

درمطالعات مختلف نشان داده شده است که پنتوکسی فیلین قادر به کاهش لیپیدپراکسیداسیون و هم‌چنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در آسیب‌های کلیوی ناشی از داروها و سموم مختلف در مدل‌های حیوانی شده است که در کاهش سمیت کلیوی موثر می‌باشد(18-16). بنابراین پیشنهاد شده است که خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی پنتوکسی‌فیلین در اثرات محافظت کلیوی این ترکیب دخالت دارد. حال هدف ما

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

در این مطالعه بررسی اثر محافظتی دوزهای مختلف پنتوکسی‌فیلین در آسیب کلیوی ناشی از تجویز تحت حاد آمیکاسین در موش سوری از طریق ارزیابی فاکتورهای استرس اکسیداتیو، بیان ژن‌های آپوپتوز و هم‌چنین بررسی تغییرات بیوشیمی و بافت‌شناسی می‌باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه از 42 سر موش سوری نر نژاد Balb/c در 7 گروه 6 تایی و محدوده وزنی 30-25 گرم استفاده شد. این موش‌ها از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی مازندران تهیه شده و در شرایط دمایی 21 درجه سانتی‌گراد نگهداری و با آب و غذای معمولی تغذیه شدند. داروی آمیکاسین از شرکت داروپخش و پنتوکسی‌فیلین (PTX) از شرکت داروسازی حکیم تهیه شد. مداخلات این پژوهش به‌مدت 15 روز با تیمار آمیکاسین (120میلی‌گرم بر کیلوگرم) به منظور القای مدل بیماری در گروه بیمار و تزریق همزمان دوزهای مختلف پنتوکسی فیلین (50، 100، 200 میلی‌گرم برکیلوگرم) نیم ساعت قبل آمیکاسین درگروه‌های درمان و ویتامین C (کنترل مثبت) به‌صورت داخل صفاقی صورت گرفت.

گروه‌های مورد آزمایش

1. گروه کنترل (نرمال سالین)
2. گروه دریافت‌کننده آمیکاسین 120 میلی‌گرم بر کیلوگرم)(19)
3. گروه دریافت‌کننده آمیکاسین+PTX (50 میلی‌گرم بر کیلوگرم)(9)
4. گروه دریافت‌کننده آمیکاسین+PTX (100میلی‌گرم بر کیلوگرم)
5. گروه دریافت‌کننده آمیکاسین+PTX (200میلی‌گرم بر کیلوگرم)
6. گروه دریافت‌کننده آمیکاسین+ویتامینC (500میلی‌گرم بر کیلوگرم)
7. گروه دریافت‌کننده پنتوکسی‌فیلین (200 میلی‌گرم بر کیلوگرم)

24 ساعت بعد از آخرین تزریق، همه حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین 75 میلی‌گرم برکیلوگرم و زایلازین 10 میلی‌گرم برکیلوگرم بیهوش شدند. بخشی از بافت کلیه برای بررسی بافت شناسی در محلول فرمالین قرار گرفت. بخشی از بافت جهت ارزیابی بیان ژن در محلول محافظ RNA قرار گرفت و بقیه بافت هموژن شد و در دور 3000xg برای 10 دقیقه سانتریفیوژ گشت و محلول رویی برای ارزیابی فاکتورهای استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار گرفت.

- بررسی استرس اکسیداتیو

تعیین غلظت پروتئین

تعیین غلظت پروتئین با روش برادفورد انجام شد(20) و برای هر کدام از شاخص‌های موردنظر میزان فعالیت برحسب پروتئین بافتی نرمالایز شد.

اندازه‌گیری میزان ذرات فعال اکسیژن(ROS) با فلوریمتری

میزان ROS با استفاده از معرف DCFH-DA (Dichloro-dihydro-fluorescein diacetate) اندازه‌گیری شد. بعد از تعیین پروتئین بافت، 20µl، DCFH-DA به 2000µl از نمونه اضافه شده و در 4 °C به‌مدت 15 دقیقه نگهداری شد. سپس جذب در طول موج تحریکی 312 nM ونشری 420 nM اندازه‌گیری شد(21).

تعیین میزان پروتئین کربونیل (PrC)

میزان پروتئین کربونیل با استفاده از معرف DNPH (2,4-dinitrophenyl-hydrazine) اندازه‌گیری شد. بعد از تعیین پروتئین بافت، 500 µl از تری‌کلرواستیک اسید (20 w/v درصد) به 250 µg از نمونه اضافه کرده و در 4 °C به‌مدت 15 دقیقه نگهداری کردیم. سپس پروتئین‌های رسوب داده شده با دور 6500×g به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول رویی دور ریخته شد. رسوب زیرین کاملاً در 50 میکرولیتر از (0/1 مولار)NaOH پراکنده شده و 500

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

میکرولیتر از DNPH (10 مولار) حل شده در HCl (2 مولار) به نمونه‌ها اضافه شد. هم‌چنین یک بلانک با اضافه کردن 50 میکرولیتر از HCl (2 مولار) بدون DNPH به نمونه پروتئین تهیه شد. نمونه‌ها نیم ساعت در دمای اتاق و به دور از نور انکوبه شده و 500 µl از تری کلرواستیک اسید (20w/v درصد) اضافه شد. رسوب پروتئینی با سانتریفوژ در 6500×g به‌مدت 10 دقیقه جمع شده و سوپرناتانت دور ریخته شد. رسوب زیرین با 1 میلی‌لیتر از مخلوط (1:1(v/v اتانول و اتیل‌استات ترکیب و مجدداً در 6500×g به‌مدت 10 دقیقه سانتریفوژ شده و محلول رویی برداشته شد. رسوب پروتئین نهایی در 200 µl از محلول گوانین هیدروکلراید 6M پراکنده شد. میزان پروتئین کربونیل با خواندن جذب در 365nm با ضریب جذب 22,000 M−1 cm−1 ارزیابی شده که به صورت nmol of DNPH per milligram of protein گشت(22).

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی (LPO)

براساس روش *تیوباربیتوریک* اسید(*TBA*) اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که به 0/2ml از سوسپانسیون بافتی، 0/1 ml از معرف TBA شامل 0/5HCl نرمال، TCA 15 درصد و TBA 0/3 درصد اضافه شده و به خوبی مخلوط و در حمام آب گرم به‌مدت 30 دقیقه انکوبه گشت. بعد از سرد شدن به آن 20 ml n- بوتانل اضافه کرده و خوب تکان دادیم و سپس در 3500 rpm به‌مدت 10 دقیقه سانتریفوژکردیم، لایه n- بوتانل برای سنجش در طول موج 532 nm جدا شده و مقدار TBARs از روی منحنی استاندارد محاسبه گشت(23).

