

Research Paper

Protective Effects of Vitamin C Concomitant Treatment on Deferasirox-induced Renal Toxicity in Rats



Taha Fereydouni¹ , *Saeed Hajhashemi¹ , Parsa Yousefichaijan² , Ali Rahbari³ 

1. Department of Physiology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
2. Department of Children, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
3. Department of Pathology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.



Citation: Fereydouni T, Hajhashemi S, Yousefichaijan P, Rahbari A. [Protective Effects of Co-treatment With Vitamin C on the Renal Toxicity Induced by Deferasirox in Rats (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences (JAMS). 2020; 23(6):926-943. <https://doi.org/10.32598/JAMS.23.6.62.7>

 <https://doi.org/10.32598/JAMS.23.6.62.7>



Article Info:

Received: 18 Jul 2020

Accepted: 27 Sep 2020

Available Online: 01 Dec 2020

Keywords:

Renal toxicity, Vitamin C, Deferasirox, Exjade, Rat

ABSTRACT

Background and Aim Deferasirox (Exjade) is an iron-chelating drug used in patients with beta-thalassemia major. Oxidative stress is among the major causes of nephrotoxicity and its progression. Deferasirox, due to oxidative stress and increased cell apoptosis causes the dysfunction of renal tubules and renal toxicity. According to its antioxidant and anti-inflammatory properties, the present study explored the effect of vitamin C on deferasirox-induced kidney damage.

Methods & Materials This study was performed on 30 Wistar rats in 3 groups of control, deferasirox, and deferasirox plus vitamin C. To induce the nephrotoxicity, the intra-peritoneum injection of deferasirox (75 mg/kg/day) was used. After taking plasma from the blood samples of the explored rats, we determined the values of Cr, Na⁺, K⁺, Mg⁺, osmolality, and BUN in the obtained plasma and urine samples. The creatinine clearance, as well as the relative and absolute excretion of sodium and potassium, were also calculated. After separating the two kidneys, they were used for the histologic study with Hematoxylin and Eosin (H&E) staining, as well as Malondialdehyde (MDA) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) biochemical studies.

Ethical Considerations This study was approved by the Research Ethics Committee of Arak University of Medical Sciences (Code: IR.ARAKMU.REC.1396.309).

Results Cotreatment with deferasirox and vitamin C reduced renal tissue MDA and relative and absolute Na and K excretion and urine osmolality; this method also increased creatinine clearance and renal tissue FRAP.

Conclusion The co-administration of vitamin C presented a significant protective effect on the renal toxicity induced by deferasirox. The protective property of deferasirox is because of the antioxidant impacts of vitamin C in reducing oxidative stress and lipid peroxidation.

Extended Abstract

1. Introduction

A

cute renal failure is a sudden decrease in renal function due to renal toxicity [2, 3]. Deferasirox or oxide can generate acute renal

failure due to the oxidative stress and dysfunction of the renal tubules by increasing cell apoptosis.

Deferasirox is a selective iron chelator. It is used to treat chronic iron overload conditions caused by repeated blood transfusions in patients with beta-thalassemia major [5, 6].

* Corresponding Author:

Saeed Hajhashemi, PhD.

Address: Department of Physiology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Tel: 98 (861) 34173502

E-mail: hajhashemi@arakmu.ac.ir

Vitamin C, as an essential coenzyme and antioxidant, prevents cell membrane damage caused by oxidative radicals [7]. Therefore, using antioxidants, like vitamin C can be effective for the treatment or prevention of deferasirox-induced kidney damage. This study investigated the effect of the concomitant use of vitamin C on the renal toxicity of deferasirox.

2. Materials and Methods

This experimental study was performed on 30 rats of Wistar breed in 3 groups of control, deferasirox, and deferasirox plus vitamin C. Deferasirox (75 mg/kg/day) was intraperitoneally injected for 8 days to induce renal toxicity. In the concomitant treatment group, in addition to deferasirox (75 mg/kg/day), vitamin C 200 mg/kg /day was intraperitoneally injected for 8 days. On the eighth day, the explored animals were placed in a metabolic cage for 6 hours; after collecting urine samples, they were anesthetized. Then, the required blood sample was obtained from the aorta using a heparin syringe.

After plasma extraction from the rat blood samples, the concentrations of Cr, + Na, + K, + Mg, osmolality, and BUN in plasma and urine samples were determined. Accordingly, renal creatinine clearance (Cr), as well as the absolute and relative excretion of sodium and potassium were calculated. Kidney tissue was stained by Hematoxylin and Eosin (H&E) staining for histological study; antioxidant

capacity was measured by FRAP and lipid peroxidation by MDA for biochemical study [12, 13].

The percentage of damage caused by the pathologist was determined and graded as follows: The lack of damage equivalent to zero degrees; damage between 1% to 25% equivalent to grade 1; damage between 25% to 50% equivalent to grade 2; damage between 50% to 75% equivalent to grade 3, and damage between 75% to 100% equivalent to grade 4 [15].

3. Results

The present research results revealed that creatinine clearance in the group treated with vitamin C (1.63 ± 0.1 mL/min/kg) was significantly different, compared to that in the deferasirox group (0.59 ± 0.1 mL/min/kg, $P < 0.001$) (Figure 1).

The relative excretion of sodium and potassium was significantly different, compared with the deferasirox group ($P < 0.001$). The absolute excretion of sodium was significantly different in the concomitant treatment group with vitamin C (2.46 ± 0.087 mmol/min/kg), compared with the deferasirox group (0.15 ± 0.04 mmol/min/kg, $P < 0.7$). The absolute excretion of potassium was significantly higher in the deferasirox group (13.41 ± 0.098 mmol/min/kg,) compared with the vitamin C group (2.986 ± 0.163 mmol/min/kg) ($P < 0.001$).

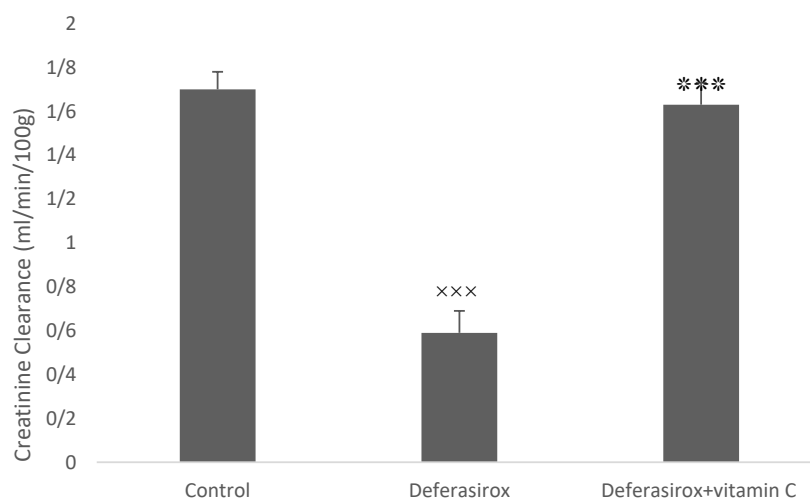


Figure 1. Comparing creatinine clearance between the research groups

xxx $P < 0.001$ compared to the control group; *** $P < 0.001$ compared to the deferasirox group, one-way Analysis of Variance (ANOVA) and Tukey's test (Mean \pm SEM). $N=10$, compared with the control group, creatinine clearance was significantly lower in the deferasirox group ($P < 0.001$). There was a significant difference between the concomitant treatment group with vitamin C and the deferasirox group ($P < 0.001$).

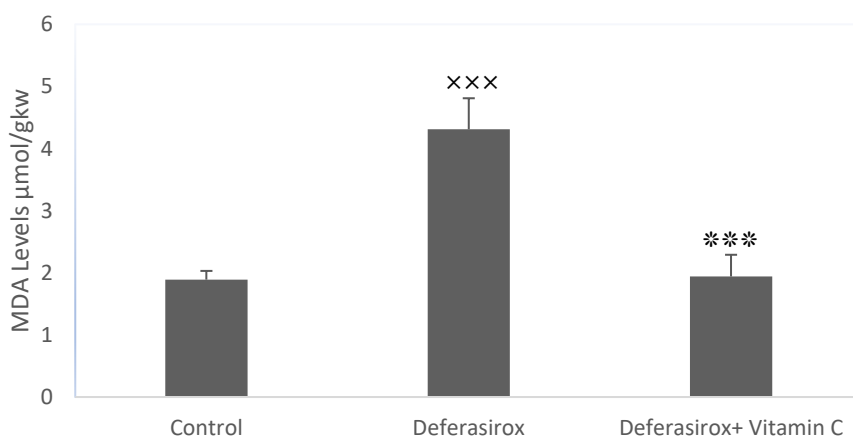


Figure 2. Comparing renal tissue MDA levels between the study groups

*** $P < 0.001$ compared with the control group; *** $P < 0.001$ compared with the deferasirox group. One-way ANOVA and Tukey's test (Mean \pm SEM) ($n=10$) were significantly higher in the deferasirox group, compared to the control group ($P < 0.001$). There was a significant difference between the vitamin C treatment groups, compared to the deferasirox group ($P < 0.001$).

The obtained data revealed that urinary creatinine concentration in the deferasirox group (32.7 ± 1.55 mg/dL) was significantly lower than that of the concomitant treatment group with vitamin C (69.8 ± 6.7 mg/dL) ($P < 0.001$). Urinary urea concentration in the concomitant treatment group with vitamin C (137 ± 3.82 mg/dL) was significantly increased, compared to the deferasirox group (72 ± 0.14 mg/dL) ($P < 0.001$). Urinary sodium concentration signified that the concomitant treatment group with vitamin C (127.4 ± 3.1 µmol/mL) had lower values than the deferasirox group (220.4 ± 4.55 µmol/mL) ($P < 0.001$). Urine osmolality in the concomitant treatment group with vitamin C (1681 ± 60.9 mOsm/kgH₂O) was significantly reduced, compared to the deferasirox group (612.5 ± 18 mOsm/kgH₂O) ($P < 0.001$).

