

# تأثیر استرادیول بر شاخص استرس اکسیداتیو و سطوح نیتریک اکساید در انسداد یک طرفه میزنای در رت تخمدان برداری شده

زهرا لک<sup>۱</sup>، مهدی نعمت بخش<sup>۲</sup>، اکبر وحدتی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران، <sup>۲</sup>مرکز تحقیقات آب و الکترولیت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۹/۰۸/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۱

## چکیده

**زمینه و هدف:** انسداد یک‌طرفه میزنای (UUO) یک اختلال شایع در سیستم کلیوی است که ممکن است باعث آسیب غیر قابل بازگشت کلیه شود و وابسته به طول دوره انسداد و میزان آسیب بافت کلیه و اختلال در عملکرد آن می‌باشد. هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر استرادیول بر شاخص استرس اکسیداتیو و سطوح نیتریک اکساید در انسداد یک طرفه میزنای در رت تخمدان برداری شده بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۶ انجام شد، ۸۴ سر رت ویستار اوورکتومی شده ( $180 \pm 20$  گرم) به صورت تصادفی به ۱۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه ۱ (گروه شم) بدون جراحی بود و تمام گروه‌های ۲ تا ۱۴ دچار انسداد حالب یک طرفه شده و بعضی از آنها تحت درمان دارو قرار گرفتند. بدین ترتیب که: گروه ۳، ۲-۳ روز پس از UUO و دریافت دارو (روغن کنجد، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرادیول) به ترتیب ساکریفایز شدند، گروه ۵-۷، ۳ روز پس از UUO و دریافت دارو رفع انسداد شده (RUUU) و روز بعد ساکریفایز شدند، گروه‌های ۸-۹ و ۱۰-۱۲ به ترتیب یک و ۳ روز بعد از RUUU و دریافت استرادیول ساکریفایز شدند و گروه‌های ۱۳-۱۴، ۳ روز بعد از UUO و RUUU و دریافت دارو در هر دو مدل ساکریفایز شدند. آزمایشات تشخیص کمی متابولیت پایدار نیتریک اکساید و مالون دی‌آلدهید در نمونه خون و بافت به وسیله کیت‌های اختصاصی صورت گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری و تست ال اس دی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در مدل UUO، سطح نیتریت و MDA بافت کلیه در گروه‌های انسدادی نسبت به گروه شم به صورت معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). با این حال تجویز دوزهای مختلف استرادیول تغییری در سطح سرمی و بافتی نیتریت و MDA بین گروه‌های درمانی و کنترل در مدل UUO و RUUU ایجاد نکرد ( $p > 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان کرد که تجویز استرادیول در زمان‌های UUO و RUUU اثری بر سطوح نیتریت و MDA نداشت. اگرچه احتمالاً اثر محافظتی آن پس از گذشت مدت زمان بیشتری از RUUU بروز نماید، اما آسیب کوتاه مدت ناشی از UUO، می‌تواند حتی پس از RUUU پیشرفت کند.

**واژه‌های کلیدی:** استرادیول، انسداد میزنای یک‌طرفه، نیتریک اکساید، مالون دی‌آلدهید

نویسنده مسئول: زهرا لک، شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه زیست‌شناسی

Email: zahralak66@yahoo.com

## مقدمه

انسداد میزنای یک اختلال شایع در سیستم کلیوی است که ممکن است باعث آسیب غیر قابل بازگشت کلیه شود و وابسته به طول دوره انسداد و میزان آسیب بافت کلیه و اختلال در عملکرد آن می باشد (۱). از شایع ترین عواملی که سبب انسداد میزنای می شود می توان به سنگ های کلیوی، تومورهای داخل یا خارج میزنای، تروماهای فیزیکی به شکم و خطاهای جراحی اشاره نمود (۲). انسداد یک طرفه میزنای (UUO)<sup>(۱)</sup> به وسیله آتروفی بافتی و آپوپتوز توبول های کلیوی مشخص می شود (۳) و باعث می شود تا جریان ادرار قطع و ادرار به عقب برگردد و نتواند از طریق میزنای تخلیه شود و در نهایت به هیدرونفروز منجر گردد (۴). تغییر در فشار درون کلیوی همراه با انسداد حاد میزنای می تواند نتیجه کشش مکانیکی میزنای و آزاد شدن مدیاتورها از توبول های کلیوی باشد (۵). پژوهش های کلینیکی و آزمایشگاهی نشان داده اند که بعد از انسداد میزنای، استرس اکسیداتیو و آسیب در بافت کلیه و همچنین جریان سیستمیک آن افزایش می یابد (۶ و ۷).

افزایش مارکرهای متنوعی از استرس اکسیداتیو در بافت کلیه رت های UUO، مثل مالون دی آلدئید (MDA) نشان دهنده القای استرس اکسیداتیو به وسیله UUO در بافت کلیه است (۸) و تغییرات فاکتورهای مرتبط با سطح نیتریک اکسید نیز در حالت UUO مطرح است (۹). نیتریک اکساید (NO) یک فاکتور عملکرد آندوتلیوم است و از تبدیل ال-آرژنین به

سیترولین به صورت گاز آزاد شده و سریع به اطراف انتشار می یابد و دارای سه ایزوفرم عصبی، القایی و اندوتلیالی است (۱۰).

