بررسی رابطه بین مقادیر سمی جنتامایسین و فعالیت آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتنسین در کلیه، ریه و سرم موش صحرایی

دکتر سیدعلی ضیایی I
*دکتر مسعود محمودیان II
دکتر پیروز صالحیان III

چکیده

آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE) با اثر روی مولکول غیرفعال آنژیوتانسینI (AngI) آن را تبدیل به مولکول فعال آنژیوتانسین II(AngII) می‌نماید. بافتهای اپی‌تلیومی، اندوتلیومی و نوروایی‌تلیالی منبع ACE هستند. این آنزیم در بافتهایی نظیر ریزپرزهای روده و توبولهای کلیه فراوان است و مقداری از آن نیز درون پلاسما شناور می‌باشد. در مواردی دیده شده است که استفاده از داروهای دارای سمیت ریوی یا کلیوی، توانسته است میزان سرمی و بافتی این آنزیم را تغییردهد. در این مطالعه، اثر داروی دارای سمیت کلیوی (جنتامایسین) بر روی فعالیت ACE در موش صحرایی بررسی شده است. ۵ گروه از موشهای نر نژاد Sprague-Dawley انتخاب گردیدند که گروه اول گروه کنترل بود و به ٤ گروه بعدی هر روز ۱۰۰mg/kg جنتامایسین داخل صفاقی داده شد. این ٤ گروه به ترتیب در روزهای ۱ ، ۳ ،۵ و۷ قربانی شدند و میزان فعالیت ACE در سرم و بافتهای کلیه و ریه این حیوانات اندازه‌گیری شد. برای مقایسه، فعالیت آنزیم NAG (آنزیم لیزوزومال و داخل سلولی) به عنوان استاندارد نشان‌دهنده آسیب سلولی در این بافتها و ادرار بررسی گردید. همچنین با اندازه‌گیری پارامترهای عملکرد کلیوی (کراتینین، اوره، سدیم وپروتئین ادرار)، اندازه‌گیری میزان جنتامایسین بافت کلیوی و مشاهدات بافت شناسی بافت کلیه‌ها، روند تغییرات اعمال شده بر کلیه‌ها بررسی گردید. فشار خون موشها توسط cuff دمی اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که مصرف مقادیر حاد جنتامایسین (۱۰۰mg/kg) باعث آسیب پیشرونده کلیه‌ها می‌گردد. نشانه‌های نارسایی حاد کلیوی و آسیب سلولهای توبول کلیه عبارتند از: الف) کاهش کلیرانس کراتینین، افزایش BUN و پروتئینوری . ب) افزایش درجه آسیب بافتی در مطالعه پاتولوژی ج) افزایش فعالیت آنزیم NAG ادرار و کاهش NAG کلیه‌ها. میزان ACE بافت کلیه بطور معنی‌داری در روز اول کاهش یافت اما در مورد بافت ریه و سرم، این تغییرات تا روز هفتم مشاهده نگردید.

ACE ریه در روز هفتم افزایش معنی‌داری یافت که در همان زمان ACE سرم و کلیه نیز افزایش نشان داد. فشار خون در روز هفتم بطور معنی‌داری بالا رفت که با اافزایش ACE ریوی همخوانی دارد. این اطلاعات نشان می‌دهد که احتمالاً افزایش فعالیت ACE کلیه حاصل آزاد شدن نیتریک اکسید (NO) از کلیه آسیب دیده می‌باشد. این اثر ناشی از یک پیام عمومی است که سبب افزایش ACE در بدن می‌شود و در نتیجه فشار خون و احتمالاً سرعت پالایش گلومر ولی (GFR) افزایش می‌یابد.

کلیدواژه‌ها: ۱ – آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین ۲ – جنتامایسین
۳ – فشار خون ۴ – موش صحرایی

این مقاله در قالب طرح پژوهشی به شماره ۲۸۱ در دفتر معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران به ثبت رسیده است.

I) استادیار پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.
II) استاد و مدیرگروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران(*مولف مسؤول)
III) استادیار گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

مقدمه

ACE اثرات فیزیولوژیک آن در سیستم رنین - آنژیوتانسین بخوبی شناخته شده است. در این سیستم ACE آنژیوتانسین I را تبدیل به آنژیوتانسین II می‌کند که ماده اخیر یک منقبض کننده قوی عروقی می‌باشد.

ACE با تحریک ترشح آلدوسترون از کورتکس آدرنال باعث احتباس یون سدیم می‌گردد. همچنین موجب بی اثر شدن ماده گشاد کننده عروق یعنی برادی کینین می‌شود. این اثر دوگانه ACE در نگهداری فشار خون و هموستاز آب و الکترولیتها سبب شده است که مهار ACE جایگاه موفقی در درمان هیپرتانسیون و نارسایی احتقانی قلب داشته باشد(۱).

آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE) در ۳ گونه سلولی (اندوتلیال، اپی‌تلیال و نوروا‌پی‌تلیال) یافت می‌شود(۲). همچنین در پلاسما شناسایی و از آن جدا گردیده است(۳) که در پلاسما ریشه اندوتلیالی داشته و در بسیاری از بسترهای عروقی وجود دارد(٤).

