

تغییرات سطوح سرمی نیترات و نیتريت و وابستگی جنس در نفروتوکسیستی ناشی از سیس‌پلاتین

دکتر مهدی نعمت بخش^۱، سید محمدعلی سروش‌زاده^۲، زهرا پزشکی^۳، دکتر اردشیر طالبی^۴، دکتر فرزانه اشرفی^۵

چکیده

مقدمه: شایع‌ترین عارضه‌ی درمان با سیس‌پلاتین در کلینیک نفروتوکسیستی ناشی از آن است که سیستم نیتريك اکسید را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. عوارض سیس‌پلاتین می‌تواند وابسته به جنس باشد اما این که سیستم نیتريك اکسید از این وابستگی در فرایند درمان با سیس‌پلاتین تبعیت می‌کند یا خیر، مطالعه‌ای در دست نیست. این مطالعه با هدف تعیین نقش سیس‌پلاتین و جنسیت در تغییرات سطوح سرمی کل متابولیت‌های نیتريك اکسید، نیترات و نیتريت در نفروتوکسیستی ناشی از سیس‌پلاتین طراحی گردید.

روش‌ها: ۲۵ سر رت نر و ماده از نژاد ویستار به طور تصادفی در چهار گروه مورد آزمایش قرار گرفتند. گروه‌های ۱ و ۲ رت‌های نر و ماده دریافت‌کننده‌ی سالیین به عنوان گروه‌های شاهد و گروه‌های ۳ و ۴ رت‌های نر و ماده دریافت‌کننده‌ی سیس‌پلاتین به صورت تک دوز به میزان ۷ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به عنوان گروه‌های آزمایش در نظر گرفته شدند. یک هفته پس از تزریق سیس‌پلاتین سطوح سرمی NOx اندازه‌گیری شد و بافت کلیه مورد ارزیابی هیستوپاتولوژی قرار گرفت.

یافته‌ها: سطوح سرمی NOx در گروه ۳، $7/54 \pm 50/71$ و در گروه ۱، $3 \pm 22/43$ میلی‌مول در لیتر بود ($P < 0/05$). نیتريت در گروه ۳، $37/7 \pm 4$ و در گروه ۱، $2/1 \pm 13/2$ میلی‌مول در لیتر بود ($P < 0/05$). در حیوانات نر دریافت‌کننده‌ی سیس‌پلاتین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت، در حالی که این فرایند در جنس ماده مشاهده نشد. شدت آسیب بافتی همچنین در حیوانات نر بیش از حیوانات ماده بود.

نتیجه‌گیری: تأثیر سیس‌پلاتین بر تغییرات متابولیت‌های نیتريك اکسید و همچنین آسیب بافت کلیوی آن می‌تواند وابسته به جنس باشد. نتایج این بررسی حاکی از آن است که متابولیت نیتريت نسبت به نیترات تغییرات قابل ملاحظه‌تری را پس از تزریق سیس‌پلاتین نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: سیس‌پلاتین، نفروتوکسیستی، نیتريك اکساید، جنس، رت

مقدمه

اختلالات الکترولیتی، هیپریورسمی و مصرف هم‌زمان داروهای نفروتوکسیک می‌توانند فرد را مستعد نارسایی کلیه کنند (۱۷-۲). شیمی‌درمانی یکی از درمان‌های متداول در درمان اغلب سرطان‌ها است. بسیاری از داروهای ضد سرطان، نفروتوکسیستی وابسته به دوز قابل پیش‌بینی دارند. بعضی از داروها

نفروتوکسیستی دارویی، یک عارضه‌ی شایع شیمی‌درمانی است. شیوع آن، بسته به نوع شیمی‌درمانی و تعداد داروهای مصرف شده، ۱۰ تا ۶۰ درصد می‌باشد (۱). مواردی چون کاهش حجم داخل عروقی، درگیری کلیه، انسداد مجاری ادراری،

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای مرافه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

^۱ استاد، مرکز تحقیقات آب و الکترولیت و گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

^۲ دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

^۳ کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات آب و الکترولیت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

^۴ دانشیار، مرکز تحقیقات آب و الکترولیت و گروه آسیب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

^۵ استادیار، مرکز تحقیقات آب و الکترولیت و گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: nematbakhsh@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر مهدی نعمت بخش