NO اندوتلیالی به طور موقت برای حفاظت در برابر استرس اکسیداتیو و جلوگیری از آپوپتوز حیاتی است (۱۱). یکی از اولین و مهم ترین اقدامات درمانی جهت کاهش و متوقف کردن آسیب بیشتر کلیه، مرتفع نمودن انسداد میزنای است. همچنین اثرات مخرب نفروپاتی انسدادی حتی بعد از رفع انسداد ممکن است ادامه پیدا کند و به طور خلاصه، بهبود عملکرد کلیه پس از رفع انسداد میزنای، یک فرایند طولانی مدت است (۱۲).

گزارش شده است که هورمون های زنانه (استروژن روی گیرنده های آلفا و پروژسترون روی گیرنده های بتا) ( $ER\alpha$  و  $ER\beta$ )، سبب افزایش حساسیت گیرنده های سمپاتیک میزنای می شود (۱۳). لذا بایستی تأثیر سیستم هورمونی بر دینامیک میزنای نیز مدنظر باشد.

استروژن نقش مطلوبی در ممانعت از پیشرفت برخی بیماری های مزمن کلیه دارد و همچنین دارای اثرات آنتی اکسیدانی است (۱۵). مشخص شده است که بیان گیرنده های آلفا استروژن در پودوسیت ها حفاظت در برابر آپوپتوز تجربی را میانجی گری می کند (۱۴). علاوه بر این، اثرات محافظتی استروژن از طریق سیستم نیتریک اکسید سنتاز (۱۶)، آنتی اکسیدانی (۱۷)، و التهابی (۱۸) گزارش شده است.

با توجه به این که بیماری های کلیوی وابسته به جنس هستند و در جریان انسداد میزنای

1- Unilateral Ureteral Obstruction

فاکتورهای استرس اکسیداتیو و آپوپتوز افزایش می‌یابند، این سوال مطرح است که آیا استرادیول با نقش مستقیم حفاظتی در سیستم قلبی - عروقی و همچنین با اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند سطح سرمی متابولیت نیتریک اکسید را به عنوان یک فید بک مثبت در مقابل استرس اکسیداتیوهای منشا شده از UUO تغییر دهد یا خیر. بررسی منابع نشان می‌دهد که انسداد میزنای آسیب‌های قابل توجهی به علت عدم خروج ادرار به کلیه وارد می‌نماید و تنها راه درمان، رفع انسداد است. از طرفی پژوهش‌های قبلی نشان داده حتی با جراحی و رفع انسداد عملکرد کلیه بهبود نیافته و به حالت اولیه خود باز نمی‌گردد. در نتیجه پیشنهاد داروهای پیشگیرانه و یا درمانی جهت رفع اختلالات ایجاد شده منطقی به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر تعیین و تأثیر استرادیول بر شاخص استرس اکسیداتیو و سطوح نیتریک اکساید در انسداد یک طرفه میزنای در رت تخمدان برداری شده بود.

#### روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۶ انجام شد، ۸۴ سر رت ویستار اوورکتومی شده ( $20 \pm 180$  گرم) به صورت تصادفی به ۱۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند؛ حیوانات گروه ۱ (شم) تحت عمل جراحی بدون انسداد میزنای قرار گرفتند و سه روز بعد ساکریفایز شدند. حیوانات گروه‌های ۲-۴ در معرض انسداد یک طرفه میزنای بودند و به ترتیب روغن کنجد (پلاسیبو) ۰/۳ میلی‌لیتر، استرادیول ۰/۱ و ۰/۵ (میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل عضلانی دریافت کردند و سه روز بعد ساکریفایز شدند.

حیوانات گروه‌های ۵-۷ تحت انسداد یک طرفه میزنای قرار گرفته و روغن کنجد، استرادیول ۰/۱ و ۰/۵ (میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به ترتیب دریافت کردند، اما سه روز بعد، انسداد برطرف شد و یک روز پس از رفع انسداد، حیوانات ساکریفایز شدند. گروه ۸-۹ هم‌چون گروه‌های ۶ و ۷ درمان شدند، با این تفاوت که آنها داروی استرادیول ۰/۱ و ۰/۵ (میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را پس از رفع انسداد دریافت کردند و یک روز بعد از رفع انسداد ساکریفایز شدند. گروه‌های ۱۰-۱۲ در معرض انسداد میزنای قرار گرفته و ۳ روز بعد از رفع انسداد شدند و حیوانات هم‌زمان با رفع انسداد روغن کنجد (پلاسیبو) ۰/۳، استرادیول ۰/۱ و ۰/۵ (میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را به ترتیب دریافت کردند و سه روز پس از رفع انسداد ساکریفایز شدند. گروه‌های ۱۳-۱۴ هم‌چون گروه‌های ۱۱ و ۱۲ درمان شدند که آنها استرادیول را در هر دو روز انسداد میزنای و رفع انسداد میزنای دریافت کردند. خلاصه‌ای از طبقه‌بندی گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. در روز ساکریفایز کلیه راست برداشته شد (نفرکتومی) و پس از زمان ریکاوری حیوانات برای مدت ۴ ساعت در قفس متابولیک قرار گرفته تا ادرار از کلیه دستکاری شده برای اندازه‌گیری جمع‌آوری شود، در نهایت حیوانات با داروهای بیهوشی ساکریفایز شدند.