اندازه‌گیری سطح گلوتاتیون

یک میلی‌لیتر از هموژن بافتی را گرفته و به آن 0/25 میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید 20 درصد اضافه کردیم و بعد از ورتکس کردن به‌مدت 20 دقیقه در 1000xg سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول شفاف رویی را برداشته و به آن 2 میلی‌لیتر دی‌سدیم هیدروژن فسفات 0/3 مولار و 0/5 میلی‌لیتر DTNB 0/4 درصد اضافه کرده و ورتکس می‌کنیم. 15 دقیقه انکوبه می‌کنیم تا واکنش کامل شود. سپس میزان جذب را درطول موج 412 نانومتر می‌خوانیم. غلظت گلوتاتیون را از روی منحنی استاندارد گلوتاتیون برحسب nmol/ml به‌دست می‌آوریم(24).

اندازه‌گیری بیان فاکتورهای آپوپتوزی Bcl2 و BAX

وقوع آپوپتوز در سلول را می‌توان با استفاده از تغییرات بیان ژن Bcl2 و BAX نشان داد .پس از بیهوش کردن حیوانات، بافت کلیه خارج می‌شوند. نمونه‌های بافت پس از جداسازی به میکروتیوپ استریل منتقل شده و تا زمان استخراج RNA در نیتروژن مایع (دمای 180- درجه سانتی‌گراد) نگهداری می‌شوند. پس از اتمام بخش حیوانی کار و تیمار دارویی، موش‌های مورد مطالعه به منظور نمونه‌گیری قربانی شده و بافت در محلول RNA شیلد قرارداده شده و تا مرحله استخراج در فریزر 80- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود. پرایمر برای ژن‌های مورد مطالعه، با استفاده از برنامه Blast-Primer در NCBI طراحی شد و از شرکت پیشگام خریداری گردید. توالی این پرایمرها و برنامه دمایی مورد استفاده در جدول شماره 1 قابل مشاهده است.

جدول شماره 1: توالی پرایمرها و برنامه دمایی مورد استفاده در واکنش qRT-PCR

ژن ها	پرایمر	برنامه دمایی
Bcl2	F: 5´ACTTCTCTCGTCGCTACCGTCGC 3´ R: 5´AGAGCGATGTTGTCCACCAGGG 3´	95 ℃ ،15 min 40cycles (95 ℃ ،25s ،58 ℃ ،30s ،72 ℃ ،30s)
BAX	F: 5´CCAGGACGCATCCACCAAGAAG 3´ R: 5´CCCAGTTGAAGTTGCCGTCTGC 3´	95 ℃ ،15 min 40cycles (95 ℃ ،25s ،58 ℃ ،30s ،72 ℃ ،30s)
GAPDH	F: 5´CCCCCAATGTATCCGTTGTG 3´ R: 5´TAGCCCAGGATGCCCTTTAGT 3´	نمونه ها در شرایط دمایی یکسانی با کنترل انکوبه شدند

از ژن GAPDH به‌عنوان رفرنس استفاده شد. در این مطالعه بعد از دستیابی به دمای اتصال مناسب پرایمرهای مورد نظر، تعیین کمی بیان ژن‌های هدف با استفاده از Green Mix Master x2 Plus RealQ ساخت شرکت امپلیکون و دستگاه Rotor Corbett 6000 Gene انجام شد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

استخراج RNA: در ابتدا بافت‌ها هموژن شده و سپس توسط بافر لیزکننده حاوی مهارکننده RNAase تیمار می‌شود. در ادامه با استفاده از کلروفرم، آلودگی‌های آلی RNA حذف شده و محصول حاصله سوار ستون‌های استخراج می‌شود. بعد از شستشوی ستون با بافرهای اتصال و شستشو، اسید نوکلئیک نهایی از ستون جدا شده و در فریزر 80- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود. کیفیت RNA بر روی ژل آگارز بررسی می‌گردد و کمیت آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری می‌شود. مولکول ریبونوکلئیک اسید به دلیل داشتن اکسیژن در کربن شماره 2 و هم‌چنین تک رشته و کوتاه بودن آن، نسبت به مولکول‌های نوکلئیک اسید واکنش‌پذیرتر بوده و تخریب‌پذیری بالایی دارد.

سنتز cDNA : 50 تا 500 نانوگرم از RNA استخراج شده، به کمک آنزیم رونوشت بردار معکوس و پرایمرهای رندم هگزامر یا اولیگو دی تی و مخلوط نوکلئیوتیدها در دستگاه ترموسیکلر به cDNA تبدیل می‌شود. بررسی بیان ژن bax Bcl2 :cDNA سنتز شده در مرحله قبل برای بررسی بیان اختصاصی ژن bax, Bcl2 استفاده می‌شود. در این مرحله با استفاده از پرایمرهای انتخابی این ژن، مخلوط نوکلئوتیدها و آنزیم پلیمراز و سایبرگرین در دستگاه روتورژن واکنش Realtime PCR انجام می‌شود. بعد از بررسی نمودارهای امپلیفیکاسیون و ذوب و اصلاح کردن شدت فلورسانس بر کارایی واکنش، مقدار بیان این ژن نسبت بر بیان ژن خانه‌دار Gapdh نرمالایز شده و در بین نمونه‌های تیمارشده با داروهای مختلف مقایسه می‌شود. داده‌های خام به‌دست آمده از روش Realtime PCR با استفاده از نرم افزار LinReg بررسی شده و بیان نسبی ژن‌ها نسبت به گروه کنترل محاسبه خواهد شد(25).

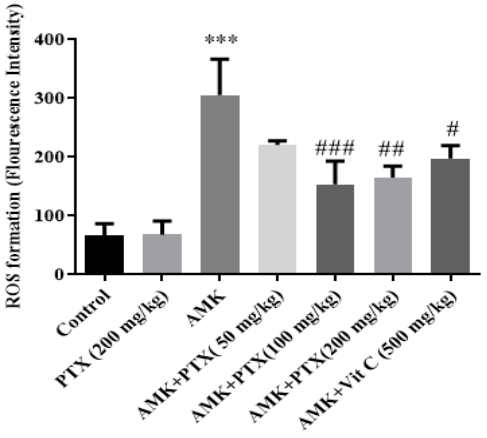
روش آماری مورد استفاده

تمامی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری Prism Ver.8 انجام شد و مقایسه داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Post test مربوطه (Tukey-Kramer multiple comprehension test) صورت گرفت و نمودارها توسط همین برنامه گرافیگی رسم شدند.