The level of tissue MDA in the concomitant treatment group with vitamin C (1.94 ± 0.355 µmol/gkw) was significantly reduced, compared to the deferasirox group (4.31 ± 0.5 µmol/gkw, $P < 0.001$) (Figure 2).

Renal tissue FRAP level was significantly increased in the concomitant treatment with vitamin C (1.07 ± 0.25 µmol/gkw,) compared with the deferasirox group (0.0175 ± 0.61 µmol/gkw, $P < 0.0$) (Figure 3).

In the concomitant treatment group with vitamin C, the amount of tubular cell necrosis, the formation of protein molds in the lumen of the tubule, the vacuolation of tubular cells, and the increase in the space of the Bowman capsule

were significantly different, compared to the deferasirox group ($P < 0.001$).

4. Discussion

The current study results indicated that vitamin C decreased renal toxicity due to deferasirox by reducing plasma urea and creatinine, the relative and absolute excretion of sodium and potassium and MDA, as well as increasing creatinine clearance and FRAP. The concomitant use of vitamin C plus deferasirox protects kidneys by reducing oxidative stress. Previous studies reported that vitamin C reduces oxidative stress during gentamicin nephrotoxicity [2].

An effective factor in causing deferasirox-induced kidney damage is oxidative stress, which increased MDA and decreased FRAP.

As in previous studies, mice treated with vitamin C had lower levels of MDA than the deferasirox group. Furthermore, the extent of FRAP in the tissue of all explored rats treated with vitamin C was much higher than that in the deferasirox group [9].

In the vitamin C concomitant treatment group, compared with the deferasirox group, a lower rate of relative excretion of sodium and potassium ions was observed; thus, such data indicated the prevention of kidney damage. The effect of vitamin C on the renal toxicity of deferasirox with decreasing creatinine and blood urea, and tissue MDA with decreasing

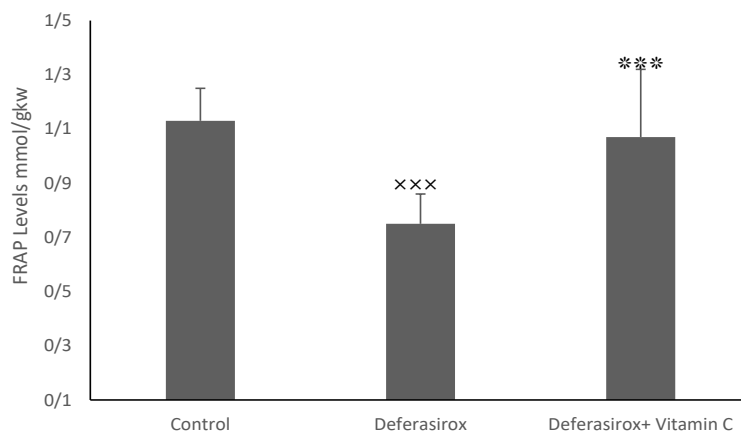


Figure 3. Comparing renal tissue FRAP levels between the research groups


 Journal of
Arak University of Medical Sciences

***P<0.001 compared with the control group; ***P<0.001 compared with the deferasirox group. One-way ANOVA and Tukey's test (Mean±SEM) (n=10). Compared with the controls, the amount of FRAP was significantly lower in the deferasirox group (P<0.001). There was no significant difference between the vitamin C treatment groups and the deferasirox group (P<0.001).

oxidative stress is similar to the effect of vitamin C on the renal toxicity of gentamicin [9]. Vitamin C reduces the renal toxicity induced by deferasirox administration by decreasing oxygen species. In this study, in line with the previous studies, administering vitamin C significantly maintained creatinine clearance and significantly increased plasma creatinine concentration, compared to the deferasirox group [9, 17, 25].

Oxidative stress is a major factor in the development of the renal toxicity of deferasirox with the destruction of epithelial cells; increased necrosis and fibrosis of renal tissue; as well as tubular and glomerular atrophy on renal function [4, 22]. The kidney toxicity of deferasirox is believed to be due to the production of oxygen free radicals; the increased production of cytokines; as well as the induction of apoptosis and necrosis [23]. Apoptosis plays a crucial role in cell death and may be involved in the removal of damaged cells [16].

5. Conclusion

The concomitant administration of vitamin C in treatment with deferasirox presented a significant efficacy in maintaining renal function. The protective effect of vitamin C is due to its antioxidant properties and the trapping of free radicals. It prevented hemodynamic changes in the kidneys, impaired salt excretion, and tissue changes caused by deferasirox.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Research Ethics Committee of Arak University of Medical Sciences (code: IR.ARAKMU.REC.1396.309). All ethical codes approved by the Ministry of Health and Medical Education and Arak University of Medical Sciences were observed regarding maintenance and testing in this investigation.

Funding

This article was extracted from the PhD. dissertation of first author at the Department of Physiology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak.

Authors' contributions

Methodology, validation, data analysis, and writing: Dr. Saeed Haji Hashemi; Conducting research experiments, resources, and drafts: Dr. Taha Fereydouni and Dr. Ali Rahbari; Conceptualization: Dr. Parsa Yousefi Chaijan.

Conflicts of interest

The authors declared no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Vice-Chancellor for Research and Technology of Arak University of Medical Sciences for their support.

This Page Intentionally Left Blank

مقاله پژوهشی:

اثرات حفاظتی درمان همزمان با ویتامین C روی سمیت کلیوی ناشی از مصرف دفراسیروکس در رت

طه فریدونی^۱، *سعید حاجی هاشمی^۱، پارسا یوسفی چایجان^۲، علی رهبری^۳

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۲. گروه اطفال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۳. گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: دفراسیروکس (اکسجید) یک داروی شلات کننده آهن است که در بیماران بتا تالاسمی ماژور استفاده می شود. مصرف دفراسیروکس به دلیل ایجاد استرس اکسیداتیو و افزایش میزان آپوپتوز سلول ها سبب ایجاد اختلال عملکرد در توپول های کلیوی و ایجاد سمیت کلیوی می شود. در این مطالعه با توجه به خصوصیات آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی اثر ویتامین C روی آسیب کلیوی ایجاد شده توسط دفراسیروکس بررسی شد.

مواد و روش ها: این مطالعه روی سی رت از نژاد ویستار در سه گروه کنترل، دفراسیروکس و دفراسیروکس همراه با ویتامین C صورت گرفت. جهت ایجاد سمیت کلیوی از دفراسیروکس (75 mg/kg/day) به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده شده است. میزان غلظت یون های سدیم، پتاسیم و منیزیم در نمونه های پلاسما و ادرار با دستگاه فلیم فتومتر اندازه گیری شد. در ادامه اسمولالیتیه و (BUN) پلاسما و ادرار محاسبه و سپس میزان کلیرانس کلیوی کراتینین (Cr)، دفع مطلق و نسبی سدیم و پتاسیم اندازه گیری شد. بعد از خارج کردن کلیه ها جهت مطالعه بافتی و رنگ آمیزی H&E و جهت مطالعه بیوشیمیایی FRAP و MDA مورد استفاده قرار گرفتند.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد اخلاق IR.ARAKMU.REC.1396.309 در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اراک به ثبت رسیده است.

یافته ها: مصرف همزمان ویتامین C همراه با دفراسیروکس باعث کاهش معناداری در میزان مالون دی آلدئید بافت کلیوی ($P < 0/001$)، دفع نسبی و مطلق سدیم ($P < 0/001$)، پتاسیم ($P < 0/001$) و اسمولالیتیه ادرار ($P < 0/001$) شد که در اثر تجویز دفراسیروکس افزایش یافته بودند، همچنین باعث افزایش کلیرانس کراتینین و میزان توان آنتی اکسیدانی احیای آهن بافت کلیوی ($P < 0/001$) شد که در اثر تجویز دفراسیروکس کاهش یافته بودند.

نتیجه گیری: تجویز همزمان ویتامین C اثر محافظتی قابل ملاحظه ای روی سمیت کلیوی حاصل از دفراسیروکس دارد. خاصیت آنتی اکسیدانی ویتامین C با کاهش دادن استرس اکسیداتیو و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی می تواند مؤثر باشد.

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۲۸ تیر ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۰۶ مهر ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۱ آذر ۱۳۹۹

کلیدواژه ها:

سمیت کلیوی، ویتامین C، دفراسیروکس، اکسجید، رت

مقدمه

در این نوع سمیت کلیوی اسمولالیتیه ادرار افزایش و حجم آن کاهش پیدا می کند. داروها و توکسین های مختلف از طریق ایجاد التهاب تولید گونه های فعال اکسیژن^۱ و اختلال سلولی می توانند اثرات مخرب مستقیمی روی سلول های بافت عروقی، لوله ای، گلومرولی و بافت بینابینی کلیه ها داشته باشند [۳].

یکی از انواع داروهایی که به طریق برون زاد می تواند نارسایی

نارسایی حاد کلیه یک کاهش ناگهانی در عملکرد کلیه ناشی از سمیت کلیه ها است. آسیب حاد کلیه^۱ با علائم افزایش کراتینین پلاسما، تغییر در برون ده ادراری، ازوتمی^۲ و اختلال در تعادل اسید و باز همراه است [۱، ۲].

1. Acute Kidney Injury

2. Azotemia

3. Reactive Oxygen Species (ROS)

* نویسنده مسئول:

دکتر سعید حاجی هاشمی

نشانی: اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی.

تلفن: ۳۴۱۷۳۵۰۲ (۸۶۱) ۹۸+

پست الکترونیکی: Hajjhashemi@arakmu.ac.ir



این مطالعه تجربی روی ۳۲ سر موش صحرایی سفید نر بالغ از نژاد ویستار با وزن بین ۲۵۰-۲۰۰ گرم صورت گرفت. موش‌ها در شرایط کنترل شده ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و در درجه حرارت محیط حدود 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد با دسترسی آزاد به مقادیر دلخواه آب و غذا نگهداری شدند. تمام کدهای اخلاقی تأیید شده توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و دانشگاه علوم پزشکی اراک در مورد نگهداری و نحوه انجام آزمایشات رعایت شد.

