View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Repository of Research and Investigative Information

مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره بیستم، شمارهٔ ۲، بهمن ۱۳۹۶، صفحه ۴۱-۳۳

بررسی اثر دیکلوفناک بر اختلالات سمیت کلیوی ایجاد شده توسط جنتامایسین در موش صحرایی

مهدیه احمدی (MSc)[۱]، سعید حاجی هاشمی (PhD)[*۱]، علی رهبری (PhD)[۲]، فاطمه قنبری (PhD)[۳]، محبوبه احمدی (MSc)[۱]

۱-گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
۲-گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
۳-گروه فارماکولوژی، دانشگاه آزاداسلامی اراک، اراک، ایران

دریافت:۹۶/۴/۱۴، اصلاح: ۹۶/۸/۲۱، پذیرش: ۹۶/۹/۲۰

خلاصه

سابقه و هدف: جنتامایسین آنتی بیوتیکی است که در درمان عفونت هایی باکتری های گرم منفی مورد استفاده قرار می گیرد اما عوارض جانبی آن همانند سمیت کلیوی، استفاده از آن را محدودکرده است. این مطالعه به منظور بررسی اثر دیکلوفناک بر اختلالات کلیوی ایجاد شده توسط جنتامایسین انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (wistar)، در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم به ۴ گروه ۸ تایی شامل، گروه کنترل بدون دریافت هیچ گونه دارو، دریافت کننده جنتامایسین (۱۰۰mg/kg)، دیکلوفناک (۰/۵ mg/kg)، جنتامایسین (۱۰۰mg/kg) و دیکلوفناک هم زمان(۰/۵ mg/kg)، به صورت داخل صفاقی به مدت ۸ روز، تقسیم شدند. در روز نهم میزان فشار خون سیستولی و میزان جریان خون شریان کلیه همچنین مقادیر اوره، کراتینین، سدیم، پتاسیم، منیزیوم و اسمولالیته در نمونه های پلاسما و ادرار تعیین گردید. مطالعه بافتی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین انجام شد.

یافته ها: درمان هم زمان با دیکلوفناک دفع نسبی پتاسیم (p<۰/۰۰۱، ۶/۱۷±۳۲۸)، دفع نسبی سدیم (p<۰/۰۰۱؛ ۰/۰۰۵±۰/۸۸۵)، دفع اوره (p<۰/۰۰۱؛ ۵/۵۶±۵۶/۰۸)، اسمولالیته ادرار (p<۰/۰۱؛ ۱۴/۳±۴۳۹) و کلیرانس کراتینین (p<۰/۰۰۱؛ ml/min/kg ۰/۰۱±۰/۴۲۷) را به صورت معنی داری کاهش داد و همچنین باعث کاهش بیشتر جریان خون کلیه (۰/۲±۳/۹۹) شد، که قبلا توسط جنتامایسین کاهش یافته بود

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که دیکلوفناک، اختلالات کلیوی ایجاد شده توسط جنتامایسین را تشدید می کند.

واژه های کلیدی: جنتامایسین، سمیت کلیوی، دیکلوفناک سدیم، موش صحرایی.

مقدمه

جنتامایسین آنتی بیوتیک آمینوگلیکوزیدی است که عوارض جانبی آن همانند سمیت کلیوی، استفاده از آن را محدودکرده است(۱). سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین به علت تجمع جنتامایسین توسط مگالین وکوبولین در سلولهای اپی تلیالی لوله نزدیک میباشد (۲). جنتامایسین توسط مکانیسم های مختلفی سبب ایجاد سمیت کلیوی میشود؛ جنتامایسین پس از ورود به سیتوزول سبب باز شدن منافذ میتوکندری شده و رهایش سیتوکروم C و تولید گونه های فعال اکسیژن را (Reactive Oxygen Species=ROS) افزایش میدهد(۳). جنتامایسین از طریق اندوسیتوز وارد سلول شده و در لیزوزوم ها تجمع می‌یابد و با افزلیش نفوذپذیری غشای لیزوزومها با تولید گونه های فعال اکسیژن، سبب القای آپوپتوز در سلولهای لوله نزدیک میشود(۴). جنتامایسین در بخش گلومرولی هم با انقباض سلولهای مزانژیال گلومرولی سبب کاهش ضریب تصفیه گلومرولی (K_f) میزان تصفیه گلومرولی(Glomerular filtration rate =GFR) می‌گردد(۶و۵).

جنتامایسین التهاب در بافت بینابینی کلیه، نکروز گسترده لوله ای و تشکیل قالبهای پروتئینی ناشی از ریزش سلولها به داخل لومن را سبب میشود(۷). ضخیم شدن غشای پایه گلومرولی، نکروز و واکوئل دار شدن سلولهای اپیتلیالی توبول نزدیک، توسط جنتامایسین مشاهده شده است (۸). دیکلوفناک سدیم یک داروی ضد التهابی غیر استروئیدی (Nonsteroidal anti-inflammatory drug =NSAID) است که برای کاهش تب و درد و برای انواع التهاب‌های حاد و مزمن مورد استفاده قرار می گیرد(۹). NSAID های غیر انتخابی همانند دیکلوفناک و ایندومتاسین، آنزیم های سازنده پروستاگلاندین ها یعنی آنزیم های (COX-1) و (COX-2) را مهار میکنند (۱۰). مهار تولید پروستاگلاندینها در کلیه ها، کاهش جریان خون کلیوی و فیلتراسیون گلومرولی را سبب میشود. این داروها ایجاد التهاب و نکروز سلولی را در توبول های کلیه سبب می‌شود(۹). با توجه به اثرات گفته شده دیکلوفناک و همچنین اثر جنتامایسین در ایجاد نارسایی

▣ این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه مهدیه احمدی دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اراک می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر سعید حاجی هاشمی
آدرس: اراک، سردشت، دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی. تلفن: ۳۴۱۷۳۵۰۵ -۰۸۶
E-mail:hajihashemi@arakmu.ac.ir

حاد کلیوی، هدف از این تحقیق بررسی اثرات دیکلوفناک به تنهایی و استفاده همزمان دیکلوفناک و جنتامایسین بر روی عملکرد کلیه ها می باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق ۱۳۹۴.۲۴۸ دانشگاه علوم پزشکی اراک بر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار، در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم صورت گرفت. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به صورت متناوب و دمای محیط (۲۳±۲°C) نگه داری شدند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند.