بررسی‌ها نشان داده‌اند که در نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین، سطح نیتریک اکسید و متابولیت‌های آن مانند نیترات و نیتريت تغییر می‌کند. برخی مطالعات نیز تأثیر نیتریک اکسید در بروز نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین را نشان داده‌اند (۳۲-۳۳). نیتریک اکسید از نظر ظاهری گاز بی‌رنگ و از نظر ساختمان مولکولی به صورت خطی است. حضور الکترون جفت نشده، رادیکال نیتریک اکسید را به یک ترکیب بسیار واکنش‌دهنده با نیمه عمر چند ثانیه‌ای تبدیل می‌کند (۳۴). نیتریک اکسید به عنوان یک مولکول پیام‌رسان، نقش مهمی در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی مانند اتساع عروق، کاهش چسبندگی لکوسیت‌ها، حساسیت به انسولین، مهار تجمع پلاکتی، تنظیم جریان خون عضله اسکلتی، تمایز میوسیتی، تنفس سلولی، هموستاز گلوکز و تولید نیرو در عضله دارد (۳۵-۳۷). به دلیل کوتاه بودن نیمه عمر، اندازه‌گیری مستقیم نیتریک اکسید به نسبت مشکل است (۳۸-۳۹)، بنابراین اندازه‌گیری آن با استفاده از متابولیت‌های آن انجام می‌شود. نیتریک اکسید به عنوان یک مولکول ناپایدار در پلاسما به سرعت به نیتريت و نیترات تبدیل می‌شود. مجموع غلظت‌های نیتريت و نیترات، نیتریک اکسید کل (NOx یا Total Nitric Oxide metabolites) نامیده می‌شود. اندازه‌گیری متابولیت‌های نیتریک اکسید یک تخمین قابل اطمینان از برون‌ده نیتریک اکسید را در محیط *In vivo* فراهم می‌آورد (۳۹). همبستگی بالایی بین تولید نیتریک اکسید آندوژن و سطوح نیتريت/نیترات در سرم و ادرار گزارش شده است (۴۰). نیتريت نیز به متابولیت پایدارتر یعنی نیترات تبدیل می‌شود؛ به گونه‌ای که در *In vivo* نیتريت دارای نیمه

بعد از مصرف طولانی مدت دارو باعث نارسایی کلیه می‌شوند و همچنین نارسایی مزمن و غیر قابل برگشت کلیه بعد از درمان با برخی از داروها مشاهده شده است (۱۷-۲). سیس‌پلاتین سردسته‌ی گروه پلاتینیوم‌ها و از جمله داروهایی است که به صورت گسترده در درمان تعداد بسیار زیادی از سرطان‌ها استفاده می‌شود و همراه با عارضه‌ی جانبی نفروتوکسیسیته می‌باشد (۱۸). سیس‌پلاتین مهارکننده‌ی سنتز دزوکسی ریبونوکلیک اسید است و به عنوان داروی ضد سرطان در درمان سرطان بیضه، تخمدان، پستان، ریه و مثانه مصرف می‌شود (۱۹-۲۲). هر چند سیس‌پلاتین می‌تواند کبد و بیضه‌ها را دچار اختلال کند، ولی عمده‌ترین محدودیت تجویز آن نفروتوکسیسیته است (۲۳). مکانیسم‌های متعددی در سمیت کلیوی این دارو دخیل است که از جمله مهم‌ترین آن‌ها تولید گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب اکسیداتیو بافتی است. گونه‌های فعال اکسیژن به ویژه رادیکال هیدروکسیل باعث پراکسیداسیون چربی‌ها، تخریب غشاهای سلولی، اکسیداسیون پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و تخریب بافتی می‌شود که نتیجه‌ی آن کاهش فیلتراسیون گلومرولی و بروز سمیت حاد کلیوی است (۲۴-۲۶).

مطالعات گسترده نشان می‌دهند که این ترکیب از طریق اتصالات کووالانسی با ماکرومولکول‌های کلیه موجب آسیب کلیوی می‌شود (۲۷-۲۸). آسیب کلیوی حاصل از این ترکیب‌ها از لحاظ آزمایشگاهی با بالا رفتن سطوح سرمی غلظت ازت اوره‌ی خون و کراتینین و به لحاظ هیستوپاتولوژیکی به شکل آسیب‌های حاد سلولی در لوله‌های کلیوی به ویژه لوله‌های پروکسیمال مشاهده شده است (۲۹-۳۱).

محیطی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. رت‌ها به طور تصادفی در چهار گروه مورد آزمایش قرار گرفتند. گروه اول ($n = 7$) رت‌های نر دریافت‌کننده ی سالین، گروه دوم ($n = 6$) رت‌های ماده‌ی دریافت‌کننده‌ی سالین، گروه سوم ($n = 6$) رت‌های نر دریافت‌کننده‌ی تک دوز سیس‌پلاتین و گروه چهارم ($n = 6$) رت‌های ماده‌ی دریافت‌کننده‌ی تک دوز سیس‌پلاتین با دوز ۷ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بودند.