گروه‌های مورد مطالعه

گروه کنترل: موش‌های این گروه هیچ‌گونه دارو دریافت نکردند و فقط نرمال سالین، به مدت هشت روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد ($n=10$).

گروه با سمیت کلیوی دفراسیروکس: به موش‌های این گروه دفراسیروکس (به میزان روزانه ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و نرمال سالین به طور هم‌زمان، به مدت هشت روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد ($n=10$) [۱۰].

۳- گروه دفراسیروکس و درمان هم‌زمان با ویتامین C: موش‌های این گروه داروی دفراسیروکس (به میزان ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم روزانه) درمان هم‌زمان با ویتامین C (به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم روزانه)، به مدت هشت روز به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند ($n=10$) [۱۱].

در روز هشتم حیوانات به مدت شش ساعت در قفس متابولیک قرار گرفتند و پس از جمع‌آوری نمونه ادرار، بیهوش شده، سپس با استفاده از سرنگ هپارینه خون‌گیری از آئورت انجام شد.

برای استحصال پلاسما، خون گرفته شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت 3000 rpm سانتریفیوژ شد. به منظور مشخص کردن شدت آسیب کلیوی مقادیر کراتینین و نیترژن اوره خون (BUN)، غلظت سدیم (Na^+) و پتاسیم (K^+) همچنین اسمولالیت در نمونه‌های پلاسما و ادرار اندازه‌گیری شد. با استفاده از مقادیر اندازه‌گیری شده در آزمایشگاه میزان کلیرانس کراتینین (C_{Cr}) و همچنین مقادیر دفع مطلق سدیم ($U_{Na} V^0$) و پتاسیم ($U_K V^0$)، دفع نسبی سدیم (FE_{Na}) و پتاسیم (FE_K) با استفاده از فرمول‌های [۱۲].

۱.

$$V^0 (\mu\text{l}/\text{min.gkw}) = (1000 \times \text{UFR}) / (\text{KW} \times 720)$$

۲.

$$C_{Cr} (\text{ml}/\text{min.gkw}) = (V^0 / 1000 \times U_{Cr}) / P_{Cr}$$

۳.

$$U_{Na} V^0 (\mu\text{mol}/\text{min.gkw}) = (V^0 \times U_{Na}) / 1000$$

حاد کلیوی ایجاد کند، دفراسیروکس^۴ (اکسجید)^۵ است. دفراسیروکس یک شلات‌کننده انتخابی آهن است و تمایل زیادی برای اتصال به آهن سه ظرفیتی دارد.

از این دارو برای درمان وضعیت‌های بیش بار مزمن آهن ناشی از تزریق مکرر خون در بیماران مبتلا به انواع کم‌خونی، از جمله بیماران بالای شش سال مبتلا به بتا تالاسمی ماژور (بیمارانی که در ماه بیشتر از ۷ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم خون دریافت می‌کنند) استفاده می‌شود. عوارض گوناگونی، از جمله عوارض پوستی، مغزی، مخاطی، گوارشی و ادراری تناسلی برای دفراسیروکس شناخته شده است [۴].

مصرف دفراسیروکس به دلیل ایجاد استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد در توپول‌های کلیوی از طریق افزایش سرعت و میزان آپوپتوز سلول‌ها، به‌خصوص لوله نزدیک، باعث نارسایی حاد کلیوی می‌شود. دفراسیروکس پس از ایجاد سمیت کلیوی می‌تواند منجر به نیاز به دیالیز و حتی مرگ شود [۴، ۵].

ویتامین C ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) با نام علمی آسکوربیک اسید یک آنتی‌اکسیدان قابل حل در آب است که برای بدن ضروری است و به طور ویژه در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود. ویتامین C به عنوان یک کوآنزیم ضروری در مسیرهای فشار اکسیداتیو نقش ایفا می‌کند و یک آنتی‌اکسیدان مهم و جمع‌آوری‌کننده عوامل اکسیدانی است و از آسیب غشای سلولی ناشی از رادیکال‌های اکسیداتیو در محیط‌های آبی جلوگیری می‌کند [۶].

ویتامین C ترکیبات دارای نیترژن و اکسیژن فعال را به مولکول‌های پایدارتر تبدیل می‌کند. در نتیجه ویتامین C به عنوان یک عامل درمانگر در درمان اختلالاتی که مرتبط با افزایش رادیکال‌های آزاد است، شناخته می‌شود [۷، ۸]. ویتامین C ساخته شدن نیتریک اکساید را در سلول‌های اندوتلیال عروق افزایش می‌دهد. اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن که منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود، می‌تواند با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و برخی آنتی‌اکسیدان‌ها مثل ویتامین C کاهش یابد [۶، ۹].

مطالعات قبلی نشان داده است که استرس اکسیداتیو جزء مهم‌ترین علل ایجاد یا پیشرفت سمیت کلیوی دفراسیروکس است؛ بنابراین به نظر می‌رسد که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین C می‌تواند برای درمان یا پیشگیری از آسیب‌های کلیوی حاصل از دفراسیروکس مؤثر باشد. در این مطالعه اثر مصرف هم‌زمان ویتامین C بر سمیت کلیوی دفراسیروکس بررسی شد.

مواد و روش‌ها

4. Deferasirox

5. Exjade

با اسپکتروفتومتر (SpectroLab 7500 UV) ساخت انگلیس اندازه‌گیری شد [۱۴].

بررسی هیستوپاتولوژیک کلیه‌ها

ابتدا نمونه بافتی در یک محلول فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. پس از طی کردن مراحل آب‌گیری و آغستگی با پارافین، قالب‌گیری پارافینی از بافت کلیه تهیه شد. آب‌گیری با قرار دادن پی‌درپی در محلول‌های اتانول ۵۰، ۷۰، ۹۶ و ۱۰۰ درصد انجام شد. سپس پاک‌سازی با قرار دادن در محلول زایلن انجام شد.

قطعات در قالب قرار گرفته و قالب با پارافین ذوب‌شده پر شد. از این قالب‌ها برش‌های ۵ میکرومتری توسط میکروتوم تهیه و روی لام شیشه‌ای قرار گرفته و نمونه‌ها با کمک دو رنگ بازی همتوکسیلین و اسیدی اتوزین رنگ‌آمیزی شد. در بررسی هیستوپاتولوژیک روی برش‌ها نواحی کورتکس، مدولای داخلی و مدولای خارجی به طور جداگانه مطالعه شد [۱۵].

در بخش گلوامرولی تغییرات فضای کپسول بومن، تعداد گلبول‌های قرمز گلوامرولی و درصد آسیب گلوامرولی بررسی شد. در بخش توبولی نیز ریزش سلول‌های اپی‌تلیالی به داخل لومن، ایجاد قالب‌های پروتئینی در داخل توبول، واکوئل‌دار شدن سلول‌های توبولی، نکروزه شدن سلول‌های توبولی و درصد کل آسیب توبولی بررسی شد.

میزان درصد آسیب ایجادشده توسط متخصص پاتولوژی مشخص و به صورت زیر درجه‌بندی شد. فقدان آسیب معادل آسیب درجه صفر، آسیب بین ۱ تا ۲۵ درصد معادل آسیب درجه ۱، آسیب بین ۲۵ تا ۵۰ درصد معادل آسیب درجه ۲، آسیب بین ۵۰ تا ۷۵ درصد معادل آسیب درجه ۳ و آسیب بین ۷۵ تا ۱۰۰ درصد معادل آسیب درجه ۴ درجه‌بندی شد [۱۶].

یافته‌ها

اثر ویتامین C بر کلیرانس کراتینین (C_{cr})، دفع مطلق و نسبی سدیم (%U_{Na}V₃FE_{Na}) و دفع مطلق و نسبی پتاسیم (%U_KV₃FE_K)

نتایج نشان داد در مقایسه با گروه کنترل (۰/۸±۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه به ازای هر کیلوگرم)، کلیرانس کراتینین به طور معناداری در گروه اکسجید (۰/۱±۰/۵۹، P<۰/۰۰۱) میلی‌لیتر در دقیقه به ازای هر کیلوگرم). بین گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C با گروه کنترل تفاوت معناداری وجود نداشت (به ترتیب ۰/۱±۰/۶۳ و ۰/۰۶±۰/۶۸ میلی‌لیتر در دقیقه به ازای هر کیلوگرم) (تصویر شماره ۱).

نتایج نشان داد دفع نسبی سدیم به طور معناداری در گروه اکسجید (۰/۸±۰/۲۷) نسبت به گروه کنترل (۰/۷±۰/۶۱)،

۴.

$$UKV(\mu\text{mol}/\text{min.gkw}) = (V\% U_K) / 1000$$

۵.

$$FE_{Na} = (UNa \times P_{Cr}) / (PNa \times U_{Cr}) \times 100$$

۶.

$$FE_K = (Uk \times P_{Cr}) / (Pk \times U_{Cr}) \times 100$$

بعد از خارج کردن هر دو کلیه و توزین آن‌ها، کلیه چپ جهت مطالعه بافتی در فرمالین ۱۰ درصد و جهت مطالعه بیوشیمیایی و اندازه‌گیری میزان توان آنتی‌اکسیدانی احیای آهن^۲ و میزان مالون دی‌آلدئید^۲ و کلیه راست در نیتروژن مایع به سرعت فریز و سپس در منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

روش اندازه‌گیری میزان FRAP بافت کلیه

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از روش بنزی اندازه‌گیری شد. بافت کلیه در محلول بافر فسفات‌ی هموزنیته شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از بافت هموزنیته‌شده کلیه به ۱/۵ میلی‌لیتر از معرف FRAP اضافه شد.