یافته‌ها

اثر محافظتی پنتوکسی فیلین در برابر سمیت آمیکاسین بر میزان ذرات فعال اکسیژن (ROS) در بافت کلیه موش سوری نر

با توجه به نتایج که در نمودار شماره 1 نشان داده شده است، در آزمایش ROS (ذرات فعال اکسیژن) گروه‌هایی که آمیکاسین را به تنهایی دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل، افزایش چشمگیری داشتند و از طرف دیگر گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای متوسط و بالای پنتوکسی‌فیلین به‌عنوان عامل محافظت‌کننده (دوزهای 100 و 200 میلی‌گرم برکیلوگرم)، کاهش قابل ملاحظه‌ای در میزان ذرات فعال اکسیژن داشتند.



نمودار شماره 1: اثر حفاظتی پنتوکسی‌فیلین در برابر آمیکاسین بر میزان ذرات فعال اکسیژن

نتایج به‌صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

***: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل است (P <0/001).

#: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین است (P <0/05).

##: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین است (P <0/01).

###: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین است (P<0/001).

AMK : آمیکاسین، Vit C: ویتامین سی، PTX: پنتوکسی‌فیلین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

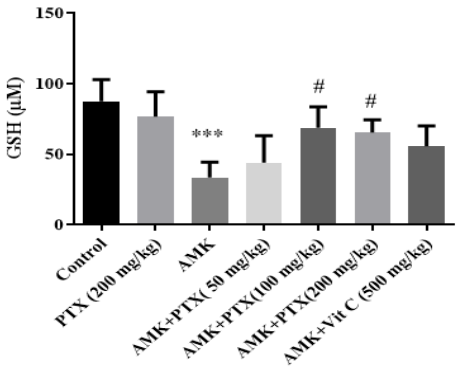
در گروه ویتامین C نیز به‌عنوان کنترل مثبت، نیم ساعت قبل از دریافت آمیکاسین، ویتامین C تزریق شده است. و گروه دریافت‌کننده ویتامین C نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده آمیکاسین به تنهایی ذرات فعال اکسیژن کم‌تری داشتند، درحالی‌که نسبت گروه‌های دریافت‌کننده پنتوکسی‌فیلین در دوز متوسط و بالا اثرگذاری کم‌تری داشت.

اثر حفاظتی پنتوکسی فیلین در برابرسمیت آمیکاسین بر غلظت گلوتاتیون (GSH) در بافت کلیه موش سوری نر

با توجه به نتایج همان‌طورکه در نمودار شماره 2 نشان داده شده است، سطح گلوتاتیون احیا در گروهی که تنها آمیکاسین دریافت کرده بودند به‌صورت قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (P<0/001). از طرف دیگر، تجویز دوز پایین پنتوکسی فیلین به‌عنوان یک عامل محافظتی، از نظر آماری معنی‌دار نبود (نسبت به گروهی که تنها آمیکاسین دریافت کرده بودند)، اما سطح گلوتاتیون احیا در گروه دریافت‌کننده دوز متوسط و بالای پنتوکسی‌فیلین (100 و 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت معنی‌داری افزایش داشت (P<0/01).

اثرحفاظتی پنتوکسی‌فیلین برسمیت آمیکاسین بر پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) در بافت کلیه موش سوری نر

افزایش مالون دی آلدئید(MDA) به‌عنوان یک نشانگر مهم برای آسیب اکسیداتیو غشای سلول شناخته می‌شود. همان‌طورکه در نمودار شماره 3 نشان داده شده است، سطح مالون دی‌آلدئید درکلیه موش‌هایی که آمیکاسین دریافت کردند در مقایسه با گروه کنترل افزایش چشمگیری داشت(P<0/01). علاوه بر این، میزان مالون دی‌آلدئید در گروهی که پنتوکسی‌فیلین (100 و200 میلی‌گرم برکیلوگرم) دریافت‌کرد، در مقایسه با موش‌هایی که آمیکاسین دریافت کردند به‌طور قابل توجهی کاهش یافت(P<0/01)، (P<0/05). گروه ویتامین C نیز به‌عنوان کنترل مثبت، نیم ساعت قبل از دریافت آمیکاسین میزان 500 میلی‌گرم برکیلوگرم ویتامین C دریافت کرده است که اثر محافظتی قابل توجهی نداشته است. کلیه تزریقات روزی یک بار و به‌صورت داخل صفاقی صورت گرفت.



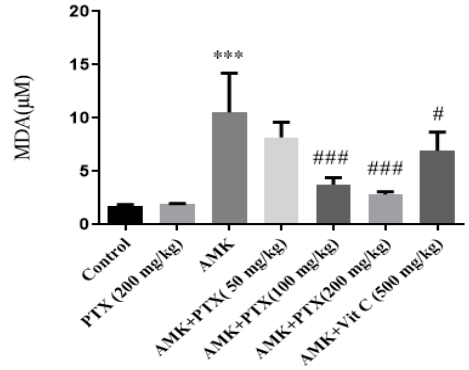
نمودار شماره 2: اثرحفاظتی پنتوکسی فیلین در برابر آمیکاسین بر غلظت گلوتاتیون در بافت کلیه

نتایج به صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

***: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است(P <0/001).

#:نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/05).

AMK: آمیکاسین، Vit C: ویتامین سی، PTX: پنتوکسی‌فیلین



نمودار شماره 3: اثرحفاظتی پنتوکسی فیلین در برابر آمیکاسین بر پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کلیه

نتایج به صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

***: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است(P <0/001).

#:نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/05).

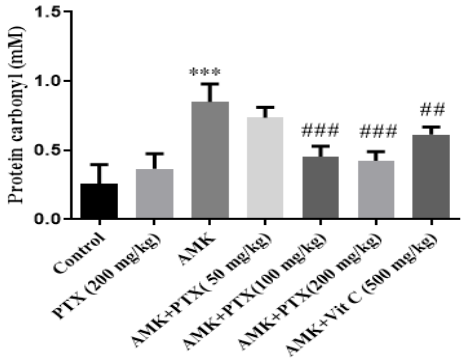
###:نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین است (P <0/001).

