مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۹، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۴۰۳(شماره پی در پی ۱۶۳)

تأثیر امپاگلیفلوزین بر مسمومیت کبدی ناشی از سیکلوفسفامید در موش‌های صحرایی نر

الهه آذرگون[۱]، ایزدپناه قیطاسی[۲*]، حسین صادقی [۲و۲]، اسماعیل پناهی کوخدان[۲]، مهدخت عزیزی[۴]، قیدافه اکبری [۲]

[۱]کمیته تحقیقات دانشجوی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۲]گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۳]مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۴]گروه آسیب شناسی (پاتولوژی)، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول : ۱۴۰۲/۰۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۵

چکیده

زمینه و هدف: سیکلوفسفامید دارویی است که به عنوان سرکوب کننده سیستم ایمنی و ضد سرطان برای درمان انواع مختلف سرطان مانند؛ سرطان سینه، لنفوم، لوسمی‌ها استفاده می‌شود. این دارو می‌تواند منجر به مسمومیت کبدی شده که به نوبه خود باعث استرس میتوکندری‌یایی، مرگ سلولی و نکروز کبدی می‌گردد. امپاگلیفلوزین یک داروی مسدود کننده ناقل سدیم ـ گلوکز است که در درمان دیابت استفاده می‌گردد، این دارو هم‌چنین دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. هدف از این مطالعه تعیین و بررسی تأثیر امپاگلیفلوزین بر مسمومیت کبدی ناشی از سیکلوفسفامید در موش صحرایی نر بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۲در دانشکده پزشکی یاسوج انجام شد، ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در چهار گروه؛ کنترل، دریافت‌کننده سیکلوفسفامید، دریافت‌کننده امپاگلیفلوزین سپس سیکلوفسفامید و دریافت‌کننده سیکلوفسفامید سپس امپاگلیفلوزین تقسیم‌بندی شدند، تیمار گروه‌ها به مدت ۱۱ روز انجام شد. پس از این مدت از رت‌ها خون‌گیری و کبد آنها برداشته می‌شد. از نمونه‌های خونی پلاسما تهیه و آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) و آلانین آمینوترانسفراز(ALT) و همین‌طور آلکالین فسفاتاز(ALP) اندازه‌گیری شد. از نمونه‌های کبدی برای سنجش مقادیر مالون دی‌آلدئید(MDA) و متابولیت‌های نیتریک اکسید(NO) و هم‌چنین پژوهش‌های بافت‌شناسی استفاده گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد سیکلوفسفامید باعث افزایش معنی‌دار میزان پلاسمایی آنزیم‌های AST، ALT و سطح متابولیت‌های NO و MDA بافت کبد($p<0/001$) و افزایش التهاب، ادم، احتقان و نکروز بافتی در مقایسه با گروه کنترل شد. تجویز امپاگلیفلوزین منجر به کاهش سطح پلاسمایی آنزیم‌های AST ، ALT و سطوح بافتی NO و MDA و کاهش تغییرات بافتی در مقایسه با گروه سیکلوفسفامید گردید. هم‌چنین امپاگلیفلوزین چه به عنوان پیشگیری و چه به عنوان درمان تغییرات بافتی را کاهش داد.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این مطالعه، امپاگلیفلوزین باعث کاهش مسمومیت کبدی ناشی از سیکلوفسفامید در موش‌های صحرایی نر شد که این اثر احتمالاً از طریق کاهش استرس اکسیداتیو ایجاد شده است.

واژه‌های کلیدی: سیکلوفسفامید، امپاگلیفلوزین، سمیت کبدی، آنزیم‌های کبدی، مالون دی‌آلدیید

[*]**نویسنده مسئول: ایزدپناه قیطاسی،** یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی

Email: gheitasiizadpanah@yahoo.com

" نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می شوند."

مقدمه

کبد یکی از حیاتی‌ترین عضوهای بدن موجودات زنده است که سطح سرمی اکثر مواد شیمیایی خون را تنظیم می‌کند. برخی از عملکردهای مهم این عضو عبارتند از؛ تولید صفرا، تولید پروتئین‌های خون، تولید کلسترول و پروتئین‌های ویژه برای کمک به انتقال چربی‌ها در بدن، تبدیل گلوکز اضافی به گلیکوژن، تنظیم سطح اسیدهای آمینه خون، پردازش هموگلوبین برای استفاده از محتوای آهن آن ، تبدیل آمونیاک سمی به اوره، پاکسازی خون از داروها و سایر مواد سمی، ایجاد فاکتورهای ایمنی، حذف باکتری‌ها از جریان خون و پاک‌سازی بیلی روبین. با توجه به نقش محوری کبد در متابولیسم مواد، داروها و سموم، احتمال آسیب به بافت کبد نسبت به سایر ارگان‌ها بیشتر است. مکانیسم‌های مختلفی در ایجاد آسیب‌های کبدی دخیل هستند که یکی از مهم‌ترین این مکانیسم‌ها، تولید رادیکال‌های آزاد است. این ترکیبات می توانند با تشکیل پیوند کوولانسی با پروتئین‌ها، منجر به ایجاد و تشدید آسیب‌ها به بافت کبد شوند(۲و۱). این رادیکال‌ها از طریق پراکسیداسیون چربی‌ها به ویژه اسیدهای چرب غیر اشباع و تولید الکل‌های چرب و آلدئیدها منجر به تخریب چربی می‌شوند. تخریب چربی‌ها متعاقباً منجر به به هم ریختگی ساختمان غشای سیتوپلاسمی و تغییر در نفوذپذیری انتخابی آن، تغییر نفوذپذیری غشای اندامک‌ها به ویژه لیزوزوم و میتوکندری می‌شود و این عوامل به تخریب سلول و بافت منجر خواهند شد(۳). [۱]