ACE در سلولهای اپی‌تلیال کلیه و روده کوچک نیز یافت شده است(٥و ٦) که در روده کوچک انسان مقادیر فراوانی از ACE بر روی ریز پرزها وجود دارد(۷). همچنین در ساختمانهای ریز پرز دیگر از جمله جفت و شبکه کوروئید(۸) نیز حضور دارد.

بیشترین فعالیت آنزیمی ACE در بافتهایی نظیر اندوتلیوم عروقی و اپی‌تلیوم توبولهای پروکسیمال کلیه است.

آنتی‌بیوتیکهای آمینوگلیکوزیدی مصرف گسترده‌ای در درمان عفونتهای گرم منفی دارند. با این حال مصرف این داروها علیرغم پایش میزان سرمی دارو و حفظ آن در محدوده غیر سمی در ۱۰٪ افراد توام با سمیت حاد کلیوی است(۹).

باکتریهای گرم منفی و جنتامایسین اثر سینرژیسم روی سمیت کلیوی دارند که این اثر حاصل اندوتوکسین باکتریها و افزایش باز جذب جنتامایسین در کلیه‌ها می‌باشد(۱۰).

سمیت کلیوی جنتامایسین به علت تجمع انتخابی آن در قشر کلیه‌ها است(۱۱و ۱۲) و به دنبال آن نارسایی حاد کلیوی بروز می‌کند. جنتامایسین بیشتر قسمت ابتدایی توبولهای خمیده پروکسیمال را تحت تأثیر قرار می‌دهد(۱۳).

عملکرد بد توبولهای پروکسیمال مشخصه اصلی سمیت کلیوی با آمینوگلیکوزیدها است که ضایعات مورفولوژیک ناشی از آن با میکروسکوپ نوری دیده شده است(١٤و ١٥).

آنتی‌بیوتیکهای آمینوگلیکوزیدی همچنین باعث اختلال در عملکرد لیزوزومها در سلولهای توبول پروکسیمال کلیه پستانداران می‌شوند که مشخصه آن انبساط لیزوزومها همراه با تجمع بیش از حد اجسام میلوئید است(١٦، ١٧و ١٨).

انباشته شدن لیزوزومها باعث مرگ سلول می‌شود که این امر به دلیل تغییرات مکانیکی و یا شیمیایی غشای لیزوزومها یا به علت نقصان عملکرد لیزوزوم است. از نظر بیوشیمی کاهش فعالیت کاتپسین B، اسفنگو میلیناز(۱۹)، فسفولیپاز(۲۰)، افزایش ترشح ادراری آنزیمها از جمله NAG(۲۱) و افزایش میزان فسفولیپید غشای کلیه(۲۲) مشاهده شده است.

در رابطه با سمیت کلیوی نتایج مطالعات انسانی ناقص و محدود است (۲۳و ٢٤). یکی از علل وجود گزارشات ضد و نقیض در این رابطه، حساسیت محدود افزایش کراتینین سرم که معمول‌ترین نشانه نفروتوکسیسیته آمینوگلیکوزیدها است، می‌باشد. تغییرات وسیع سلولهای توبول پروکسیمال خیلی قبل از تغییرات کراتینین اتفاق می‌افتد(۲۵).

تعیین میزان فعالیت NAG در تشخیص مسمومیتها از جمله سمیت کلیوی، آسیب بافتها و اندامها دارای اهمیت می‌باشد(۲٦). فعالیت این آنزیم در ادرار ترشح شده از کلیه‌هایی که آسیب دیده‌اند (به هر علت) افزایش می‌یابد. لیزوزومهای آسیب دیده در سلولهای توبول کلیه منبع مناسب NAG ادرار هستند.

بطوری که اشاره شد آنزیم ACE در لایه‌های اپی‌تلیوم و اندوتلیوم فراوان است و به صورت آنزیم غشایی به

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

خارج از سطح سلول متصل است(۲۷). هدف از این تحقیق بررسی اثر داروی دارای سمیت کلیوی (جنتامایسین) بر میزان ACE در موشهای صحرایی بود، با این فرض که این بافت سرشار از آنزیم ACE می‌باشد و تغییرات سمی در این ناحیه باعث تغییر در میزان ACE می‌گردد.

هدف دیگر در این مطالعه بررسی تغییرات فشار خون در اثر مصرف این دارو بوده است، زیرا ACE باعث افزایش فشار خون می‌شود و اگر مصرف این دارو باعث تغییر ACE شود بنابر این تغییر فشار خون را نیز انتظار داریم.

روش بررسی

ـ جمع‌آوری نمونه‌ها: در این مطالعه ۵ گروه موش صحرایی نر از نژاد Sprague - Dawley در محدوده وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم انتخاب شدند.

G0 یا همان گروه کنترل دارای ۱۰ عدد موش صحرایی و گروههای بعدی (G1, G2, G3, G4) هر کدام دارای ۸ موش صحرایی بودند که به ترتیب در روزهای ۱، ۳، ۵ و۷ قربانی شدند. تمام موشها هر روز در ساعت ۹ صبح ۱۰۰mg/kg جنتامایسین داخل صفاقی دریافت کرده بودند (گروه کنترل به همان حجم نرمال سالین دریافت کرد).

