

The effects of Coenzyme Q₁₀ on gentamicin induced nephrotoxicity

Zeinab Hameidi Zad¹, Saeed Hajhashemi^{2*}, Ali Rahbari³, Fatemeh Ghanbari⁴

1-MSc student of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences.

2-Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences.

3-Assistant Professor of Pathology, Department of Pathology, Arak University of Medical Sciences.

4- Assistant Professor of Pharmacology, Department of Pharmacology, Islamic Azad University of Arak.

Received: 19 April 2016, Accepted: 1 Jun 2016

Abstract

Background: Gentamicin (GM) is one of the aminoglycoside antibiotics which is routinely used to treat infections gram-negative, either alone or in synergistic with beta-lactam antibiotics. However, frequent use leads to serious side effects such as renal toxicity, ototoxicity. Coenzyme Q₁₀ has antioxidant, anti-inflammatory and vasodilatory properties. According to these properties of Coenzyme Q₁₀ and tissue damage mechanism in GM induced-nephrotoxicity, in this study, the effects of these two substances for the co-treatment and post-treatment on renal injury induced by gentamicin were investigated.

Materials and Methods: Experiments have been done on 77 male Wistar rats in weight range of 200 to 250 g. Animals were divided randomly into 5 groups of 7 numbers. Renal nephrotoxicity induced by i.p injection of gentamicin (100mg/kg). Therapeutic effect of coenzyme Q₁₀ (10mg/kg) in the two protocols co-treatment and post-treatment was investigated. The animals after the last injection on the ninth day of co-treatment and the seventeenth day of post-treatment were placed into individual metabolic cages so as to collect urine and urine volume was measured gravimetrically. After anesthesia, systolic blood pressure and renal blood flow was measured. Then blood sampling was done. Amount of urea, creatinin, sodium, potassium and osmolarity was measured in plasma and urine samples. Left kidney, for doing histological experiments in 10% buffered formaldehyde and right kidney for biochemical experiments in fluid nitrogen was preserved.

Results: Co-treatment with Coenzyme Q₁₀ significantly decreased fractional excretion of sodium (6.37±1.33 %; p<0.001) and decreased fractional excretion of potassium (219.14±83.8 %; p<0.001) MDA levels (2.13 ±0.24 μmol/gkw; p<0.001), and significantly increased renal blood flow (6.38 ±0.1ml/min: p<0.01) and FRAP levels (24.44±0.42mmol/gkw; p<0.001). Post-treatment with coenzyme Q₁₀ significantly decreased fractional excretion of sodium (3.58 ±0.57 %; p<0.001), potassium (111.77±29.4%; p<0.001) and MDA levels (3.08 ±0.12 μmol/gkw; p<0.001) and significantly increased renal blood flow (6.74±0.15ml/min: p<0.001) and FRAP levels (24.34±0.75mmol/gkw; p<0.001) that is reduced by gentamicin.

Conclusion: According to the results, this study showed that post-treatment with coenzyme Q₁₀ more protective effect on the kidney tissue and a greater increase in antioxidant defense is created.

Keywords: Nephrotoxicity, Gentamicin, coenzyme Q₁₀, cobalamin

*Corresponding Author:

Address: Department of Physiology, School of Medicine, Payambar Azam Site, Basij Sq., Sardasht, Arak. Iran.
Email: Hajhashemi@arakmu.ac.ir

بررسی اثرات درمانی کوآنزیم Q10 بر سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی

زینب حمیدی زاده^۱، سعید حاجی هاشمی^{۲*}، علی رهبری^۳، فاطمه قنبری^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۳- متخصص آسیب شناسی، گروه آسیب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۴- استادیار، دکتری فارماکولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی اراک، اراک، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: جنتامایسین از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی می‌باشد. استفاده مکرر آن منجر به عوارض جانبی شدید سمیت کلیوی و سمیت شنوایی می‌گردد. کوآنزیم Q10 دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و اتساع عروقی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات درمانی کوآنزیم Q10 به صورت درمان هم‌زمان و پس درمان بر روی آسیب کلیوی ناشی از تجویز جنتامایسین بود.

مواد و روش‌ها: مطالعه بر روی ۴۲ موش سفید بزرگ آزمایشگاهی از نژاد ویستار (Wistar) صورت گرفت. سمیت کلیوی با تزریق جنتامایسین (۱۰۰ mg/kg ip) القاء شد. اثرات درمانی کوآنزیم Q10 (۱۰ mg/kg ip) در دو پروتکل درمان هم‌زمان و پس درمان مورد بررسی قرار گرفت. به منظور جمع‌آوری ادرار، حیوان در قفس متابولیسم قرار داده شد. فشار خون و جریان خون شریانی کلیه اندازه‌گیری گردید. میزان اوره، کراتینین، سدیم، پتاسیم و اسمولالیت در نمونه‌های پلاسما و ادرار تعیین گردید. کلیه راست جهت مطالعه بافتی و کلیه چپ جهت مطالعه بیوشیمیایی FRAP و MDA استفاده شد.

یافته‌ها: درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 در مقایسه با گروه جنتامایسین باعث کاهش دفع نسبی سدیم، (۶/۳۷±۱/۳۳؛ p<۰/۰۰۱) و کاهش دفع نسبی پتاسیم (۲/۱۹/۱۴±۸۳/۸٪؛ p<۰/۰۰۱) و MDA (۲/۱۳±۰/۲۴ μmol/gkw) و FRAP (۶/۳۸±۰/۱ ml/min؛ p<۰/۰۱) شد، همچنین باعث افزایش جریان خون کلیه (۲۴/۴۴±۰/۴۲ mmol/gkw؛ p<۰/۰۰۱) شد. پس‌درمان با کوآنزیم Q10 باعث کاهش دفع نسبی سدیم، (۳/۵۸±۰/۵۷٪؛ p<۰/۰۰۱)، پتاسیم (۱۱۱/۷۷± ۲۹/۱۴٪؛ p<۰/۰۰۱) و MDA (۳/۰۸ ±۰/۱۲ μmol/gkw) در مقایسه با گروه جنتامایسین شد، همچنین باعث افزایش جریان خون کلیه (۶/۷۴±۰/۱۵ ml/min؛ p<۰/۰۰۱) و FRAP (۲۴/۳۴±۰/۷۵ mmol/gkw؛ p<۰/۰۰۱) شد.

نتیجه‌گیری: در مقایسه با درمان هم‌زمان پس درمان با کوآنزیم Q10 اثر حافظتی بیش‌تری بر روی بافت کلیه داشت و سبب افزایش بیش‌تری در دفاع آنتی‌اکسیدانی گردید و سبب بهبود در دفع یون‌ها شد.

*نویسنده مسئول: اراک، سردشت، میدان بسیج - دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

Email: Hajihashemi@arakmu.ac.ir

مقدمه

سمیت کلیوی از مهم ترین عوارض جانبی داروهایی از قبیل آمینو گلیکوزیدها می باشد. داروهای نفروتوکسیک ۷-۱ درصد از همه موارد نارسایی حاد کلیوی (ARF) را به خود اختصاص می دهد. جنتامایسین یکی از مهم ترین آنتی بیوتیک های آمینو گلیکوزیدی است که به صورت روتین جهت درمان عفونت های گرم منفی به تنهایی و یا به صورت هم افزایی با آنتی بیوتیک های بتالاکتام به کار می رود. میزان سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین علی رغم مراقبت های درمانی شدید ۲۶-۸ درصد گزارش شده است (۱، ۲).

سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین توسط شماری از تغییرات مورفولوژیکی شامل: تخریب اندامک های سلول و نکروز، تورم لیزوزوم، واگلاسیون میتوکندریایی مشخص می شود (۲).

از مهم ترین مکانیسم های سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین استرس اکسیداتیو، آپوپتوز، نکروز سلولی است (۳). جنتامایسین منجر به افزایش ایجاد سوپر اکسیداسیون، رادیکال های هیدروکسیل، پراکسیداسیون هیدروژن، گونه های فعال نیتروژن و القای آسیب کلیوی می شود. رادیکال های آزاد اکسیژن منجر به پراکسیداسیون فسفولیپید های غشایی، شکسته شدن زنجیره DNA و تخریب پروتئین ها می گردند که از مهم ترین شاخص های آسیب کلیوی ناشی از جنتامایسین است. جنتامایسین با افزایش نفوذ پذیری میتوکندریایی، اکسیداسیون و هم چنین افزایش فسفریلاسیون چفت نشده (uncoupling) باعث کاهش تولید ATP و ایجاد استرس اکسیداتیو با مسیر NADPH-oxidase می گردد (۱، ۳).

جنتامایسین باعث کاهش کارایی آنزیم های آنتی اکسیدانی در کلیه ها شامل: کاتالاز، گلو تاتیون، گلو تاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز می شود. درمان با جنتامایسین منجر به التهاب در بافت بینابینی کلیه، نکروز وسیع لوله ای و تشکیل کست های پروتئینی ناشی از ریزش سلول های لوله ای به داخل لومن لوله می شود (۴).

با توجه به مکانیسم آسیب سلولی ناشی از جنتامایسین التهاب و استرس اکسیداتیو از مهم ترین مکانیسم های آسیب کلیوی ناشی از جنتامایسین است (۲).

کوآنزیم Q₁₀ (CoQ₁₀) یک ترکیب بنزو کینون محلول در چربی آندروژن است که به طور طبیعی در بیش تر بافت های بدن یافت می شود. و از مهم ترین مواد مورد نیاز جهت سلامتی و حیات سلول ها است که جهت تولید انرژی داخل سلولی ضروری است (۵).

کوآنزیم Q₁₀ در درون سلول عمدتاً در درون غشاء داخلی میتوکندری ها به عنوان پذیرنده الکترون در زنجیره تنفسی میتوکندریایی قرار دارد و به سنتز در غشاء کمک می کند و عمدتاً آنتی اکسیدانی است که بالقوه باعث پاکسازی رادیکال های آزاد می گردد. هم چنین به عنوان تثبیت کننده غشاء بوده و از آغاز و پیشرفت پراکسیداسیون چربی در غشاء زیستی سلول جلوگیری می کند (۶).

کوآنزیم Q₁₀ به طور معنی داری باعث توقف پراکسیداسیون چربی ها، ترمیم مکانیسم های آنتی اکسیدانی، تقلیل تولید بیش از حد TNF- α و NO می گردد و از طریق مهار فعالیت مسیرهای سیگنالینگ NF-KB که باعث پیش برد نسخه برداری از ژن NADPH اکسیداز و TNF- α و iNOS می گردد؛ باعث ایجاد اثرات حفاظت کلیوی می گردد (۷، ۸).

کوآنزیم Q₁₀ به صورت بالقوه ای با پاکسازی رادیکال های آزاد باعث بازگشت واکنش های غیر چفت شده NOS گشته و منجر به افزایش نیتریک اکساید، اتساع عروق و بهبود گردش خون می گردد (۹، ۱۰).

با توجه به خصوصیات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، متسع کننده عروقی کوآنزیم Q₁₀ و مکانیسم های آسیب بافتی در سمیت کلیوی ناشی از تجویز جنتامایسین که در مطالب فوق به آن ها اشاره شد؛ در مطالعه حاضر اثرات درمان هم زمان و پس درمان با کوآنزیم Q₁₀ بر آسیب کلیوی ناشی از جنتامایسین بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۴۲ سر موش سفید آزمایشگاهی نر، از نژاد ویستار، در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم استفاده گردید. در این مطالعه کلیه موارد اخلاقی مورد تأیید کمیته نظارت بر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اراک رعایت شد. حیوانات در شرایط محیطی یکسان و کنترل شده از نظر میزان نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به صورت متناوب) و دمای محیط (23 ± 2) در داخل قفس‌های جداگانه نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه ۷ تایی تقسیم شدند: ۱) گروه کنترل: این گروه از حیوانات هیچ گونه دارو دریافت نمی‌کردند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. ۲) گروه دریافت کننده جنتامایسین: این گروه از حیوانات به مدت هشت روز متوالی 100 mg/kg جنتامایسین (البرز دارو - ایران) (۲۳) به صورت تزریق داخل صفاقی به مدت ۸ روز متوالی دریافت کردند. ۳) گروه دریافت کننده کوآنزیم Q10: این گروه از حیوانات روزانه 10 mg/kg کوآنزیم Q10 (Sigma-C9538 Aldrich) به مدت ۸ روز متوالی به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند (۷).

۴) گروه درمان هم‌زمان با جنتامایسین و کوآنزیم Q10: این گروه از حیوانات روزانه 100 mg/kg جنتامایسین و 10 mg/kg کوآنزیم Q10 به صورت هم‌زمان به مدت ۸ روز متوالی از طریق تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. ۵) گروه پس درمان با کوآنزیم Q10: این گروه از حیوانات روزانه 100 mg/kg جنتامایسین به مدت ۸ روز متوالی به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت می‌کردند و سپس در روز نهم پس از شروع تزریق جنتامایسین، 10 mg/kg کوآنزیم Q10 به مدت ۸ روز دیگر از طریق تزریق داخل صفاقی دریافت می‌کردند. ۶) گروه تزریق الکل (اتانول): این گروه از حیوانات روزانه ۲۵ واحد سرنگ انسولین الکل (اتانول) ۹۹ درصد (غدیر - ایران) به مدت ۸ روز متوالی به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت می‌کردند. این گروه

به عنوان گروه شاهد جهت حلال کوآنزیم Q10 مورد بررسی قرار گرفت (۳۲). در روز نهم (در پروتکل درمان هم‌زمان) و روز هفدهم (در پروتکل پس درمان) حیوانات به مدت ۶ ساعت در قفس متابولیسم به منظور جمع‌آوری نمونه ادرار قرار می‌گرفتند. سپس حجم ادرار به روش گراویمتری اندازه‌گیری می‌شد. سپس حیوانات با تزریق $50-60 \text{ mg/kg}$ تیوپنتال سدیم (Tuzla-ISTANBUL) به صورت i.p (داخل صفاقی) بی‌هوش می‌شدند و بعد از پایداری حیوان، میزان فشار خون با کاف دمی به کمک دستگاه Power Lab (استرالیا-AD Instruments) اندازه‌گیری می‌شد (۲۴). سپس جهت برقراری راه هوایی مناسب تراکوستومی انجام می‌شد. سپس موهای روی شکم تراشیده می‌شد و با کوتر یک برش طولی در سطح آن ایجاد می‌گردید و بعد از رؤیت کلیه راست و چپ با باز کردن شکم، شریان و ورید کلیه چپ را با دقت جدا می‌گردید. سپس با قرار دادن پروپ مناسب به دور شریان کلیه با استفاده از دستگاه جریان نگار (Flow meter) میزان جریان خون شریان کلیه اندازه‌گیری به مدت سی دقیقه اندازه‌گیری می‌شد (۲۵). سپس با سرنگ هپارینه سرد خون‌گیری از آنورت انجام می‌گردید و بعد از استحصال پلاسما میزان [Cr]، [BUN] با روش رنگ سنجی آنزیمی و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (XLSelectra - Auto analyzer-هلند) اندازه‌گیری می‌شد (۲۶). هم‌چنین میزان $[Na^+]$ ، $[K^+]$ ، پلاسما و نمونه ادرار بر اساس سنجش انرژی نورانی و طیف‌نشری اتم‌های مورد نظر، با استفاده از دستگاه (ایتالیا-۲۰ SEAC-Fp Flam photometer)، (۲۷) اندازه‌گیری می‌شد. اسمولالیت پلاسما و نمونه ادرار بر اساس اندازه‌گیری مقایسه‌ای نقطه انجماد آب مقطر و محلول‌ها با استفاده از دستگاه اسمومتر (آلمان، Osmomat -030 - Gonotec) (۲۸) تعیین می‌گردید. سپس در نهایت با استفاده از فرمول مربوطه میزان کلیرانس کراتینین و دفع مطلق و نسبی سدیم و پتاسیم مشخص می‌گردید.