یکی از مهم‌ترین شاخص‌های سلامت کبد، سطوح پلاسمایی آنزیم‌های کبدی است. آنزیم‌های مهم کبدی عبارتند از؛ آلکالین فسفاتاز(ALP)[(۱)]، آلانین آمینو ترانسفراز(ALT)[(۲)] و آسپارتات آمینو ترانفراز(AST)[(۳)]، از مهم‌ترین معیارهای بررسی آسیب به بافت کبد، سنجش فعالیت این آنزیم‌ها است. آلکالین فسفاتاز یک گلیکوپروتئین است که در هیدرولیز استرهای مونو فسفات نقش دارد(۴). آمینوترانسفرازها در انتقال گروه آمین بین آمینواسیدها نقش دارند و دو آنزیم مهم از این دسته آسپارتات آمینو ترانسفراز(AST) و آلانین آمینوترانسفراز(ALT) هستند. از آنجایی که کبد نقش محوری در متابولیسم مواد به ویژه ماکرومولکول‌های زیستی دارد، این دو آنزیم در کبد نقش مهمی دارند(۵)، در اثر آسیب بافت کبد، این آنزیم‌ها آزاد شده و سطح سرمی آن‌ها افزایش می‌یابد. بنابراین میزان افزایش آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز می‌تواند معیاری از شدت آسیب بافت کبد باشد(۶). برخی از داروها می‌توانند انواع مختلفی از آسیب‌های کبدی اعم از عملکرد

1-Alkaline phosphatase(ALP)
2-Alanine aminotransferase(ALT)
3-Aspartate aminotransferase(AST)

غیرطبیعی خفیف تا صدمات شدید مثل نکروز هپاتوسلولار یا کلستاز داخل کبدی را ایجاد کنند(۷).

یکی از این داروها سیکلوفسفامید می‌باشد که یک عامل ضد نئوپلاستیک و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است و برای درمان بسیاری از انواع سرطان‌های خون مانند؛ لوسمی، لنفوم، سرطان مثانه، آدنوکارسینومای تخمدان، سرطان پستان، ریه و آندومتر استفاده می‌شود(۸).

گزارشات مختلفی، سمیت کبدی القا شده بعد از مصرف سیکلوفسفامید را نشان داده‌اند. مصرف زیاد داروی سیکلوفسفامید، همانند سایر داروهای؛ ضدسرطان، به سرعت در سلول‌های در حال تقسیم باعث بروز سمیت سلولی از جمله آسیب‌های کبدی می‌شود. پاتوژنز سمیت سیکلوفسفامید در سلول‌های کبد کاملاً مشخص نشده است، ولی به نظر می‌رسد که افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از متابولیت‌های سیکلوفسفامید نقش مهمی در بروز آن دارد. سمیت سیکلوفسفامید ناشی از اتصال آکرولئین به نوکلئوفیل‌های آنتی‌اکسیدانی سلولی مانند گلوتاتیون(GSH)[1] است که منجر به تخلیه سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و همچنین شروع پراکسیداسیون لیپیدی(LPO)[2] می‌شود(۱۱ـ۹).

امپاگلیفلوزین یک مهارکننده ناقل سدیم گلوکز شماره دو(SGLT-2)[3] در لوله های کلیوی است که قندخون را از طریق کاهش بازجذب گلوکز در لوله‌های کلیوی کاهش می‌دهد. این دارو تحت تأثیر فعالیت سلول‌های پانکراس یا حساسیت به انسولین قرار نمی‌گیرد(۱۲). امپاگلیفلوزین با مکانیسم‌های مختلفی که از طریق مسیرهای اتوفاژی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌شوند، در بهبود برخی از آسیب‌های کبدی و کلیوی مؤثر می‌باشد. این دارو باعث بهبود فیبروز و استئاتوز کبدی در بیماران دارای کبد چرب غیرالکلی بدون دیابت(۱۳) و کاهش سمیت کبدی ناشی از تیواستامید در حیوانات آزمایشگاهی با مکانیسم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می شود(۱۵ و۱۴). با توجه به این که بخشی از آسیب‌های کبدی القاء شده به وسیله سیکلوفسفامید به واسطه استرس اکسیداتیو ایجاد می‌گردد و از طرفی امپاگلیفلوزین دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی است، لذا هدف از این مطالعه تعین و بررسی تأثیر امپاگلیفلوزین بر مسمومیت کبدی ناشی از سیکلوفسفامید در موش صحرایی نر بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۲ در دانشکده پزشکی یاسوج انجام شد، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم استفاده وارد مطالعه شدند. حیوانات در شرایط مناسب حیوانخانه دانشکده پزشکی یاسوج با سیکل روشنایی و خاموشی ۱۲ ساعته و دمای

1-Glutathione(GSH)
2-Lipid peroxidation(LPO)
3-Sodium Glucose Transporter-2(SGLT-2)

مناسب و دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگهداری و به صورت تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند؛ گروه کنترل(sham): دریافت آب مقطر به صورت خوراکی به مدت یازده روز، گروه سیکلوفسفامید: دریافت آب مقطر به صورت خوراکی به مدت ۱۱ روز و دریافت سیکلوفسفامید به صورت داخل صفاقی با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش در روز دهم(۱۶)، گروه امپاگلیفلوزین + سیکلوفسفامید(پیشگیری): امپاگلیفلوزین به صورت خوراکی با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش به مدت ۱۱ روز(۱۷) و در روز دهم دریافت سیکلوفسفامید با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن رت و گروه سیکلوفسفامید+امپاگلیفلوزین (درمانی): دریافت آب مقطر به صورت خوراکی به مدت ۹ روز، دریافت سیکلوفسفامید به صورت داخل صفاقی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش در روز دهم و سپس دریافت امپاگلیفلوزین به صورت خوراکی با دوز ۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن رت در روز دهم و یازدهم.