ابتدا موش صحرایی با تزریق داخل صفاقی ۰/۶ml/۱۰۰g از محلول اورتان ۲۵٪ بیهوش و فشار خون اندازه‌گیری شد سپس توسط سرنگ بطور مستقیم از قلب حیوان خون‌گیری انجام گردید.

پس از لخته شدن خون، سرم بوسیله سانتریفوژ جدا و نمونه‌های سرم درون فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

پس از این مرحله، قفسه سینه و محوطه شکمی حیوان باز شد و قلب، ریه‌ها، آئورت و کلیه‌ها خارج و هموژن گردیدند.

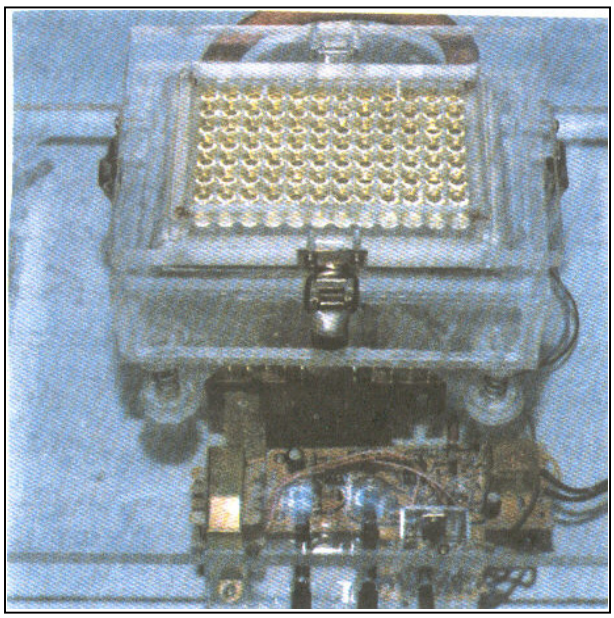
به منظور اندازه‌گیری میزان آنزیم NAG، کراتینین، سدیم و پتاسیم ادرار، ۲۴ ساعت قبل از قربانی شدن، موشها درون قفسهای متابولیک که به این منظور در گروه فارماکولوژی طراحی و ساخته شده بود قرار گرفتند.

ـ اندازه‌گیری فعالیت ACE: فعالیت ACE با استفاده از سوبسترای هیپوریل ـ ال ـ هیستیدیل ـ ال ـ لوسین و بوسیله دستگاه HPLC بر اساس روش شرح داده شده (۲۸و ۲۹)، با تغییراتی برای انجام واکنش در شرایط میکرو سنجیده شد. واکنش آنزیمی طبق معادله زیر صورت گرفت.

Hippuryl -L- Histidyl -L- Leucine ACE ---> Hippuric acid + L-Histidyl- L-Leucine

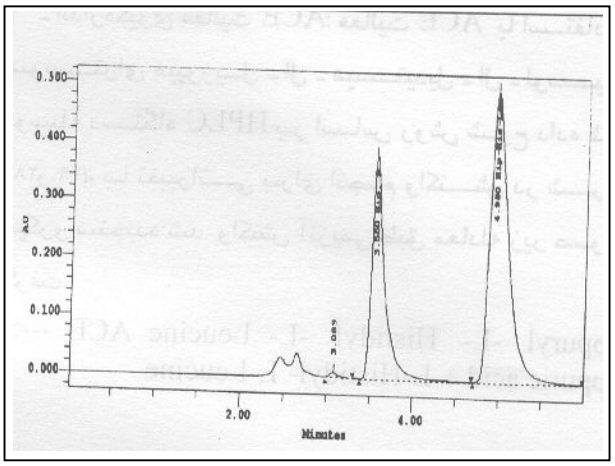
برای انکوباسیون آنزیم و سوبسترا، ابتدا ۱۰ میکرولیتر از سرم یا بافت هموژنیزه درون چاهکهای میکروپلیت ریخته شد، سپس ۴۰ میکرولیتر بافر حاوی سوبسترا به آن اضافه گردید.

هنگام اضافه کردن سوبسترا با استفاده از کرنومتر زمان اندازه‌گیری می‌شد و بعد از خاتمه زمان انکوباسیون (معمولاً ۳۰ دقیقه)، ۱۵۰ میکرولیتر از محلول ۳٪ اسید متافسفریک به عنوان متوقف کننده واکنش به آن اضافه می‌گردید. برای انکوباسیون میکروپلیت از دستگاه لرزاننده میکروپلیت که در گروه ساخته شده بود استفاده گردید (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- دستگاه حمام و لرزاننده میکروپلیت برای انکوباسیون واکنش آنزیم و سوبسترا

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]



نمودار شماره ۲- کروماتوگرام محصول و سوبسترای تجزیه نشده انکوباسیون ACE، پیک اسیدهیپوریک (محصول) در طول موج ۲۲۸ نانومتر با زمان نگهداری حدود ۳/۵۵ دقیقه بخوبی از پیک سوبسترای تجزیه نشده با زمان نگهداری ٤/۹۵ دقیقه تفکیک شده و کل زمان کروماتوگرام نیز کوتاه است.