$$V^{\circ}(\mu\text{l}/\text{min.gkw}) = (1000 \times \text{UFR}^1) / (\text{KW} \times \nu 20)$$

$$C_{\text{Cr}}(\text{ml}/\text{min.gkw}) = (V^{\circ} / 1000 \times U_{\text{Cr}}) / P_{\text{Cr}} C_{\text{Cr}}$$

$$U_{\text{Na}} V^{\circ} (\mu\text{mol}/\text{min.gkw}) = (V^{\circ} \times U_{\text{Na}}) / 1000$$

$$U_{\text{K}} V^{\circ} (\mu\text{mol}/\text{min.gkw}) = (V^{\circ} \times U_{\text{K}}) / 1000$$

$$\text{FE}_{\text{Na}} = (U_{\text{Na}}^3 \times P_{\text{Cr}}) / (P_{\text{Na}}^4 \times U_{\text{Cr}}) \times 100$$

$$\text{FE}_{\text{K}} = (U_{\text{K}} \times P_{\text{Cr}}) / (P_{\text{K}} \times U_{\text{Cr}}) \times 100$$

آزمایش FRAP

FRAP روشی برای اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی است، که طی آن کمپلکس بی‌رنگ (Fe^{3+} -TPTZ) در pH پایین به Fe^{2+} -TPTZ احیا شده و رنگ آبی ایجاد می‌کند که بیش‌ترین جذب آن در طول موج ۵۹۳ nm است. حضور مواد آنتی‌اکسیدان باعث احیا یون فریک (Fe^{3+}) و تولید کمپلکس رنگی می‌شود. شدت رنگ تولید شده متناسب با غلظت ماده آنتی‌اکسیدان در بافت خواهد بود. معرف FRAP با مخلوط کردن ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر استات، ۱۰ میلی‌لیتر محلول کلرید فریک، ۱۰ میلی‌لیتر محلول TPTZ و ۱۲ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. ۵۰ از هر نمونه هموژنایز شده در کوت جداگانه ریخته شد و سپس ۱۵۰۰ μL معرف FRAP به آن اضافه شد. پس از گذشت ۴ دقیقه جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۳nm با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-۷۵۰۰ - SpectroLab انگلیس) خوانده شد. و به صورت میکرومول بر هر گرم وزن کلیه بیان می‌شد (۳۰).

آزمایشات هیستوپاتولوژیک کلیه

کلیه چپ پس از جدا کردن کپسول در بافر فرمالدئید ۱۰ درصد به منظور تثبیت و حفظ ساختمان فیزیکی بافت قرار داده می‌شد. سپس قبل از قالب‌گیری بافت‌ها ابتدا آب‌گیری (توسط قرار دادن پی در پی در محلول‌های اتانول ۷۰، ۵۰، ۹۶ و ۱۰۰ درصد) انجام می‌شد و سپس پاک‌سازی با قرار دادن در محلول زایلن انجام می‌گردید. سپس نمونه در قالب قرار گرفته و توسط پارافین ذوب شده پر می‌شد. از این قالب‌ها برش ۵ میکرومتری توسط میکروتوم تهیه می‌شد سپس روی لام شیشه‌ای قرار

بعد از خارج کردن کلیه‌ها و توزین آن‌ها کلیه چپ جهت مطالعه بافتی و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و آئوزیندر فرمالین ۱۰ درصد نگهداری می‌شد و کلیه راست جهت مطالعه بیوشیمیایی MDA و FRAP در نیتروژن مایع قرار داده می‌شد و سپس در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد.

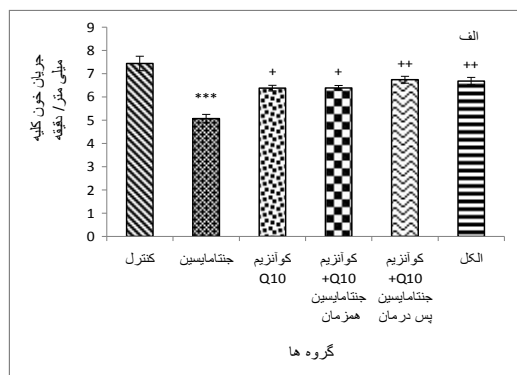
آزمایش مالون‌دی‌آلدئید (MDA):

MDA محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی در بافت است که از کاهش محتوی اسیدهای چرب اشباع نشده در بافت ناشی می‌شود و به عنوان سوپسترا برای رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند. بافت کلیه در محلول بافر فسفات با نسبت وزنی/حجمی ۱:۱۰ هموژنایز می‌شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه بافتی هموژنایز شده به مخلوط واکنش شامل ۱۵۰۰ μl از محلول اسیداستیک ۲۰ درصد، ۱۵۰۰ μl از محلول SDS ۸/۱ درصد اضافه می‌شد. سپس سوپانسیون فوق‌الذکر به مدت ۶۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آبی (DUBNOFF- امریکا) حرارت داده می‌شد و بلافاصله پس از خارج کردن نمونه از حمام آبی مدت ۱۰ دقیقه در آب یخ قرار داده می‌شد. سپس ۴ میلی‌لیتر n- بوتانل به آن اضافه می‌گردید و پس از یک تکان شدید لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ (فرانسه، Jouan-B ۳۰۱۱) می‌شد و لایه فوقانی به آرامی با سمپلر برداشته می‌شد و در نهایت جذب نوری در ۵۳۲ nm با کمک اسپکتروفوتومتر (مدل SpectroLab 7500 UV - انگلیس) اندازه‌گیری می‌گردید و به صورت میلی‌مول بر هر گرم وزن کلیه بیان می‌شد (۲۹).

یافته‌ها

اثرات درمان کوآنزیم Q10 بر میزان جریان خون کلیه و فشار خون سیستولی

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان جریان خون کلیه در گروه جنتامایسین ($5/07 \pm 0/18$ ml/min) در مقایسه با گروه کنترل ($7/44 \pm 0/2$ ml/min) کاهش معنی داری داشت ($p < 0/001$)، در گروه‌های کوآنزیم Q10 به تنهایی ($6/38 \pm 0/18$ ml/min) و الکل به تنهایی ($6/68 \pm 0/15$ ml/min) در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد. درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 به مدت ۸ روز ($6/38 \pm 0/18$ ml/min)، ($p < 0/05$) و پس درمان با کوآنزیم Q10 ($6/74 \pm 0/15$ ml/min)، ($p < 0/01$) جریان خون را در مقایسه با گروه جنتامایسین افزایش داده و باعث بازگشت آن نزدیک به سطح گروه کنترل شد. میزان فشار خون سیستولی در بین گروه‌ها تفاوت معنی داری نشان نداد (نمودار ۱).