در کلیه مراحل پژوهش، اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. تمامی رفتارها و آزمایشات صورت گرفته با حیوانات در این پایان نامه براساس پروتکل بین المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی و مصوبه کمیته اخلاق صورت گرفت.

۲۴ ساعت بعد از تجویز خوراکی سیکلوفسفامید، حیوانات با اتر بیهوش و از قلب آنها خون‌گیری و در ظرف‌های محتوی ماده ضد انعقاد جمع‌آوری شدند در آخر کبد برداشته شد و پس از شستن با نرمال سالین قسمتی از آن جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژیک در فرمالین ده درصد و بقیه آن پس از فریز شدن در نیتروژن مایع تا انجام آزمایشات لازم در فریزر ۳۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده سانتریفیوژ شده و پلاسمای آنها تهیه و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کبدی(ALT، AST،ALP) استفاده شدند.[۳] جهت انجام تست‌های آنتی‌اکسیدانی، بافت‌های کبد ذخیره شده در نیتروژن مایع با دستگاه هموژنایزر در محلول بافر فسفات (PBS)[(۱)] (pH=۷/۴ و ۵۰ میلی مول) هموژنه و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ گردیدند و محلول رویی برای بررسی میزان مالون دی‌آلدئید (MDA)[(۲)] و متابولیت‌های نیتریک اکسید(NO)[(۳)] مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نمونه‌های ذخیره شده در فرمالین ۱۰ درصد تحت مراحل آب گیری، پاک سازی و قالب‌گیری قرار گرفته و با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی و سپس برش‌های ۵ میکرونی تهیه و با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرارگرفتند.

1-Phosphate buffer saline(PBS)
2-Malondialdehyde (MDA)
3-Nitric oxide(NO)

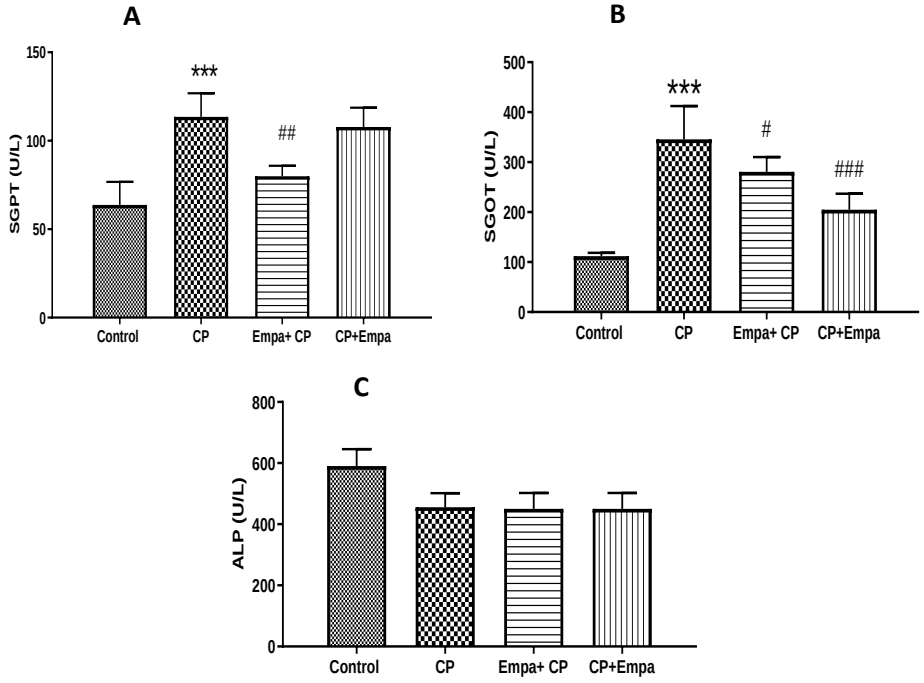
داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزارSPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

بررسی‌های آماری آنالیز واریانس و مقایسه میانگین در این مطالعه نشان داد که سیکلوفسفامید باعث افزایش معنی‌دار میزان آنزیم ALT نسبت به گروه کنترل می‌شد و تجویز امپاگلیفلوزین قبل از سیکلوفسفامید باعث کاهش معنی‌دار میزان این آنزیم در مقایسه با گروه سیکوفسفامید به تنهایی می‌شد($p<0/05$). هم‌چنین تجویز امپاگلیفلوزین بعد از سیکلوفسفامید اگر چه باعث کاهش مقدار این آنزیم گردید، اما از نظر آماری معنی‌دار نبود(نمودار A-۱). سیکلوفسفامید باعث افزایش معنی‌دار میزان آنزیمAST در مقایسه با گروه کنترل شد($p<0/001$) که تجویز امپاگلیفلوزین چه قبل و چه بعد از سیکلوفسفامید مقدار این آنزیم را به صورت معنی‌داری به ترتیب کاهش داد($p<0/05$ و $p<0/001$)(نمودار B-۱). همان‌طور که در نمودارC-۱ نشان داده شده است میزان تغییرات سرمی آنزیم الکالین فسفاتاز(ALP) در میان گروه‌های مورد مطالعه اختلاف آماری معنی‌دار نداشت.