روش تهیه دیکلوفناک و جنتامایسین: دیکلوفناک سدیم (sigma-Aldrich) به میزان ۰/۱۲۵ میلیگرم در ۰/۵ میلی لیتر نرمال سالین حل شد و به صورت IP با دوز mg/kg ۰/۵ به هر حیوان تزریق شد. جنتامایسین به میزان۲۵ میلیگرم از پودر جنتامایسین در ۱ml از نرمال سالین حل شد و به صورت IP با دوز ۱۰۰mg/kg به هر حیوان تزریق شد(۱۲و۱۱).

گروه های مورد مطالعه:

گروه کنترل: هیچ گونه دارویی دریافت نکردند.

گروه جنتامایسین: به مدت ۸ روز متوالی جنتامایسین mg/kg ۱۰۰ (البرز دارو- ایران)(۱۳) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه دیکلوفناک: به مدت ۸ روز متوالی دیکلوفناک mg/kg ۰/۵ (سیگما- آمریکا)(۱۴) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه دیکلوفناک+جنتامایسین: به مدت ۸ روز متوالی، به صورت هم زمان جنتامایسین ۱۰۰mg/kg و دیکلوفناک mg/kg ۰/۵ به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

بعد از آخرین تزریق دارو، حیوانات در قفس متابولیسم قرار گرفتند، ادرار آنها در طی مدت ۱۲ ساعت جمع آوری گردید و سپس حجم ادرار به روش گراوی متری اندازه گیری گردید به این منظور حجم ادرار جمع آوری شده توزین گردید وزن ادرار برای هر میلی لیتر نشان دهنده میزان دفع مواد محلول در ادرار میباشد. میزان فشار خون سیستولی از شریان دمی با کاف دمی و با کمک دستگاه ower labP(استرالیا- AD Instruments) اندازه گیری شد(۱۵و۱۲). شریان کلیه چپ جدا گردید و میزان جریان خون کلیه با کمک جریان نگار(flow meter) اندازه گیری شد(۱۱). برای این منظور پس از ثابت شدن جریان خون، میانگین جریان خون شریان کلیه به مدت ۳۰ دقیقه اندازه گیری شد. خون گیری از آئورت شکمی با سرنگ هپارینه سرد صورت گرفت. بعد از جدا کردن پلاسما میزان کراتینین و نیتروژن اوره خون (BUN) با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر (هلند- Auto analyzer (selectra-XL و میزان سدیم، پتاسیم، منیزیم با استفاده از دستگاه فلیم فوتومتر (Flame photometer) (ایتالیا- FP20SEAC) اندازه گیری گردید (۱۷و۱۶). اسمولالیته نمونه های ادرار و پلاسما با استفاده از دستگاه اسمومتر(آلمان- Osmomat gonotec 030) تعیین گردید(۱۸). بعد از خارج کردن هر دو کلیه و وزن کردن آنها در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. برای محاسبه دفع مطلق سدیم($U_{Na}V^{\circ}$) و پتاسیم(U_KV°)، دفع نسبی سدیم (FE_{Na}) و پتاسیم (FE_K)، کلیرانس کراتینین (C_{Cr}) و میزان جریان ادرار (V°) از معادلات زیر استفاده شد(جدول۱)(۱۷و۱۱).

جدول۱. فرمول محاسبه دفع مطلق سدیم($UNaV^{\circ}$) و پتاسیم (UKV°)، دفع نسبی سدیم (FENa) و پتاسیم (FEK)، کلیرانس کراتینین (Ccr) از معادلات زیر استفاده شد. (V° میزان جریان ادرار می باشد.)

متغیر	فرمول محاسبه
$V^{\circ}(\mu l/min.gkw)$	$(۱۰۰۰\times UFR)/(KW\times۷۲۰)$
CCr(ml/min.gkw)	$(V^{\circ}/۱۰۰۰\times U_{Cr})/P_{Cr}$
$UNaV^{\circ}(\mu mol/min.gkw)$	$(V^{\circ}\times U_{Na})/۱۰۰۰$
$UKV^{\circ}(\mu mol/min.g\ kw)$	$(V^{\circ}\times U_K)/۱۰۰۰$
FENa	$(U_{Na}\times P_{Cr})/(P_{Na}\times U_{Cr})\times۱۰۰$
FEK	$(U_k\times P_{Cr})/(P_k\times U_{Cr})\times۱۰۰$

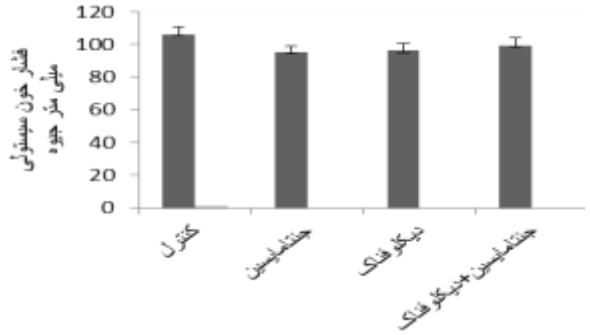
مطالعات هیستوپاتولوژیک: پس از فیکس شدن کلیه چپ قالب پارافینی تهیه شد. برش های ۵ میکرونی، با دو رنگ هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد. توسط متخصص پاتولوژی آسیب و تغییرات بافتی در بخش های گلومرولی، لوله ای و عروقی در بین گروه ها مقایسه شد. افزایش فضای کپسول بومن، ایجاد قالب های پروتئینی در داخل لومن، واکوئل دار شدن سلولهای لوله ای، پرخونی گلومرولی و نکروز سلولهای لوله ای در بخش لوله ای مورد مطالعه قرار گرفت. میزان آسیب ایجاد شده بر اساس درصد محاسباتی درجه بندی (Grading) شد. در صورت نبودن آسیب درجه صفر، ۲۵-۱ درصد آسیب درجه ۱، ۵۰-۲۵ درصد آسیب درجه ۲، ۷۵-۵۰ درصد آسیب درجه ۳، ۱۰۰-۷۵ درصد آسیب درجه ۴ در نظر گرفته شد (۱۹و۱۲و۱۱).