دستگاه HPLC مورد استفاده متعلق به شرکت Waters و ستون مورد استفاده $\mu Bondapak^{®}C_{18}$ با قطر ذرات ۱۰ میکرون بود. ۲۰ میکرولیتر از محلول انکوباسیون به دستگاه تزریق شد (هر نمونه ۲ بار تزریق می‌شد). فاز متحرک (مخلوط ۱:۱ از KH_2PO_4 ۱۰ میلی مولار و متانول با PH =۳ که با صافی غشایی ۰/٤٥ میکرون صاف شده بود) با سرعت ۱ میلی لیتر در دقیقه جریان داشت و کل زمان کروماتوگرام ٦ دقیقه بود و پیکها در طول موج ۲۲۸ نانومتر و Aufs = 1 ردیابی می‌شدند. کروماتوگرام در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. برای تعیین فعالیت آنزیم، تفاوت سطح زیر منحنی تست و بلانک را در معادله خط منحنی استاندارد قرار داده و غلظت محصول (اسید هیپوریک) را از آن به دست آوردیم. طبق تعریف ۱ واحد فعالیت آنزیم ، مقدار آنزیمی است که بتواند در مدت ۱ دقیقه در دمای ۳۷°C ، یک میکرومول اسید هیپوریک تولید نماید.

ـ اندازه‌گیری فعالیت NAG: اندازه‌گیری فعالیت NAG با استفاده از سوبسترای پارانیتروفنل ـ ان ـ استیل ـ بتا ـ د ـ گلوکز آمین و به روش اسپکتروفتومتری انجام شد(۳۰). طبق واکنش زیر محصول واکنش پارانیتروفنل بود که در طول موج ٤۱۰ نانومتر جذب دارد.

p–Nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosamine NAG ----> *p*-Nitrophenol + N-acetyl-β-D- glucosamine

با تغییراتی در این روش، تعیین مقدار واکنش آنزیمی به مقیاس میکرو برده شد و انکوباسیون بوسیله دستگاه لغزاننده حمام میکروپلیت صورت گرفت که ۵۰ میکرولیتر از نمونه درون چاهکهای میکروپلیت ریخته شد. نمونه‌های کلیه و ریه قبلاً ۱۰ مرتبه با بافر انکوباسیون رقیق شده بودند. با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر سوبسترا واکنش آغاز گردید. بعد از خاتمه زمان انکوباسیون، ۲۰۰ میکرولیتر بافر متوقف کننده روی آن اضافه شد. از دستگاه ELIZA reader برای اندازه‌گیری محصول (پارانیتروفنل) استفاده گردید. برای تعیین فعالیت آنزیم، تفاوت جذب چاهکهای تست و بلانک در معادله خط منحنی استاندارد قرار داده شد و غلظت محصول از آن بدست آمد. ۱ واحد فعالیت آنزیم NAG عبارت است از مقدار آنزیمی که در مدت ۱ دقیقه در دمای ۳۷°C یک نانومول پارانیتروفنل تولیدنماید. فشار خون موشها با استفاده از cuff دمی و بوسیله ترانسدیوسر پنوماتیک بر روی فیزیوگراف ثبت می‌شد(۳۱). اندازه‌گیری کراتینین به روش ژافه انجام شد(۳۲). اندازه‌گیری اوره با کیت تجاری شرکت پارس آزمون و بر اساس روش Berthelot بود(۳۲). تعیین میزان جنتامایسین موجود در مایع هموژنیزه بافت کلیه توسط آزمایشگاه رفرانس بیمارستان بوعلی تهران و با استفاده از سیستم TDX انجام شد. میزان جنتامایسین بر حسب ng/g "وزن تر" بافت کلیه گزارش گردید. سدیم و پتاسیم سرم و ادرار با استفاده از دستگاه Flame photometer اندازه‌گیری شد. پروتئینهای ادرار به روش سولفوسالیسیلیک اسید اندازه‌گیری شدند(۳۳). میزان FES (کسر ترشحی سدیم) و RFI(اندیس نارسایی کلیه) با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید:

%FES = (سدیم سرم × کراتینین ادرار /کراتینین سرم × سدیم ادرار) ×100

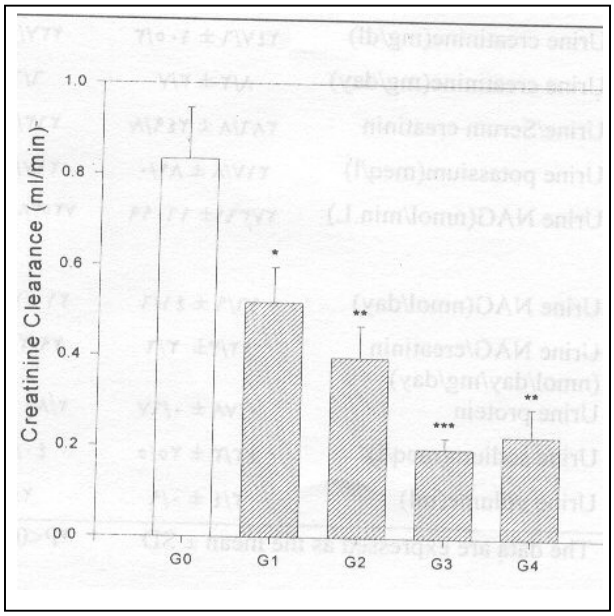
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