در این مطالعه داروی سیکلوفسفامید باعث افزایش معنی‌دار میزان مالون دی‌آلدهید بافت کبد در مقایسه با گروه کنترل شد($p<0/01$) و تجویز آمپاگلیفلوزین چه به عنوان پیشگیری و چه به عنوان درمان باعث کاهش آن گردید که البته این کاهش فقط در گروه درمان از نظر آماری معنی‌دار بود($p<0/05$)(نمودارA-2). نتایج این تحقیق نشان داد سیکلوفسفامید باعث افزایش معنی‌دار سطح متابولیت‌های نیتریک اکسید در بافت کبد نسبت به گروه کنترل گردید($p<0/001$) که تجویز امپاگلیفلوزین به عنوان پیشگیری باعث کاهش معنی‌دار آن در مقایسه با گروه سیکلوفسفامید شد($p<0/05$)، در حالی که تجویز امپاگلیفلوزین به عنوان درمان تأثیر بارزی بر سطح متابولیت‌های نیتریک اکسید نداشت(نمودارB-۲).

هم‌چنین در مقایسه با گروه کنترل بیشترین تغییرات بافتی(التهاب پارانشیم کبد، احتقان و گشادی سینوزوئید، تورم و نکروز هپاتوسیت) در گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید دیده شد که تجویز امپاگلیفلوزین چه قبل و چه بعد از تجویز سیکلوفسفامید باعث بهبودی نسبی این تغییرات می‌شد . بیشترین نمره(نمره ۶) در گروه سیکلوفسمامید و کمترین نمره(نمره ۴) در گروه درمانی مشاهده گردید(شکل ۱).

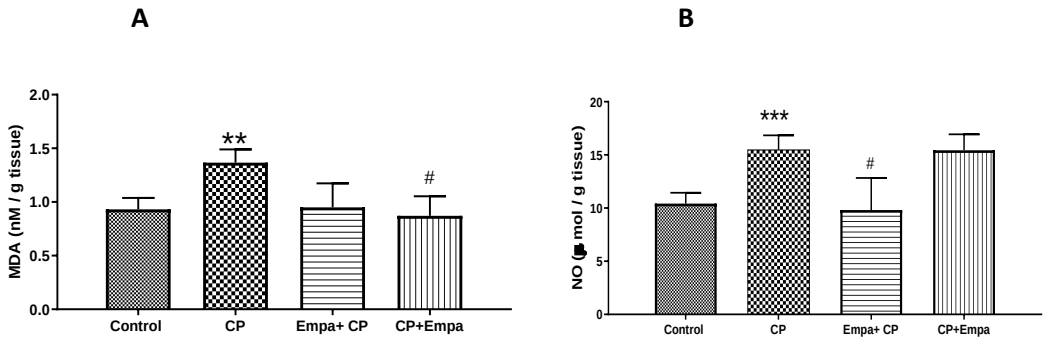


نمودار۱: مقایسه سطح سرمی آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز(A) ، آسپارتات آمینوترانسفراز(B) و آلکالین فسفاتاز(C) در گروه‌های مورد مطالعه

* و # به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و گروه سیکلوفسفامید است.

###p<۰/۰۰۱، ##p<۰/۰۱، #p<۰/۰۵، ***p<۰/۰۰۱

CONTROL: گروه دریافت کننده نرمال سالین CP: گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید EMPA+CP: گروه پیشگیری CP+EMPA: گروه درمانی