یک هفته پس از تزریق سیس‌پلاتین و سالین حیوانات با استفاده از کتامین در دوز ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بیهوش شدند و سپس خون‌گیری از طریق قلب حیوانات به عمل آمد. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۶۰۰۰ بار در دقیقه سانتریفوژ شدند، سرم‌ها جداسازی و در فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین کلیه‌ی چپ حیوانات جهت بررسی آسیب بافتی جدا شد و در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد.

سطح سرمی NOx، نیتريت و نیترات با استفاده از کیت آزمایشگاهی Assay kit nitrite/nitrate colorimetric ساخت شرکت امریکایی Cayman chemical اندازه‌گیری شد و با استفاده از دستگاه ELISA در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید. نتایج بافت‌شناسی توسط پاتولوژیست به صورت دوسوکور امتیازبندی شد. ضایعات کمتر از ۲۵ درصد امتیاز یک، ضایعات بین ۲۵ تا ۵۰ درصد امتیاز دو، ضایعات بین ۵۰ تا ۷۵ درصد امتیاز سه، ضایعات بالاتر از ۷۵ درصد امتیاز چهار و به بافت بدون آسیب امتیاز صفر تعلق گرفت. لازم به ذکر است که این پژوهش به تأیید کمیته‌ی

عمر کوتاه است. بر اساس مطالعات انجام‌شده به دنبال نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین افزایش سطح سرمی نیتريت و نیترات مشاهده شده است (۴۱، ۳۲). از آن جایی که سیس‌پلاتین عملکرد آندوتلیال را دچار اختلال می‌کند افزایش سطح نیتریک اکسید نمی‌تواند بر افزایش عملکرد آندوتلیال دلالت داشته باشد (۴۲). همچنین پاسخ متفاوت جنسیت در نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین در مطالعات حیوانی گزارش شده است. شدت نفروتوکسیسیته در حیوانات نر می‌تواند بیشتر از حیوانات ماده باشد (۴۲). نتایج حاصل از استفاده از مکمل‌هایی نظیر ال-آرژنین و لوزارتان بر کاهش نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین در دو جنس متفاوت بوده است (۴۳-۴۲). همچنین گزارش شده است که هورمون جنسی زنانه‌ی استروژن می‌تواند اثرات مثبت آنتی‌اکسیدانی موادی همچون ویتامین‌های A و C و لوزارتان را از بین ببرد (۴۴).

در مطالعات متفاوت تغییرات سطح نیتريت و نیترات در بروز نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین نشان داده شده است، ولی مشخص نشده است که سطح کدام یک از متابولیت‌های حاضر دچار تغییر بیشتری می‌شود و وابستگی به جنس چگونه است. به همین دلیل این مطالعه با هدف بررسی تغییرات سطح متابولیت‌های اکسید نیتریک طراحی شد.

روش‌ها

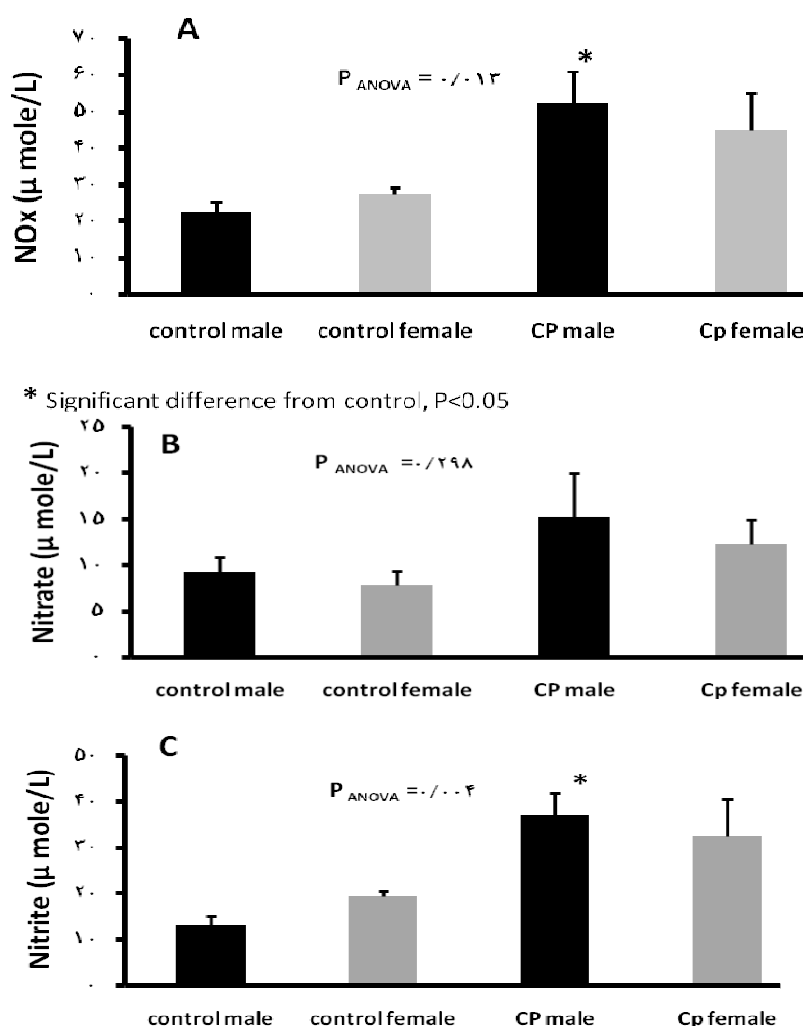
در این تحقیق ۲۵ سر رت نر و ماده از نژاد ویستار (پرورش‌یافته در لانه‌ی حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان) انتخاب شدند. تمامی حیوانات در دمای استاندارد، دسترسی آزاد به آب و غذا و در شرایط

اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رسید.

داده‌های جمع‌آوری شده هر گروه با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های آماری One way ANOVA با آزمون تعقیبی Tukey جهت بررسی سطح سرمی NOx، نیتريت و نیترات مورد استفاده قرار گرفت. برای مقایسه‌ی نتایج بافت‌شناسی از آزمون Mann-Whitney استفاده شد. در این مطالعه $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

افزایش سطح سرمی NOx در حیوانات دریافت‌کننده‌ی سیس‌پلاتین در جنس نر و ماده دیده شد. این افزایش در جنس نر به صورت معنی‌داری مشاهده گردید ($P < 0/05$) (شکل ۱- A). همچنین بررسی نتایج حاصل از سطح سرمی نیتريت نیز نشان‌دهنده‌ی افزایش معنی‌دار آن در جنس نر نسبت به گروه شاهد بود، در حالی که افزایش معنی‌داری در جنس ماده مشاهده نشد (شکل ۱- C).



* Significant difference from control, $P < 0.05$

شکل ۱. سطوح سرمی NOx، نیتريت و نیترات در گروه‌های مورد مطالعه. افزایش سطوح سرمی NOx و نیتريت در حیوانات نر دریافت‌کننده‌ی سیس‌پلاتین تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P < 0/05$). این فرایند در جنس ماده مشاهده نشد.

جدول ۱. نمره‌ی آسیب بافتی در گروه‌های مورد مطالعه

مقدار P	تعداد کل	نمره‌ی آسیب بافتی					گروه
		۴	۳	۲	۱	۰	
۰/۷۳	۷				۲	۵	نر (شاهد)
	۶				۱	۵	ماده (شاهد)
۰/۰۶	۶		۳	۲	۱		نر (سیس‌پلاتین)
	۶		۱	۳	۱	۱	ماده (سیس‌پلاتین)

نیتروژن واکنشی نظیر NO_2^- ، NO_3^- و NO در بیماری‌هایی نظیر سیستیک فیبروزیس، آسیب‌های سوختگی، سرطان کبد و غیره مشاهده شده است (۴۶). در این مطالعه تجویز سیس‌پلاتین منجر به افزایش سطوح سرمی NO_x و نیتريت شد و بر روی نیتريت اثری نداشت. مطالعه‌ی Ekor و همکاران نیز نشان از افزایش سطح تام نیتريت و نیتريت قبل و بعد از تزریق سیس‌پلاتین داشت (۳۲). Minamiyama و همکاران نیز نتایج مشابهی به دست آوردند (۴۷).