کراتینین ادرار / کراتینین = (میلی اکی والان در لیتر) RFI
سرم × سدیم ادرار

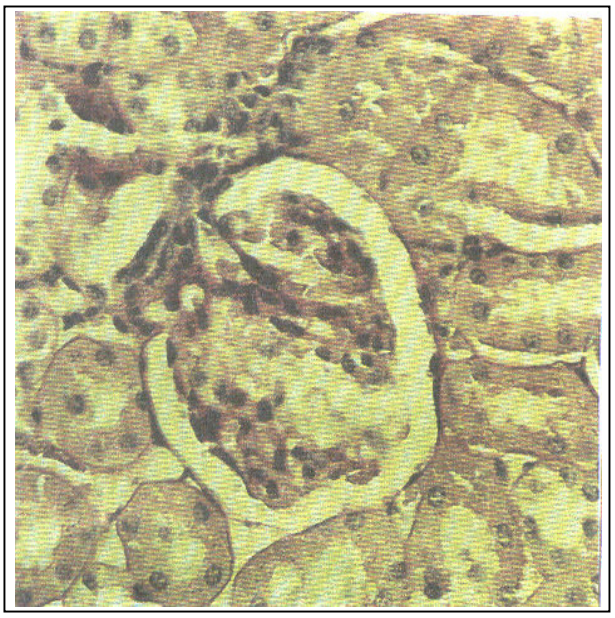
ـ مطالعات هیستوپاتولوژی: برای انجام این مطالعه نیمی از کلیه راست موشها بعد از کشتن، داخل محلول فرمالدئید ۱۰٪ قرار داده شد و بعد ازتهیه لام و رنگ‌آمیزی PAS (Periodic acid shiff) و هماتوکسیلین ـ ائوزین (H&E) میزان آسیب بافتی براساس وجود معیارهای زیر از صفر تا ۳ امتیاز تعیین گردید. لازم به ذکر است که بررسی به صورت blind انجام گرفت. معیارها به قرار زیر بودند: ۰ = فقدان ضایعه، ۱= نکروز خفیف موضعی، ۲= نکروز منتشر همراه با اتساع توبولها، ۳= نکروز شدید همراه با رسوبات(casts) در لومن توبولها. محاسبات آماری این مجموعه بوسیله نرم افزارهایSigma plot® و SPSS انجام شد.

نتایج

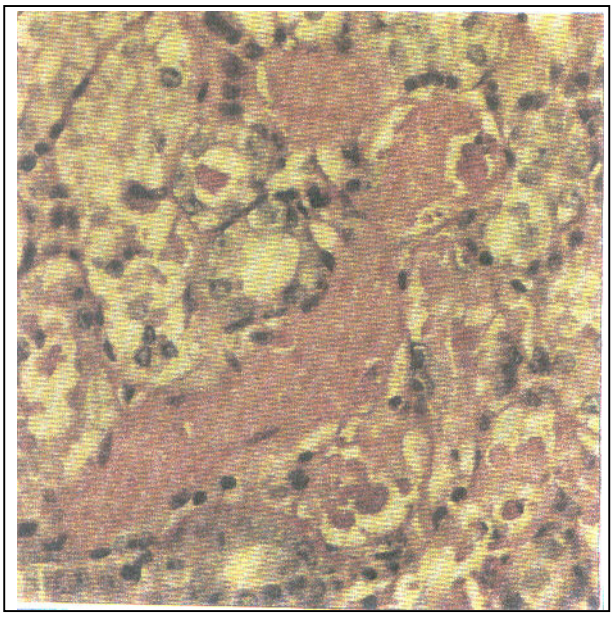
ـ شواهد حاکی از بروز نارسایی حاد کلیوی: مصرف تجمعی دوزهای ۱۰۰ mg/kg جنتامایسین به دلایل زیر باعث آسیب کلیه‌ها می‌شود.



نمودار شماره ۳- کلیرانس کراتینین برحسب میلی‌لیتر در دقیقه در موشهای GO (ستون خالی) و موشهای G1 الی G4 (ستون‌های هاشور خورده). ستونها نمایانگر میانگین هر گروه بوده و خطای معیار بر روی آن نمایش داده شده است.(P<۰/۰۵ *، P<۰/۰۰۱ ***، P<۰/۰۱ ***)



الف



ب

شکل شماره ۴- تصاویر میکروسکوپ نوری از بافتهای کلیه موشهای G0 و G4 که رنگ‌آمیزی PAS شده‌اند. عکس(الف) گلومرول و توبول نرمال و عکس(ب) توبول دچار نکروز و دارای cast (توده‌های ارغوانی) را نشان می‌دهد.(بزرگنمایی 100x، 400x)

الف) کاهش کلیرانس کراتینین(نمودار شماره ۳ و جدول شماره۱)، ب) پروتئینوری(جدول شماره۱)، ج) افزایش BUN(جدول شماره۱)، د) افزایش میزان FES و RFI(جدول شماره۱)، ه) پلی‌اوری(جدول شماره۱).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

جدول شماره ۱- خلاصه تغییرات مشاهده شده در اثر تزریق دوزهای ۱۰۰mg/kg جنتامایسین به موشهای صحرایی نر از نژاد Sprague-Dawley در روزهای ۱، ۳، ۵و ۷ (G1-G4) و مقایسه آن با موشهای کنترل(G0)