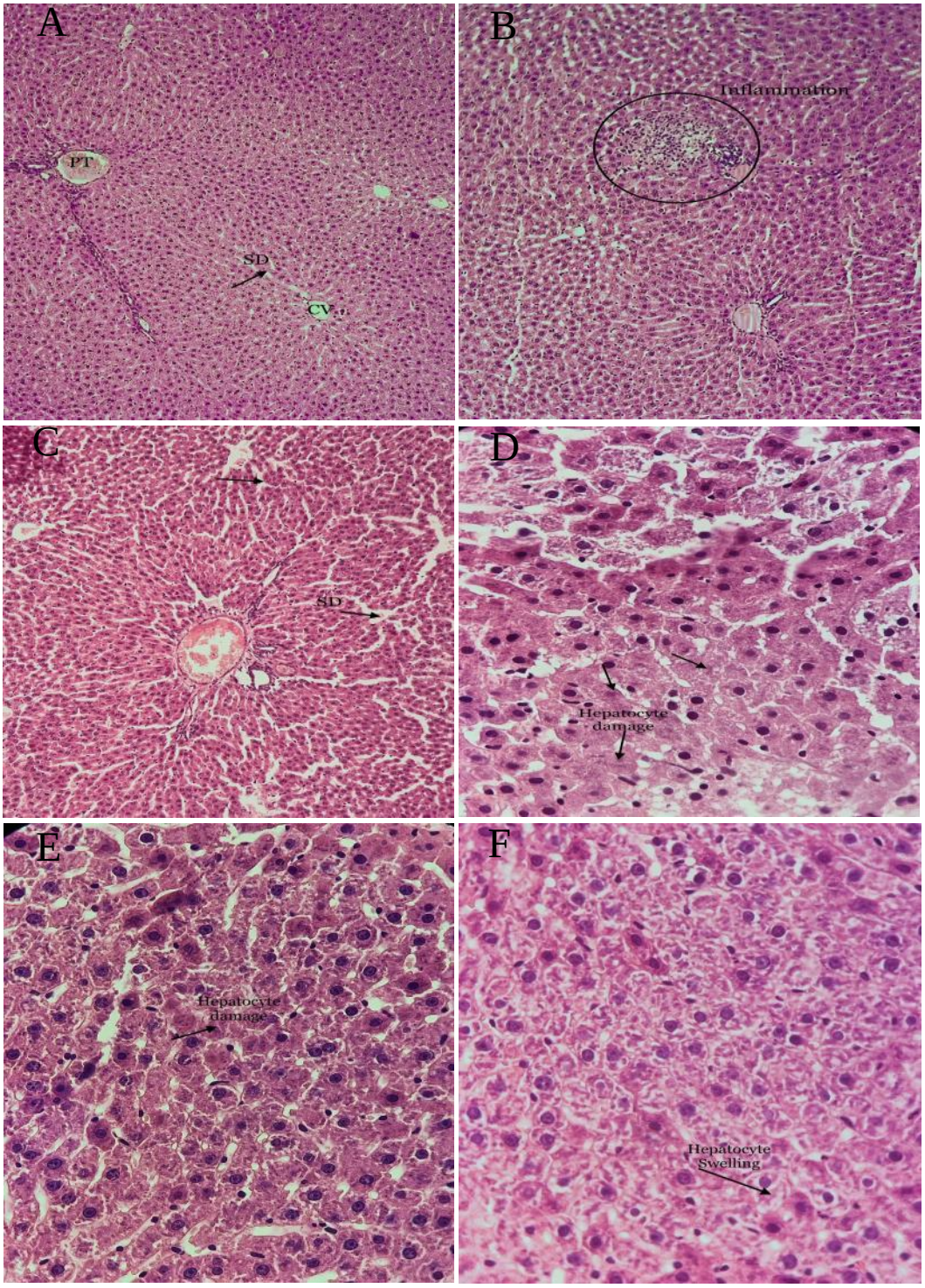


نمودار۲: مقایسه میزان مالون دی الدهید(A) و متابولیت‌های نیتریک اکسید(B) بافت کبد در گروه‌های مورد مطالعه

* و # به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و گروه سیکلوفسفامید است.

#p<۰/۰۵، ***p<۰/۰۰۱، **p<۰/۰۱

CONTROL: گروه دریافت کننده نرمال سالین CP: گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید EMPA+CP: گروه پیشگیری CP+EMPA: گروه درمانی



شکل ۱: بررسی‌های بافت‌شناسی در گروه‌های کنترل(A)، سیکلوفسفامید(B,C,D)، پیشگیری(E) و درمان(F) التهاب پارانشیم کبد، احتقان و گشادی سینوزوئید، تورم و نکروز هپاتوسیت در گروه سیکلوفسفامید و کاهش نسبی آنها در گروه‌های پیشگیری و درمان با امپاگلیفلوزین

بحث

سیکلوفسفامید یک داروی ضد نئوپلاستیک و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است و برای درمان بسیاری از انواع سرطان‌های خون مانند؛ لوسمی، لنفوم، سرطان مثانه، آدنوکارسینومای تخمدان، سرطان پستان، ریه و آندومتر استفاده می‌شود(۸). گزارش‌های مختلفی، سمیت کبدی القا شده بعد از مصرف سیکلوفسفامید را نشان داده‌اند. پاتوژنز سمیت سیکلوفسفامید در سلول‌های کبد کاملاً مشخص نشده است، ولی به نظر می‌رسد که افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از متابولیت‌های سیکلوفسفامید که منجر به تخلیه سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و هم‌چنین شروع پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود نقش مهمی در بروز آن دارد(۱۱-۹). امپاگلیفلوزین یک مهارکننده ناقل سدیم گلوکز شماره دو در لوله‌های کلیوی است(۱۲)، که با مکانیسم‌های اتوفاژی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی در بهبود برخی از آسیب‌های کبدی و کلیوی مؤثر می‌باشد(۱۵ و۱۴). هدف از این مطالعه تعیین و بررسی تأثیر امپاگلیفلوزین بر مسمومیت کبدی ناشی از سیکلوفسفامید در موش صحرایی نر بود.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد سیکلوفسفامید سبب افزایش معنی‌دار سطح سرمی آنزیم های کبدی ALT، AST و میزان مالون دی‌آلدهید بافت کبد نسبت به گروه کنترل می‌شد(نمودارهای 1-A، 1-B و 2-A) که این نتایج تأیید کننده نتایج گانگور و همکاران(۱۸)، مائده حمزه و همکاران(۱۹) و گوخان کوک و همکاران(۲۰) در خصوص القای سمیت کبدی سیکلوفسفامید از طریق آسیب سلولی و تغییر آنزیم‌های کبدی است.

آنزیم ALT در مقایسه با آنزیم AST برای کبد اختصاصی‌تر است، اما در مطالعه حاضر در گروه سیکلوفسفامید میزان AST نسبت به میزان ALT افزایش بیشتری نشان داد. آنزیم ALT عمدتاً در کبد ساخته می‌شود، در حالی که آنزیم AST علاوه بر کبد در ارگان‌های دیگری از جمله؛ قلب، ماهیچه‌ها و کلیه نیز تولید می‌شود، علاوه بر این ALT یک آنزیم سیتوپلاسمی است در حالی که AST علاوه بر سیتوپلاسم یک آنزیم میتوکندریایی هم هست و احتمالاً تخریب میتوکندری‌های سلول‌های کبدی در مطالعه حاضر می‌تواند دلیلی بر زیادتر شدن میزان AST نسبت به ALT باشد.