Fe³⁺ در حضور مواد آنتی‌اکسیدان احیاشده و با TPTZ کمپلکس آبی رنگ Fe²⁺-TPTZ تولید شد. غلظت ماده آنتی‌اکسیدان با میزان رنگ آبی تولیدشده متناسب است. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (SpectroLab 7500 UV) ساخت انگلیس مقدار جذب نوری در طول موج ۵۹۳ نانومتر در برابر شاهد آن اندازه‌گیری شد [۱۲].

روش اندازه‌گیری میزان MDA در نمونه‌های بافت کلیوی

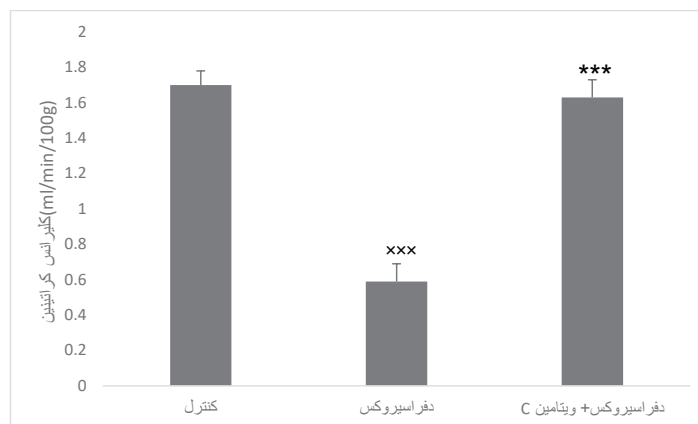
مقدار ۱۵۰۰ میکرولیتر از محلول اسید استیک ۲۰ درصد، ۱۵۰۰ میکرولیتر از محلول تیو باربیتوریک (TBA) ۰/۸ درصد و ۲۰۰ میکرولیتر از محلول SDS ۱/۱ درصد به ۲۰۰ میکرولیتر از بافت هموزنیته‌شده کلیه اضافه شد. سپس با اضافه کردن آب مقطر، حجم آن به ۴ میلی‌لیتر رسانده شد. لوله‌های آزمایش محتوی سوسپانسیون به مدت ۶۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آبی^۸ ساخت آمریکا حرارت داده شدند.

سپس لوله‌ها از حمام آبی خارج و به مدت ۱۰ دقیقه در آب یخ قرار گرفتند. پس از سرد شدن لوله‌ها، به هریک از آن‌ها ۴ میلی‌لیتر آن - بوتانل اضافه و لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور rpm ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شده و فاز رویی صورتی رنگ به آرامی با سمپلر برداشته شد و جذب نوری در طول موج ۳۲۵ نانومتر

6. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

7. Malondialdehyde (MDA)

8. DUBNOFF



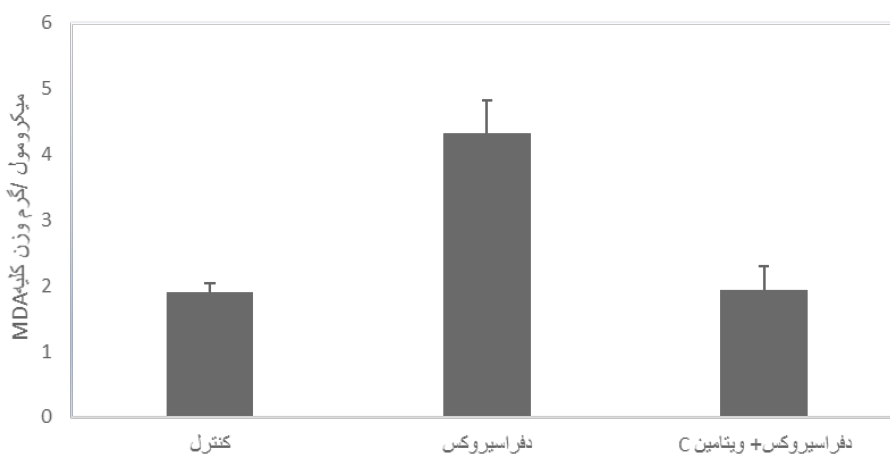
تصویر ۱. مقایسه میزان کراتینین بین گروه‌ها: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل، $P < 0.001$ در مقایسه با گروه دفراسیروکس، آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تست Tukey (Mean±SEM). $n=10$ ، در مقایسه با گروه کنترل، کراتینین به طور معناداری در گروه دفراسیروکس کمتر بود ($P < 0.001$). بین گروه درمان با ویتامین C در مقایسه با گروه دفراسیروکس تفاوت معناداری وجود داشت ($P < 0.001$).

نتایج نشان داد دفع مطلق سدیم در گروه دفراسیروکس ($P < 0.001$) $7/15 \pm 0/04$ میلی‌مول در دقیقه به ازای هر کیلوگرم) در مقایسه با گروه کنترل ($1/688 \pm 0/117$ میلی‌مول در دقیقه به ازای هر کیلوگرم) و گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C تفاوت معنادار داشت ($P < 0.001$) گروه‌های درمان هم‌زمان با ویتامین C $2/46 \pm 0/087$ میلی‌مول در دقیقه به ازای هر کیلوگرم) با گروه کنترل تفاوت معنادار داشت.

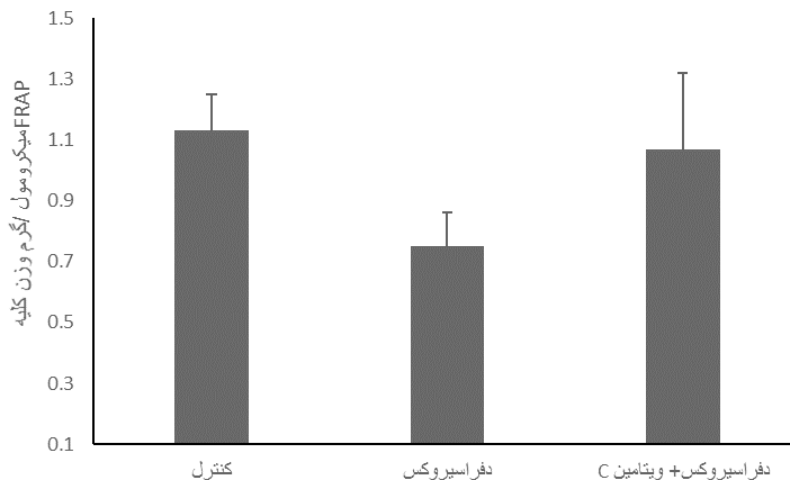
نتایج نشان داد دفع مطلق پتاسیم در گروه دفراسیروکس ($P < 0.001$) $13/41 \pm 0/098$ میلی‌مول در دقیقه به ازای هر کیلوگرم) در مقایسه با گروه کنترل ($3/048 \pm 0/112$ میلی‌مول در دقیقه به ازای هر کیلوگرم)، به طور معناداری بیشتر بود. بین

درمان هم‌زمان با ویتامین C $0/672 \pm 0/12$ و درمان هم‌زمان با ویتامین C $0/672 \pm 0/12$ و $0/708 \pm 0/07$ (به ترتیب $P < 0.001$) بیشتر بود. بین گروه‌های درمان هم‌زمان با ویتامین C در مقایسه هر کدام با گروه کنترل تفاوت معناداری وجود نداشت (به ترتیب $0/672 \pm 0/12$ و $0/708 \pm 0/07$).

نتایج نشان داد در گروه دفراسیروکس دفع نسبی پتاسیم $1258/58 \pm 58/11$ به طور معناداری در مقایسه با گروه کنترل ($18/15 \pm 1/3$) و درمان هم‌زمان با ویتامین C $18/29 \pm 0/93$ بیشتر بود. بین گروه‌های درمان هم‌زمان با ویتامین C در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری وجود نداشت (به ترتیب $18/29 \pm 0/93$ و $18/52 \pm 0/37$).



تصویر ۲. مقایسه میزان MDA بافت کلیوی بین گروه‌ها: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل $***P < 0.001$ در مقایسه با گروه دفراسیروکس. آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تست Tukey (Mean±SEM). ($n=10$) در مقایسه با گروه کنترل، میزان MDA بافتی به طور معناداری در گروه دفراسیروکس بیشتر بود ($P < 0.001$). بین گروه‌های درمان با ویتامین C در مقایسه با گروه دفراسیروکس تفاوت معناداری وجود داشت ($P < 0.001$).



تصویر ۳. مقایسه میزان FRAP بافت کلیوی بین گروه‌ها: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل $P < 0.001$ در مقایسه با گروه دفراسیروکس. آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تست Tukey (Mean±SEM), ($n=10$). در مقایسه با گروه کنترل، میزان FRAP به طور معناداری در گروه دفراسیروکس کمتر بود ($P < 0.001$). بین گروه‌های درمان با ویتامین C در مقایسه با گروه دفراسیروکس تفاوت معناداری وجود نداشت ($P < 0.001$).

معناداری نداشت.

نتایج نشان داد غلظت ادراری پتاسیم در گروه کنترل $134/27 \pm 0/45$ میکرومول در میلی‌لیتر) در مقایسه با سایر گروه‌ها با یکدیگر تفاوت معنادار نداشت (جدول شماره ۱) و غلظت ادراری منیزیم در گروه دفراسیروکس $516/7 \pm 113/5$ میکرومول در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل $348 \pm 42/1$ میکرومول در میلی‌لیتر) و گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C $374/5 \pm 80/5$ میکرومول در میلی‌لیتر) تفاوت معناداری داشت ($P < 0.001$). غلظت ادراری منیزیم در گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معناداری نداشت (جدول شماره ۱).

نتایج نشان داد که اسمولالیته ادرار در گروه دفراسیروکس $612/5 \pm 18$ میلی‌اسمول در یک کیلوگرم آب) در مقایسه با گروه کنترل $1735 \pm 71/66$ میلی‌اسمول در یک کیلوگرم آب) و گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C $1681 \pm 60/9$ کاهش معناداری داشت ($P < 0.001$). اسمولالیته ادرار در گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معناداری نداشت (جدول شماره ۲).