آنالیز آماری: تمامی داده ها با استفاده از نرم افزار آماری Graph pad prism نسخه ۶ و از آزمون آنالیز وایانس یک طرفه (ANOVA) و سپس تست Tukey و همچنین از آزمون غیرپارامتری kursksl wallis و Dunnett تجزیه و تحلیل شدند و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

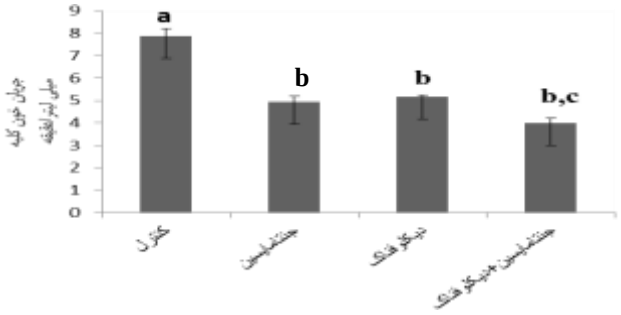
یافته ها

اثرات دیکلوفناک بر میزان جریان خون کلیه و فشار خون سیستولی: فشار خون سیستولی بین هیچ کدام از گروهها تغییر معنی داری را نشان نداد (نمودار۱). میزان جریان خون کلیه در گروه جنتامایسین (۴/۹۴±۰/۳ ml/min) و درگروه دیکلوفناک (۵/۱۷±۰/۰۷ml/min) نسبت به گروه کنترل (۷/۸۶±۰/۳ml/min) کاهش معنی داری را نشان دادند ($p<۰/۰۰۱$). کاهش جریان خون کلیه با تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک نسبت به گروه جنتامایسین معنی دار نبود (نمودار۲).

اثرات دیکلوفناک بر کلیرانس کراتینین (Ccr) ، دفع مطلق($U_{Na}V^{\circ}$) و نسبی سدیم(FE_{Na}) و دفع مطلق(U_KV°) و نسبی(FE_K) پتاسیم: کلیرانس کراتینین در گروه جنتامایسین (۰/۷۳۲±۰/۰۱ml/min/kg) و در گروه دیکلوفناک (۰/۷۲۷±۰/۰۰۷ml/min/kg) کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل (۱/۴۴±۰/۰۸ ml/min/kg) نشان دادند. تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک (۰/۴۲۷±۰/۰۱ ml/min/kg) سبب کاهش معنی دار کلیرانس کراتینین نسبت به گروه جنتامایسین شد($p<۰/۰۰۱$)(جدول۲).



نمودار ۱. مقایسه تغییرات فشار خون سیستولی در گروه های مختلف



نمودار ۲. مقایسه تغییرات جریان خون شریان کلیه

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در کاهش میزان جریان خون می باشد ($p<۰/۰۰۱$) ولی حروف مشابه اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد.

کاهش جریان خون گروه درمان همزمان جنتامایسین و دیکلوفناک در مقایسه با گروه دیکلوفناک به تنهای اختلاف معنی دار نشان داد ($p<۰/۰۵$). درمان هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک باعث کاهش جریان خون نسبت به گروه جنتامایسین شد ولی این کاهش معنی دار نبود. دفع نسبی سدیم در گروه جنتامایسین (۲/۴±۰/۳) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۳۹±۰/۰۰۲) افزایش معنی داری داشت ($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک (۰/۸۸۵±۰/۰۰۵) سبب کاهش معنی دار دفع نسبی سدیم نسبت به گروه جنتامایسین شد ($p<۰/۰۰۱$) (جدول۲).

دفع نسبی پتاسیم در گروه جنتامایسین(۴۵۸±۳۹/۷) افزایش معنی داری را نسبت به گروه کنترل (۳۵/۵±۵) نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک (۳۲۸±۱۷/۶) باعث کاهش معنی دار دفع نسبی پتاسیم نسبت به گروه جنتامایسین شد ($p<۰/۰۰۱$)(جدول۲). دفع مطلق سدیم در گروه جنتامایسین (۲/۲±۰/۶ mmol/min/kg) نسبت به گروه کنترل (۰/۹۲۴±۰/۰۱ mmol/min/kg) افزایش معنی داری را نشان داد($p<۰/۰۰۱$) و در گروه دیکلوفناک (۰/۷۲۳±۰/۰۱ mmol/min/kg) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک (۱/۱±۰/۰۴ mmol/min/kg) کاهش معنی دار دفع مطلق سدیم را نسبت به گروه جنتامایسین نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). دفع مطلق پتاسیم در بین گروهها تغییر معنی داری را نشان نداد(جدول۲).

اثرات دیکلوفناک بر مقادیر دفع ادراری سدیم ($[Na]_u$)، پتاسیم($[k]_u$)، منیزیوم($[Mg]_u$)، کراتینین($[Cr]_u$)، اوره($[BUN]_u$) و اسمولالیته ($Osmol_u$): دفع ادراری سدیم در گروه جنتامایسین (۷۶/۴±۲µmol/mL) نسبت به گروه کنترل (۵۳/۹±۱/۳µmol/mL) افزایش معنی داری را نشان داد ($p<۰/۰۰۱$) و در گروه دیکلوفناک (۳۳/۷±۱/۱ µmol/mL) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان دیکلوفناک و جنتامایسین (۵۶/۹±۳/۱µmol/mL) باعث کاهش معنی دار دفع ادراری سدیم نسبت به گروه جنتامایسین شد ($p<۰/۰۰۱$)(جدول۳). دفع ادراری پتاسیم در گروه جنتامایسین (۱۹۲/۴±۱۷/۵µmol/mL) افزایش معنی داری را نسبت به گروه کنترل (۱۲۰/۱±۵/۷۴ µmol/mL) نشان داد ($p<۰/۰۰۱$) و در گروه دیکلوفناک (۷۳/۵۶±۵/۶۱ µmol/mL) کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک (۱۰۷/۵±۱۱/۰۶ µmol/mL) سبب کاهش معنی دار دفع پتاسیم نسبت به گروه جنتامایسین شد ($p<۰/۰۰۱$)(جدول۳).