با توجه به این که برای انجام آزمایش نیاز به دوز مشخصی از هورمون جنسی بود، بهترین کار حذف تخمدان و به پایه رساندن سطح استروژن در تمام حیوانات بود، لذا رت‌ها با استفاده از داروی

کلرال هیدرات (۴۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی بیهوش و با انجام برشی در ناحیه بالای رحم ایجاد شد و تخمدان‌ها با احتیاط خارج شدند حیوانات اورکتومی شده در قفس حیوانات برای مدت یک هفته به عنوان دوره ریکاوری نگهداری شدند.

پس از دوره ریکاوری تخمدان برداری، رت‌ها مجدداً بیهوش شده و برشی در ناحیه پوست شکم داده شد. کلیه چپ به آرامی خارج و میزنای از دیگر بافت‌های اطراف جدا شد. میزنای با نخ بخیه نایلون شماره ۴/۰ مسدود و کلیه به بخش شکمی برگردانده شد، به منظور انجام مدل رفع انسداد سه روز پس از انسداد میزنای، حیوانات مجدداً بیهوش شدند که کلیه چپ و میزنای مسدود شده از حفره شکم خارج شد و گره اطراف میزنای بادقت برداشته شد.

سنجش NO با اندازه‌گیری سطح سرمی و

بافتی متابولیت پایدار و غیر فرار آن یعنی نیتريت NO<sub>2</sub>

انجام گرفت. با استفاده از کیت طراحی شده برای اندازه‌گیری نیتريت، اندازه‌گیری با متد (Griess reagent) انجام پذیرفت. اندازه‌گیری سطح سرمی و کلیوی (که قبلاً به وسیله هموژنایزر هموژنه و سانتریفیوژ شده بود) MDA با استفاده از تری کلرو استیک صورت گرفت. بدین صورت که بعد از رقیق شدن و اضافه کردن محلول تری کلرو استیک سانتریفیوژ شد و از محلول رویی به محلول تیوباریتوریک اسید اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری قرار گرفت، سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت محاسبه گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست ال اس دی تجزیه و تحلیل شدند.

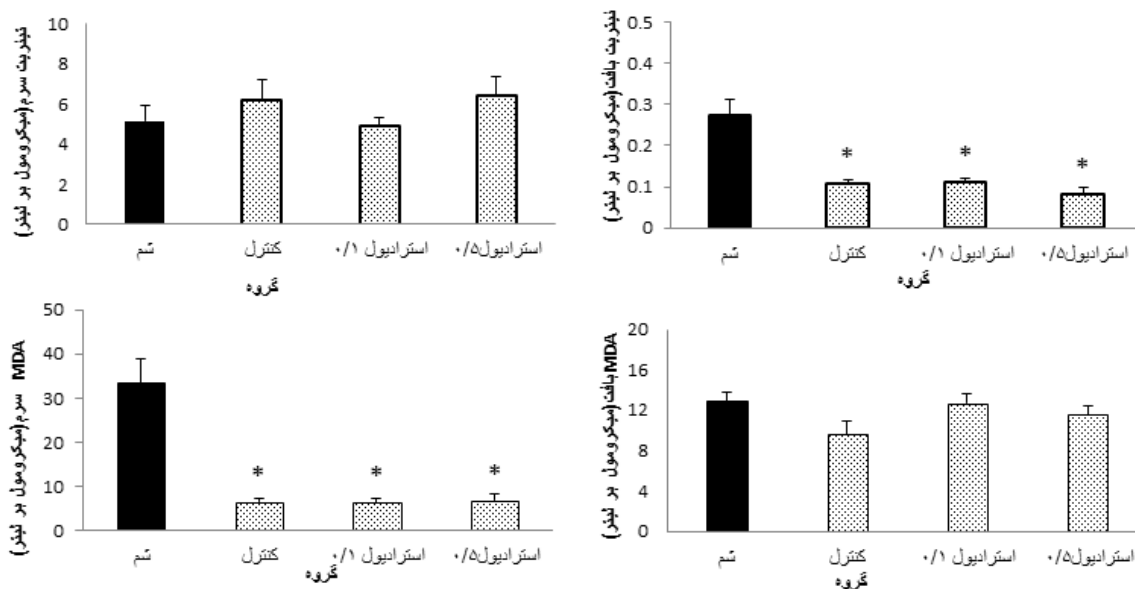
جدول ۱: UUO: انسداد یک‌طرفه میزنای، استرادیول ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، RUUO: رفع انسداد یک‌طرفه میزنای