می‌گرفت و نمونه‌ها با کمک دو رنگ بازی همتانوکسلین و اسیدی آئوزین رنگ آمیزی می‌شد. بررسی بافت شناسی بر روی برش‌های کورتکس، مدولای داخلی و مدولای خارجی به طور جداگانه انجام می‌گردید. کورتکس از لحاظ وضعیت اجسام کلیوی، تعداد گلبول‌های قرمز داخل کلاف‌های گلومرولی و آسیب‌های سلولی و وضعیت لومن توپول‌ها و مدولای خارجی و داخلی نیز از لحاظ آسیب سلولی توپول‌ها، احتقان عروقی و تشکیل قلب پروتئینی داخل لومن توسط متخصص آسیب شناسی مورد بررسی قرار می‌گرفتند.

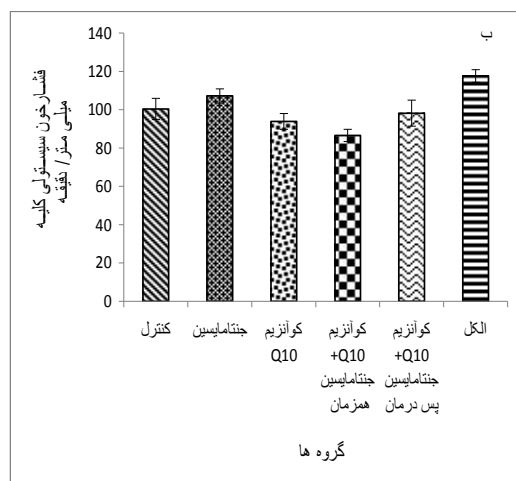
میزان آسیب حاصله براساس درصد محاسباتی به صورت زیر درجه‌بندی (Grading) می‌شد: فقدان آسیب درجه صفر، ۱- ۲۵ درصد آسیب درجه ۱، ۲۵-۵۰ درصد آسیب درجه ۲، ۵۰-۷۵ درصد آسیب درجه ۳ و ۷۵-۱۰۰ درصد آسیب درجه ۴ نام گذاری شدند (۳۱).

روش تهیه کوآنزیم Q10

کوآنزیم Q10 (Coenzyme) Q10، C9538 (Sigma-Aldrich) با فرمول شیمیایی $C_{59}H_{90}O_4$ ، وزن مولکولی $863/34$ g/mol، به صورت ماده چرب زرد رنگ محلول در الکل ۹۹ درصد (اتانول)، (C_2H_5OH) می‌باشد. ۱۰ میلی‌گرم از کوآنزیم Q10 در ۱ میلی‌لیتر اتانول حل شد و سپس پس از حرارت توسط بن ماری با دمای $60^\circ C$ به مدت ده دقیقه به میزان 10 mg/kg معادل ۲۵ واحد سرنگ انسولین به شکل IP به حیوان تزریق می‌شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد شده از میانگین ($Mean \pm SEM$) ارائه شد. جهت تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم افزار آماری SPSS، نسخه ۱۶ استفاده شد. جهت مقایسه بین گروهی از آزمون آنالیزواریانسیک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن تست Tukey و با در نظر گرفتن $p \leq 0/05$ به عنوان حداقل سطح معنی داری استفاده گردید. برای آنالیز بافتی از آزمون غیر پارامتری Kruskal Wallis با در نظر گرفتن $p \leq 0/05$ به عنوان سطح معنی دار استفاده شد.



نمودار ۱. مقایسه الف) جریان خون کلیه و ب) فشار خون سیستولی بین گروه‌ها

الف) میزان جریان خون کلیه در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.001$). درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 ($p < 0.05$) و پس‌درمان با آن ($p < 0.001$) جریان خون کلیه را در مقایسه با گروه جنتامایسین به طور معنی‌داری افزایش داد.

ب) میزان فشار خون سیستولی در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد شده از میانگین (SEM) برای ۷ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است. $p < 0.001$ *** در مقایسه گروه کنترل با $p < 0.01$ ++ و $p < 0.05$ + در مقایسه با گروه جنتامایسین بیان شده است.

اثرات کوآنزیم Q10 و جنتامایسین بر مقادیر پلاسمایی سدیم ($[Na]_p$)، پتاسیم ($[K]_p$)، کراتینین ($[Cr]_p$)، اوره ($[BUN]_p$) و اسمولالیت (Osmol_p)

جدول ۱. مقایسه مقادیر پلاسمایی سدیم ($[Na]_p$)، پتاسیم ($[K]_p$)، کراتینین ($[Cr]_p$)، اوره ($[BUN]_p$) و اسمولالیت (Osmol_p)، (Uosmol) بین گروه‌ها

پارامترهای گروه‌های	[Na] _p (μmol/mL)	[K] _p (μmol/mL)	[Cr] _p (mg/dL)	[BUN] _p (mg/dL)	Osmol _p (mOsm/kgH ₂ O)	Uosmol (mOsm/kgH ₂ O)
کنترل	۱۳۷/۵۷±۲/۶	۴/۹۵±۰/۱۹	۰/۷±۰/۰۲۶	۲۵/۵۷±۴/۳	۳۱۲/۵۷±۷/۸	۱۶۳۸/۱±۲۷/۰۲۷
جنتامایسین	۱۵۶/۱۴±۳/۴***	۶/۴۸±۰/۶۳***	۱/۰۲±۰/۰۶	۴۲/۵۷±۰/۲*	۳۰۶±۶/۶	۱۷۸۴/۱±۱۶۷/۶۶
کوآنزیم Q10	۱۴۰/۲±۲/۳++	۴/۶±۰/۱۶	۰/۷۲±۰/۰۴	۲۴±۱/۲۵++	۲۹۴/۷۱±۹/۱	۱۱۴۱/۶±۲۰/۱۷
جنتامایسین+کوآنزیم Q10 هم‌زمان	۱۳۸/۷۱±۱/۵+++	۳/۹۴±۰/۲+++	۱/۳±۰/۱۵	۳۶/۱۴±۳/۲	۳۰۷±۸/۲	۱۱۵۴/۱±۱۱۶/۹۳
جنتامایسین+کوآنزیم Q10 پس درمان	۱۴۲±۲۶/۳۶++	۴/۵±۰/۳۳+++	۱/۱±۰/۱۱	۳۲/۴۲±۱/۹	۳۰۸/۷۱±۶/۵۴	۱۱۴۵/۴±۱۸۵/۰۶
الکل	۱۳۶/۸۶±۲/۰۰+++	۴/۴۵±۰/۲۴	۰/۸۱±۰/۰۵	۲۷/۸۵±۲/۸۵+	۳۱۶/۱۴±۸/۳	۱۲۹۶/۲±۴۹/۶۱

نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد شده از میانگین (SEM) برای ۷ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است. $p < 0.001$ *** $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل $p < 0.01$ ++ $p < 0.05$ + در مقایسه با گروه جنتامایسین بیان شده است.