غلظت ادراری منیزیوم درگروه جنتامایسین (۶/۸۵±۰/۵ µmol/mL) نسبت به گروه کنترل (۲/۷۵±۰/۴ µmol/mL) افزایش معنی داری را نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک(۷/۱±۰/۱ µmol/mL) باعث افزایش غلظت ادراری منیزیوم نسبت به گروه جنتامایسین شد ولی این افزایش معنی دار نبود(جدول۳). غلظت ادراری کراتینین در گروه جنتامایسین (۲۳/۱±۱/۴ mg/dL) و درگروه دیکلوفناک (۲۳/۱±۱/۳ mg/dL) کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل (۵۰/۷±۰/۹ mg/dL) نشان داد($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک(۱۵/۱±۰/۷ mg/dL) باعث کاهش معنی دار غلظت کراتینین ادرار نسبت به گروه جنتامایسین شد($p<۰/۰۰۱$)(جدول۳). غلظت ادراری اوره در گروه جنتامایسین (۸۱/۴±۳/۷۲ mg/dL) و دیکلوفناک(۸۲/۱۸±۸/۷۳ mg/dL) کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد(۱۱۵/۲±۵/۸۲ mg/dL) ($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک(۵۶/۰۸±۵/۵۶ mg/dL) باعث کاهش معنی دار اوره ادرار نسبت به گروه جنتامایسین شد($p<۰/۰۵$)(جدول۳). اسمولالیته ادرار در گروه جنتامایسین (۷۰۹±۲۴mOsm/kgH_2O) و دیکلوفناک (۷۰۲±۲۶/۷ mOsm/kgH_2O) کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل (۱۵۰۲±۵۴/۱ mOsm/kgH_2O) نشان داد($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک (۴۳۹±۱۴/۳ mOsm/kgH_2O) سبب کاهش معنی دار اسمولالیته ادراری نسبت به گروه جنتامایسین شد ($p<۰/۰۰۱$)(جدول۳).

اثرات دیکلوفناک بر مقادیرپلاسمایی سدیم($[Na]_p$)، پتاسیم($[k]_p$)، منیزیوم ($[Mg]_p$)، کراتینین ($[Cr]_p$)، اوره ($[BUN]_p$) و اسمولالیته ($Osmol_p$): غلظت کراتینین پلاسما در گروه جنتامایسین (۲/۲۵±۰/۲ mg/dL) و درگروه دیکلوفناک(۱/۴±۰/۱ mg/dL) نسبت به گروه کنترل (۰/۵۲±۰/۰۵ mg/dL) افزایش معنی داری را نشان داد($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک(۲/۹±۰/۰۳ mg/dL) باعث افزایش معنی دار غلظت کراتینین پلاسما نسبت به گروه جنتامایسین شد($p<۰/۰۰۱$)(جدول۴). غلظت اوره پلاسما در گروه جنتامایسین(۷۴/۲۵±۴/۹ mg/dL) و دیکلوفناک (۵۷/۴۱±۱/۷ mg/dL) نسبت به گروه کنترل (۲۱/۳±۱/۰۶ mg/dL) افزایش معنی داری را نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک(۹۳/۹±۲/۷ mg/dL) باعث افزایش معنی دار غلظت اوره پلاسما نسبت به گروه جنتامایسین شد ($p<۰/۰۰۱$) (جدول۴). غلظت منیزیوم پلاسما در گروه جنتامایسین (۱/۷±۰/۰۷ µmol/mL) کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل

(۳/۸±۰/۲ µmol/mL) نشان داد(p<۰/۰۰۱). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک(۱/۵±۰/۱ µmol/mL) سبب کاهش غلظت منیزیوم پلاسما نسبت به گروه جنتامایسین شد ولی این کاهش معنی دار نبود. غلظت سدیم، پتاسیم و اسمولالیته پلاسما در هیچ کدام از گروه‌ها تغییر معنی‌داری را نشان نداد (جدول۴).

اثرات دیکلوفناک بر تغییرات بافتی: در گروه جنتامایسین نکروز سلولهای توبولی(grade۱)، افزایش فضای کپسول بومن (grade۲)، واکوئل دار شدن(grade۲)(p<۰/۰۱) و نیز تشکیل قالب های پروتئینی(grade۲) و پرخونی گلومرولی(grade۲) نسبت به گروه کنترل (grade ۰) افزایش معنی داری پیدا کرد(p<۰/۰۰۱). در گروه دیکلوفناک نیز نکروز (grade۱)، افزایش فضای کپسول بومن (grade۲)(p<۰/۰۱) و واکوئل دار شدن(grade۲) نسبت به گروه کنترل به صورت معنی داری افزایش یافت (p<۰/۰۵). تجویز هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک در مواردی مثل واکوئل دار شدن (grade۳) و افزایش فضای کپسول بومن(grade۳) نسبت به گروه جنتامایسین افزایش داشت ولی این افزایش معنی دار نبود(جدول۵، شکل ۱).

جدول۲. مقایسه میزان کلیرانس کراتینین (Ccr)، دفع مطلق (UNaV) و نسبی سدیم (FENa) و دفع مطلق (UKV) و نسبی (FEK) پتاسیم بین چهار گروه مورد مطالعه

پارامترها / گروه	کنترل	جنتامایسین	دیکلوفناک	جنتامایسین+دیکلوفناک	P-value
دفع نسبی پتاسیم FEK%	۴۳/۹±۳/۲۳ a	۴۵۸±۳۹/۷ b	۲۹/۶±۳/۰۱ c	۳۲۸±۱۷/۶ d	<۰/۰۰۱
دفع نسبی سدیم FENa%	۰/۳۹±۰/۰۰۲ a	۲/۴±۰/۳ b	۰/۲۳۱±۰/۰۰۴ c	۰/۸۸۵±۰/۰۰۵ d	<۰/۰۰۱
دفع مطلق پتاسیم UKV^o (mmol/min/kg)	۲/۲۳±۰/۱ a	۲/۲±۰/۴ a	۲/۱۵±۰/۳ a	۲/۱۴±۰/۰۷ a	>۰/۰۵
دفع مطلق سدیم $UNaV^o$ (mmol/min/kg)	۰/۹۲۴± ۰/۰۱ a	۲/۲±۰/۶ b	۰/۷۲۳±۰/۰۱ c	۱/۱±۰/۰۴ d	<۰/۰۰۱
کلیرانس کراتینین Ccr (ml/min/kg)	۱/۴۴±۰/۰۸ a	۰/۷۳۲±۰/۰۱ b	۰/۷۲۷±۰/۰۰۷ b	۰/۴۲۷±۰/۰۱ c	<۰/۰۰۱