امپاگلیفلوزین باعث بهبودی فیبروز و استئاتوز کبدی در بیماران دارای کبد چرب غیرالکلی بدون دیابت می‌شود(۱۳). این دارو از طریق اثرات ضدالتهابی(۱۴) و آنتی‌اکسیدانی(۱۵) خود در محافظت کبدی نقش دارد. نتایج حاصل از تجویز امپاگلیفلوزین در هر دو گروه پیشگیری و درمانی در مطالعه حاضر نشان داد که میزان ALT در گروه پیشگیری و AST در هر دو گروه پیشگیری و درمانی به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد که هم راستا با مطالعه مروان الباسط و همکاران(۱۷)، سومیدا و همکاران(۲۱)، دالیا الکاشف و همکاران(۲۲)، ماریو سیمنتال مندیا و همکاران(۲۳) است. با توجه به نیمه

عمر بیشترALT نسبت به AST ، احتمالاً دلیل عدم کاهش ALT در گروه درمانی، پایداری بیشتر آن و زمان ناکافی برای درمان با امپاگلیفلوزین باشد.

در این تحقیق هم‌چنین میزان آنزیم ALP اندازه‌گیری شد که تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد(نمودار C-1). با توجه به این که میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز بیشتر در بیماری‌های انسدادی کبدی افزایش می‌یابد و در مطالعه حاضر اختلال عمل انسدادی ایجاد نگرید، به نظر می‌رسد دلیل عدم تغییر این آنزیم در این تحقیق همین موضوع باشد.

اکسید نیتریک(NO) یک واسطه بسیار واکنش پذیر است که به وسیله سلول‌های اندوتلیال، ماکروفاژها، سلول‌های کبدی، سلول‌های کوپفر در پاسخ به محرک‌های مختلف آزاد می‌شود. در این تحقیق سیکلوفسفامید به شکل معنی‌داری میزان متابولیت‌های نیتریک اکسید بافت کبد را نسبت به گروه کنترل افزایش داد و تجویز امپاگلیفلوزین(گروه پیشگیری) توانست اثر سیکلوفسفامید را بر طرف نماید که این اثر در تأیید مطالعه امیرمحمد عبدالحمید و همکاران(۲۴) و منار الحلال و همکاران(۲۵) می‌باشد.

اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید به عنوان یکی از مارکرهای استرس اکسیداتیو به طور وسیع جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها مورد استفاده قرار می‌گیرد(۲۶). در مطالعه حال حاضر میزان MDA بافتی در گروه سیکلوفسفامید در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت و تجویز امپاگلیفلوزین چه به عنوان پیشگیری و چه به عنوان درمان باعث کاهش سطح مالون دی‌آلدهید بافتی نسبت به گروه سیکلوفسفامید شد که این تغییرات با نتایج پژوهش‌های کازانوا و همکاران(۲۷) و امیرمحمد عبدالحمید و همکاران(۲۴) مطابقت دارد. پراکسیداسیون لیپیدها با واسطه ROS عامل مهمی در تخریب و آسیب به غشای سلول‌ها است و میزان آسیب وارده با پراکسیداسیون لیپیدها مرتبط است .کاهش سطح MDA بافت کبد به وسیله امپالگلیفلوزین به نظر می‌رسد ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی این دارو و مهار نسبی پراکسیداسیون لیپیدی باشد.

بررسی بافت‌شناسی در این مطالعه نشان داد که تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد از جمله احتقان، گشادی سینوزوئیدی، تورم و نکروز هپاتوسیت‌ها در گروه سیکلوفسفامید نسبت به سایر گروه‌های مورد مطالعه بیشتر بوده است. استفاده از امپاگلیفلوزین منجر به کاهش نسبی تغییرات بافت‌شناسی ناشی از سیکلوفسفامید در هر دو گروه پیشگیری و درمانی می‌شد.

پژوهش‌های مشابه نیز آپوپتوز و نکروز هپاتوسیت‌ها، خونریزی و التهاب موضعی، به وسیلهسیکلوفسفامید در بافت کبد را گزارش کرده‌اند(۲۹ و ۲۸)، که هم جهت با مطالعه حال حاضر می‌باشد. از آنجایی که امپاگلیفلوزین دارای اثرات آنتی‌اکسدانی است احتمالاً این دارو توانسته است با کاهش اثرات استرس اکسیداتیو و حفظ غشاءهای سلولی به کاهش تغییرات بافتی کمک کرده باشد.

عـدم ارایـه آزمایشـات مولکـولی در سـطح دانشـگاه و کمبـود حیوانـات آزمایشـگاهی از محدودیت‌های ایـن مطالعـه بـود، لـذا پیشـنهادات زیـر شامل؛ ارزیابی اثر امپاگلیفلوزین بر کبد در موش‌هـای تیمار شده بـا سیکلوفسـفامید در یـک جامعـه آمـاری بزرگ‌تـر و طـول دروه درمـان بیشـتر، ارزیـابی اثـر اماگلیفلوزین بر سمیت کبدی سیکلوفسـفامید از طریـق بررسـی مسـیرهای سـیگنالینگ مولکـولی و تغییـر سایتوکین‌ها و فاکتورهای التهابی و ارزیـابی، مقایسـه اثـر امپـاگلیفلوزین بـر سـمیت کبـدی ناشـی از سـایر داروهای شیمی درمانی رایج ارایه می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتـایج حاصـل از ایـن مطالعـه نشـان داد امپاگلیفلوزین چه به عنوان یک داروی پیشگیری کننده و چه بـه عنـوان یـک داروی درمـانی می‌توانـد اثـرات سمیت کبدی ناشی از سیکلوفسفامید را تعدیل کند کـه احتمالاً این اثر تعدیلی ناشی از خـواص آنتی‌اکسـیدانی و ضد التهابی این دارو می‌باشد.