اثر ویتامین C بر سطوح پلاسمایی کراتینین $[Cr]_p$ ، اوره $[BUN]_p$ ، سدیم $[Na]_p$ ، پتاسیم $[K]_p$ ، منیزیم $[Mg]_p$ ، اسمولالیته $[osmol]_p$

نتایج نشان داد که غلظت پلاسمایی کراتینین در گروه دفراسیروکس $872 \pm 0/06$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) از گروه کنترل $0/46 \pm 0/03$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و درمان هم‌زمان با ویتامین C $0/52 \pm 0/11$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) به صورت

گروه‌های درمان هم‌زمان با ویتامین C $2/986 \pm 0/163$ میلی‌مول در دقیقه به ازای هر کیلوگرم) در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری وجود نداشت.

اثرات ویتامین C بر سطوح ادراری کراتینین $[Cr]_u$ ، اوره $[BUN]_u$ ، سدیم $[Na]_u$ ، پتاسیم $[K]_u$ ، منیزیم $[Mg]_u$ ، اسمولالیته $[osmol]_u$

نتایج نشان داد غلظت ادراری کراتینین در گروه دفراسیروکس $327/7 \pm 1/55$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) از گروه کنترل $68/33 \pm 0/3$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C $69/8 \pm 6/7$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) به صورت معناداری بیشتر بود ($P < 0.001$). گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C $69/8 \pm 6/7$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت.

در مورد غلظت ادراری اوره نتایج نشان داد در گروه کنترل $140 \pm 0/6$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C در مقایسه با گروه دفراسیروکس $72 \pm 0/14$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) افزایش معناداری داشتند ($P < 0.001$). مقادیر گروه‌های درمان با ویتامین C $137 \pm 3/82$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل $140 \pm 0/6$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) تفاوت معناداری نداشت (جدول شماره ۱).

نتایج حاصله در مورد غلظت ادراری سدیم نشان داد که گروه دفراسیروکس $220/4 \pm 4/55$ میکرومول در میلی‌لیتر) مقادیر بیشتری در مقایسه با گروه کنترل $125/44 \pm 0/8$ میکرومول در میلی‌لیتر) و گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C $127/4 \pm 3/1$ میکرومول در میلی‌لیتر) دارد ($P < 0.001$). غلظت ادراری سدیم گروه‌های درمان هم‌زمان با ویتامین C با گروه کنترل تفاوت

جدول ۱. اثرات ویتامین C بر کلیترانس کراتینین، غلظت پلاسمایی و ادراری کراتینین، اوره، سدیم، پتاسیم و منیزیم

پارامترهای اندازه گیری شده	گروه کنترل	گروه دفراسیروکس	گروه دفراسیروکس همراه با ویتامین C
C _{cr} کلیترانس کراتینین (ml/min/100g)	۱/۷±۰/۰۸	۰/۵۹±۰/۱	۱/۳۶±۰/۱
غلظت پلاسمایی اوره Plasma urea (mg/dl)	۲۶/۶±۰/۰۷۶	۹۳/۳±۲/۵	۳۲/۵±۱/۹
غلظت ادراری اوره Urinary urea (mg/dl)	۱۴۰±۰/۶	۷۲±۰/۱۴	۱۳۷±۲/۸۲
غلظت پلاسمایی کراتینین Plasma Creatinine (mg/dl)	۰/۴۶±۰/۰۳	۸/۲±۰/۰۶	۰/۵۲±۰/۱۱
غلظت ادراری کراتینین Urinary creatinine (mg/dl)	۶۸/۳۳±۰/۳	۳۲/۷±۱/۵۵	۶۹/۸±۶/۷
غلظت پلاسمایی سدیم Plasma / Na (μmol/ml)	۱۳۸/۳۳±۵/۶	۲۰۰/۲±۰/۱۶	۱۴۱/۱۳±۱/۵
غلظت ادراری سدیم Urinary / Na (μmol/ml)	۱۲۵/۴۴±۰/۸	۲۲۰/۴۳±۵/۵۵	۱۲۷/۴±۳/۱
غلظت پلاسمایی پتاسیم Plasma / K (μmol/ml)	۴/۹۸±۰/۱۸	۵/۹۵±۰/۶۶	۵/۳±۰/۷
غلظت ادراری پتاسیم Urinary /K (μmol/ml)	۱۳۴/۲۷±۰/۴۵	۲۹۸/۶۳±۴/۱۳	۱۳۰/۱۲±۲/۶
غلظت پلاسمایی منیزیم Mg ⁺ / Plasma (μmol/mL)	۲/۳۴±۰/۲۱	۵/۵۶±۰/۴۱	۲/۴۷±۰/۱۱
Mg urinary (μmol/mL)	۳۴۸±۴۲/۱	۵۱۶/۷±۱۱۳/۵	۳۷۴/۵±۸۰/۵



$P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل

$P < 0.001$ در مقایسه با گروه دفراسیروکس

نداشت (جدول شماره ۱).

نتایج نشان داد که دفراسیروکس، غلظت پلاسمایی پتاسیم (۵/۹۵±۰/۶۶ میکرومول در میلی لیتر) را در مقایسه با گروه کنترل (۴/۹۸±۰/۱۸ میکرومول در میلی لیتر) به صورت معناداری افزایش داد. درمان همزمان با ویتامین C (۵/۳±۰/۷ میکرومول در میلی لیتر) سبب کاهش معنادار در غلظت پلاسمایی پتاسیم در مقایسه با گروه دفراسیروکس شد ($P > 0.05$). غلظت پلاسمایی پتاسیم در گروه درمان همزمان با ویتامین C در مقایسه با گروه کنترل تفاوتی نداشت (جدول شماره ۱).

بررسی نتایج نشان داد که در غلظت منیزیم پلاسمای گروه دفراسیروکس (۵/۵۶±۰/۴۱ میکرومول در لیتر) در مقایسه با گروه کنترل (۲/۳۴±۰/۲۱ میکرومول در لیتر) افزایش معناداری مشاهده شد. درمان همزمان با ویتامین C (۲/۴۷±۰/۱۱ میکرومول در لیتر) در مقایسه با گروه دفراسیروکس به صورت معناداری غلظت منیزیم پلاسمای را کاهش داد، ولی تفاوت معناداری با گروه کنترل نداشت.

نتایج نشان داد که اسمولالیته پلاسمای در گروه دفراسیروکس (۳۲۴/۳±۱/۴ میلی اسمول در یک کیلوگرم آب) در مقایسه با گروه کنترل (۲۹۱/۲±۲/۶ میلی اسمول در یک کیلوگرم آب) و

معناداری بیشتر بود ($P < 0.001$). غلظت پلاسمایی کراتینین در گروه درمان همزمان با ویتامین C (۰/۵۲±۰/۱۱ میلی گرم در دسی لیتر) در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (جدول شماره ۱).

نتایج نشان داد که غلظت پلاسمایی اوره در گروه دفراسیروکس (۹۳/۳±۲/۵ میلی گرم در دسی لیتر) در مقایسه با گروه کنترل (۲۶/۶±۰/۰۷۶ میلی گرم در دسی لیتر) و گروه درمان همزمان با ویتامین C (۳۲/۵±۱/۹ میلی گرم در دسی لیتر) تفاوت معناداری داشت ($P < 0.001$). مقادیر غلظت پلاسمایی اوره در گروه درمان همزمان با ویتامین C در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (جدول شماره ۱).

نتایج نشان داد که غلظت پلاسمایی سدیم در گروه دفراسیروکس (۲۰۰/۲±۰/۱۶ میکرومول در میلی لیتر) در مقایسه با گروه کنترل (۱۳۸/۳۳±۵/۶ میکرومول در میلی لیتر) و در گروه درمان همزمان با ویتامین C (۱۴۱/۱۳±۱/۵ میکرومول در میلی لیتر) به صورت معناداری افزایش داشت ($P < 0.001$). مقایسه غلظت پلاسمایی سدیم بین گروه های درمان همزمان با ویتامین C (۱۴۱/۱۳±۱/۵ میکرومول در میلی لیتر) با گروه کنترل (۱۳۸/۳۳±۵/۶ میکرومول در میلی لیتر) تفاوت معناداری

جدول ۲. اثرات ویتامین C بر اسمولالیتة ادرار، پلازما، دفع نسبی و مطلق سدیم، پتاسیم، میزان MDA و FRAP

پارامترها	گروه کنترل	گروه دفراسیروکس	گروه دفراسیروکس همراه با ویتامین C
اسمولالیتة پلازما Plasma Osmolality (mOsm/kgH ₂ O)	۲۹۱/۲±۲/۶	۳۲۴/۳±۱/۴	۲۹۴/۱±۸/۱
اسمولالیتة ادرار Urinary osmolality (mOsm/kgH ₂ O)	۱۷۳۵±۷۱/۶۶	۶۱۲/۵±۱۸	۱۶۸۱±۶۰/۹
FE Na%	۰/۶۱±۰/۰۷	۳۷/۶±۰/۸	۰/۶۷۳±۰/۱۲
UNaVo (mmol/min/kg)	۱/۶۸۸	۷/۱۵±۰/۰۴	۲/۴۶±۰/۰۸۷
FE K%	۱۸/۱۵±۱/۳	۱۲۵۸/۵۸۵±۵۸/۱۱	۱۸/۲۹±۰/۹۳
UKVo (mmol/min/kg)	۳/۰۴۸±۰/۱۲	۱۳/۴۱±۰/۰۹۸	۲/۹۸۶±۰/۱۶۳
MDA (μmol/gkw)	۱/۸۹±۰/۱۴	۴/۳۱±۰/۵	۱/۹۴±۰/۳۵۵
FRAP (μmol/gkw)	۱/۱۳±۰/۱۲	۰/۷۵±۰/۶۱	۱/۰۷±۰/۲۵



***P<۰,۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل

***P<۰,۰۰۱ در مقایسه با گروه دفراسیروکس

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان FRAP بافت کلیه در گروه دفراسیروکس (۰/۷۵±۰/۶۱ میکرومول در هر گرم وزن کلیه) در مقایسه با گروه کنترل (۱/۱۳±۰/۱۲ میکرومول در هر گرم وزن کلیه) کاهش معناداری داشت (P<۰/۰۰۱)، ولی درمان همزمان با ویتامین C (۱/۰۷±۰/۲۵ میکرومول در هر گرم وزن کلیه) میزان FRAP را به صورت معناداری افزایش داد (P<۰/۰۰۱). میزان FRAP بافت کلیه در گروه درمان همزمان با ویتامین C تفاوت معناداری با گروه کنترل نداشت (جدول شماره ۲ و تصویر شماره ۳).