در مطالعه‌ای دیگر، Aleisa و همکاران پس از تزریق سیس‌پلاتین، کلیه‌ی رت‌ها را از نظر پاتولوژی بررسی کردند و نفروتوکسیسیته‌ی شدیدی را مشاهده نمودند؛ به طوری که ۵۰ تا ۷۵ درصد از گلوبول‌ها و توپول‌های کلیوی دچار تغییرات شدید دژنراتیو شدند و میزان تام نیتريت و نیتريت بافت کلیه نیز افزایش یافت (۴۱). همچنین گزارش شده است که در بین متابولیت‌های نیتریک اکسید، نیتريت سهم بیشتری نسبت به نیتريت دارد و ناشی از فعالیت eNOS (Endothelial nitric oxide synthase) است (۴۸). Kim و همکاران گزارش نمودند که در نفروپاتی ناشی از سیس‌پلاتین نیتریک اکسید ناشی از iNOS (Inducible nitric oxide synthase) افزایش می‌یابد (۴۹). از طرفی افزایش نیتریک اکسید ناشی از iNOS و mNOS (Mitochondrial nitric oxide synthase) و

بر خلاف NO_x و نیتريت در سطح سرمی نیتريت در جنس نر تغییرات قابل ملاحظه‌ای یافت نشد (شکل ۱-B).

نتایج مربوط به بافت‌شناسی کلیوی در دو جنس نشان‌دهنده‌ی افزایش آسیب در جنس نر نسبت به جنس ماده بود (جدول ۱).

بحث

هدف این مطالعه، بررسی نقش جنسیت در تغییرات سطوح سرمی NO_x ، نیتريت و نیتريت در نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین بود. یافته‌ها حاکی از تغییرات سطوح سرمی NO_x و نیتريت پس از تزریق سیس‌پلاتین بود. این تغییرات فقط در جنس نر مشاهده شد. نقش نیتریک اکسید در بروز و حتی افزایش شدت نفروتوکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین گزارش شده است (۳۲-۳۳). تزریق سیس‌پلاتین سطوح کلی نیتريت و نیتريت را افزایش داده است (۴۱)، اما این نکته که آیا تغییرات افزایش نیتریک اکسید نشانه‌ی افزایش عملکرد بهتر آندوتلیال است یا خیر جای سؤال است؛ چرا که سیس‌پلاتین عملکرد آندوتلیال را دچار اختلال می‌کند (۴۲). افزایش سطح سرمی نیتريت در فرایند آتروسکلروز نیز با وجود اختلال در عملکرد آندوتلیال عروق مشاهده شده است (۴۵). همچنین افزایش تولید گونه‌های مختلف

حیوانی پلی‌سیستیک کلیوی در رت‌های نر نسبت به ماده بیشتر بوده است (۵۴).

مطالعه‌ی Perez-Torres و همکاران پیشنهاد می‌کند که هورمون‌های جنسی نیتریک اکسید آندوتلیوم را کنترل می‌کند (۵۵). از طرف دیگر، متفاوت بودن تطابق عروق دو جنس در مواجهه شدن با مهار سیستم نیتریک اکسید توسط L-NAME نیز وجود دارد (۵۶). بنابراین شاید ضمن قبول پاسخ متفاوت سیستم نیتریک اکسید در دو جنس نسبت به سیس‌پلاتین یافتن مکانیسم دقیق آن نیاز به تحقیقات آتی را طلب کند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت‌های حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تشکر و قدردانی می‌شود.

عاملی برای افزایش شدت توکسیسیته ناشی از سیس‌پلاتین است (۵۱-۵۰). شاید علت افزایش آسیب تحت تأثیر قرار گرفتن iNOS از سیس‌پلاتین است، در صورتی که سیس‌پلاتین eNOS و nNOS را کاهش می‌دهد (۵۲). iNOS در بدن توانایی چند برابر eNOS و nNOS را دارد و قادر است مقدار زیادی از NO ایجاد کند و در شرایط استرس اکسیداتیو می‌تواند با آنیون سوپر اکسید واکنش دهد و منجر به تغییر تعداد زیادی از مولکول‌های زیستی شود. ثابت شده است که استفاده از مهارکننده‌ی بازگشت ناپذیر iNOS آسیب ناشی از سیس‌پلاتین را کاهش می‌دهد (۵۳).

در رابطه با تفاوت جنسیت گزارش شده است که سطح سرمی کراتینین در پاسخ به L-NAME (L-NG-Nitroarginine Methyl Ester) که یک مهارکننده‌ی سیستم نیتریک اکسید است، در مدل