| گروه | روز           |           |           |                     |                    |
|------|---------------|-----------|-----------|---------------------|--------------------|
|      |               | ۱۳        | ۱۱        | ۱۰                  | ۷                  |
| ۱    | تخمدان برداری | —         | —         | ساکریفایز           | جراحی بدون UUO     |
| ۲    | تخمدان برداری | —         | —         | ساکریفایز           | UUO، روغن کنجد     |
| ۳    | تخمدان برداری | —         | —         | ساکریفایز           | UUO، استرادیول ۰/۱ |
| ۴    | تخمدان برداری | —         | —         | ساکریفایز           | UUO، استرادیول ۰/۵ |
| ۵    | تخمدان برداری | —         | ساکریفایز | RUUO                | UUO، روغن کنجد     |
| ۶    | تخمدان برداری | —         | ساکریفایز | RUUO                | UUO، استرادیول ۰/۱ |
| ۷    | تخمدان برداری | —         | ساکریفایز | RUUO                | UUO، استرادیول ۰/۵ |
| ۸    | تخمدان برداری | —         | ساکریفایز | RUUO، استرادیول ۰/۱ | UUO                |
| ۹    | تخمدان برداری | —         | ساکریفایز | RUUO، استرادیول ۰/۵ | UUO                |
| ۱۰   | تخمدان برداری | ساکریفایز | —         | RUUO، روغن کنجد     | UUO                |
| ۱۱   | تخمدان برداری | ساکریفایز | —         | RUUO، استرادیول ۰/۱ | UUO                |
| ۱۲   | تخمدان برداری | ساکریفایز | —         | RUUO، استرادیول ۰/۵ | UUO                |
| ۱۳   | تخمدان برداری | ساکریفایز | —         | RUUO، استرادیول ۰/۱ | UUO، استرادیول ۰/۱ |
| ۱۴   | تخمدان برداری | ساکریفایز | —         | RUUO، استرادیول ۰/۵ | UUO، استرادیول ۰/۵ |

## یافته‌ها

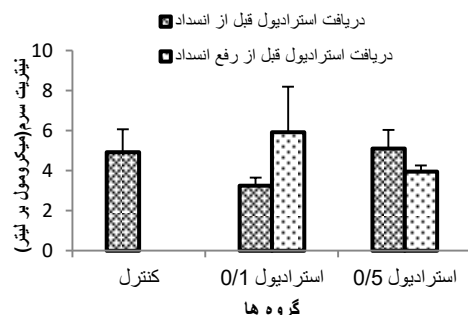
انسداد میزنای موجب تغییری در سطح سرمی نیتريت در گروه‌های انسدادی نسبت به گروه شم نشده است، اما سطح نیتريت بافت کلیه را به صورت معنی‌داری کاهش داده است ( $p < 0.05$ ) و همچنین تجویز دوزهای مختلف استرادیول تغییری در سطح سرمی و بافتی نیتريت بین گروه‌های درمانی و کنترل ایجاد نکرده است. سطح سرمی MDA در گروه‌های انسدادی نسبت به گروه شم تغییری نداشته است، اما MDA بافت به صورت معنی‌داری کاهش یافته است ( $p < 0.05$ ) و تجویز دوزهای مختلف استرادیول تغییری در سطح سرمی و بافتی این فاکتور بین گروه‌های درمانی و کنترل ایجاد نکرده است (شکل ۱).

در انسداد سه روزه با رفع انسداد ۲۴ ساعته تفاوتی در سطح سرمی نیتريت، بافتی نیتريت و بافتی MDA بین گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف استرادیول با گروه کنترل مشاهده نشد، اما در سطح سرمی MDA بین گروه‌های دریافت کننده استرادیول در زمان رفع انسداد با گروه کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در انسداد سه روزه و رفع انسداد سه روزه تفاوتی در سطح سرمی و بافتی نیتريت، سرمی و بافتی MDA بین گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف استرادیول با گروه کنترل مشاهده نشد (شکل ۲).

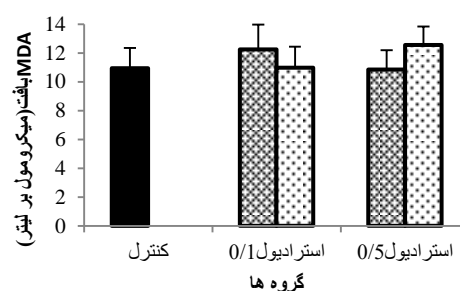
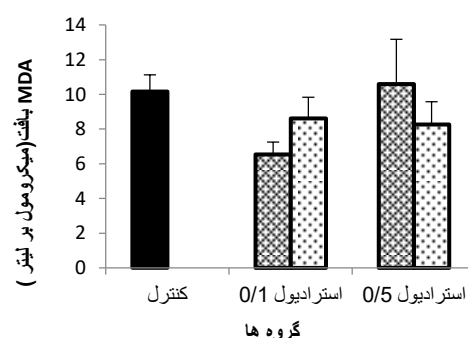
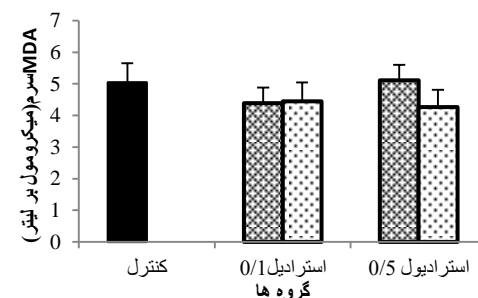
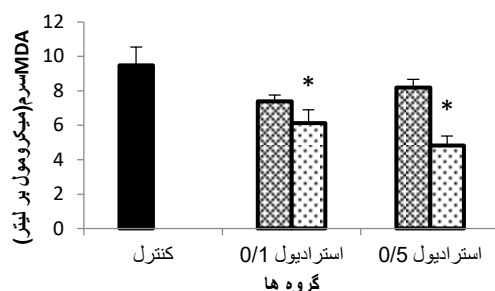
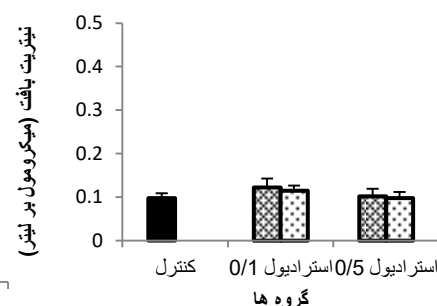
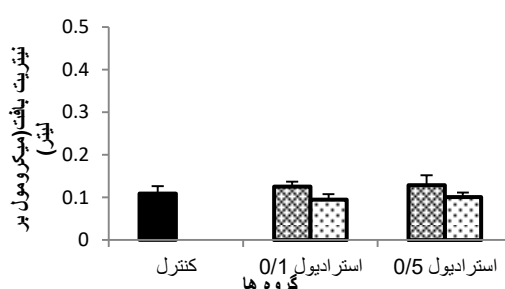
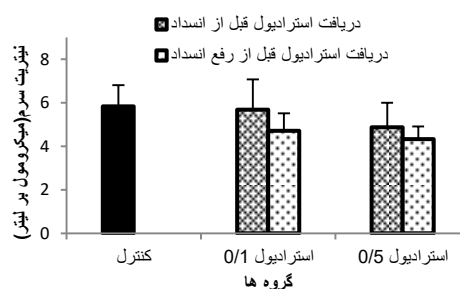