اثرات ویتامین C بر تغییرات هیستوپاتولوژیک

اثرات دفراسیروکس و نیز اثرات ویتامین C بر تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کلیوی در تصویر شماره ۴ نشان داده شده است. در گروه دفراسیروکس، نکروز سلول‌های توبولی، تشکیل

گروه درمان همزمان با ویتامین C (۲۹۴/۱±۱/۸ میلی‌اسمول در یک کیلوگرم آب) تفاوت معناداری داشت. اسمولالیتة پلازما در گروه کنترل در مقایسه با گروه درمان همزمان با ویتامین C از لحاظ آماری تفاوت معناداری نداشت (جدول شماره ۲).

اثرات ویتامین C بر سطوح MDA و FRAP در بافت کلیه

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان MDA بافتی به طور معناداری در گروه دفراسیروکس (۴/۳۱±۰/۵ میکرومول در هر گرم وزن کلیه) در مقایسه با گروه کنترل (۱/۸۹±۰/۱۴ میکرومول در هر گرم وزن کلیه) بیشتر بود (P<۰/۰۰۱). میزان MDA بافتی در گروه درمان همزمان با ویتامین C (۱/۹۴±۰/۳۵۵ میکرومول در هر گرم وزن کلیه) در مقایسه با گروه دفراسیروکس کاهش معناداری داشت (P<۰/۰۰۱)، ولی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت (جدول شماره ۲ و تصویر شماره ۲).

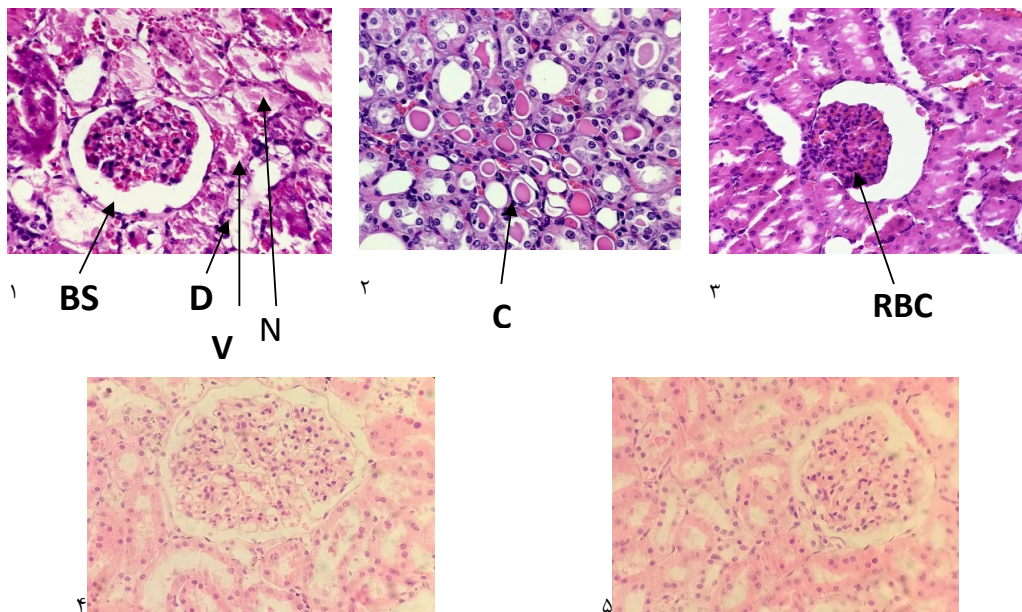
جدول ۳. درجه‌بندی بافت‌شناختی نمونه‌ها

Parameters Groups	Necrosis	Protein formations	Tubular cell Vacuolization	Bowman's space	Decreased RBC in Bowman's space
Control
Exjade(Ex)	***p	***p	***p	***p	***p
Ex+Vitamin C(Vc)	***.	***.	***.	***.	***.



***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل

***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه دفراسیروکس



RBC= red blood cells, BS= Bowman's space, C= intratubular cast, D= downfall, V= vacuolization, N= necrosis

۱: گروه دفراسیروکس (EX) (نکروز و واکوتولیزاسیون سلول‌های توبولی)؛ ۲: گروه دفراسیروکس (EX) (تشکیل قالب‌های پروتئینی)؛ ۳: گروه دفراسیروکس (EX) (افزایش فضای بومن)؛ ۴: گروه کنترل (فضای بومن ترمال / توبول‌های طبیعی)؛ ۵: گروه ویتامین C (فضای بومن ترمال / توبول‌های طبیعی)؛ بزرگ‌نمایی $\times 40$



تصویر ۴. تصاویر نمونه‌های بافت کلیوی

نتایج این تحقیق نشان داد که درمان هم‌زمان با ویتامین C می‌تواند از سمیت کلیوی ایجادشده با داروی دفراسیروکس جلوگیری کند [۱]. در این مطالعه تجویز اکسجید با دز ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به مدت هشت روز به کاهش مشهود عملکرد کلیوی منجر شد و توانست در توبول‌های کلیه رت‌ها با ایجاد تغییرات ساختاری و همچنین ایجاد نکروز سمیت کلیوی ایجاد کند که این نتایج مشابه مطالعات قبلی بود [۴، ۵].

در این مطالعه سمیت کلیوی دفراسیروکس با سنجش پارامترهایی همچون کراتینین، اوره، سدیم، پتاسیم و دفع نسبی و مطلق آن‌ها در ادرار و سرم ارزیابی شد. سطح کراتینین سرم به طور مشهودی در سمیت کلیوی ایجادشده با دفراسیروکس افزایش یافته بود. سطح کراتینین سرمی در گروه رت‌هایی که دفراسیروکس را به‌تنهایی دریافت کرده بودند، تقریباً شانزده برابر بیشتر از سایر گروه‌ها بود. این مسئله تأییدکننده آسیب ایجادشده با دفراسیروکس و سمیت کلیوی آن است.

یکی از عوامل مؤثر در ایجاد آسیب کلیوی ایجادشده با دفراسیروکس، استرس اکسیداتیو است که سبب افزایش MDA و کاهش FRAP شد. MDA یک شاخص میزان پراکسیداسیون لیپیدی است و FRAP میزان توان آنتی‌اکسیدانی بافت کلیه را نشان می‌دهد. کاهش FRAP و افزایش MDA بیانگر افزایش آسیب سلولی به واسطه رادیکال‌های آزاد و پراکسیدها است [۱۹].

در این مطالعه تمام رت‌های درمان‌شده با ویتامین C نسبت

قالب‌های پروتئینی در لومن توبول، واکوتولیزاسیون سلول‌های توبولار، افزایش فضای کپسول بومن و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در گلوبمرول دیده شد که در مقایسه با گروه کنترل و نیز گروه‌های درمان‌شده با ویتامین C آن‌ها معنادار بود ($P < 0.001$).

بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه‌های کلیوی حاصل از گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C تفاوت معناداری نسبت به گروه کنترل نداشت (تصویر شماره ۱ و جدول شماره ۳).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که ویتامین C با کاهش اوره، کراتینین پلاسما، دفع نسبی و مطلق سدیم، پتاسیم، MDA و افزایش کلیرانس کراتینین و FRAP سبب کاهش سمیت کلیوی ناشی از دفراسیروکس شد. مصرف هم‌زمان ویتامین C همراه با دفراسیروکس با کاهش استرس اکسیداتیو سبب حفاظت کلیه‌ها شد.

مطالعات قبلی نشان داد که ویتامین C میزان استرس اکسیداتیو را هنگام ایجاد سمیت کلیوی جنتامایسین کاهش می‌دهد [۱] اثرات نفروتوکسیک داروی دفراسیروکس نیز به عنوان یک شلاتور آهن در مطالعات قبلی اثبات شده است [۱۷، ۱۸]. در شرایط بالینی اینکه چه زمانی درمان را شروع کنیم و آیا بعد از ایجاد سمیت کلیوی یا قبل از ایجاد آن یا درمان هم‌زمان می‌تواند نتایج بسیار متفاوت داشته باشد؟ در این مطالعه اثر ویتامین C به صورت هم‌زمان با ایجاد سمیت کلیوی با دفراسیروکس بررسی شد.

دفراسیروکس می‌تواند به علت چربی‌دوست بودن به راحتی وارد سلول‌ها شود، اما به راحتی دفع نمی‌شود؛ چراکه در سلول ترکیبات با ظرفیت یونی بالایی را با آهن ایجاد می‌کند [۲۴]. سمیت کلیوی دفراسیروکس با تخریب سلول‌های اپی‌تلیالی، افزایش نکروز و فیبروز بافت کلیه و همچنین آتروفی توبولی و گلومرولی بر عملکرد کلیه است [۲۵، ۳۰]. در مکانیسم‌های سمیت کلیوی دفراسیروکس احتمالاً استرس اکسیداتیو فاکتور اصلی آسیب سلولی است.