گروهها با حروف لاتین مشخص شده اند. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در در دفع نسبی پتاسیم و سدیم، دفع مطلق سدیم و کلیرانس کراتینین می باشد ولی حروف مشابه اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد . دفع مطلق پتاسیم در بین گروه ها تغییر معنی داری را نشان نداد. نتایج با استفاده از آنالیز آماری (One way ANOVA-TUKEY) به صورت میانگین±خطای استاندارد شده از میانگین (SEM) برای ۸ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است.

جدول۳. مقایسه دفع ادراری سدیم($[Na_u]$)، پتاسیم($[k]_u$)، منیزیوم($[Mg_u]$)، کراتینین($[Cr_u]$)، اوره($[BUN_u]$) و اسمولالیته ($osmol_u$) بین چهار گروه مورد مطالعه

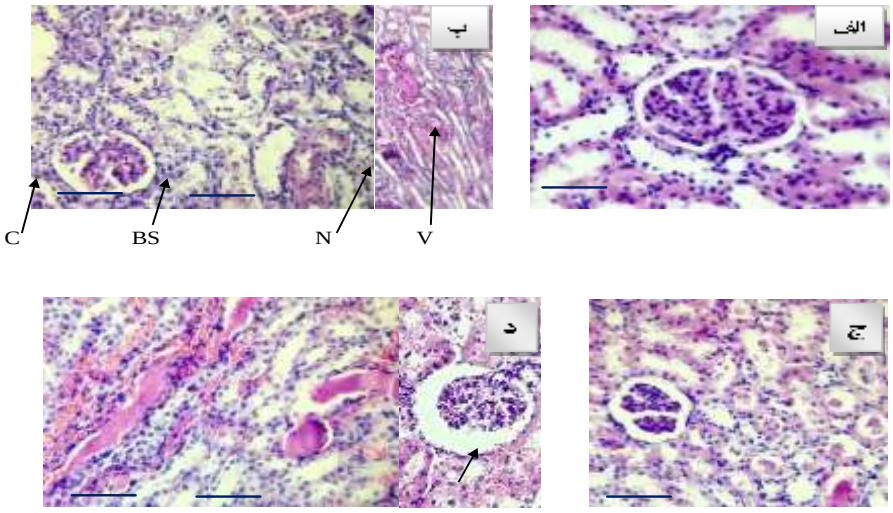
پارامترها / گروه ها	کنترل	جنتامایسین	دیکلوفناک	جنتامایسین+دیکلوفناک	P-value
$[Na]_u$ (µmol/mL)	۵۳/۹±۱/۳۸a	۷۶/۴±۲b	۳۳/۷±۱/۱c	۵۶/۹±۳/۱a	<۰/۰۰۱
$[K]_u$ (µmol/mL)	۱۲۰/۱±۵/۷۴a	۱۹۲/۴±۱۷/۵b	۷۳/۵۶±۵/۶c	۱۰۷/۵±۱۱/۰۶a	<۰/۰۰۱
[Mg] (µmol/mL)	۲/۷۵±۰/۴a	۶/۸۵±۰/۵b	۳/۱۸±۰/۳c	۷/۱±۰/۱b	<۰/۰۰۱
$[Cr]_u$ (mg/dL)	۵۰/۷±۱/۹a	۲۳/۱±۱/۴b	۲۳/۱±۱/۳b	۱۵/۱±۰/۷c	<۰/۰۰۱
$[BUN]_u$ (mg/dL)	۵۷۶±۲۹/۱a	۴۰۷±۱۸/۶b	۴۱۰/۹±۱۸/۶۵b	۲۸۰/۴±۲۷/۷۸c	<۰/۰۰۱
$Osmol_u$ (mOsm/kgH_2O)	۱۵۰۲±۵۴/۱a	۷۰۹±۲۴ b	۷۰۲±۲۶/۷b	۴۳۹±۱۴/۳c	<۰/۰۰۱

جدول ۴. مقایسه مقادیر پلاسمایی سدیم($[Na]_p$) ، پتاسیم($[k]_p$)، منیزیوم ($[Mg]_p$)، کراتینین($[Cr]_p$)، اوره($[BUN]_p$)، اسمولالیته($osmol_p$) چهار گروه مورد مطالعه

پارامترها / گروه ها	کنترل	جنتامایسین	دیکلوفناک	جنتامایسین+دیکلوفناک	P-value
$[Na]_p$ (µmol/mL)	۱۴۴±۵/۸a	۱۴۱±۵/۴a	۱۴۳±۸a	۱۴۵±۹a	>۰/۰۵
$[K]_p$ (µmol/mL)	۴/۱۲±۰/۳a	۴/۱۸±۰/۳a	۳/۹±۰/۶a	۴/۱±۰/۲a	>۰/۰۵
$[Mg]_p$ (µmol/mL)	۳/۸±۰/۲ a	۱/۷±۰/۰۷ b	۲/۹±۰/۱ c	۱/۵±۰/۱ b	<۰/۰۰۱
$[Cr]_p$ (mg/dL)	۰/۵۲±۰/۰۵ a	۲/۲۵±۰/۲b	۱/۴±۰/۱c	۲/۹±۰/۰۳d	<۰/۰۰۱
$[BUN]_p$ (mg/dL)	۲۱/۳±۱/۰۶a	۷۴/۲۵±۴/۹ b	۵۷/۴±۱/۷c	۹۳/۹±۲/۷d	<۰/۰۰۱
$Osmol_p$ (mOsm/kgH_2O)	۳۶۲±۲۷/۴a	۳۲۳±۷/۱a	۳۳۲±۲۸/۱a	۳۲۱±۹/۷۹a	>۰/۰۵