	G0	G1	G2	G3	G4
Blood pressure(mmHg)[1]	۸۳/٦ ± ۳۰/٤	–	۸۷/۸ ± ۳/۰	–	۱۱۲/۷ ± ٦/۹*
BUN(mg/dl)	۲٤/٦ ± ۳/۱	٤٥/۰ ± ۷/۹***	۳٥/۸ ± ٦/٤***	۳۰/۰ ± ۷/٥	۸۰/۸ ± ۳۸/۱***
BUN/Creatinin	۳۹/۲ ± ۱٥/٤	٥٤/٦ ± ۱۹/۱	۲۳/۱ ± ۷/۸*	۲۳/٥ ± ۷/۱*	۲٤/۹ ± ۸/۸*
Creatinin clearance (ml/min)	۰/۸۳ ± ۰/۳٤	۰/٥۲ ± ۰/۲۲ *	۰/٤۰ ± ۰/۲۰**	۰/۲۰ ± ۰/۰٦***	۰/۲۳ ± ۰/۱٤**
FES	۰/۰۸ ± ۰/۰٥	۰/۰۷ ± ۰/۰۲	۰/٦۱ ± ۰/۳۲**	۰/۰۹ ±۰/۰٥	۰/۷۸ ± ۰/٥۷**
Kidney gentamicin(ng/g)	۰/۰۰	٤۷/٥ ± ۱٦/٦	۲۰٤/٥ ± ۱۲۹/٤	۱۲٦/۸ ± ۷۳/٤	۸۲/۰ ± ٤٥/۱
Kidney ACE (µmol/min.g)	۰/۲۷ ± ۰/۰۷	۰/۱۷ ± ۰/۰٥**	۰/۱۹ ± ۰/۰٤**	۰/۱۸ ± ۰/۰٤**	۰/۲٤ ± ۰/۰۷
Kidney NAG (nmol/min/.g)	۲٤٥۱ ± ۷۹۸	۱۷۱٦ ±۱۰۲۸	۱٥۸۳ ± ۷۱٥*	۸۳٤ ± ۸۳۰**	۸۰۸ ± ٦۰۲***
Lung ACE(µmol/min.g)	٥/٥ ± ۰/۷	٥/٤ ± ۱/۳	٥/٦ ± ۰/۹	٥/۲ ± ۱/۷	۷/۸ ± ۱/۷**
Lung NAG(nmol/min/.g)	٦۸۱ ± ٤۹۸	٥۹۰ ± ۳٦۸	۷۱۲ ± ۳۰٤	٦۰۸ ± ۲۲۸	٦۱۳ ± ۱۹۳
Pathologic changes	۰/۰۰	۱/۰۰ ± ۰/٥٤	۱/۷٥ ± ۰/٤٦	۱/۸٦ ± ۰/۹۰	۲/٥۷ ± ۰/٥٤
RFI	۰/۱٤ ± ۰/۱۰	۰/۱۷ ± ۰/۱٤	۰/۸٥ ± ۰/٥۰***	۰/۲۱ ± ۰/۱۱	۱/۰۳ ± ۱/۰٦*
Serum ACE (µmol/min.L)	۱۷۳/٦ ± ۳٦/٤	۱۷۹/۸ ± ٤۱/۰۰	۱٥۳/۱ ± ۱۹/۳	۱۹۸/٥ ± ٦۲/۸	۱۹۸/۲ ± ٥۳/٤
Serum creatinin(mg/dl)	۰/۷٤± ۰/۳۳	۱/۰۳ ± ۰/٤۷	۱/۷۰ ± ۰/٦۰***	۱/۳٥ ± ۰/۳۹**	۳/٥۲ ± ۱/۸۱***
SerumNAG(nmol/min.L)	۱۲٦٥۱ ± ۷۳٤٦	۱۱۳۸۳ ± ۷۹۳٦	۱۳۳۰۳ ± ۷۹۱۲	۱۰۳۹۹ ± ٦۳۸۲	۱۲٤۸۹ ± ٦۲۱۲
Serum sodium(meq/l)	۱٦۸/۹ ± ۱۷/۳	۱٥۸/۷ ± ۹/۹	۱٦۳/۰ ± ۱۷/۰	۱۹۳/٦ ± ۱۲/۸*	± ۱۱/٤۹*** ۲۱۳/۰
Serum urea(mg/dl)	٥۸/۸ ± ۱۹/۸	۹٦/٤ ± ۱۷/۰***	۷٦/۷ ± ۱۳/۷*	٦٤/۲ ± ۱٦/۰	۱۷۲/۸ ± ۸۱/٦***
Urine creatinine(mg/dl)	۲٤۷/٦ ± ۱۰٥/۳	۲۳۷/۰ ± ٤۸/۸	۳۱۱/۳ ± ۱٥۰/٥	۱۲۸/۲ ± ٥۷/٤*	۱٤۸/۸ ± ۱۰٦/٦*
Urine creatinine(mg/day)	۸/۲ ± ۳/۷	٦/٦ ± ۱/۸	۸/٦ ± ۲/٦	۳/۸ ± ۰/۹**	۸/۰ ± ۲/٥
Urine/Serum creatinin	۳۸٦/۸ ± ۲٤۹/۸	۲٦۳/٥ ± ۹٤/٤	۲۰۱/٤ ± ۸۹/۳	۹٤/۱ ± ٤۱/۳**	٥۰/۷ ± ۳۳/۹**
Urine potassium(meq/l)	۲۱۷/۸ ± ۸۱/۰	۲۱۷/۰ ± ٤۰/۲	۲۳۱/۰ ± ۷٥/۷	۱٥۷/۳ ± ۸۳/٥	۱۹۸/۷ ± ۹۱/٦
Urine NAG(nmol/min.L)	۲۷۳٦۱± ۱٦۰۹۹	۷۲٥۳۸ ± ٤۰۷٥۰**	± ۲۸۹٦۲*** ۸۷۰٦۹	± ۳٤۸۰۳** ٦۳٥۷۸	± ۲۲۲۳۳۰** ۲٤۳۱۱۹
Urine NAG(nmol/day)	۹٦/۹ ± ٤۱/٦	۲۱۰/۱ ± ۱۲۹/٥*	۲٦۳/٤ ± ۱۲٥/٦**	۱٦۲/۹ ± ٥۷/۹*	۱۱٦٥ ± ۸۱۳/۷**
Urine NAG/creatinin (nmol/day/mg/day)	۱۲/۳± ۳/٦	۲۹/۲ ± ۱۲/۲**	۳۱/۷ ± ۱٥/٦**	٤۳/٥ ± ۱۳/۲***	۱۳۷/٥ ± ٦۳/۲***
Urine protein	۰/۷۸ ± ۰/٦۷	۲/۸۸ ± ۱/۱۳***	۲/٥۰ ± ۰/۷٦***	۲/۰۰ ± ۰/۸۹**	٤/۱۷ ± ۰/۷٥***
Urine sodium(meq/l)	٤۳/۳ ± ۲٥/٥	٤۰/۹ ± ۲۰/٥	۱٤٦/۰ ± ٥۲/۷***	۲۰/۸ ± ۱۳/۰	۳۰/۳ ± ۱٤/٥
Urine volume(ml)	۳/٤ ± ۰/۹	۲/۹ ± ۰/۷	۳/۰ ± ۱/۲	۳/٦ ± ۱/۸	۷/۷ ± ۳/٤**