AMK: آمیکاسین، Vit C : ویتامین سی، PTX: پنتوکسی فیلین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

اثر حفاظتی پنتوکسی فیلین در برابر سمیت آمیکاسین بر میزان پروتئین کربونیل در بافت کلیه موش سوری نر

باتوجه به نمودار شماره 4 سطح پروتئین کربونیل در گروه‌های دریافت‌کننده پنتوکسی‌فیلین نسبت به گروهی که تنها آمیکاسین دریافت کرده بود در دوزهای متوسط و بالای آن کاهش چشم‌گیری داشت (P<0/001، هر دو). این در حالی بود که دوز پائین پنتوکسی‌فیلین در کاهش پروتئین کربونیل ناشی از آمیکاسین خیلی موثر نبود (P>0/05).



نمودار شماره 4: اثرحفاظتی پنتوکسی فیلین در برابر آمیکاسین بر میزان پروتئین کربونیل در بافت کلیه

نتایج به‌صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

***: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است(P <0/001).

#: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/05).

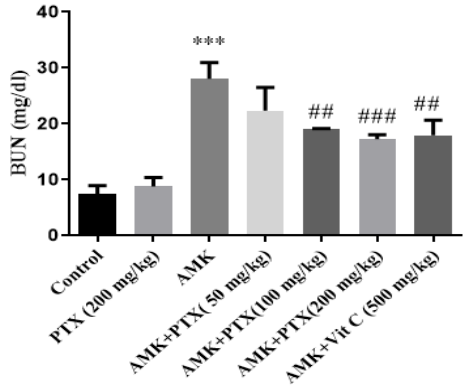
##:نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/01).

###:نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین است (P <0/001).

AMK: آمیکاسین، Vit C : ویتامین سی، PTX: پنتوکسی فیلین

اثرات حفاظتی پنتوکسی فیلین بر آسیب بیوشیمیایی ناشی از آمیکاسین در بافت کلیه موش سوری نر

اثر محافظتی پنتوکسی‌فیلین در برابر سمیت ناشی از آمیکاسین در بافت کلیه موش نر در نمودارهای شماره 5 و6 نشان داده شده است. در این مطالعه میزان اوره (نمودار شماره 5) و کراتینین سرمی (نمودار شماره 6) در گروه آمیکاسین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است(P<0/001). این درحالی است که درمان با پنتوکسی‌فیلین در دو دوز 100 و200 میلی گرم برکیلوگرم باعث کاهش میزان اوره و کراتینین سرمی در موش‌های تیمار شده به وسیله آمیکاسین شده است و به صورت کلی پنتوکسی‌فیلین تأثیر بهتری در بهبود این پارامترهای کلیوی نشان نداده است. گروه ویتامین C نیز به‌عنوان کنترل مثبت، نیم ساعت قبل از دریافت آمیکاسین میزان 500 میلی گرم برکیلوگرم ویتامین C دریافت کرده است.



نمودار شماره 5: اثرحفاظتی پنتوکسی فیلین در برابر آمیکاسین بر میزان اوره در بافت کلیه موش سوری

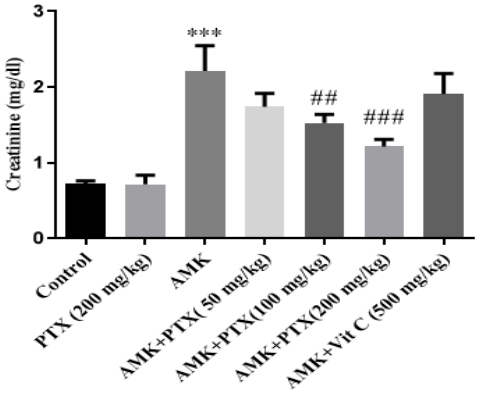
نتایج به‌صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

***: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است(P <0/001).

##نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/01).

###: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین است (P <0/001).

AMK: آمیکاسین، Vit C : ویتامین سی، PTX: پنتوکسی فیلین



نمودار شماره 6: اثرحفاظتی پنتوکسی فیلین در برابر آمیکاسین بر میزان کراتینین در بافت کلیه موش سوری

نتایج به‌صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

***: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است(P <0/001).

##نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/01).

###: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین است (P <0/001).

AMK: آمیکاسین، Vit C : ویتامین سی، PTX: پنتوکسی فیلین

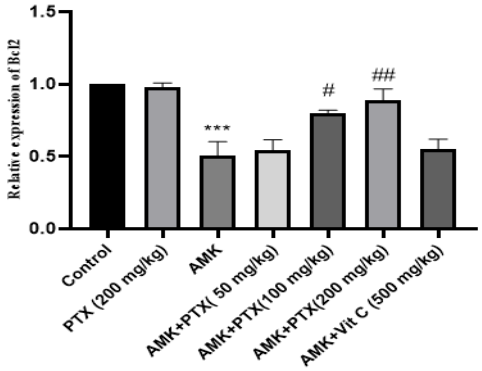
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

اثر پنتوکسی فیلین بر تغییر بیان ژن‌های آپوپتوزی در بافت کلیه ناشی از مواجهه با آمیکاسین در موش سوری نر

همان‌طور که در نمودار شماره 7 مشخص است میزان بیان ژن آنتی‌آپووتوتیک Bcl2 در بافت کلیه بعد از دریافت آمیکاسین به‌صورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش (P<0/001) پیدا کرد. هم‌چنین تجویز پنتوکسی‌فیلین در دو دوز 100 و 200 میلی‌گرم برکیلوگرم باعث کاهش میزان بیان ژن Bcl2 در موش‌های تیمار شده به‌وسیله آمیکاسین شده است. هم‌چنین همان‌طور که در نمودار شماره 8 بیان شده است بیان ژن پروآپوپتوتیک Bax بعد از تزریق آمیکاسین و دوزهای مختلف پنتوکسی فیلین در بافت کلیه موش سوری نشان داده شده است. آمیکاسین باعث افزایش بیان ژن Bax شدکه پنتوکسی‌فیلین توانست در دوزهای 100 و 200 میلی‌گرم برکیلوگرم افزایش میزان بیان ژن Bax ناشی از آمیکاسین را در بافت کلیه موش‌ها مهار کند.