جدول۵. مقایسه میزان نکروز، واکوئل دار شدن، افزایش فضای کپسول بومن، تشکیل کست و پرخونی گلومرولی بین چهار گروه مورد مطالعه

پارامترها / گروه ها	کنترل	جنتامایسین	دیکلوفناک	جنتامایسین+دیکلوفناک	P-value
نکروز	۰±۰^{a}	۱/۲۵±۰/۱۶۴ ^{b}	۱/۲۵±۰/۱۶۴ ^{b}	۱/۳۸±۰/۱۸۳^{b}	<۰/۰۱
واکوئل دار شدن	۰±۰^{a}	۲/۷۵±۰/۱۶۴ ^{b}	۲/۶۳±۰/۱۸۳^{b}	۳/۷۵±۰/۱۶۴^{c}	<۰/۰۱
افزایش فضای کپسول بومن	۰±۰^{a}	۲±۰^{b}	۲±۰^{b}	۳±۰ ^{c}	<۰/۰۰۱
تشکیل قالب های پروتئینی	۰±۰^{a}	۲/۲۵±۰/۱۶۴^{b}	۱/۲۵±۰/۱۶۴^{c}	۲/۳۸±۰/۱۸۳ ^{b}	<۰/۰۰۱
پرخونی گلومرولی	۰±۰^{a}	۲/۰۵±۰/۱۴۰^{b}	۱/۲۰±۰/۱۶^{c}	۲/۰۰±۰/۱۳ ^{b}	<۰/۰۰۱



C=intratubular cast, BS=Bowman's space, N=necrosis, V=vacuolization

شکل ۱. مقایسه تغییرات بافتی بین گروه های مختلف الف- گروه کنترل با ساختار گلومرولی و لوله ای طبیعی؛ ب- گروه جنتامایسین با نکروز سلولهای لوله ای، تشکیل قالب‌های پروتئینی، افزایش فضای کپسول بومن و واکوئل دار شدن؛ ج- گروه دیکلوفناک افزایش خفیف فضای کپسول بومن و تشکیل قالب های پروتئینی؛ د- گروه دیکلوفناک+جنتامایسین تشکیل قالب های پروتئینی شدید، افزایش شدید فضای کپسول بومن، پرخونی شدید گلومرولی(رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین با بزرگنمایی X۴۰۰ و Scale bar برابر ۱۰۰ mμ می باشد).

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که جنتامایسین و دیکلوفناک به صورت مجزا و به صورت توام و همزمان، افزایش غلظت پلاسمایی کراتینین و اوره، کاهش کلیرنس کراتینین، اوره و همچنین کاهش دفع ادراری آنها را سبب می شود. تغییر در این پارامتر ها نشان دهنده ایجاد اختلال و سمیت کلیوی بیشتر می باشد. تغییرات در عملکرد کلیه می‌تواند به علت کاهش در ضریب تصفیه گلومرولی (K_f) و یا نکروز سلولهای توبولی و در پی آن کاهش درتعداد نفرون های عملکردی و در نتیجه کاهش GFR ایجاد گردد (۲۱و۲۰).

تجویز دیکلوفناک کاهش معنی دارکلیرانس کراتینین و افزایش معنی دار غلظت پلاسمایی آن را نسبت به گروه کنترل سبب گردید که این نتایج با مطالعات قبلی مطابقت دارد(۲۲). درمان هم زمان با جنتامایسین و دیکلوفناک باعث افزایش معنی دار غلظت کراتینین پلاسما و کاهش معنی دار کلیرانس کراتینین نسبت به گروه جنتامایسین شد. دیکلوفناک با تخریب سلولهای اپیتلیالی، افزایش نکروز و فیبروز بافتی کلیه و همچنین با آتروفی توبولی و گلومرولی بر عملکرد کلیه تاثیر می‌گذارد(۹). مشابه مطالعات قبلی (۲۳) جنتامایسین باعث افزایش دفع ادراری سدیم و پتاسیم در نتیجه افزایش FENa وFEK گردید.

جنتامایسین می‌تواند با مهار اکسیداتیو Na^{+}/K^{+} ATPase و کانال های سدیمی باعث تورم سلولی، از بین رفتن تمامیت غشا و نکروز گردد(۲۴). دفع نسبی سدیم در گروه دیکلوفناک نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ولی این کاهش معنی دار نبود. درمان هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک باعث کاهش معنی دار دفع نسبی سدیم نسبت به گروه جنتامایسین شد. مطالعات گذشته نشان دادند که مهار کننده های آنزیمهای سیکلواکسیژناز مانند دیکلوفناک و ایندومتاسین اثر افزایشی روی بیان کوترانسپورتر NKCC در شاخه ضخیم صعودی قوس هنله دارا می باشد که باعث بالا بردن سرعت بازجذب NaCl می شود و همچنین دیکلوفناک یک اثر افزایشی روی بیان مبادله گر NHE دارا می باشد (۲۵). بنابراین اثر کاهشی دیکلوفناک در دفع نسبی سدیم ممکن است به دلیل اختلال در جذب توبولی سدیم باشد. نتایج نشان دادند که اسمولالیته پلاسما بین گروه ها تغییر معنی داری نیافت. ولی اسمولالیته ادرار در گروه جنتامایسین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری یافت. مطالعات نشان دادند که کاهش اسمولالیته ادرار توسط جنتامایسین به علت اثر آن بر روی کاهش بیان AQP_2 می باشد(۲۶). اسمولالیته ادرار در گروه دیکلوفناک نیز نسبت به گروه کنترل کاهش یافت که می‌تواند به علت نارسایی کلیوی غیرالیگوریک در گروه

دیکلوفناک باشد(۲۲). درمان هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک باعث کاهش معنی دار اسمولالیته نسبت به گروه جنتامایسین شدکه به علت اثر این دو ماده بر روی کلیه از طریق مکانیسم های متفاوت میباشد. در این مطالعه فشار خون در بین گروه ها ی مختلف اختلاف معنی داری را نشان نداد که علت تغییر نکردن فشارخون، دخالت مکانیسم های کوتاه مدت و میان مدت تنظیم فشار خون می‌باشد (۲۷).