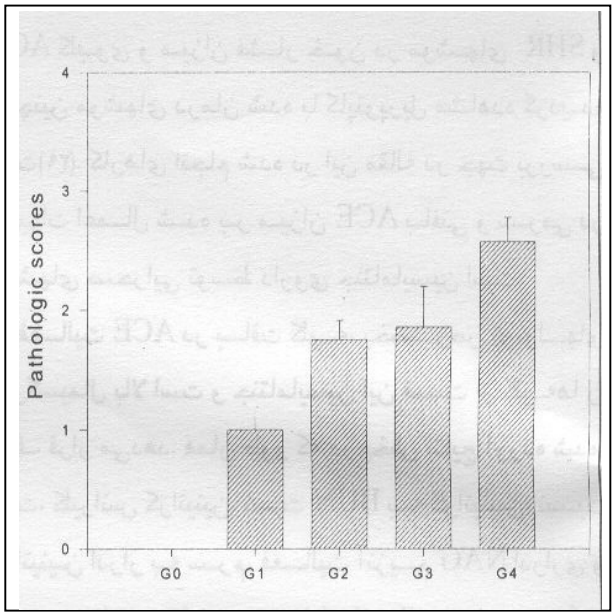
1 The data are expressed as the mean ± SD *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

به منظور اثبات نکروز سلولهای بافت توبولی از ۲ روش استفاده گردید:

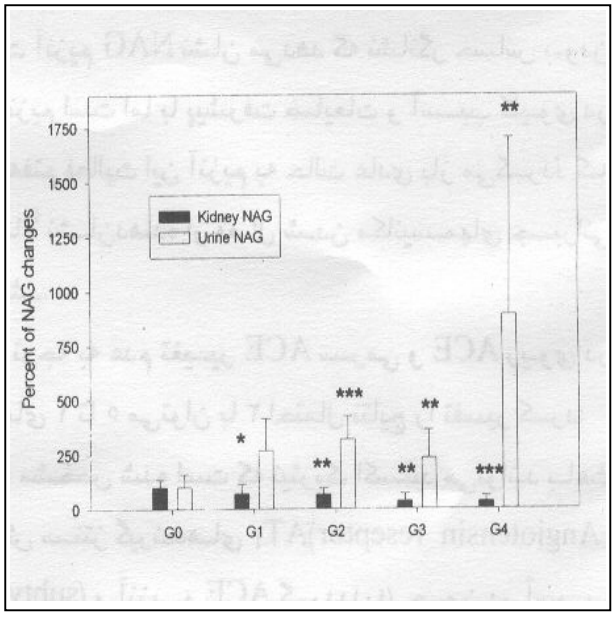
۱) مطالعات پاتولوژیک بافت کلیه که توسط پاتولوژیست پروژه و براساس درجه‌بندی میزان آسیب بافتی، به روش blind انجام شد. طبق شکلهای شماره ٤، نمودار شماره ٥ و جدول شماره ۱ میزان تخریب پیشرونده است.