اعتقاد بر این است که سمیت کلیوی دفراسیروکس به علت تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، افزایش تولید سیتوکین‌ها و القای آپوپتوز و نکروز است [۲۶]. آپوپتوز نقش بسیار مهمی در مرگ سلولی ایفا می‌کند و احتمالاً در حذف سلول‌های آسیب دیده شرکت دارد [۱۸].

بسیاری از داروهایی که به طور عمومی و شایع تجویز می‌شوند، از جمله آمفوتریسین ب، سیکلوسپورین، مهارکننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین و یا ونکومایسین به عنوان عوامل ایجادکننده آسیب کلیوی شناخته شده‌اند. تمامی این داروها از طریق مکانیسم‌های مشابهی سبب ایجاد انواع اکسیژن فعال و ایجاد نکروز حاد توبولی از طریق کاهش خون‌رسانی یا ایجاد ایسکمی در کلیه‌ها می‌شوند [۲۷]. ویتامین C با توجه به قابلیت آنتی‌اکسیدانی خود خاصیت محافظتی در مقابل انواع گونه‌های اکسیژن فعال را داراست و به همین دلیل اثر محافظتی خود را اعمال می‌کند [۲۶].

تجویز ویتامین C باعث حفظ معنادر کلیرانس کراتینین و افزایش معنادر غلظت پلاسمایی کراتینین نسبت به گروه دفراسیروکس شد. این نتایج مطابق با نتایج مطالعات قبلی بوده است [۲۸، ۲۰، ۸]. نتایج مطالعات گذشته اثرات محافظتی ویتامین C روی آسیب حاد کلیوی ناشی از جنتامایسین نشان دادند که نتایج مشابه یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر بود [۲۹، ۳۰]. در مقالات متعددی علت اختلالات عملکردی توبول پروگزیمال را اختلال در فعالیت Na-K-ATPase ، Mg-ATPase ، سوکسینیک دهیدروژناز و ۵-نوکلئوتیداز بیان کرده‌اند [۱۷].

دفراسیروکس باعث افزایش دفع ادراری سدیم و پتاسیم و FENa و FEK شد. دفع نسبی سدیم و پتاسیم در گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C کمتر از گروه دفراسیروکس و نزدیک به نتایج حاصله از گروه کنترل بود. مطالعات گذشته نشان دادند که اثر کاهشی ویتامین C در دفع سدیم و پتاسیم می‌تواند به علت حفظ عملکرد جذبی توبولی سدیم و پتاسیم باشد.

نتایج نشان دادند که اسمولالیت پلاسما بین گروه درمان با ویتامین C نسبت به گروه دفراسیروکس تفاوت معنادر دارد. اسمولالیت ادراری نیز مشابه اسمولالیت پلاسما بود. مطالعات پیشین نشان داده است که کاهش اسمولالیت ادرار با داروهای

به گروه دفراسیروکس سطوح پایین‌تری از MDA را داشتند. همچنین میزان FRAP در بافت کلیه رت‌های درمان شده با ویتامین C بسیار بیشتر از گروه دفراسیروکس بود. این نتایج، مشابه تحقیقات قبلی بود که اثرات ویتامین C در سمیت کلیوی ناشی از داروهای مختلف را بررسی کرده بودند [۸].

استونداگ و همکارانش نشان دادند که تجویز گلیسرول، میزان کراتینین پلاسما و MDA بافتی به میزان چشمگیری افزایش داد. این فاکتورها در گروهی که با ویتامین C تحت درمان قرار گرفته بودند، نسبت به گروه گلیسرول کاهش معناداری داشتند. در این مطالعه، تأثیر مثبت ویتامین C در آسیب حاد کلیوی میوگلوبینوریک ایجادشده با گلیسرول در رت اثبات شد [۲۰].

آسیب سلول‌های اپی‌تلیالی سبب کاهش توانایی بازجذب یون‌های مختلف، از جمله یون سدیم، پتاسیم و منیزیم می‌شود. در این مطالعه، موش‌هایی که دفراسیروکس دریافت کردند، سطوح سدیم، پتاسیم و منیزیم ادراری بیشتری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند که نشان‌دهنده ایجاد آسیب کلیوی در این گروه بود. با اندازه‌گیری سطوح ادراری و سرمی یون‌ها می‌توان میزان شدت آسیب کلیوی را با استفاده از اندازه‌گیری مقدار دفع نسبی و مطلق این یون‌ها مشخص کرد.

دفع نسبی سدیم و پتاسیم حاصل میزان بازجذب و ترشح است که مقدار دفع این دو یون را نشان می‌دهد. محاسبه دفع نسبی سنجش مستقیم، توانایی بازجذب یون‌های فیلترشده است [۲۱]. در گروه درمان هم‌زمان با ویتامین C در مقایسه با گروه دفراسیروکس میزان کمتری از دفع نسبی یون‌های سدیم و پتاسیم مشاهده شد که نشان‌دهنده جلوگیری از آسیب کلیوی بود.

موریرا و همکارانش نشان دادند که ویتامین C با کاهش گونه‌های فعال اکسیژن، سمیت کلیوی ناشی از تجویز جنتامایسین را کاهش می‌دهد. نتایج آسکوربیک اسید (ویتامین C) بر سمیت کلیوی دفراسیروکس با کاهش میزان کراتینین و اوره خون، میزان MDA بافتی با کاهش استرس اکسیداتیو مشابه اثر ویتامین C روی سمیت کلیوی جنتامایسین است [۸].

نتایج این مطالعه نشان داد که داروی دفراسیروکس می‌تواند سبب افزایش غلظت پلاسمایی کراتینین، اوره، دفع ادراری سدیم، پتاسیم و منیزیم و کاهش کلیرانس کراتینین، اوره و نیز کاهش دفع ادراری آن‌ها شود که این نتایج مطابق با مطالعات قبلی بود [۲۲، ۱۸].

افزایش رادیکال‌های آزاد سبب ایجاد اختلال و آسیب کلیوی است که می‌تواند سبب آسیب‌های توبولی و گلومرولی شود. علت ایجاد تغییرات در عملکرد کلیه‌ها می‌تواند به علت کاهش ضریب فیلتراسیون گلومرولی (Kf) و یا نکروز سلول‌های توبولی و در پی آن کاهش تعداد نفرون‌های فعال و GFR باشد [۲۲، ۲۳].

حامی مالی

نتایج این تحقیق حاصل پایان نامه آقای طه فریدونی دانشجوی پزشکی است که در گروه فیزیولوژی (شورای پژوهشی دانشکده پزشکی و دانشگاه علوم پزشکی اراک) به تصویب رسیده است.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی: پارسا یوسفی چایجان؛ روش‌شناسی، اعتبارسنجی و تحلیل داده‌ها: سعید حاجی‌هاشمی؛ تحقیق و بررسی: طه فریدونی و علی رهبری؛ تحلیل: سعید حاجی‌هاشمی، پارسا یوسفی چایجان و علی رهبری؛ منابع و نگارش پیش‌نویس: سعید حاجی‌هاشمی و طه فریدونی

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم آموزش و معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اراک بابت حمایت‌های مالی از این تحقیق کمال تشکر را دارند.

نفروتوکسیک می‌تواند به علت اثر آن روی کاهش بیان AQP2 باشد [۳۱-۳۳].

درمان با دفراسیروکس و آسیب‌های توبولی در مدل‌های حیوانی به شکل واکوئلیزاسیون سلول‌های پروگزیمال مشاهده شده است [۵]. مطالعات در زمینه سمیت کلیوی در موش‌ها و میمون‌های مارموس که اضافه باری آهن نداشتند نیز نشان دادند که درمان با اکسجید می‌تواند سبب واکوئل‌دار شدن سلول‌های اپی‌تلیالی توبول پروگزیمال و افزایش بیومارکرهای خونی در پی آسیب کلیوی شود [۳۴].

در مدل آزمایشی ما، ارزیابی‌های بافت‌شناسی و پاتولوژیک نشان‌دهنده تغییراتی روی توبول‌های دیستال و پروگزیمال بود که تأثیر نفروتوکسیک اکسجید را روشن می‌سازد. نتایج آزمایشگاهی نیز نشانگر ارتباط قوی بین تغییرات بافتی و مورفولوژیک در AKI ناشی از اکسجید بود.

مطالعات بافت‌شناسی نشان دادند که اکسجید باعث افزایش نکروز، واکوئل‌دار شدن، افزایش فضای بومن و افزایش تشکیل قالب‌های پروتئینی نسبت به گروه کنترل می‌شود. این یافته‌ها مشابه گزارشات مطالعه گارسیا دیاز بود [۱۸].

هدف ما بررسی درمان هم‌زمان سمیت کلیوی بود؛ چراکه در صورت اثربخش بودن آن می‌توان از همان ابتدای تجویز داروی ایجادکننده سمیت کلیوی از آسیب به کلیه‌ها پیشگیری کنیم. مطالعه ما هم‌زمانی شروع درمان با دریافت اکسجید، اثربخشی چشمگیر ویتامین C را در حفظ عملکرد کلیوی نشان داد، به طوری که سطوح کراتینین، اوره، یون‌ها، اسیدپتته و سایر متابولیت‌ها در سرم و ادرار گروه‌های درمان‌شده بسیار مشابه گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری

استفاده از ویتامین C به صورت درمان هم‌زمان با جلوگیری از تغییرات همودینامیکی، اختلال در دفع املاح و تغییرات بافتی ناشی از دفراسیروکس اثر محافظتی روی کلیه‌ها دارد. منشأ این قابلیت محافظتی می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و توان به دام انداختن رادیکال‌های آزاد باشد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با کد اخلاق IR.ARAKMU.REC.1396.309 در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اراک به ثبت رسیده است.