در این مطالعه جنتامایسین باعث کاهش جریان خون شریانی کلیه شد که مطابق مطالعات قبلی می تواند با افزایش مقاومت عروق کلیه رخ دهد(۲۸). افزایش مقاومت عروق کلیه ناشی از فعال شدن فیدبک لوله ای–گلومرولی (TGF) می باشد(۱). این افزایش مقاومت ناشی از افزایش تولید واسطه های تنگ‌کننده رگی مانند فاکتور فعال کننده پلاکتی (Platelet =PAF activating factor) و اندوتلین–۱ در عروق کلیه و بخش مزانژیال می باشد، همچنین این افزایش مقاومت می‌تواند تحت اثر مستقیم جنتامایسین روی سلولهای عروقی باشد(۳۰و۲۹). در گروه دیکلوفناک جریان خون کلیه نسبت به گروه کنترل کاهش یافت که می تواند به دلیل اثر مهارکننده دیکلوفناک بر روی آنزیم‌های COX-1 و COX-۲ باشد، مهار این آنزیم‌ها از تولید پروستاگلاندین ها جلوگیری می کند. از جمله مهم‌ترین این پروستاگلاندین ها، پروستاگلاندین E_2 و پروستاگلاندین I_2 می باشد که دارای نقش مهمی در اتساع عروق کلیوی و افزایش جریان خون می باشند (۱۰). همچنین مهار آنزیم های سیکلواکسیژناز ۱و۲ مسیر اسید آراشیدونیک را به سمت تولید لوکوترین های انقباضی منحرف می کند که علاوه بر کاهش جریان خون کلیه می توانند سبب افزایش نفوذپذیری مویرگی و اختلالات لوله ای گردد(۳۱). مطالعات بافت شناسی نشان دادند که جنتامایسین باعث افزایش نکروز، واکوئل دار شدن، افزایش فضای بومن و افزایش تشکیل قالب های پروتئینی نسبت به گروه کنترل می شود. در گروه دیکلوفناک نیز نکروز، واکوئل دار شدن، افزایش فضای کپسول بومن، تشکیل قالب های پروتئینی و پرخونی گلومرولی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که مطابق با یافته های قبلی بود(۳۳و۳۲). درمان هم زمان جنتامایسین و دیکلوفناک باعث افزایش بیشتر واکوئل دار شدن و افزایش بیشتر فضای بومن و پرخونی شدید گلومرولی نسبت به گروه جنتامایسین شد ولی این افزایش معنی دار نبود. نتایج نشان داد که استفاده از دیکلوفناک به صورت هم زمان با جنتامایسین سبب تشدید و بدتر شدن تغییرات همودینامیکی، اختلال در دفع املاح و تغییرات بافتی ناشی از جنتامایسین می شود که می تواند به دلیل اثر دیکلوفناک در مهار تولید پروستاگلاندین ها و در نتیجه کاهش جریان خون کلیه باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اراک جهت حمایت مالی از این تحقیق تشکر و قدردانی می گردد.

The Effects of Diclofenac on Renal Toxicity Disorders Induced by Gentamicin in Rats

M. Ahmadi (MSc)[1], S. Hajihashemi (PhD)[1•], A. Rahbari (PhD)[2], F. Ghanbari (PhD)[3], M. Ahmadi (MSc)[1]

1.Department of Physiology, Arak University of Medical Sciences, Arak, I.R.Iran.

2.Department of Phatology, Arak Univercity of Medical Sciences, Arak, I.R.Iran.

3.Department of Pharmacology, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 20(2); Feb 2018; PP: 33-41

Received: Jul 5th 2017, Revised: Nov 12th 2017, Accepted: Dec 11th 2017.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Gentamicin, an antibiotic is used to treat infection with gram-negative bacteria. Due to side effects such as renal disorders, its used is limited. In this research the effect of diclofenac on gentamicin induced nephrotoxicity was examined.

METHODS: Male Wistar rats(n=32) weighting between 200-250 g were randomly divided into 4 groups (n = 8 in each group):1- control group received no drug, 2- treatment group with gentamicin (100 mg/kg/day i.p) for 8 days, 3- treatment group with diclofenac (0.5 mg/kg/day i.p) for 8 days, 4- treatment group with gentamicin (100 mg/kg/day i.p) and diclofenac (0.5 mg/kg/day i.p) for 8 days. In ninth day, blood pressure and renal artery blood flow and also level of urea, creatinine, magnesium, sodium, potassium, and osmolality were measured in urine and plasma samples. Finally, histological study was performed by using Hematoxylin and Eosin staining.

FINDINGS: Co-treatment with diclofenac significantly decreased fractional excretion of potassium (328±17.6; $P<0.001$) ، fractional excretion of sodium (0.885±0.005; $P<0.001$), excretion of urea (56.08±5.56; $P<0.001$), urine osmolality (439±14.3; $p<0.01$) and creatinine clearance ($p <0.001$, 0.427 ± 0.01 ml/min/kg) but decreased renal blood flow (3.99±0.2), which had previously been reduced by gentamicin.

CONCLUSION: The results of the study showed that diclofenac exacerbates kidney disorders caused by gentamicin.

KEY WORDS: *Gentamicine, Nephrotoxicity, Diclofenac, Rat.*

Please cite this article as follows:

Ahmadi M, Hajihashemi S, Rahbari A, Ghanbari F, Ahmadi M. The Effects of Diclofenac on Renal Toxicity Disorders Induced by Gentamicin in Rats. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(2):33-41.

• Corresponding Author; S. Hajihashemi (PhD)

Address: Department of Physiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, I.R.Iran

Tel: +98 86 34173502

E-mail: hajihashemi@arakmu.ac.ir

References

1.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 Int. 2011;79(1):33-45.

2.Schmitz C, Hilpert J, Jacobsen C, Boensch C, Christensen EI, Luft FC, et al. Megalin deficiency offers protection from renal aminoglycoside accumulation. J Biolog Chem. 2002;277(1):618-22.

3.Morales AI, Detaille D, Prieto M, Puente A, Briones E, Arévalo M, et al. Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. Kidney Int. 2010;77(10):861-9.