References

1. Aleksa K, Woodland C, Koren G. Young age and the risk for ifosfamide-induced nephrotoxicity: a critical review of two opposing studies. *Pediatr Nephrol* 2001; 16(12): 1153-8.
2. Bardi E, Olah AV, Bartyik K, Endreffy E, Jenei C, Kappelmayer J, et al. Late effects on renal glomerular and tubular function in childhood cancer survivors. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 43(6): 668-73.
3. English MW, Skinner R, Pearson AD, Price L, Wyllie R, Craft AW. Dose-related nephrotoxicity of carboplatin in children. *Br J Cancer* 1999; 81(2): 336-41.
4. Erdlenbruch B, Pekrum A, Roth C, Grunewald RW, Kern W, Lakomek M. Cisplatin nephrotoxicity in children after continuous 72-h and 3x1-h infusions. *Pediatr Nephrol* 2001; 16(7): 586-93.
5. Hanigan MH, Devarajan P. Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. *Cancer Ther* 2003; 1: 47-61.
6. Hayek M, Srinivasan A. Acute lymphoblastic leukemia presenting with lactic acidosis and renal tubular dysfunction. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25(6): 488-90.
7. Kakihara T, Imai C, Hotta H, Ikarashi Y, Tanaka A, Uchiyama M. Impaired tubular excretory function as a late renal side effect of chemotherapy in children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25(3): 209-14.
8. Koch Nogueira PC, Hadj-Aissa A, Schell M, Dubourg L, Brunat-Mentigny M, Cochat P. Long-term nephrotoxicity of cisplatin, ifosfamide, and methotrexate in osteosarcoma. *Pediatr Nephrol* 1998; 12(7): 572-5.
9. Kopecna L. Late effects of anticancer therapy on kidney function in children with acute lymphoblastic leukemia. *Bratisl Lek Listy* 2001; 102(8): 357-60.
10. Lee BS, Lee JH, Kang HG, Hahn H, Lee JH, Shin HY, et al. Ifosfamide nephrotoxicity in pediatric cancer patients. *Pediatr Nephrol* 2001; 16(10): 796-9.
11. Loebstein R, Koren G. Ifosfamide-induced nephrotoxicity in children: critical review of predictive risk factors. *Pediatrics* 1998; 101(6): E8.
12. McCune JS, Friedman DL, Schuetze S, Blough D, Magbulos M, Hawkins DS. Influence of age upon Ifosfamide-induced nephrotoxicity. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 42(5): 427-32.
13. Ramesh G, Reeves WB. Salicylate reduces