**شکل ۱: تغییرات سطح سرمی و بافتی نیتريت و مالون دی آلدئید (MDA).** گروه‌های شم، کنترل، استرادیول ۰/۱ و استرادیول ۰/۵، به ترتیب شم بدون جراحی انسداد و دریافت دارو، جراحی انسداد و دریافت روغن کنجد، دریافت استرادیول ۰/۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، دریافت استرادیول ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد. \* نشانگر تفاوت معنی‌دار با گروه شم، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست LSD است ( $p < 0.05$ ).

UUO (۳ روزه) + RUUO (۲۴ ساعته)



UUO (۳ روزه) + RUUO (۳ روزه)



**شکل ۲: تغییرات سطح سرمی و بافتی نیتريت و مالون دی آلدیید (MDA):** گروه‌های کنترل، استرادیول ۰/۱ و استرادیول ۰/۵، به ترتیب دریافت روغن کنجد، دریافت استرادیول ۰/۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، دریافت استرادیول ۰/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد. UUO (۳ روزه) + RUUO (۲۴ ساعته): به معنای انسداد سه روزه و رفع انسداد و ۲۴ ساعت بعد ساکرافایز، UUO (۳ روزه) + RUUO (۳ روزه): به معنای انسداد سه روزه و رفع انسداد و ۳ روز بعد ساکرافایز. دریافت استرادیول یک ساعت قبل از انسداد، دریافت استرادیول یک ساعت قبل از رفع انسداد. \* نشانگر تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست LSD است ( $P < 0.05$ ).

## بحث

انسداد حالب اختلالی که ممکن است باعث آسیب غیر قابل بازگشت کلیه شود، که بستگی به طول دوره انسداد و در نتیجه میزان آسیب بافت کلیه و اختلال در عملکرد آن دارد. انسداد میزنای آسیب‌های قابل توجهی به علت عدم خروج ادرار به کلیه وارد می‌نماید و تنها راه درمان، رفع انسداد است، اما پژوهش‌های قبلی نشان داده حتی با جراحی و رفع انسداد عملکرد کلیه بهبود نیافته و سرعت روند التیام سلول‌های اپیتلیال افزایش می‌یابد (۱۹). در نتیجه پیشنهاد داروهای پیشگیرانه و یا درمانی جهت رفع اختلالات ایجاد شده منطقی به نظر می‌رسد. در تحقیق حاضر تأثیر استرادیول بر بهبود آسیب‌های کلیوی در شرایط UUO و RUUO در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. که استرادیول در زمان انسداد، رفع انسداد و هر دو تجویز شد و فاکتورهای آسیبی کلیه مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد استروژن نمی‌تواند کارایی درمانی در این مدل انسدادی داشته باشد.

نظر به این که برای انجام آزمایش نیاز به دوز مشخصی از هورمون جنسی بود، بهترین کار حذف تخمدان و به پایه رساندن سطح استروژن در تمام حیوانات بود. بنابراین یک هفته قبل از شروع آزمایش و جراحی انسداد حالب، ابتدا تمامی حیوانات تخمدان برداری و پس از ریکاوری وارد مراحل پروتکل شدند؛ زیرا اورکتومی بهترین مدل برای محرومیت استروژن در رت‌ها به شمار می‌رود (۲۰).

در مدل UUO تحقیق حاضر تفاوت معنی‌داری

در مقادیر سرمی MDA بین گروه‌های انسداد و شم و همچنین بین گروه‌های دریافت‌کننده استرادیول با گروه کنترل مشاهده نشد. از طرفی بین گروه‌های آزمایشی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شم مشاهده شد که احتمالاً این افزایش میزان MDA در گروه‌های شم به علت نحوه سنجش بوده که به صورت دستی صورت گرفته است. کینتر و همکاران نیز یک افزایش در میزان MDA را طی UUO سه روزه در رت‌ها گزارش کرده‌اند (۲۱). همچنین آشتیانی و همکاران در تحقیق خود نشان دادند که انسداد حاد میزنای سبب افزایش معنی‌داری در MDA بافتی در کلیه انسدادی شده است (۲۲).