4.Denamur S, Tyteca D, Marchand-Brynaert J, Van Bambeke F, Tulkens PM, Courtoy PJ, et al. Role of oxidative stress in lysosomal membrane permeabilization and apoptosis induced by gentamicin, an aminoglycoside antibiotic. Free Radic Biol Med. 2011;51(9):1656-65.

5.Morales AI, Rodríguez-Barbero A, Vicente-Sánchez C, Mayoral P, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F. Resveratrol inhibits gentamicin-induced mesangial cell contraction. Life Sci. 2006;78(20):2373-7.

6.Martínez-Salgado C, Eleno N, Tavares P, Rodríguez-Barbero A, García-Criado J, Bolaños JP, et al. Involvement of reactive oxygen species on gentamicin-induced mesangial cell activation. Kidney Int. 2002;62(5):1682-92.

7.Derakhshanfar A, Bidadkosh A, Kazeminia S. Vitamin E protection against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats: a biochemical and histopathologic study. Iran J Vet Res. 2007;8(3):231-8.

8.Stojiljković N, Veljković S, Mihailović D, Stoiljković M, Radovanović D, Ranđelović[1] P. The effect of calcium channel blocker verapamil on gentamicin nephrotoxicity in rats. Bosni J Basic Med Sci. 2008;8(2):170-6.

9.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 Veterin Animal Sci. 2003;27(5):1131-40.

10.Lomas AL, Grauer GF. The renal effects of nsaids in dogs. J Am Animal Hos Associat. 2015;51(3):197-203.

11.Hajihashemi S, Hamidizad Z, Rahbari A, Ghanbari F, Motealeghi ZA. Effects of cobalamin (vitamin b12) on gentamicin induced nephrotoxicity in rat. Drug Res (Stuttg). 2017;67(12):710-718.

12.Ahmadi M, Hajihashemi S, Chehrei A, Hosseini N. Therapeutic effects of Urtica dioica methanolic extract on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Koomesh. 2014;15(2):220-31.[In Persian].

13.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.

14.Tonussi CR, Ferreira SH. Mechanism of diclofenac analgesia: direct blockade of inflammatory sensitization. Eur J Pharmacol. 1994;251(2-3):173-9.

15.Whitesall SE, Hoff JB, Vollmer AP, D'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.

16.Ashtiyani SC, Zohrabi M, Hassanpoor A, Hosseini N, Hajihashemi S. Oral administration of the aqueous extract of Rosmarinus officinalis in rats before renal reperfusion injury. Iran J Kidney Dis. 2013 Sep;7(5):367-75.

17.Hajihashemi 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. 2018.

18.Laustsen C, Østergaard JA, Lauritzen MH, Nørregaard R, Bowen S, Søgaard LV, et al. Assessment of early diabetic renal changes with hyperpolarized [1-13C] pyruvate. Diabet/Metabol Res Rev. 2013;29(2):125-9.

19.Al-Shabanah OA, Aleisa AM, Al-Yahya AA, Al-Rejaie SS, Bakheet SA, Fatani AG, et al. 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.

20.Savin V, Karniski L, Cuppage F, Hodges G, Chonko A. Effect of gentamicin on isolated glomeruli and proximal tubules of the rabbit. J Technic Method Pathol. 1985;52(1):93-102.

21.Martnez-Salgado C, Rodrguez-Barbero A, Tavares P, Eleno N, lida e, Lpez-Novoa J, et al. Role of calcium in gentamicin-induced mesangial cell activation. Cell Physiol Biochem. 2000;10(1-2):65-72.

22.Besen A, Kose F, Paydas S, Gonlusen G, Inal T, Dogan A, et al. The effects of the nonsteroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium on the rat kidney, and alteration by furosemide. Int Urolog Nephrol. 2009;41(4):919-26.

23.Gowrisri M, Kotagiri S, Vrushabendra Swamy B, Archana Swamy P, Vishwanath K. Anti-oxidant and nephroprotective activities of Cassia occidentalis leaf extract against gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Res J Pharm Biol Chem Sci. 2012;3:684-94.
24.Cuzzocrea S, Thiemermann C, Salvemini D. Potential therapeutic effect of antioxidant therapy in shock and inflammation. Curr Med Chem. 2004;11(9):1147-62.
25.Fernández-Llama P, Ecelbarger CA, Ware JA, Andrews P, Lee AJ, Turner R, et al. Cyclooxygenase inhibitors increase Na-K-2Cl cotransporter abundance in thick ascending limb of Henle's loop. Am J Physiol-Ren Physiol. 1999;277(2):219-26.
26.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.
27.Wu X, Kentner R, Stezoski J, Kochanek PM, Jackson EK, Carlos TM, et al. Intraperitoneal, but not enteric, adenosine administration improves survival after volume-controlled hemorrhagic shock in rats. Crit Care Med. 2001;29(9):1767-73.
28.Morales AI, Buitrago JM, Santiago JM, Fernández-Tagarro M, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F. Protective effect of trans-resveratrol on gentamicin-induced nephrotoxicity. Antioxidant Redox Signal. 2002;4(6):893-8.
29.Valdivielso JM, Rivas-Cabañero L, Morales AI, Arévalo M, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F. Increased renal glomerular endothelin-1 release in gentamicin-induced nephrotoxicity. Int J Experiment Pathol. 1999;80(5):265.
30.Shahbazi F, Dashti-Khavidaki S, Khalili H, Lessan-Pezeshki M. Potential renoprotective effects of silymarin against nephrotoxic drugs: a review of literature. J Pharm Pharmaceut Sci. 2012;15(1):112-23.
31.Gulbins E, Parekh N, Rauterberg E, Schlottmann K, Steinhausen M. Cysteinyl leukotriene actions on the microcirculation of the normal and split hydronephrotic rat kidney. Eur J Clin Investigat. 1991;21(2):184-96.
32.Gökçimen A, Aydin G, lsen u, Karaöz E, Malas MA, Öncü M. Effect of diclofenac sodium administration during pregnancy in the postnatal period. Fet Diagnos Thera. 2001;16(6):417-22.
33.Gokcimen A, Akdogan G, Karaoz E. Structural and biochemical changes in liver and renal tissues induced by an acute high dose of diclofenac sodium in rats. Biomed Res. 2000;11(3):293-302.