- cisplatin nephrotoxicity by inhibition of tumor necrosis factor-alpha. *Kidney Int* 2004; 65(2): 490-9.
14. Rossi RM, Kist C, Wurster U, Kulpmann WR, Ehrlich JH. Estimation of ifosfamide/cisplatin-induced renal toxicity by urinary protein analysis. *Pediatr Nephrol* 1994; 8(2): 151-6.
 15. Safirestein RL. Renal diseases incuded by antineoplastic agents. In: Schrier RW, editor. *Diseases of the kidney and urinary tract*. 7th ed. Philadelphia, PA: Williams & Wilkins; 2001. p. 1175-88.
 16. Skinner R. Chronic ifosfamide nephrotoxicity in children. *Med Pediatr Oncol* 2003; 41(3): 190-7.
 17. Skinner R, Pearson AD, English MW, Price L, Wyllie RA, Coulthard MG, et al. Risk factors for ifosfamide nephrotoxicity in children. *Lancet* 1996; 348(9027): 578-80.
 18. Johnson SW, O'Dwyer PJ. Pharmacology of cancer chemotherapy: cisplatin and its analogues. In: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, editors. 7th ed. *Cancer: principles and practice of oncology*: Philadelphia, PA; 2005. p. 344-58.
 19. Goodman LS, Limbird LE, Milinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG. *Goodman and Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics*. 9th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 1996. p. 1269-71.
 20. Reynolds James EF. *Martindale: the extra pharmacopoeia*. 31st ed. London, UK: Royal Pharmaceutical Society; 1996. p. 513-5.
 21. Garnick MB, Mayer RJ, Abelson HT. Acute renal failure associated with cancer treatment. In: Brenner BM, Lazarus JM, editors. *Acute renal failure*. 3rd ed. London, UK: Churchill Livingstone; 1998. p. 527-38.
 22. Rozenewig M, van Hoff DD, Slavil M, Muggia FM. Cis-diaminedichloroplatinum, a new anticancer agent. *Ann Int Med* 1977; 86(803): 809.
 23. Winston JA, Safirstein R. Reduced renal blood flow in early cisplatin-induced acute renal failure in the rat. *Am J Physiol* 1985; 249(4 Pt 2): F490-F496.
 24. Sugihara K, Nakano S, Koda M, Tanaka K, Fukuishi N, Gemba M. Stimulatory effect of cisplatin on production of lipid peroxidation in renal tissues. *Jpn J Pharmacol* 1987; 43(3): 247-52.
 25. Matsushima H, Yonemura K, Ohishi K, Hishida A. The role of oxygen free radicals in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *J Lab Clin Med* 1998; 131(6): 518-26.
 26. Satoh M, Kashihara N, Fujimoto S, Horike H, Tokura T, Namikoshi T, et al. A novel free radical scavenger, edarabone, protects against cisplatin-induced acute renal damage in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 305(3): 1183-90.
 27. Ban M, Hettich D, Hugué N. Nephrotoxicity mechanism of cis-platinum (II) diamine dichloride in mice. *Toxicol Lett* 1994; 71(2): 161-8.
 28. Hayashi M, Numaguchi M, Watabe H, Enomoto H, Yaoi Y. Cisplatin-induced nephrotoxicity and the protective effect of fosfomycin on it as demonstrated by using a crossover study of urinary metabolite levels. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997; 76(6): 590-5.
 29. Osman AM, El-Sayed EM, El-Demerdash E, Al-Hyder A, El-Didi M, Attia AS, et al. Prevention of cisplatin-induced nephrotoxicity by methimazole. *Pharmacol Res* 2000; 41(1): 115-21.
 30. Lau AH. Apoptosis induced by cisplatin nephrotoxic injury. *Kidney Int* 1999; 56(4): 1295-8.
 31. Wolfgang GH, Dominick MA, Walsh KM, Hoeschele JD, Pegg DG. Comparative nephrotoxicity of a novel platinum compound, cisplatin, and carboplatin in male Wistar rats. *Fundam Appl Toxicol* 1994; 22(1): 73-9.
 32. Ekor M, Emerole GO, Farombi EO. Phenolic extract of soybean (*Glycine max*) attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(4): 1005-12.
 33. Saad SY, Najjar TA, Daba MH, Al-Rikabi AC. Inhibition of nitric oxide synthase aggravates cisplatin-induced nephrotoxicity: effect of 2-amino-4-methylpyridine. *Chemotherapy* 2002; 48(6): 309-15.
 34. Khanna A, Cowled PA, Fitridge RA. Nitric oxide and skeletal muscle reperfusion injury: current controversies (research review). *J Surg Res* 2005; 128(1): 98-107.
 35. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43(2): 109-42.
 36. Pollock JS, Forstermann U, Tracey WR, Nakane M. Nitric oxide synthase isozymes antibodies. *Histochem J* 1995; 27(10): 738-44.
 37. Marechal G, Gailly P. Effects of nitric oxide on the contraction of skeletal muscle. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55(8-9): 1088-102.
 38. Guevara I, Iwanejko J, Dembinska-Kiec A, Pankiewicz J, Wanat A, Anna P, et al. Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. *Clin Chim Acta* 1998; 274(2): 177-88.
 39. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 2001; 5(1): 62-71.
 40. Granger DL, Taintor RR, Boockvar KS, Hibbs JB, Jr. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction. *Methods Enzymol* 1996; 268: 142-51.
 41. Aleisa AM, Al-Majed AA, Al-Yahya AA, Al-Rejaie SS, Bakheet SA, Al-Shabanah OA, et al.