اثر پنتوکسی فیلین بر تغییر شاخص‌های هیستوپاتولوژیک بافت کلیه ناشی از مواجهه با آمیکاسین در موش سوری نر

ارزیابی بافت شناسی اثر پنتوکسی فیلین بر تغییر شاخص‌های هیستوپاتولوژیک ناشی از مواجهه آمیکاسین در بافت کلیه در تصویر شماره 1 نشان داده است.



نمودار شماره 7: اثرحفاظتی پنتوکسی فیلین در برابر آمیکاسین بر میزان بیان Bcl2 در بافت کلیه موش سوری

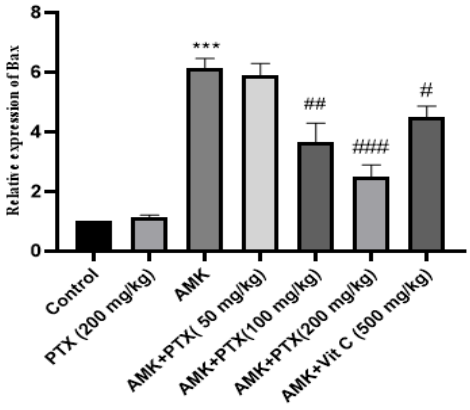
نتایج به‌صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

***: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است(P <0/001).

#: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/05).

##:نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/01).

AMK: آمیکاسین، Vit C : ویتامین سی، PTX: پنتوکسی فیلین



نمودار شماره 8: اثر حفاظتی پنتوکسی فیلین در برابر آمیکاسین بر میزان بیان Bax در بافت کلیه موش سوری

نتایج به‌صورت mean±SD حاصل از سه بار تکرار آزمایش گزارش شده است.

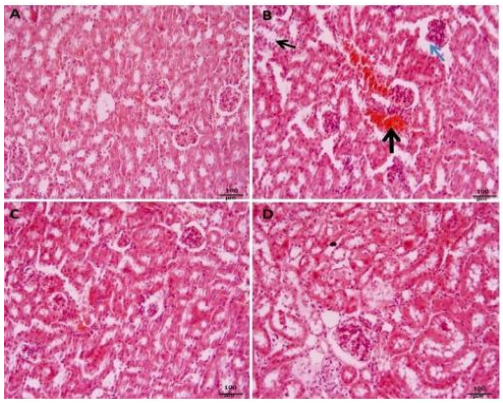
***: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل است(P <0/001).

#: نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/05).

##:نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه آمیکاسین است (P <0/01).

###: نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین است (P <0/001).

AMK: آمیکاسین، Vit C : ویتامین سی، PTX: پنتوکسی فیلین



تصویر شماره 1: اثرپنتوکسی‌فیلین بر تغییر شاخص‌های هیستوپاتولوژیک بافت کلیه ناشی از مواجهه با آمیکاسین در موش سوری نر

ارزیابی هیستوپاتولوژیک اثر پنتوکسی‌فیلین بر تغییر شاخص‌های هیستوپاتولوژیک ناشی از مواجهه آمیکاسین در بافت کلیه ارزیابی هیستوپاتولوژیک اثر پنتوکسی فیلین بر روی آسیب بافت کلیه القا شده توسط آمیکاسین، A: کنترل، B:آمیکاسین (500kg/mg)، C: آمیکاسین (500kg/mg)+پنتوکسی‌فیلین(100kg/mg)، D: آمیکاسین (500mg/mg)+پنتوکسی‌فیلین(200kg/mg). فلش مشکی ضخیم نشان‌دهنده هموراژی و فلش مشکی نازک بیانگر جدا شدن یا کنده‌شدن سلول‌های اپی‌تلیال و فلش آبی وسیع شدن فضای کپسول بومن را نشان می‌دهد. رنگ آمیزی بارنگ هماتوکسیلن - ائوزین صورت گرفته است (بزرگنمایی x40).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

نشان‌دهنده کلیه گروه کنترل است که آسیب بافتی خاصی را نشان نمی‌دهد. در قسمت B، گروه دریافت‌کننده آمیکاسین است که هموراژی، کنده شدن سلول‌های اپی‌تلیال و وسیع شدن فضای کپسول بومن در عکس‌های میکروسکوپی تهیه شده مشاهده شد. هم‌چنین قسمت D و C، به ترتیب گروه‌های دریافت‌کننده پنتوکسی‌فیلین 100 و 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم را نشان می‌دهد که کاهش آسیب بافتی گزارش شد.

بحث

نارسایی مزمن کلیه، تحت عنوان کاهش پیشرونده عملکرد کلیه که در نهایت منجر به آسیب ساختاری برگشت ناپذیر در نفرون‌ها می‌شود، تعریف می‌گردد. علایم بالینی نارسایی مزمن کلیوی و مشکلات ناشی از آن شامل افزایش فشارخون و آنمی، با پیشرفت بیماری مشاهده می‌شود. آمیکاسین وسیع‌ترین طیف اثر و کم‌ترین ایجاد مقاومت را نسبت به سایر آمینوگلیکوزیدها دارد، ولی سمیت کلیوی منجر به محدودیت مصرف این آنتی‌بیوتیک می‌شود. لذا پیدا کردن یک راه درمانی برای کاهش عوارض کلیوی آن یک ضرورت محسوب می‌شود. بنابراین ما در این مطالعه به بررسی اثر محافظتی پنتوکسی‌فیلین در برابر سمیت کلیوی آمیکاسین از طریق ارزیابی پارامترهای استرس اکسیداتیو و فاکتورهای آپوپتوتیک و آنتی‌آپوپتوتیک می پردازیم.

نتایج حاصل از کار حاضر نشان داد که تجویز داخل صفاقی آمیکاسین با دوز 120 میلی‌گرم بر کیلوگرم در 15 روز به‌طور معنی‌داری سطح BUN و کراتینین سرم را افزایش داد و هم‌چنین سبب آسیب به بافت کلیه شد. این نتایج با مطالعه Hlail و همکارانش هم‌خوانی دارد که نشان داد تزریق داخل صفاقی آمیکاسین با دور 120 میلی‌گرم بر کیلوگرم برای 14 روز افزایش قابل توجهی در سطح کراتینین سرم و اوره داشته است(26). هم‌چنین، مطالعات قبلی دیگری نشان داد که تزریق آمیکاسین در دوزهای 100 و 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم در 7 روز به‌طور معنی‌داری سطح BUN و کراتینین سرم را افزایش داد(12،27).