اثرات کوآنزیم Q10 و جنتامایسین بر جریان ادرار (V°)، کلیرانس کراتینین (C_{Cr})، دفع مطلق (U_{Na}V°) و نسبی (FE_{Na}) سدیم و دفع مطلق (U_KV°) و نسبی (FE_K) پتاسیم:

کلیرانس کراتینین در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد (p<0/05). در گروه‌هایی کوآنزیم Q10 به تنهایی و الکل به تنهایی تفاوت معنی داری نسبت به کنترل مشاهده نشد. درمان هم زمان با کوآنزیم Q10 و پس درمان با کوآنزیم Q10 در مقایسه با گروه جنتامایسین افزایش نشان دادند ولی معنی دار نبود. دفع نسبی سدیم در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری داشت (p<0/05). گروه‌های کوآنزیم Q10 به تنهایی و الکل به تنهایی نسبت به گروه کنترل

اختلاف معنی داری نداشتند. گروه‌های درمان هم زمان با کوآنزیم Q10 و پس درمان با کوآنزیم Q10 نسبت به گروه جنتامایسین کاهش معنی داری را نشان دادند (p<0/001). دفع نسبی پتاسیم در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری داشت (p<0/001). گروه‌های کوآنزیم Q10 به تنهایی و الکل به تنهایی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری نداشتند. گروه‌های پس درمان با کوآنزیم Q10 و درمان هم زمان با کوآنزیم Q10 در مقایسه با گروه جنتامایسین کاهش معنی داری را در دفع نسبی پتاسیم نشان دادند (p<0/001). دفع مطلق پتاسیم و سدیم در بین گروه‌ها تفاوت معنی داری نشان نداد (جدول ۲).

جدول ۲. مقایسه میزان جریان ادرار (V°)، کلیرانس کراتینین (C_{Cr})، دفع مطلق (U_{Na}V°) و نسبی (FE_{Na}) در بین گروه‌ها

پارامترها گروه‌ها	FE _{Na} %	FE _K %	U _K V° (mmol/min/kg)	U _{Na} V° (mmol/min/kg)	C _{Cr} (ml/min/kg)	V° (μl/min.gkw)
کنترل	۳/۸۳±۱/۲	۱۴۹/۶±۴۱/۱۱	۱/۰۶±۰/۰۷	۰/۶±۰/۴۴	۰/۲۷±۰/۱۲	۵/۲۷±۰/۱۲
جنتامایسین	۱۶/۹±۲/۰۷***	۷۳۲/۴±۱۲/۲۷***	۱/۰۵±۰/۰۸	۰/±۰/۰۵	۰/۰۱۸±۰/۰۰۲*	۴/۰۷±۰/۰۱
کوآنزیم Q10	۳/۰۶±۰/۵+++	۱۰۳±۱۷/۸+++	۰/۷۴±۰/۱۷	۰/۶۴±۰/۱۲	۰/۲۱±۰/۰۹	۴/۸±۰/۱۵
جنتامایسین+ کوآنزیم Q10	۶/۳۷±۱/۳۳+++	۲۱۹/۱۴±۸۲/۸+++	۰/۷۵±۰/۲۷	۰/۸۲±۰/۱۸	۰/۱±۰/۰۱+	۷/۲۷±۰/۱۳
هم‌زمان						
جنتامایسین+ کوآنزیم Q10 پس درمان	۳/۵۸±۰/۵۷+++	۸۷±۲۹/۱۴+++	۰/۶۶۸±۰/۱۲۸	۰/۶۶۲±۰/۰۸۹	۰/۱۴±۰/۰۲+	۷/۷۷±۰/۱۵
الکل	۳/۰۹±۰/۵۶+++	۱۵۲/۷±۲۸/۹۵+++	۰/۸۷±۰/۱۷	۰/۵۳±۰/۱۱	۰/۱۳۴±۰/۰۱۴	۶/۷±۰/۱۵

نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد شده از میانگین (SEM) برای ۷ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است. p<0/001 *** p<0/005* در مقایسه با گروه کنترل و p<0/001+p<0/05+ در مقایسه با گروه جنتامایسین بیان شده است.

اثرات کوآنزیم Q10 بر میزان MDA و FRAP در بافت کلیه:

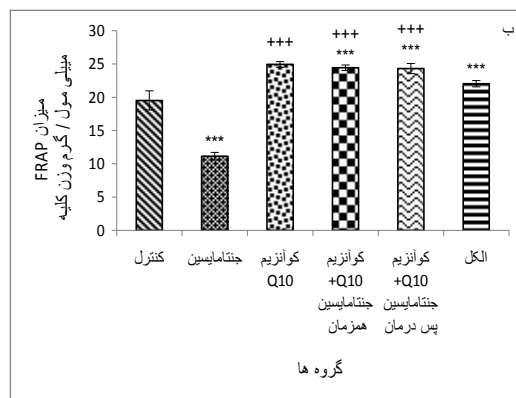
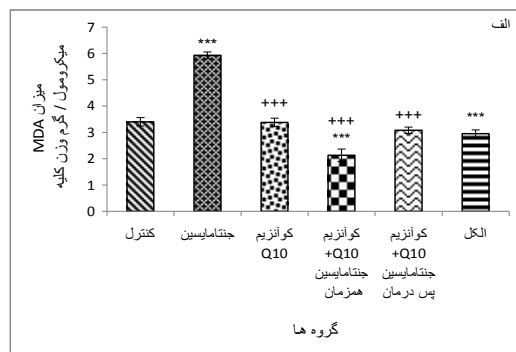
میزان MDA در بافت کلیه در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری داشت (p<0/001). گروه کوآنزیم Q10 به تنهایی در مقایسه با گروه جنتامایسین کاهش معنی داری داشت (p<0/001). گروه الکل به تنهایی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری نشان نداد. درمان هم زمان با کوآنزیم Q10 نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان داد (p<0/001). درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 و پس درمان با

آن (p<0/001) در مقایسه با گروه جنتامایسین کاهش معنی داری را نشان داد. میزان FRAP در بافت کلیه در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد (p<0/001). گروه کوآنزیم Q10 به تنهایی در مقایسه با گروه جنتامایسین و گروه کنترل افزایش معنی داری داشت (p<0/001). الکل به تنهایی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری نداشت. گروه‌هایی در درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 و با پس درمان با آن در مقایسه با گروه جنتامایسین و کنترل افزایش معنی داری را نشان دادند (p<0/001) (نمودار ۲).

نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد شده از میانگین (SEM) برای ۷ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است. $p < 0.001$ *** $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.001$ +++ در مقایسه با گروه جنتامایسین بیان شده است

اثرات کوآنزیم Q10 بر تغییرات بافتی:

نتایج این مطالعه نشان داد که در گروه جنتامایسین نکرور سلول‌های لوله‌ای (grade ۳)، ($p < 0.001$)، تشکیل کست داخل لومن لوله (grade ۴)، ($p < 0.001$)، واکوئل دار شدن سلول‌های لوله‌ای (grade ۲) ($p < 0.001$) و ریزش سلول‌ها به داخل لومن لوله (grade ۳)، ($p < 0.001$) ایجاد شد که در مقایسه با گروه کنترل (grade ۰) معنی‌دار بود. افزایش فضای کپسول بومن (grade ۲) و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در گلو مومول (grade ۲) در مقایسه با گروه کنترل (grade ۰) افزایش یافت اما معنی‌دار نبود. گروه‌های کوآنزیم Q10 (grade ۰) و الکل (grade ۰) در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشتند. پس درمان با کوآنزیم Q10 کاهش معنی‌داری در نکرور سلولی (grade ۱)، ($p < 0.05$)، ریزش سلولی (grade ۰) ($p < 0.001$)، تشکیل کست لوله‌ای (grade ۱) ($p < 0.05$) و واکوئل دار شدن سلولی (grade ۱) نسبت به گروه جنتامایسین نشان داد.