- Reversal of cisplatin-induced carnitine deficiency and energy starvation by propionyl-L-carnitine in rat kidney tissues. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34(12): 1252-9.
42. Eshraghi-Jazi F, Nematbakhsh M, Nasri H, Talebi A, Haghghi M, Pezeshki Z, et al. The protective role of endogenous nitric oxide donor (L-arginine) in cisplatin-induced nephrotoxicity: Gender related differences in rat model. *J Res Med Sci* 2011; 16(11): 1389-96.
43. Haghghi M, Nematbakhsh M, Talebi A, Nasri H, Ashrafi F, Roshanaei K, et al. The role of angiotensin II receptor 1 (AT1) blockade in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: gender-related differences. *Ren Fail* 2012; 34(8): 1046-51.
44. Nematbakhsh M, Pezeshki Z, Eshraghi-Jazi F, Ashrafi F, Nasri H, Talebi A, et al. Vitamin E, Vitamin C, or Losartan Is Not Nephroprotectant against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Presence of Estrogen in Ovariectomized Rat Model. *Int J Nephrol* 2012; 2012: 284896.
45. Haghjooyjavanmard S, Nematbakhsh M, Monajemi A, Soleimani M. von Willebrand factor, C-reactive protein, nitric oxide, and vascular endothelial growth factor in a dietary reversal model of hypercholesterolemia in rabbit. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2008; 152(1): 91-5.
46. Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Mol Aspects Med* 1998; 19(4-5): 221-357.
47. Minamiyama Y, Takemura S, Toyokuni S, Nishino Y, Yamasaki K, Hai S, et al. Amelioration of cisplatin toxicity by a fermented grain food product. *Biofactors* 2002; 16(3-4): 105-15.
48. Arya A, Yadav HN, Sharma PL. Involvement of vascular endothelial nitric oxide synthase in development of experimental diabetic nephropathy in rats. *Mol Cell Biochem* 2011; 354(1-2): 57-66.
49. Kim CS, Choi JS, Park JW, Bae EH, Ma SK, Lee J, et al. Altered regulation of nitric oxide and natriuretic peptide system in cisplatin-induced nephropathy. *Regul Pept* 2012; 174(1-3): 65-70.
50. Adams C, McCarthy HO, Coulter JA, Worthington J, Murphy C, Robson T, et al. Nitric oxide synthase gene therapy enhances the toxicity of cisplatin in cancer cells. *J Gene Med* 2009; 11(2): 160-8.
51. Jung M, Hotter G, Vinas JL, Sola A. Cisplatin upregulates mitochondrial nitric oxide synthase and peroxynitrite formation to promote renal injury. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 234(2): 236-46.
52. Leung EL, Fraser M, Fiscus RR, Tsang BK. Cisplatin alters nitric oxide synthase levels in human ovarian cancer cells: involvement in p53 regulation and cisplatin resistance. *Br J Cancer* 2008; 98(11): 1803-9.
53. Chirino YI, Trujillo J, Sanchez-Gonzalez DJ, Martinez-Martinez CM, Cruz C, Bobadilla NA, et al. Selective iNOS inhibition reduces renal damage induced by cisplatin. *Toxicol Lett* 2008; 176(1): 48-57.
54. Yoshida I, Bengal R, Torres VE. Gender-dependent effect of L-NAME on polycystic kidney disease in Han:SPRD rats. *Am J Kidney Dis* 2000; 35(5): 930-6.
55. Perez-Torres I, Roque P, El HM, Diaz-Diaz E, Banos G. Association of renal damage and oxidative stress in a rat model of metabolic syndrome. Influence of gender. *Free Radic Res* 2009; 43(8): 761-71.
56. Wu Y, Huang A, Sun D, Falck JR, Koller A, Kaley G. Gender-specific compensation for the lack of NO in the mediation of flow-induced arteriolar dilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280(6): H2456-H2461.

Gender Difference in the Serum Levels of Total Nitric Oxide Metabolites, Nitrite, and Nitrate in Cisplatin-induced Nephrotoxicity in Rats

Mehdi Nematbakhsh PhD¹, Syeed Mohammad-Ali Sorooshzadeh², Zahara Pezeshki MSc³, Ardeshir Talebi MD⁴, Farzaneh Ashrafi MD⁵

Abstract

Background: Nephrotoxicity is the most common adverse effect of cisplatin therapy in clinic, which also disturbs the nitric oxide system. Cisplatin-induced nephrotoxicity may be gender-related; nevertheless, no information has been well documented regarding the gender-specific influences of cisplatin on nitric oxide metabolites. In order to narrow this gap, this study was designed to determine the gender difference in the serum levels of total nitric oxide metabolites (NOx), nitrite, and nitrate in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats.

Methods: 25 male and female rats were randomly divided into 4 groups. The male groups 1 and 3 were received saline (control) and a single dose of cisplatin (7 mg/kg), respectively. The female groups 2 and 4 also received similar treatments. One week later, the blood samples were obtained and the animals were sacrificed for pathological investigation.

Findings: The serum levels of NOx (group 1 = 22.43 ± 3 mmole/liter, group 3 = 50.71 ± 7.52 , $P < 0.05$), and nitrite (group 1 = 13.2 ± 2.1 mmole/liter, group 3 = 37.7 ± 4 , $P < 0.05$) in male animals treated with cisplatin was significantly higher than the control group. Such finding was not seen in female rats. The intensity of kidney tissue damage in male rats was also more marked compared with the female animals.

Conclusion: The effect of cisplatin on nitric oxide metabolites could be gender related, and nitrite is more influenced by cisplatin than nitrate. More studies may be needed for clarifying the exact mechanisms.

Keywords: Cisplatin, Adverse effects, Nitric oxide, Sex, Rats

* This paper is derived from a medical doctorate thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

¹ Professor, Water and Electrolytes Research Center AND Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

² Student of Medicine, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

³ Water and Electrolytes Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

⁴ Associate Professor, Water and Electrolytes Research Center AND Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

⁵ Assistant Professor, Water and Electrolytes Research Center AND Department of Internal Medicine, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mehdi Nematbakhsh PhD, Email: nematbakhsh@med.mui.ac.ir