یکی از مارک‌هایی که از استرس اکسیداتیو در بافت کلیه رت‌های UUO افزایش می‌یابد MDA، می‌باشند که افزایش این مارک‌ها نشان دهنده القای استرس اکسیداتیو به وسیله UUO در بافت کلیه است (۲۳). در مطالعه‌ای که امانی و همکاران بر روی انسداد دوطرفه میزنای انجام دادند مشخص شد مقادیر سرمی و بافتی MDA در گروه‌های انسدادی با گروه شم تفاوت معنی‌داری دارد (۲۴). در مدل RUUO تحقیق حاضر، در مقایسه گروه‌های ۲۴ ساعته، میزان MDA سرمی بین گروه‌های دریافت‌کننده استروژن با گروه کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده شد، اما تفاوتی در MDA بافتی دیده نشد. در مقایسه گروه‌های ۳ روزه تفاوتی در میزان MDA سرمی و بافتی بین گروه‌های دریافت‌کننده استروژن با گروه کنترل مشاهده نشد.

می‌شود که به اثر حفاظتی کلیوی کمک می‌کند (۳۰). این عمل احتمالاً از طریق یک مسیر تیروزین کیناز یا یک مسیر علامت‌دهی از طریق پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن انجام می‌شود (۳۱).

استروژن با غلظت‌های فیزیولوژیک از طریق یک مسیر وابسته به cGMP و اکسید نیتریک سبب باز شدن کانال‌های پتاسیمی فعال شده به وسیله کلسیم می‌شود که نتیجه آن شل شدن عضله و پیشبرد اتساع عروق است (۳۱). این امر به طور موقت برای حفاظت در برابر استرس اکسیداتیو و جلوگیری از آپوپتوز حیاتی است (۳۲). در مدل UUO تحقیق حاضر، نیتريت سرم در گروه‌های انسدادی با گروه شم تفاوت معنی‌داری نشان نداد. همچنین گروه‌های دریافت‌کننده استروژن تفاوتی با گروه کنترل نشان ندادند، اما در مقادیر نیتريت بافتی کلیه کاهش معنی‌داری بین گروه‌های انسدادی و با گروه شم مشاهده شد. در مطالعه‌ای که تیرانی و همکاران بر روی انسداد دوطرفه میزنای انجام دادند مشخص شد مقادیر نیتريت سرم در گروه‌های انسدادی با گروه شم تفاوتی ندارد، اما نیتريت بافت کاهش معنی‌داری را نشان داده است (۲۱).

### نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر داده‌های ما اثر محافظتی استرادیول را بعد از RUUO تأیید نکردند که احتمالاً به دلیل درمان با دوز غیر مزمن از استرادیول بوده است. اگرچه استرادیول یک ماده محافظتی شناخته

محتوای MDA که نشانگرهای آسیب اکسیداتیو DNA هستند، در موش‌های UUO افزایش می‌یابد و این افزایش با افزایش بیان TGF- $\beta$  و فیبرنرکتین همراه بود (۲۵). مودی نشان داد که سطوح MDA در موش‌های صحرایی با انسداد مجاری ادراری به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های تحت درمان می‌باشد (۲۶). که در تحقیق حاضر به داده‌های مور قبولی در مورد سطوح MDA نرسیدیم که احتمالاً در روند تهیه کیت دستی و مراحل آن اشکالاتی صورت گرفته است.

نیتریک اکساید به عنوان یک فاکتور ضد فیبروزی در UUO شناخته شده و ممکن است هدفی برای مداخله روش‌های فیبروزی در انسداد باشد که به علت تعامل بین NO و TGF- $\beta$  القا شده به وسیله آنجل می‌باشد (۲۷). ثابت شده است که استرس اکسیداتیو باعث افزایش NO سنتتاز القایی (iNOS) در سلول‌های اپی‌تلیال شده که در نتیجه آن باعث افزایش آزادسازی نیتريت، تولید نیتريت و کاهش زنده ماندن سلول می‌شود (۲۸). استروژن، آزاد شدن نیتریک اکسید آندوتلیومی (eNO) را تحریک می‌کند و از طریق آثار آنتی‌اکسیدانی خود تخریب (eNO) را کاهش می‌دهد. در نتیجه میزان (eNO) را افزایش داده و عمل آندوتلیوم را بهبود می‌بخشد و تعادل بحرانی بین NO و آندوتلین -۱ را حفظ می‌کند (۲۹). علت اثر بخشی استروژن، اتصال استروژن به رسپتور و تولید NO می‌باشد، NO باعث کاهش فعالیت سمپاتیک و در نهایت کاهش فعالیت اپی‌نفرین از پایانه‌های عصبی



شده در سیستم قلبی - عروقی می‌باشد، با این حال یافته‌های ما نشان دادند که اثر کوتاه مدت دوزهای مختلف استرادیول برمدل‌های UUO یا RUUO مشخص نیست و اثر محافظتی آن ممکن است پس از گذشت روزهای بیشتری از RUUO بروز کند، در حالی که آسیب کوتاه مدت ناشی از UUO، می‌تواند حتی پس از RUUO پیشرفت کند.

#### تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر برگرفته از پایان نامه دکتری رشته فیزیولوژی جانوری با کد اخلاق IR.MUI.REC.1395.3.353 می‌باشد، که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد.

## REFERENCES

1. Klahr S, Morrissey J. Obstructive nephropathy and renal fibrosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 2002; 283(5): 861-75.
2. Alan SL, Chertow GM, Luyckx V, Marsden PA, Skorecki K, Taal MW. *Brenner and Rector's The Kidney E-Book*. Elsevier Health Sciences 2015; 2: 25.
3. Moosavi SM, Bagheri Z, Gheitani I, Roozbeh J. Pre-or post-treatment with aminoguanidine attenuates a renal distal acidification defect induced by acute ureteral obstruction in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 2013; 91(11): 920-8.
4. Hongbao M, Ma M. Renal obstruction and inducible nitric oxide synthase (iNOS) review. *Kaohsiung Journal of medical Science* 2011; 27(1): 15-9.
5. Miyajima A, Chen J, Poppas DP, Vaughan Jr ED, Felsen D. Role of nitric oxide in renal tubular apoptosis of unilateral ureteral obstruction. *Kidney International* 2001; 59(4): 1290-303.
6. Tugcu V, Ozbek E, Kemahli E, Cekmen MB, Caner N, Somay A, et al. Rapid communication: protective effect of a nuclear factor  $\kappa$  b inhibitor, pyrolidinium dithiocarbamate, in the kidney of rats with nephrolithiasis induced by ethylene glycol. *Journal of Endourology* 2007; 21(9): 1097-106.
7. Beladi-Mousavi SS, Hajibabaei K, Tamadon MR, Rafieian-Kopaei M. Relationship between free radicals and risk of kidney diseases; the role of antioxidants and their reaction mechanisms. *Annals of Research in Antioxidants* 2016; 6: 1(1).
8. Meng X, Dai X, Liao TD, D'Ambrosio M, Wang F, Yang JJ, et al. Dose-dependent toxic effects of high-dose estrogen on renal and cardiac injury in surgically postmenopausal mice. *Life Sciences* 2011; 88(3-4): 178-86.
9. Dursun M, Otunctemur A, Ozbek E, Sahin S, Besiroglu H, Ozsoy OD, et al. Protective effect of hydrogen sulfide on renal injury in the experimental unilateral ureteral obstruction. *International Brazile Journal of Urology* 2015; 41(6): 1185-93.
10. Stuehr DJ. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1999; 1411(2-3): 217-30.
11. Siriussawakul A, Zaky A, Lang JD. Role of nitric oxide in hepatic ischemia-reperfusion injury. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2010; 16(48): 6079.
12. Ito K, Chen J, El Chaar M, Stern JM, Seshan SV, Khodadadian JJ, et al. Renal damage progresses despite improvement of renal function after relief of unilateral ureteral obstruction in adult rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 2004; 287(6): F1283-F93.
13. Mao S, Xu H, Zou L, Xu G, Wu Z, Ding Q, et al. Estrogen preserves split renal function in a chronic complete unilateral ureteral obstruction animal model. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2014; 7(6): 1555-62.
14. Kummer S, Jeruschke S, Wegerich LV, Peters A, Lehmann P, Seibt A, et al. Estrogen receptor alpha expression in podocytes mediates protection against apoptosis in-vitro and in-vivo. *PLoS one* 2011; 6(11): e27457.
15. Berg T, Jensen J. Simultaneous parasympathetic and sympathetic activation reveals altered autonomic control of heart rate, vascular tension, and epinephrine release in anesthetized hypertensive rats. *Frontiers in Neurology* 2011; 2: 71.
16. Satake A, Takaoka M, Nishikawa M, Yuba M, Shibata Y, Okumura K, et al. Protective effect of 17  $\beta$ -estradiol on ischemic acute renal failure through the PI3K/Akt/eNOS pathway. *Kidney International* 2008; 73(3): 308-17.
17. Prokai L, Prokai-Tatrai K, Perjési P, Simpkins JW. Mechanistic insights into the direct antioxidant effects of estrogens. *Drug Development Research* 2005; 66(2): 118-25.
18. Josefsson E, Tarkowski A, Carsten H. Anti-inflammatory properties of estrogen: I. In vivo suppression of leukocyte production in bone marrow and redistribution of peripheral blood neutrophils. *Cellular Immunology* 1992; 142(1): 67-78.
19. Cochrane AL, Kett MM, Samuel CS, Campanale NV, Anderson WP, Hume DA, et al. Renal structural and functional repair in a mouse model of reversal of ureteral obstruction. *Journal of the American Society of Nephrology* 2005; 16(12): 3623-30.
20. López-Grueso R, Gambini J, Abdelaziz KM, Monleón D, Díaz A, El Alami M, et al. Early, but not late onset estrogen replacement therapy prevents oxidative stress and metabolic alterations caused by ovariectomy. *Antioxidants & Redox Signaling* 2014; 20(2): 236-46.
21. Kinter M, Wolstenholme JT, Thornhill BA, Newton EA, McCormick ML, Chevalier RL. Unilateral ureteral obstruction impairs renal antioxidant enzyme activation during sodium depletion. *Kidney International* 1999; 55(4): 1327-34.