References

- [1] Hirschberg R, Bennett W, Scheinman J, Coppo R, Ponticelli C. Acute kidney injury due to deferoxamine in a renal transplant patient. *Nephrol Dial Transplant*. 2008; 23(8):2704-5. [DOI:10.1093/ndt/gfn278] [PMID]
- [2] Al-Khabori M, Bhandari S, Al-Huneini M, Al-Farsi K, Panjwani V, Daar S. Side effects of deferasirox iron chelation in patients with beta thalassemia major or intermedia. *Oman Med J*. 2013; 28(2):121-4. [DOI:10.5001/omj.2013.31] [PMID] [PMCID]
- [3] Dubourg L, Laurain C, Ranchin B, Pondarré C, Hadj-Aïssa A, Sigaudou-Roussel D, et al. Deferasirox-induced renal impairment in children: An increasing concern for pediatricians. *Pediatr Nephrol*. 2012; 27(11):2115-22. [DOI:10.1007/s00467-012-2170-4] [PMID]
- [4] Brosnahan G, Gokden N, Swaminathan S. Acute interstitial nephritis due to deferasirox: A case report. *Nephrol Dial Transplant*. 2008; 23(10):3356-8. [DOI:10.1093/ndt/gfn423] [PMID]
- [5] Martin-Sanchez D, Gallegos-Villalobos A, Fontecha-Barriuso M, Carrasco S, Sanchez-Niño MD, Lopez-Hernandez FJ, et al. Deferasirox-induced iron depletion promotes BclxL downregulation and death of proximal tubular cells. *Sci Rep*. 2017; 7:41510. [DOI:10.1038/srep41510] [PMID] [PMCID]
- [6] Kadkhodae M, Khastar H, Arab HA, Ghaznavi R, Zahmatkesh M, Mahdavi-Mazdeh M. Antioxidant vitamins preserve superoxide dismutase activities in gentamicin-induced nephrotoxicity. *Transplant Proc*. 2007; 39(4):864-5. [DOI:10.1016/j.transproceed.2007.02.038] [PMID]
- [7] Zhong X, Zeng M, Bian H, Zhong C, Xiao F. An evaluation of the protective role of vitamin C in reactive oxygen species-induced hepatotoxicity due to hexavalent chromium in vitro and in vivo. *J Occup Med Toxicol*. 2017; 12:15. [DOI:10.1186/s12995-017-0161-x] [PMID] [PMCID]
- [8] Moreira MA, Nascimento MA, Bozzo TA, Cintra A, da Silva SM, Dalboni MA, et al. Ascorbic acid reduces gentamicin-induced nephrotoxicity in rats through the control of reactive oxygen species. *Clin Nutr*. 2014; 33(2):296-301. [DOI:10.1016/j.clnu.2013.05.005] [PMID]
- [9] Chen X, Touyz RM, Park JB, Schiffrin EL. Antioxidant effects of vitamins C and E are associated with altered activation of vascular NADPH oxidase and superoxide dismutase in stroke-prone SHR. *Hypertension*. 2001; 38(3 Pt 2):606-11. [DOI:10.1161/hy09t1.094005] [PMID]
- [10] Brewer C, Otto-Duessel M, Lykkesfeldt J, Nick H, Wood JC. Ascorbate status modulates reticuloendothelial iron stores and response to deferasirox iron chelation in ascorbate-deficient rats. *Exp Hematol*. 2012; 40(10):820-7. [DOI:10.1016/j.exphem.2012.06.005] [PMID]
- [11] Ghaznavi R, Kadkhodae M, Khastar H, Zahmatkesh M. [Renal oxidative stress status and histology in gentamicin nephrotoxicity: The effects of antioxidant vitamins (Persian)]. *Tehran Univ Med J*. 2006; 64(5):15-22. <http://tumj.tums.ac.ir/article-1-944-en.html>
- [12] Ahmadi F, Hajhashemi S, Rahbari A, Ghanbari F. Effects of nitroglycerine on renal ischemia-reperfusion injury in adult male rats. *Drug Res (Stuttg)*. 2019; 69(11):612-20. [DOI:10.1055/a-0958-1987] [PMID]
- [13] Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996; 239(1):70-6. [DOI:10.1006/abio.1996.0292] [PMID]
- [14] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal biochem*. 1979; 95(2):351-8. [DOI:10.1016/0003-2697(79)90738-3]
- [15] Aydin G, Gökçimen A, Öncü M, Çicek E, Karahan N, Gökalp O. Histopathologic changes in liver and renal tissues induced by different doses of diclofenac sodium in rats. *Turk J Vet Anim Sci*. 2003; 27(5):1131-40. <https://www.researchgate.net/publication/281888383>
- [16] Hajhashemi S, Jafarian T, Ahmadi M, Rahbari A, Ghanbari F. Ameliorative effects of zataria multiflora hydro-alcoholic extract on Gentamicin induced Nephrotoxicity in rats. *Drug Res (Stuttg)*. 2018; 68(7):387-94. [DOI:10.1055/s-0043-124968] [PMID]
- [17] Westenfelder C, Arevalo GJ, Crawford PW, Zerwer P, Baranowski RL, Birch FM, et al. Renal tubular function in glycerol-induced acute renal failure. *Kidney Int*. 1980; 18(4):432-44. [DOI:10.1038/ki.1980.156] [PMID]
- [18] Díaz-García JD, Gallegos-Villalobos A, Gonzalez-Espinoza L, Sanchez-Niño MD, Villarrubia J, Ortiz A. Deferasirox nephrotoxicity-the knowns and unknowns. *Nat Rev Nephrol*. 2014; 10(10):574-86. [DOI:10.1038/nrneph.2014.121] [PMID]
- [19] Tataranni T, Agriesti F, Mazzoccoli C, Ruggieri V, Scrima R, Laurenzana I, et al. The iron chelator deferasirox affects redox signalling in haematopoietic stem/progenitor cells. *Br J Haematol*. 2015; 170(2):236-46. [DOI:10.1111/bjh.13381] [PMID]
- [20] Ustundag S, Yalcin O, Sen S, Cukur Z, Ciftci S, Demirkan B. Experimental myoglobinuric acute renal failure: The effect of vitamin C. *Ren Fail*. 2008; 30(7):727-35. [DOI:10.1080/08860220802212965] [PMID]
- [21] Steiner RW. Interpreting the fractional excretion of sodium. *Am J Med*. 1984; 77(4):699-702. [DOI:10.1016/0002-9343(84)90368-1]
- [22] Martínez-Salgado C, Rodríguez-Barbero A, Tavares P, Eleno N, López-Novoa JM. Role of calcium in gentamicin-induced mesangial cell activation. *Cell Physiol Biochem*. 2000; 10(1-2):65-72. [DOI:10.1159/000016335] [PMID]
- [23] Savin V, Karniski L, Cuppage F, Hodges G, Chonko A. Effect of gentamicin on isolated glomeruli and proximal tubules of the rabbit. *Lab Invest*. 1985; 52(1):93-102. [PMID]
- [24] Hider RC. Charge states of deferasirox-ferric iron complexes. *Am J Kidney Dis*. 2010; 55(3):614-5. [DOI:10.1053/j.ajkd.2009.10.065] [PMID]
- [25] Rafat C, Fakhouri F, Ribeil JA, Delarue R, Le Quintrec M. Fanconi syndrome due to deferasirox. *Am J Kidney Dis*. 2009; 54(5):931-4. [DOI:10.1053/j.ajkd.2009.03.013] [PMID]
- [26] Stojiljkovic N, Stojiljkovic M, Randjelovic P, Veljkovic S, Mihailovic D. Cytoprotective effect of vitamin C against gentamicin-induced acute kidney injury in rats. *Exp Toxicol Pathol*. 2012; 64(1-2):69-74. [DOI:10.1016/j.etp.2010.06.008] [PMID]
- [27] Patel Manali B, Deshpande S, Shah G. Evaluation of efficacy of vitamin E and N-acetyl cysteine in gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Ren Fail*. 2011; 33(3):341-7. [DOI:10.3109/0886022X.2011.560987] [PMID]
- [28] Miloradovic Z, Mihailovic-Stanojevic N, Grujic-Milanovic J, Ivanov M, Kuburovic G, Markovic-Lipkovski J, et al. Comparative effects of L-arginine and vitamin C pretreatment in SHR with induced postischemic acute renal failure. *Gen. Physiol. Biophys*. 2009; 28:105-11. http://www.physiology.org.rs/eng/htm/konf2008/gen_phys_spec.pdf#page=105
- [29] Saleem U, Ahmad B, Rehman K, Mahmood S, Alam M, Erum A. Nephro-protective effect of vitamin C and Nigella sativa oil on gentamicin associated nephrotoxicity in rabbits. *Pak J Pharm Sci*. 2012; 25(4):727-30. [PMID]
- [30] Appenroth D, Fröb S, Kersten L, Splinter FK, Winnefeld K. Protective effects of vitamin E and C on cisplatin nephrotoxicity in developing rats.

- Arch Toxicol. 1997; 71(11):677-83. [DOI:10.1007/s002040050444] [PMID]
- [31] Kim SW, Jeon YS, Lee JU, Kang DG, Kook H, Ahn KY, et al. Diminished adenylate cyclase activity and aquaporin 2 expression in acute renal failure rats. *Kidney Int.* 2000; 57(4):1643-50. [DOI:10.1046/j.1523-1755.2000.00008.x] [PMID]
- [32] Lee J, Yoo KS, Kang DG, Kim SW, Choi KC. Gentamicin decreases the abundance of aquaporin water channels in rat kidney. *Jpn J Pharmacol.* 2001; 85(4):391-8. [DOI:10.1254/jjp.85.391] [PMID]
- [33] Sohn EJ, Kang DG, Lee HS. Protective effects of glycyrrhizin on gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Pharmacol Toxicol.* 2003; 93(3):116-22. [DOI:10.1034/j.1600-0773.2003.930302.x] [PMID]
- [34] Grangé S, Bertrand DM, Guerrot D, Eas F, Godin M. Acute renal failure and Fanconi syndrome due to deferasirox. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25(7):2376-8. [DOI:10.1093/ndt/gfq224] [PMID]

This Page Intentionally Left Blank