مکانیسم‌های مختلفی برای پاتوژنز سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین مطرح شده است که از آن جمله تولید ذرات فعال نیتروژن و اکسیژن که می‌تواند منجر به شروع سیگنال آپوپتوز و القای فرآیند مرگ سلولی شود، می‌باشد. از طرف دیگر گفته می‌شود که آمینوگلیکوزیدها می‌توانند با آهن موجود در میتوکندری تشکیل کمپلکس دهد که باعث اختلال در تنفس میتوکندیایی و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد شوند(1). تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها برای عملکرد نرمال سلول و بافت ضروری است. تولید ذرات فعال اکسیژن در نتیجه ترکیبات سمی منجر به حمله این رادیکال های فعال به مولکول‌های داخل سلولی مانند اسیدهای چرب غیراشباع و پروتئین‌ها می‌شود. حمله ذرات فعال اکسیژن به اسیدهای چرب غیر اشباع به‌خصوص در فسفولیپیدهای غشایی منجر به افزایش لیپیدپراکسیداسیون و آسیب به غشا خواهد شد که مالون دی‌آلدئید به‌عنوان یکی از محصولات نهایی لیپیدپراکسیداسیون یکی از مهم‌ترین مارکرهای سطح استرس اکسیداتیو است. هم‌چنین اندازه‌گیری سطح پروتئین کربونیل به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مارکرهای آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها دارای ارزش است(28). از طرفی، گلوتاتیون یکی از مهم‌ترین دفاع‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی در بدن است که نقش مهمی را در پاتوژنز بیماری‌ها به خصوص نفروپاتی‌ها دارد(29). همان‌طورکه در بخش یافته‌ها نشان داده شد، پنتوکسی فیلین باعث افزایش سطح لیپید پراکسیداسیون و پروتئین کربونیل و هم‌چنین کاهش سطح گلوتاتیون در بافت کلیه موش‌های سوری شد که نشان‌دهنده افزایش سطح استرس اکسیداتیو است. این نتایج در توافق با مطالعات قبلی است که افزایش سطح لیپیدپراکسیداسیون و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها به خصوص گلوتاتیون را بعد از تجویز آمیکاسین مشاهده کردند که تاییدکننده ارتباط بین سمیت کلیوی آمیکاسین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

و بروز استرس اکسیداتیو است(6،12،27،30). از طرفی افزایش بیش از اندازه ذرات فعال اکسیژن باعث آسیب به DNA و همچنین اکسیداسیون غشای لیپیدی سلول‌ها و ارگان‌های داخل سلولی مثل میتوکندری می‌شود که در نهایت منجر به آزاد شدن سیتوکروم C به فضای داخل سلولی و شروع آپوپتوز می‌شود. بروز آپوپتوز ناشی از آمیکاسین در مطالعات قبلی در مدل‌های مختلف حیوانی نشان داده شده بود(8). هم‌چنین نتایج مطالعه حاضر افزایش بیان ژن Bax به عنوان یک فاکتور پروآپوپتوتیک و کاهش میزان Bcl2 به عنوان یک فاکتور آنتی‌آپوپتوتیک بعد از تجویز آمیکاسین مشاهده شد که تاییدکننده بروز آپوپتوز در سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین است. بنابراین باتوجه به نقش آسیب اکسیداتیو در بروز آسیب کلیوی ناشی از آمیکاسین، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند در کاهش نفروپاتی ناشی از آمیکاسین موثر باشد(31). پنتوکسی فیلین یک مهارکننده فسفودی استراز با اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهاب و ضدفیبروزی است که می‌تواند موجب افزایش میزان فعالیت سوپراکسیددسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز شود(34-32). از طرفی با غیرفعال کردن عواملی مانند سایتوکین‌ها که نقش مهمی در التهاب دارند، موجب تقویت سیستم ایمنی و افزایش مقاومت بدن در مقابل بسیاری از بیماری‌ها گردد(35). مطالعات قبلی نشان داد که پنتوکسی‌فیلین می‌تواند منجر به بهبود تغییرات ناشی از دگزامتازون در بافت کبد موش‌های سوری شود و قادر به افزایش سطح cAMP و cGMP می‌باشد که این نوکلئوتیدها با کاهش لیپید پراکسیداسیون از استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند و بنابراین با کاهش رادیکال‌های آزاد باعث کاهش آسیب سلول‌های کبدی می‌شود(36). علاوه بر این نشان داده شده است که پنتوکسی‌فیلین می‌تواند فعالیت و تکثیر لنفوسیت‌ها و فیبروبلاست‌های کلیوی که نقش مهمی در فیبروز کلیه ایفا می‌کنند را مهارکند. هم‌چنین توانست التهاب کلیه را از طریق اثر بر روی سنتز سایتوکین‌های التهابی تخفیف ببخشد(38،37) که موجب شد تا پنتوکسی‌فیلین به‌عنوان یک عامل درمانی در بیماری‌های کلیوی مورد توجه قرار گیرد.

در این مطالعه، تجویز پنتوکسی‌فیلین سبب کاهش اوره و کراتینین در سرم و هم‌چنین تغییرات پاتولوژیک در بافت کلیه موش‌های دریافت‌کننده آمیکاسین شد. در مطالعه‌ای که توسط Ozer و همکاران در سال 2009 انجام شد استفاده از تک دوز بالای آمیکاسین (1/2گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در موش صحرایی سبب افزایش اوره و کراتینین و هم‌چنین تغییرات مورفولوژیک در بافت کلیه موش‌های صحرایی شده بود(10).

در مطالعه حاضر از دوزهای کم‌تر آمیکاسین (120 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و به‌صورت تحت حاد (15 روزه) استفاده شد، که علاوه بر تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیک، مکانیسم اثربخشی آمیکاسین از طریق ارزیابی کامل‌تر فاکتورهای استرس اکسیداتیو و هم‌چنین بیان ژن‌های آپوپتوز انجام شد.

در این مطالعه، پنتوکسی‌فیلین سطح لیپید پراکسیداسیون و پروتیئن کربونیل که در بافت کلیه موش‌های سوری در تماس با آمیکاسین افزایش پیدا کرده بود را به‌صورت معنی‌داری کاهش داد. هم‌چنین سطح دفاع آنتی‌اکسیدان این نتایج در راستای مطالعات قبلی می‌باشد که پنتوکسی‌فیلین سبب کاهش فاکتورهای استرس اکسیداتیو در مدل‌های مختلف شده بود.