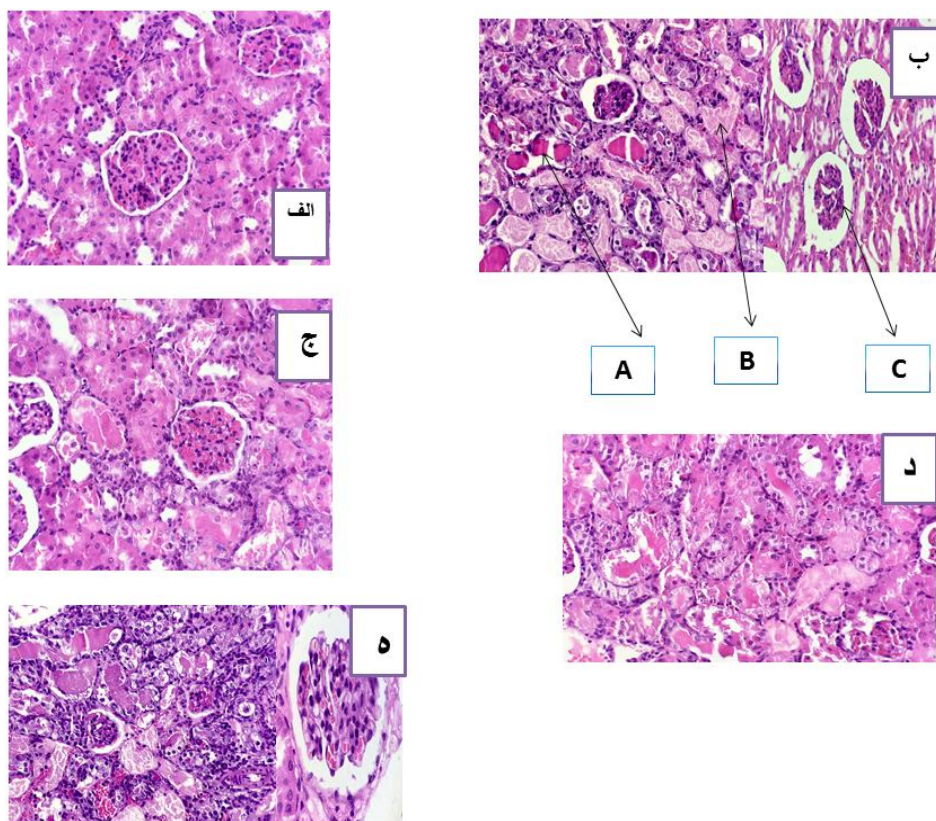
نمودار ۲. مقایسه (الف) میزان MDA و (ب) میزان FRAP بین گروه‌ها

(الف) - میزان MDA در بافت کلیه در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.001$). درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$). درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 ($p < 0.001$) و پس‌درمان با آن ($p < 0.001$) در مقایسه با گروه جنتامایسین کاهش معنی‌داری را نشان داد. (ب) - میزان FRAP در بافت کلیه در گروه جنتامایسین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$). گروه‌هایی درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 و با پس‌درمان با آن در مقایسه با گروه جنتامایسین و کنترل افزایش معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0.001$).

جدول ۴. مقایسه میزان نکرور، کست‌های لوله‌ای، ریزش، واکوئل دار شدن، کاهش تعداد گلبولهای قرمز و افزایش فضای کپسول بومن بین گروه‌ها

پارامترها گروه‌های	نکرور	تشکیل کستلوله‌ای	ریزش سلولی	واکوئل دار شدن	کاهش گلبولهای قرمز	افزایش فضای کپسول بومن
کنترل	۰	۰	۰	۰	۰	۰
جنتامایسین	۳***	۴***	۳**	۳**	۲	۲
کوآنزیم Q10	۰***	۰***	۱**	۰***	۰	۱
الکل	۰***	۰***	۱**	۰***	۰	۱
جنتامایسین + کوآنزیم Q10 هم‌زمان	۲	۳	۲	۲	۱	۲
جنتامایسین + کوآنزیم Q10 پس درمان	۱+	۱+	۰**	۱	۱	۱

نتایج به صورت میانگین±خطای استاندارد شده از میانگین (SEM) برای ۷ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است. $p < 0.001$ *** $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.001$ +++ $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه جنتامایسین بیان شده است.



تصویر ۱. مقایسه هیستولوژیک کلیه بین گروه‌ها

الف- گروه کنترل با ساختار گلومرولی و لوله ای طبیعی؛ ب- گروه جنتامایسین با نکروز سلول‌های لوله‌ای، تشکیل کیست‌های پروتئینیدر لومن لوله‌ای، ریزش سلول‌ها به داخل لومن لوله، واکوتل‌دار شدن سلول‌های لوله‌ای، افزایش فضای کیسول بومن و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در گلومرول؛ ج- گروه کوآنزیم Q10 با ساختار گلومرولی و لوله‌ای طبیعی؛ د- گروه درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 با کاهش در نکروز سلول‌های لوله‌ای، تشکیل کست‌های پروتئینی، ریزش سلولی واکوتل‌دار شدن، فضای کیسول بومن و افزایش در تعداد گلبول‌های قرمز در گلومرول؛ ه- گروه پس درمان با کوآنزیم Q10 با کاهش در نکروز سلول‌های لوله ای، تشکیل کست‌های پروتئینی، ریزش سلولی، واکوتل‌دار شدن، فضای کیسول بومن و افزایش در تعداد گلبول‌های قرمز در گلومرول

A=downfall
B= necrosis
C= Bowman's space

بحث

کراتینین و اوره شد اما این کاهش معنی‌دار نبود جدول (۱)-
۲). بررسی نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که جنتامایسین منجر به کاهش کلیرانس کراتینین و به دنبال آن افزایش غلظت پلاسمایی اوره و کراتینین شده است. این نتایج را می‌توان به کاهش در ضریب فیلتراسیون گلومرولی (K_f) و یا نکروز سلول‌های لوله‌ای و به دنبال آن کاهش در تعداد نفرون‌های عملکردی و در نتیجه کاهش در میزان GFR نسبت داد (۱۱). هم چنین نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که کوآنزیم Q10 منجر به افزایش کلیرانس کراتینین و کاهش غلظت پلاسمایی کراتینین و اوره شده

نتایج این مطالعه نشان داد که جنتامایسین منجر به افزایش غلظت پلاسمایی کراتینین، اوره و به دنبال آن کاهش کلیرانس کراتینین، دفع ادراری اوره و کراتینین و در نتیجه باعث ایجاد سمیت کلیوی شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که کلیرانس کراتینین در گروه‌های درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10، پس درمان با آن در مقایسه با گروه جنتامایسین به صورت معنی‌داری افزایش یافت. هم چنین درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 و پس درمان با آن در مقایسه با گروه جنتامایسین موجب کاهش غلظت پلاسمایی

است (۱۲). احتمالاً کوآنزیم Q10 به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند منجر به افزایش کلیرانس کراتینین و کاهش غلظت پلاسمایی کراتینین و اوره شود.