تقدیر و تشکر

نـویسندگان ایـن پژوهش بر خـورد لازم می‌داننـد از همکـاری معاونـت تحقیقـات و فنـاوری دانشـگاه و مسـئولین و کارکنـان دانشـکده پزشـکی یاسوج که ما را در انجام این پـژوهش یـاری نمودنـد، صمیمانه تشکر نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقالـه اظهـار می‌دارنـد هیچ‌گونـه تعارض منافعی در این پژوهش وجود ندارد

حمایت مالی

این تحقیق با حمایت مـالی و معنـوی دانشـگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد.

ملاحظات اخلاقی

در کلیه مراحل پژوهش، اصول اخـلاق کـار بـا حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. این مقاله برگرفته از پایـان نامـه دکتـرای تخصصـی بـا کـد اخـلاق IR.YUMS.AEC.1401.009 از دانشـگاه علـوم پزشـکی یاسوج می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان این مقاله در تمام مراحـل همکـاری و مشارکت داشته‌اند.

REFERENCES

1.Williams R. Global Challenges in Liver Disease. Hepatology 2006; 44: 521-6.
2.Ramadori G, Moriconi F, Malik I, Dudas J. Physiology and pathophysiology of liver inflammation, damage and repair. Journal of Physiology and Pharmacology: an official Journal of the Polish Physiological Society 2008; 59(Suppl 1): 107-17.
3.Malek M, Nematbakhsh M. Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment. Journal of Renal Injury Prevention 2015; 4(2): 20-7.
4.Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline phosphatase: an overview. Indian Journal of Clinical Biochemistry 2014; 29(3): 269-78.
5.Okada M, Sogo A, Ohnishi N. Glycation reaction of aspartate aminotransferase by various carbohydrates in an in vitro system. The Journal of Nutritional Biochemistry 1994; 5(10): 485-9.
6.McGill M R. The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. EXCLI J 2016; 15: 817–828.
7.Volpe DA, Ellison CD, Parchment RE, Grieshaber CK, Faustino PJ. Effects of amitriptyline and fluoxetine upon the in vitro proliferation of tumor cell lines. J Exp Ther Oncol 2003; 3(4): 169-84.
8.Ahmed AR, Hombal SM. Cyclophosphamide (Cytoxan). A review on relevant pharmacology and clinical uses. Journal of the American Academy of Dermatology 1984; 11(6): 1115-26.
9.Oyagbemi AA, Omobowale OT, Asenuga ER, Akinleye AS, Ogunsanwo RO, Saba AB. Cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in wistar Rats: The modulatory role of gallic acid as a hepatoprotective and chemopreventive phytochemical. International Journal of Preventive Medicine. 2016; 7:51.
10.Cuce G, Çetinkaya S, Koc T, Esen HH, Limandal C, Balcı T, et al. Chemoprotective effect of vitamin E in cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats. Chemico-biological Interactions 2015; 232: 7-11.
11.Temel Y, Kucukler S, Yıldırım S, Caglayan C, Kandemir FM. Protective effect of chrysin on cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress, inflammation and apoptosis. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 2020; 393(3): 325-37.
12.Novikov A, Vallon V. Sodium glucose cotransporter 2 inhibition in the diabetic kidney. Curr Opin Nephrol Hypertens 2016; 25: 50–8.
13.Khamseh ME. Effect of empagliflozin on liver steatosis and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease without diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Adv Ther 2020; 37: 4697–708.
14.Nami Lee, Yu Jung Heo, Sung-E Choi, Ja Young Jeon, Seung Jin Han, Dae Jung Kim, et al. Anti-inflammatory effects of empagliflozin and gemigliptin on lps-stimulated macrophage via the IKK/NF- κ B, MKK7/JNK and JAK2/STAT1 signalling pathways. J Immunol Res 2021; 2021: 9944880.
15.Li C, Zhang J, Xue M, Li X, Han F, Liu X, et al. SGLT2 inhibition with empagliflozin attenuates myocardial oxidative stress and fibrosis in diabetic mice heart. Cardiovascular Diabetology 2019; 18: 1-3.
16.Doustimotlagh AH, Panahi Kokhdan E, Vakilpour H, Khalvati B, Jafari Barmak M, Sadeghi H and Asfaram A. Protective effect of Nasturtium officinale R . Br and quercetin against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats. Mol Biol Rep 2020; 47(7): 5001-12.
17.Marwan A ElBaset , Rana S Salem , Fairouz Ayman , Nadeen Ayman , Nooran Shaban , Sherif M Afifi ,et all. Effect of Empagliflozin on Thioacetamide-Induced Liver Injury in Rats: Role of AMPK/SIRT-1/HIF-1α Pathway in Halting Liver Fibrosis. Antioxidants 2022 Oct 30;11(11):2152. https://doi.org/10.3390/antiox11112152.
18.Gungor H, Ekici M , Karatas O, Dik B. Protective effect of Allium Scorodoprasum L. ethanolic extract in cyclophosphamide- induced hepatotoxicity model in rats Short Title: Allium Scorodoprasum L. extract can be protective in hepatotoxicity. J Pharm Pharmacol 2023; 75(5): 625-34.
19.Hamzeh M. Hosseinimehr SJ, Khalatbary AR, Mohammadi HR, Dashti A , Talebpour Amiri F. Atorvastatin mitigates cyclophosphamide-induced hepatotoxicity via suppression of oxidative stress and apoptosis in rat model. Res Pharm Sci 2018; 13(5): 440–9.
20.Cuce G, Çetinkaya S, Koc T, Hasan Esen H, Limandal C, Balcı T, et al. Chemoprotective effect of vitamin E in cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats. Chemico-Biological Interactions 2015; 232: 7-11.