در مطالعات مختلفی که بر روی اثرات آنتی‌اکسیدان پنتوکسی‌فیلین در رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین انجام شد، پنتوکسی فیلین سبب کاهش سطح لیپید پراکسیداسیون و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سرم رت‌های دیابتی شده بود که منجر به بهبود علایم نفروپاتی دیابتی شده بود(16،17). هم‌چنین در یک مدل آسیب سلول‌های کلیوی ناشی از سنگ کلیه القا شده با اتیلن گلایکول در رت، پنتوکسی‌فیلین از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش میزان لیپیدپراکسیداسیون باعث کاهش دژنراسیون

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

و نکروز سلول‌های اپی تلیال کلیه شده بود(18).

در مطالعه Alorabi و همکاران در سال2020، اثرات محافظت کلیوی پنتوکسی‌فیلین و بربرین به تنهایی و در ترکیب با هم در سمیت کلیوی حاد ناشی از دیکلوفناک بررسی شد، که پنتوکسی‌فیلین به تنهایی اثر محافظتی کمی نشان داد ولی در ترکیب با بربرین اثرات مهاری معنی‌داری بر سمیت کلیوی دیکلوفناک در موش صحرایی داشت که احتمالا به واسطه اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی این ترکیب است(15). مکانیسم مطرح شده برای اثرات محافظت کلیوی پنتوکسی‌فیلین مرتبط با اثرات متنوع فارماکولوژیک این ترکیب است که شامل فعال‌سازی پروستاگلاندین‌های با خاصیت گشاد کنندگی عروق، افزایش ظرفیت انتقال اکسیژن به بافت کلیوی ایسکمیک و آسیب دیده و مهار NADPH اکسیداز نوتروفیل‌ها است که نقش مهمی را در تولید رادیکال‌های آزاد دارند(39).

علاوه براین، در این مطالعه از ویتامین C در دوز 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم به عنوان کنترل مثبت استفاده شد که پنتوکسی فیلین اثرات بهتری را در کاهش سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین در موش صحرایی نشان داد. این اثر احتمالا به خاطر تنوع اثرات پنتوکسی فیلین است که می‌تواند از طریق افزایش خونرسانی و اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانتی منجر به مهار سمیت بافتی آمیکاسین شود و بررسی بقیه اثرات می‌تواند در مطالعات بعدی انجام شود.

نتایج نشان داد که آمیکاسین با تولید رادیکال های آزاد، افزایش لیپیدپراکسیداسیون و پروتئین کربونیل و هم‌چنین کاهش گلوتاتیون در بافت کلیه، باعث القاء استرس اکسیداتیو و آسیب به بافت کلیوی و در نهایت تخریب سلول‌های کلیوی و افزایش سطح اوره و کراتینین سرم می‌شود. پنتوکسی‌فیلین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد و مهار اکسیداسیون پروتئین، لیپیدهای سلولی و هم‌چنین افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی سلول باعث کاهش آسیب اکسیداتیو کلیوی ناشی از آمیکاسین و بهبود عملکرد کلیه می‌شود. بنابراین علاوه بر این، یافته‌های مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از ترکیبات با خواص آنتی‌اکسیدان می‌توانند نتایج امیدبخشی در کاهش سمیت کلیوی ناشی از آمینوگلیکوزیدها به‌خصوص آمیکاسین در افراد تحت درمان داشته باشد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه دکترای عمومی داروسازی خانم زهرا رمضان پور با کد اخلاق (IR.MAZUMS.REC.1400.522) و کد طرح 522 بوده و منابع مالی آن توسط دانشگاه علوم پزشکی مازندران تأمین‌شده است که بدین‌وسیله تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Wargo KA, Edwards JD. Aminoglycoside-induced nephrotoxicity. J Pharm Pract 2014; 27(6): 573-577.
2. Endo A, Hanawa K, Nemoto A, Ishikawa T, Kazama S, Kagami Y, et al. Evaluation of nephrotoxicity and ototoxicity following amikacin administration once daily or every 48 hours in neonates. Medicine (Baltimore) 2022; 101(43): e31425.
3. Jelliffe RW, Neely M. Individualized drug therapy for patients: basic foundations, relevant software and clinical applications. Cambridge: Academic Press; 2016.
4. Oliveira JF, Silva CA, Barbieri CD, Oliveira GM, Zanetta DM, Burdmann EA. Prevalence and risk factors for aminoglycoside nephrotoxicity in intensive care units. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53(7): 2887-2891.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