نتایج این مطالعه افزایش دفع ادراری سدیم و پتاسیم و در نتیجه افزایش FE_{Na} و FE_k طی استفاده از جنتامایسین نشان داد. هم‌چنین نتایج این مطالعه نشان داد که درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 و پس‌درمان آن در مقایسه با گروه جنتامایسین به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش سطح سدیم و پتاسیم پلاسمای FE_{Na} و FE_k شد (جدول (۱-۲)). نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که جنتامایسین اثر مهار روی $Na^+/K^+ ATPase$ دارد (۱۱). به این ترتیب جنتامایسین احتمالاً با مهار پمپ $Na^+/K^+ ATPase$ که نیروی گرادیان لازم برای انتقال یون‌های سدیم و پتاسیم را فراهم می‌کند؛ منجر به تجمع سدیم و آب در داخل سلول، تورم سلول و نهایتاً نکروز سلول و دفع یون‌های سدیم و پتاسیم شده است (۱۲). نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که کوآنزیم Q10 باعث تثبیت پمپ $Na^+/K^+ ATPase$ در سطح غشاء سلول می‌گردد (۱۳). کوآنزیم Q10 احتمالاً به این ترتیب باعث کاهش در دفع نسبی سدیم و پتاسیم در این مطالعه شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که درمان با جنتامایسین باعث افزایش معنی‌دار سطوح MDA و کاهش معنی‌دار سطوح FRAP در بافت کلیه شد. درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 و پس‌درمان آن در مقایسه با گروه جنتامایسین به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش سطح MDA و افزایش سطح FRAP شد (نمودار ۲). نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که درمان با جنتامایسین باعث تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطوح سوپراکسید دیسموتاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد (۱۴). به این ترتیب احتمالاً منجر به افزایش معنی‌دار سطوح MDA و کاهش معنی‌دار سطوح FRAP در بافت کلیه در این مطالعه شده است. بررسی نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که کوآنزیم Q10 به‌طور معنی‌داری باعث توقف پراکسیداسیون لیپیدی، ترمیم

مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هم‌چون سوپراکسید دیسموتاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز می‌گردد (۱۵). احتمالاً به این ترتیب منجر به افزایش سطح FRAP و کاهش سطح MDA در این مطالعه شده است.

در مطالعه حاضر فشار خون در بین گروه‌ها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت (نمودار ۱). با توجه به این که در تنظیم فشار خون مکانیسم‌های کوتاه مدت، میان مدت و بلند مدت دخالت دارند؛ به نظر می‌رسد که علت تغییر نکردن فشار خون دخالت مکانیسم‌های کوتاه مدت و میان مدت باشد. کلیه‌ها تنظیم‌کننده‌های بلند مدت فشار خون هستند و در افراد که در مراحل انتهایی نارسایی کلیوی هستند فشار خون افزایش می‌یابد.

در این مطالعه جنتامایسین به‌طور معنی‌داری باعث کاهش جریان خون کلیه (RBF) در مقایسه با گروه کنترل شد. درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 و پس‌درمان آن در مقایسه با گروه جنتامایسین به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش در جریان خون کلیه گردید (نمودار ۱). نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که جنتامایسین به دنبال افزایش مقاومت عروق کلیه منجر به کاهش جریان خون کلیه می‌شود. این کاهش RBF نقش مهمی در کاهش GFR دارد (۲). افزایش مقاومت عروق کلیه ابتدا ناشی از فعال شدن فیدبک توبولی - گلوامرولی (TGF) است. علت فعال شدن این فیدبک کاهش بازجذب لوله‌ای به علت ایجاد اختلال در عملکرد انتقال‌دهنده‌های غشایی در اثر جنتامایسین است و این فیدبک یک مکانیسم حفاظتی برای جلوگیری کردن و از دست رفتن آب و الکترولیت‌ها پس از آسیب لوله‌های می‌باشد، ولی این فیدبک در نهایت طی ۱ تا ۲۴ ساعت سازش می‌یابد (۱۶). در مرحله بعد این افزایش مقاومت، ناشی از افزایش تولید واسطه‌های تنگ‌کننده رگی مانند فاکتور فعال‌کننده پلاکتی (PAF)، آندوتلین-۱ و متابولیت‌های اسید آرشیدونیک (به‌طور عمده ترومبوکسان A₂) در سازمان عروقی کلیه و بخش مزانشیال کلیه، توسط جنتامایسین می‌باشد (۱۷، ۱۸). هم‌چنین به دنبال استرس

اکسیداز و TNF-a و iNOS گردیده که باعث ایجاد اثرات حفاظت کلیوی شده است (۲۱). بنابراین احتمالاً با توجه به خواص ضد التهابی کوآنزیم Q10 موجب بهبود ساختارهای لوله‌ای و گلومرولی شده است.

بررسی اثرات کوآنزیم Q10 بر سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین در دو پروتکل درمان هم زمان و پس درمان نشان‌دهنده یک اثر حافظتی بر روی بافت کلیه، بهبود پارامترهای همودینامیک و دفاع آنتی‌اکسیدانی بود. در این مطالعه پس درمان با کوآنزیم Q10 اثر حفاظتی بیش تری را بر بافت کلیه نشان داد.

منابع

1. Patzer L. Nephrotoxicity as a cause of acute kidney injury in children. *Pediatric nephrology*. 2008;23(12):2159-73.
2. Ahmed MF, Elashheb MS, Rabha FMB. Protective Effect of L-Carnitine Against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. 2011;24(1):105-118.
3. Martinez-Salgado C, Lopez-Hernandez FJ, Lopez-Novoa JM. Glomerular nephrotoxicity of aminoglycosides. *Toxicology and applied pharmacology*. 2007; 223(1):86-98.
4. Lopez-Novoa JM, Martinez-Salgado C, Morales AI, Lopez-Hernandez F, Departamental E. MECHANISMS OF Aminoglycoside-Induced Acute Kidney InjurY2011;79(1):33-45.
5. Aly NH. Reno-Protective Efficiency of Coenzyme Q10 on Adriamycin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Journal of Applied Sciences Research*. 2012;8(1):589-97.
6. Kapoor P, Kapoor A. Coenzyme Q10-A novel molecule. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*. 2013;14(1):37-45.
7. Fouad AA, Al-Sultan AI, Refaie SM, Yacoubi MT. Coenzyme Q10 treatment ameliorates acute cisplatin nephrotoxicity in mice. *Toxicology*. 2010;274(1):49-56.
8. El-Sheikh AA, Morsy MA, Mahmoud MM, Rifaai RA, Abdelrahman AM. Effect of coenzyme-Q10 on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Advances in pharmacological sciences*. 2012;11.1-8.