21.Sumida Y, Yoneda M, Tokushige K, Kawanaka M, Fujii H, Yoneda M. et al. Hepatoprotective effect of SGLT2 inhibitor on nonalcoholic fatty liver disease. Diab Res Open Access 2020; 2(S1): 17-25.
22.El-Kashef DH, Sewilam HM. Empagliflozin mitigates methotrexate-induced hepatotoxicity: Targeting ASK-1/JNK/Caspase-3 pathway. Int Immunopharmacol 2023; 114: 109494.
23.Simental Mendía M, Sanchez García A, Rodríguez Ramírez M, Simental Mendía L E. Effect of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors on hepatic parameters: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Pharmacol Res 2021; 163: 105319.
24.Amir Mohamed Abdelhamid, Ahmed Ramadan Elsheakh, Rania Ramadan Abdelaziz, Ghada Mohamed Suddek. Empagliflozin ameliorates ethanol-induced liver injury by modulating NF-κB/Nrf-2/PPAR-γ interplay in mice. Life Sci 2020; 256: 117908.
25.Manar G. Helal. Empagliflozin attenuates cyclophosphamide-induced hepatotoxicity via targeting Nrf2/HO-1 signaling, oxidative stress, and inflammation. World J Pharm Sci 2019; 7(11): 49-59.
26.Ramezani S, Javadi I, Panahi Kokhdan E, Omidifar N, Nikbakht J, Sadeghi H. et al. Protective and therapeutic effects of ethanolic extract of Nasturtium officinale (watercress) and vitamin E against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. Res Pharm Sci 2021; 16(1): 94–102.
27.Casanova NA, Simoniello MF, Lopez Nigro M M, Carballo M A. Modulator effect of watercress against cyclophosphamide-induced oxidative stress in mice. Medicina(B Aires) 2017; 77(3): 201-6.
28.Mohammad FA, Ahmed OA, Majed HS, Ahmad JAA, Saeed A, Hina R. et al. Therapeutic Potential of Capsaicin against Cyclophosphamide-Induced Liver Damage. J Clin Med 2023; 12(3): 911.
29.Oyagbemi AA, Omobowale OT, Asenuga ER, Akinleye AS, Ogunsanwo RO, Saba AB. Cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in wistar rats: The modulatory role of gallic acid as a hepatoprotective and chemopreventive phytochemical. Int J Prev Med 2016; 7: 51.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Effect of Empagliflozin on Hepatotoxicity Induced by Cyclophosphamide in Male Rats

Azargun E[1], Gheitasi I[2*], Sadeghi H [2,3], Panahi Kokhdan I[2], Azizi M[4], Akbari GH[2]

[1]Student Research Committee, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [2]Department of Physiology and Pharmacology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [3]Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [4]Department of Pathology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.

Received: 10 Oct 2023 Accepted: 26 Dec 2023

Abstract

Background & aim: Cyclophosphamide (CP) is an immunosuppressive medication which is primarily used to manage and treatt of neoplasms, including breast cancer, lymphoma and Leukemia. CP as well possesses many side effects, including hepatotoxicity which leads to mitochondrial oxidative stress, cell death and hepatic necrosis. Empagliflozin (EMPA) is a Sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor used to treat diabetes and has antioxidant activity. The present study was designed to investigate the effect of Empagliflozin on hepatotoxicity induced by cyclophosphamide in male rats.

Methods: The present experimental study was conducted at the School of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences in 2023. Twenty-four male Wistar rats were divided into four groups: control group, CP group, EMPA+CP group and CP+EMPA group. All groups were treated for 11 days. Moreover, blood samples were obtained and the liver was removed. Plasma levels of ALT, AST and ALP were measured. Homogenized liver tissue was used to measure malondialdehyde (MDA), Nitric Oxide (NO). Liver histology was also performed. The results were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's Post Hoc test.

Results: The results indicated that cyclophosphamide triggered a significant increase in the plasma level of AST, ALT enzymes and the level of NO and MDA metabolites in the liver tissue ($p<0.001$) and increased inflammation, edema, congestion and tissue necrosis compared to the control group. The administration of Empagliflozin led to a decrease in plasma levels of AST and ALT enzymes and tissue levels of NO and MDA and decreased tissue changes compared to the cyclophosphamide group. Furthermore, Empagliflozin reduced histological changes both as prevention and as treatment.

Conclusion: According to the results of the present study, Empagliflozin can reduce the hepatotoxicity of cyclophosphamide probably with reduction of oxidative stress.

Keywords: Cyclophosphamide, Empagliflozin, hepatotoxicity, Liver Enzymes, Malondialdehyde.

***Corresponding author: Gheitasi I,** Department of Physiology and Pharmacology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.
Email: gheitasiizadpanah@yahoo.com

Please cite this article as follows: Azargun E, Gheitasi I, Sadeghi H, Panahi Kokhdan I, Azizi M, Akbari GH. Effect of Empagliflozin on Hepatotoxicity Induced by Cyclophosphamide in Male Rats. Armaghane-danesh 2024; 29(2): 172-184.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal are freely available to the public