5. Chan K, Ledesma KR, Wang W, Tam VH. Characterization of Amikacin Drug Exposure and Nephrotoxicity in an Animal Model. Antimicrob Agents Chemother 2020; 64(9): e00859-20.
6. Ozer MK, Bilgic S, Armagan I, Savran M. Thymoquinone protection from amikacin induced renal injury in rats. Biotech Histochem 2020; 95(2): 129-136.
7. Prajapati B, Singha M. Comparative evaluation of the toxicity of amikacin and cefepime on rat's kidney and liver. Int J Pharmtech Res 2010; 3(4): 2149-2154.
8. Saeed ZM, Khattab MI, Khorshid NE, Salem AE. Ellagic acid and cilostazol ameliorate amikacin-induced nephrotoxicity in rats by downregulating oxidative stress, inflammation, and apoptosis. PLoS One 2022; 17(7): e0271591.
9. El-Anwar MW, Abdelmonem S, Nada E, Galhoom D, Abdelsameea AA. Protective effect of pentoxifylline on amikacin-induced ototoxicity. Ear Nose Throat J 2018; 97(8): e8-e12.
10. Ozer MK, Asci H, Oncu M, Yesilot S, Savran M, Bayram D, et al. Effects of pentoxifylline on amikacin-induced nephrotoxicity in rats. Ren Fail 2009; 31(2): 134-139.
11. Parlakpinar H, Koc M, Polat A, Vardi N, Ozer MK, Turkoz Y, et al. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by amikacin in rats. Urol Res 2004; 32(4): 278-282.
12. Parlakpinar H, Ozer MK, Sahna E, Vardi N, Cigremis Y, Acet A. Amikacin-induced acute renal injury in rats: protective role of melatonin. J Pineal Res 2003; 35(2): 85-90.
13. Bilgiç S, Özgöçmen M, Ozer MK. Thymoquinone ameliorates amikacin induced oxidative damage in rat brain tissue. Biotech Histochem 2023; 98(1): 38-45.
14. Speer EM, Diago-Navarro E, Ozog LS , Raheel M, Levy O, Fries BC. A Neonatal Murine Escherichia coli Sepsis Model Demonstrates That Adjunctive Pentoxifylline Enhances the Ratio of Anti- vs. Pro-inflammatory Cytokines in Blood and Organ Tissues. Front Immunol 2020; 11: 577878.
15. Alorabi M, Cavalu S, Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Mostafa-Hedeab G, Negm WA, et al. Pentoxifylline and berberine mitigate diclofenac-induced acute nephrotoxicity in male rats via modulation of inflammation and oxidative stress. Biomed Pharmacother 2022; 152: 113225.
16. An ZM, Dong XG, Guo Y, Zhou JL, Qin T. Effects and clinical significance of pentoxifylline on the oxidative stress of rats with diabetic nephropathy. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci 2015; 35(3): 356-361.
17. Dávila-Esqueda ME, Martínez-Morales F. Pentoxifylline diminishes the oxidative damage to renal tissue induced by streptozotocin in the rat. Exp Diabesity Res 2004; 5(4): 245-251.
18. Ozturk H, Cetinkaya A, Firat TS, Tekce BK, Duzcu SE, Ozturk H. Protective effect of pentoxifylline on oxidative renal cell injury associated with renal crystal formation in a hyperoxaluric rat model. Urolithiasis 2019; 47(5): 415-424.
19. Hlail AT, Faraj HR, Abdulredha WS. The Protective Effect of Omega3 Against Amikacin-Induced Nephrotoxicity in Rats. Sys Rev Pharm 2020; 11(9): 110-117.
20. Marques LJ, Zheng L, Poulakis N, Guzman J, Costabel U. Pentoxifylline inhibits TNF-α production from human alveolar macrophages.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

Am J Respir Crit Care Med 1999; 159(2): 508-511.

21. Lund B-O, Miller DM, Woods JS. Studies on Hg (II)-induced H2O2 formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria. Biochem Pharmacol 1993; 45(10): 2017-2024.
22. Shaki F, Hosseini M-J, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of depleted uranium on isolated rat kidney mitochondria. Biochim Biophys Acta 2012; 1820(12): 1940-1950.
23. Zhang F, Xu Z, Gao J, Xu B, Deng Y. In vitro effect of manganese chloride exposure on energy metabolism and oxidative damage of mitochondria isolated from rat brain. Environ Toxicol Pharmacol 2008; 26(2): 232-236.
24. Sadegh C, Schreck RP. The spectroscopic determination of aqueous sulfite using Ellman's reagent. MURJ 2003; 8: 39-43.
25. Aposhian HV, Aposhian MM. Newer developments in arsenic toxicity. Journal of the American College of Toxicology 1989; 8(7): 1297-1305.
26. Hlail AT, Faraj HR, Abdulredha WS. The protective effect of Omega3 against amikacin-induced nephrotoxicity in rats. Sys Rev Pharm 2020; 11(9): 110-117.
27. Abdel-Daim MM, Ahmed A, Ijaz H, Abushouk AI, Ahmed H, Negida A, et al. Influence of Spirulina platensis and ascorbic acid on amikacin-induced nephrotoxicity in rabbits. Environ Sci Pollut Res Int 2019; 26(8): 8080-8086.
28. Colombo G, Reggiani F, Angelini C, Finazzi S, Astori E, Garavaglia ML, et al. Plasma Protein Carbonyls as Biomarkers of Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation. Oxid Med Cell Longev 2020; 2020: 2975256.
29. Vodošek Hojs N, Bevc S, Ekart R, Hojs R. Oxidative Stress Markers in Chronic Kidney Disease with Emphasis on Diabetic Nephropathy. Antioxidants (Basel) 2020; 9(10): 925.
30. Kara A, Cetin H, Oktem F, Metin Ciris I, Altuntas I, Kaya S. Amikacin induced renal damage and the role of the antioxidants on neonatal rats. Ren Fail 2016; 38(5): 671-677.
31. Helmy A, El-Shazly M, Omar N, Rabeh M, Abdelmohsen UR, Tash R, et al. Increment of lysosomal biogenesis by combined extracts of gum arabic, parsley, and corn silk: A reparative mechanism in mice renal cells. Evid Based Complement Alternat Med 2020; 2020: 8631258.
32. Luo M, Dong L, Li J, Wang Y, Shang B. Protective effects of pentoxifylline on acute liver injury induced by thioacetamide in rats. Int J Clin Exp Pathol 2015; 8(8): 8990.
33. Ranjbar A, Baeeri M. The effect of pentoxifylline on malathion-induced mitochondrial damage in rat liver. J Shahrekord Univ Med Sci 2013; 66(4): 1-9 (Persian).
34. Ayinde OC, Ogunnowo S, Ogedegbe RA. Influence of Vitamin C and Vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats. BMC Pharmacol Toxicol 2012; 13(1): 1-8.
35. Shinde AV, Ganu JV. Current concepts in the treatment of alcoholic liver disease. Biomed Res 2010; 21(3): 321-325.
36. Shahroziyan E, Ghazi Khansari M, Daraei B, Javaheri A, Moghadam Jafari A, Sadeghi Hashjin G. The pretreatment effects of pentoxifylline on aflatoxin B1-induced oxidative damage in perfused rat liver. Int J Vet Res 2011; 5(1): 43-47 (Persian).
37. Strutz F, Heeg M, Kochsiek T, Siemers G, Zeisberg M, Müller GA. Effects of pentoxifylline, pentifylline and γ-interferon

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

on proliferation, differentiation, and matrix synthesis of human renal fibroblasts. Nephrol Dial Transplant 2000; 15(10): 1535-1546.

38. Chen Y-M, Chiang W-C, Lin S-L, Tsai T-J. Therapeutic efficacy of pentoxifylline on proteinuria and renal progression: an update. J Biomed Sci 2017; 24(1): 84.

39. Donate-Correa J, Sanchez-Niño MD, González-Luis A, Ferri C, Martín-Olivera A, Martín-Núñez E, et al. Repurposing drugs for highly prevalent diseases: pentoxifylline, an old drug and a new opportunity for diabetic kidney disease. Clinical Kidney J 2022; 15(12): 2200-2213.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]