اکسیداتیو ناشی از جنتامایسین استرس بافتی نیتروژن افزایش می‌یابد که منجر به افزایش بیان (iNOS) می‌گردد. بیان بیش از حد NO توسط iNOS باعث آسیب سلول‌های عروقی و کاهش توان اتساع عروقی به دلیل واکنش NO با آنیون سوپراکسید و تولید پروکسی نیتريت است که منجر به انقباض عروقی می‌گردد (۱۹، ۲۰). به این ترتیب احتمالاً جنتامایسین منجر به کاهش جریان خون کلیه (RBF) در این مطالعه شده است. نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که کوآنزیم Q10 باعث تثبیت ناقل‌های غشایی می‌گردد (۷). هم‌چنین باعث کاهش سطح تنگ‌کننده‌های عروقی هم‌چون رنین، آنژیوتانسین و آلدسترون می‌گردد (۲۱). کوآنزیم Q10 به صورت بالقوه‌ای با پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد باعث بازگشت واکنش‌های جفت نشده NOS گشته و منجر به افزایش نیتریک اکساید، اتساع عروق و بهبود گردش خون می‌گردد. علاوه بر این کوآنزیم Q10 با افزایش سوپر اکسیداز دیسموتاز با اشکال غیر فعال NO مقابله کرده و باعث بهبود عملکرد سلول‌های آندوتلیال می‌گردد (۹). احتمالاً به این ترتیب کوآنزیم Q10 منجر به افزایش جریان خون کلیوی در این مطالعه شده است.

بررسی‌های بافت‌شناسی در مطالعه حاضر نشان داد که جنتامایسین باعث نکروز سلول‌های لوله‌ای، تشکیل کست‌های لوله‌ای، کاهش گلبول‌های قرمز، واکنش‌دار شدن سلول‌های لوله‌ای و ریزش سلول‌ها به داخل لومن لوله در مقایسه با گروه کنترل شد. درمان هم‌زمان با کوآنزیم Q10 و پس درمان با آن اثرات حفاظتی بر روی بافت کلیه اعمال کردند و موجب بهبود ساختارهای لوله‌ای و گلومرولی شدند. بر اساس نتایج مطالعات گذشته کوآنزیم Q10 دارای خاصیت ضد التهابی بوده و باعث کاهش رهایش سایتوکاین‌های پیش التهابی در طی آسیب‌های التهابی شده است و به طور معنی‌داری باعث فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌شود (۲۲). هم‌چنین کوآنزیم Q10 باعث تقلیل تولید بیش از حد TNF-a و NO می‌شود و از طریق مهار فعالیت مسیرهای سیگنالینگ NF-KB که باعث پیش‌برد نسخه‌برداری از ژن NADPH

- nephrotoxicity. *International journal of experimental pathology*. 1999;80(5):265-70.
18. Shahbazi F, Dashti-Khavidaki S, Khalili H, Lessan-Pezeshki M. Potential renoprotective effects of silymarin against nephrotoxic drugs: a review of literature. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2012;15(1):112-23.
19. Farlik M, Reutterer B, Schindler C, Greten F, Vogl C, Müller M, et al. Nonconventional initiation complex assembly by STAT and NF- κ B transcription factors regulates nitric oxide synthase expression. *Immunity*. 2010;33(1):25-34.
20. Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2010; 459(6): 923-39.
21. Carrasco J, Anglada FJ, Campos JP, Muntané J, Requena MJ, Padillo J. The protective role of coenzyme Q10 in renal injury associated with extracorporeal shockwave lithotripsy: a randomised, placebo-controlled clinical trial. *BJU international*. 2014; 113(6): 942-50.
22. Feher J, Nemeth E, Nagy V, Lengyel G, Feher J. The preventive role of coenzyme Q10 and other antioxidants in injuries caused by oxidative stress. *Archives of Medical Science*. 2007; 3(4):305.
23. Patil CR, Jadhav RB, Singh PK, Mundada S, Patil PR. Protective effect of oleanolic acid on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Phytother Res*. 2010; 24(1):33-7.
24. Whitesall SE, Hoff JB, Vollmer AP, Alecy LG. Comparison of simultaneous measurement of mouse systolic arterial blood pressure by radiotelemetry and tail-cuff methods. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004; 286(6): 2408-15.
25. Hashimoto S, Huang YG, Castrop H, Hansen PB, Mizel D, Briggs J, et al. Effect of carbonic anhydrase inhibition on GFR and renal hemodynamics in adenosine-1 receptor-deficient mice. *Pflügers Arch*. 2004; 448(6): 621-28.
26. Al Ameen, N. M, Altubaigy F, Jahangir T, Mahday IA, Esmaeel Abdurrahman Mohammed EA, O. A. A. Musa. "Effect of *Nigella sativa* and bee honey on pulmonary, hepatic and renal
9. Gao L, Mao Q, Cao J, Wang Y, Zhou X, Fan L. Effects of coenzyme Q10 on vascular endothelial function in humans: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis*. 2012;221(2):311-6.
10. Tiano L, Belardinelli R, Carnevali P, Principi F, Seddaiu G, Littarru GP. Effect of coenzyme Q10 administration on endothelial function and extracellular superoxide dismutase in patients with ischaemic heart disease: a double-blind, randomized controlled study. *European heart journal*. 2007;28(18):2249-55.
11. Martinez-Salgado C, Eleno N, Morales AI, Perez-Barriocanal F, Arevalo M, Lopez-Novoa JM. Gentamicin treatment induces simultaneous mesangial proliferation and apoptosis in rats. *Kidney international*. 2004;65(6):2161-71.
12. Xiao AY, Wei L, Xia S, Rothman S, Yu SP. Ionic mechanism of ouabain-induced concurrent apoptosis and necrosis in individual cultured cortical neurons. *The Journal of neuroscience*. 2002; 22(4): 1350-62.
13. Fatima S, Al-Mohaimed N, Arjumand S, Banu N, Al-Jameil N, Al-Shaikh Y. Effect of Pre-and Post-Combined Multidoses of Epigallocatechin Gallate and Coenzyme Q10 on Cisplatin-Induced Oxidative Stress in Rat Kidney. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2015;29(2):91-7.
14. Thounaojam MC, Jadeja RN, Devkar RV, Ramachandran A. *Sida rhomboidea*. Roxb leaf extract ameliorates gentamicin induced nephrotoxicity and renal dysfunction in rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2010;132(1):365-7.
15. Ahmadvand H, Mabuchi H, Kobayahi J, Kawashiri M-a. Effects of Coenzyme Q10 on LDL Oxidation In vitro. *Acta Medica Iranica*. 2013;51(1):12-8.
16. Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney international*. 2011;79(1):33-45.
17. Valdivielso JM, Rivas-Cabañero L, Morales AI, Arévalo M, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F. Increased renal glomerular endothelin-1 release in gentamicin-induced

30. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996; 15; 239(1):70-6.
31. Al-Shabanah OA, Aleisa AM, Al-Yahya AA, Al-Rejaie SS, Bakheet SA, Fatani AG, Sayed-Ahmed MM. Increased urinary losses of carnitine and decreased intramitochondrial coenzyme A in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2010; 25(1):69-76.
32. Zhao Y, Sun Y-H, Li Z-Y, Xie C, Bao Y, Chen Z-J, et al. Solubility Measurements and Prediction of Coenzyme Q10 Solubility in Different Solvent Systems. *Journal of Solution Chemistry*. 2013;42(4):764-71.
- function in Sudanese in Khartoum state. *J Med Plant Res*. 2011; 5 (31): 6857-63.
27. Vallon V, Rose M, Gerasimova M, Satriano J, Platt KA, Koepsell H, et al. Knockout of Na-glucose transporter SGLT2 attenuates hyperglycemia and glomerular hyperfiltration but not kidney growth or injury in diabetes mellitus. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013 Jan 15; 304(2):156-67.
28. Laustsen C, Ostergaard JA, Lauritzen MH, Norregaard R, Bowen S, Sogaard LV, Assessment of early diabetic renal changes with hyperpolarized [1-(13) C]pyruvate. *Diabetes Metab Res Rev*. 2013; 29(2):125-9.
29. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979; 95(2):351-8.