22. Ashtiyani SC, Moosavi SM, Hosseinkhani S, Shirazi MA. Metabolic and oxidative stress indices in acute unilateral ureteral obstructive nephropathy in rat. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications* 2007; 65(7): 17-23.
23. Meng L, Van Putten V, Qu L, Nemenoff RA, Shang MY, Cai SQ, Li X. Altered expression of genes profiles modulated by a combination of Astragali Radix and Angelicae Sinensis Radix in obstructed rat kidney. *Planta Medica* 2010; 76(13): 1431-8.
24. Tirani SA, Pezeshki Z, Nematbakhsh M, Nasri H, Talebi A. Effect of L-arginine and L-NAME on kidney tissue damage in rats after 24 h of bilateral ureteral obstruction. *International Journal of Preventive Medicine* 2015; 6.
25. Liang J, Tian S, Han J, Xiong P. Resveratrol as a therapeutic agent for renal fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction. *Renal Failure* 2014; 36(2): 285-91.
26. Otunctemur A, Ozbek E, Cakir SS, Polat EC, Dursun M, Cekmen M, et al. Pomegranate extract attenuates unilateral ureteral obstruction-induced renal damage by reducing oxidative stress. *Urology Annals* 2015; 7(2): 166.
27. Miyajima A, Chen J, Kirman I, Poppas DD, Darracott Vaughan E, Felsen D. Interaction of nitric oxide and transforming growth factor- $\beta$ 1 induced by angiotensin II and mechanical stretch in rat renal tubular epithelial cells. *The Journal of Urology* 2000; 164(5): 1729-34.
28. Noiri E, Peresleni T, Miller F, Goligorsky MS. In vivo targeting of inducible NO synthase with oligodeoxynucleotides protects rat kidney against ischemia. *The Journal of Clinical Investigation* 1996; 97(10): 2377-83.
29. Berg T, Jensen J. Simultaneous parasympathetic and sympathetic activation reveals altered autonomic control of heart rate, vascular tension, and epinephrine release in anesthetized hypertensive rats. *Frontiers in Neurology* 2011; 2: 71.
30. Linz D, Wirth K, Ukena C, Mahfoud F, Pösch J, Linz B, et al. Renal denervation suppresses ventricular arrhythmias during acute ventricular ischemia in pigs. *Heart Rhythm* 2013; 10(10): 1525-30.
31. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *New England Journal of Medicine* 1999; 340(23): 1801-11.
32. Siriussawakul A, Zaky A, Lang JD. Role of nitric oxide in hepatic ischemia-reperfusion injury. *World Journal of Gastroenterology: WJG* 2010; 16(48): 6079.

# The Effect of Estradiol on Oxidative Stress Index and Nitric Oxide Levels in Unilateral Ureteral Obstruction in Ovariectomized Rats

Lak Z<sup>1\*</sup>, Nematbakhsh M<sup>2</sup>, Vahdati A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran, <sup>2</sup>Water and Electrolyte Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Received: 25 Oct 2021      Accepted: 23 Aug 2021

## Abstract:

**Background & aim:** Unilateral ureteral obstruction (UUO) is a common disorder of the renal system that may cause irreversible kidney damage and depends on the duration of the obstruction and the extent of renal tissue damage and dysfunction. The aim of the present study was to determine the effect of estradiol on oxidative stress index and nitric oxide levels in unilateral ureteral obstruction in ovariectomized rats.

**Methods:** In the present experimental study conducted in 2017, 84 rats underwent ovariectomy (180 20 20 g) and were randomly divided into 14 groups of 6. Group 1 (sham group) had no surgery and all groups 2 to 14 had unilateral ureteral obstruction and some of them were treated with medication. Thus; Groups 2-4 were sacrificed 3 days after UUO and receiving the drug (sesame oil, 0.1 and 0.5 mg / kg estradiol), respectively, group 5-7 3 days after UUO and receiving the unblocked drug (RUUO) were sacrificed the next day, groups 8-9 and 10-12 were sacrificed 1 and 3 days after RUUO and estradiol, respectively, and groups 14-13 were sacrificed 3 days after UUO and RUUO and received the drug in both models. Were. Quantitative detection tests for stable metabolites of nitric oxide and malondialdehyde in blood and tissue samples were performed using special kits. The collected data were analyzed using statistical tests and LSD test.

**Results:** The results of the present study indicated that in the UUO model, the level of nitrite and MDA of renal tissue in the obstructive groups decreased significantly compared to the sham group ( $p < 0.05$ ). However, administration of different doses of estradiol did not alter serum and tissue levels of nitrite and MDA between the treatment and control groups in the UUO and RUUO models ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** According to the obtained results, it can be stated that estradiol administration during UUO and RUUO times had no effect on nitrite and MDA levels. Although its protective effect may occur after a longer period of time than RUUO, the short-term damage caused by UUO can develop even after RUUO.

**Keywords:** Estradiol, Unilateral ureteral obstruction, Nitric oxide, Malondialdehyde

---

\*Corresponding author: Zahra Lak, Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Email: zahralak66@yahoo.com

Please cite this article as follows: Lak Z, Nematbakhsh M, Vahdati A. The Effect of Estradiol on Oxidative Stress Index and Nitric Oxide Levels in Unilateral Ureteral Obstruction in Ovariectomized Rats. Armaghane-danesh 2022; 27(1): 42-53.