۲) بررسی افزایش آنزیم NAG در داخل ادرار و به تناسب کاهش این آنزیم لیزوزومی در داخل بافت

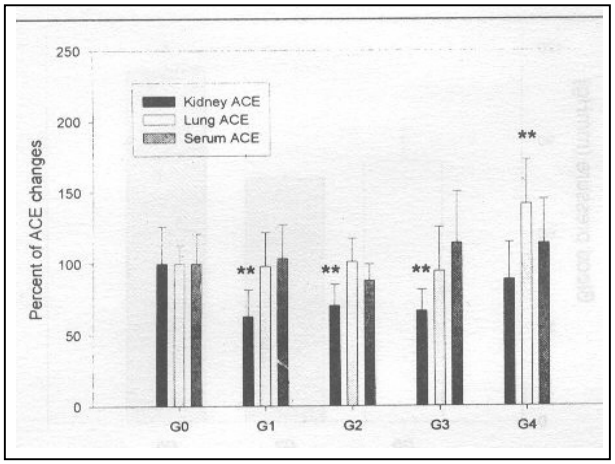
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]



نمودار شماره ۵- تغییرات هیستوپاتولوژی در لامهای تهیه شده از موشهای G0 الی G4 که بر اساس معیارهای تشریح شده امتیازبندی شده‌اند. ستونها نمایانگر میانگین هر گروه بوده وخطای معیار بر روی آن نمایش داده شده است.



نمودار شماره ۶- فعالیت آنزیم NAG در نمونه‌های هموژنیزه شده بافت کلیه (ستون‌های سیاه) و ادرار (ستون‌های خاکستری) بر حسب درصد تغییر نسبت به کنترل (۱۰۰٪) در موشهای G0 الی G4. ستونها نمایانگر میانگین هر گروه بوده و خطای معیار بر روس آن نمایش داده شده است.(*P<۰/۰۵ ،**P<۰/۰۱ ،***P<۰/۰۰۱)



شکل شماره ۷- فعالیت ACE در نمونه‌های هموژنیزه شده بافت کلیه (ستون‌های سیاه)، بافت ریه(ستون‌های خاکستری) و نمونه‌های سرم (ستون هاشور خورده) بر حسب درصد تغییر نسبت به کنترل (۱۰۰٪) در موشهای G0 الی G4. ستونها نمایانگر میانگین هر گروه بوده و خطای معیار بر روی آن نمایش داده شده است.

کلیه(شکل شماره٦ وجدول شماره۱) که نشانگر لیز سلولی و آزاد شدن لیزووزمها می‌باشد.

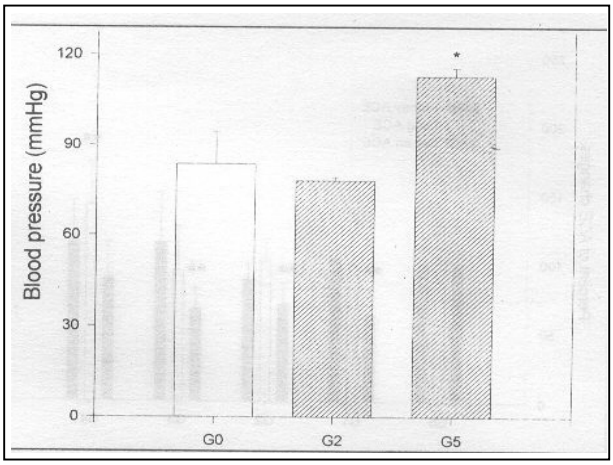
- بررسی فعالیت آنزیم ACE بافتی و سرمی: براساس اندازه‌گیریهایی که انجام شد، فعالیت ACE بافت کلیه بلافاصله در روز اول کاهش معنی‌داری یافته بود که تا روز هفتم ادامه داشت (شکل شماره۷و جدول شماره۱). میزان فعالیت ACE ریوی فقط در روز هفتم افزایش معنی‌داری پیدا کرده بود اما ACE سرم تغییر معنی‌داری نداشت. افزایش فعالیت ACE ریوی با افزایش معنی‌دار فشار خون سیستمیک همراه بود(نمودار شماره۸، جدول شماره۱).

بحث

ACE یک اکتوآنزیم است که هر دو جایگاه فعال آن در خارج سلول قرار دارد. آنزیم توسط یک لنگر آبگریز که در انتهای کربوکسی آن قرار گرفته به غشای سلولی متصل می‌گردد(۳٤).

ACE محلول در پلاسما فعال بوده و محلول بودن این آنزیم حاصل قطع و گسست لنگر آبگریز مولکول ACE بافتی است(۳۵).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]



نمودار شماره ۸- فشار خون موشهای G0(ستون خالی) و G2 و G4(ستون‌های هاشور خورده) بر حسب میلی‌متر جیوه. ستونها نمایانگر میانگین هر گروه بوده وخطای معیار بر روی آن نمایش داده شده است(*P<۰/۰۵)

نوع محلول ACE کـه در جریـان خـون وجـود دارد نسـبتاً فراوان بوده و غلظتی حـدود $۱۰^{-۹}$ مـولار دارد امـا بـاید بـه خاطر داشـت کـه نـوع محلـول آنزیـم اهمیـت فـیزیولوژیـک کمتری داشته و آنچه که مهم است آنزیم متصل بـه غشـای اندوتلیال است(۳۶و ۳۷).

تفاوت میزان ACE در بین افراد خیلی زیاد بوده و میزان آن در محدوده ۱ تا ٦ برابر متغیر است. با ایـن حـال مـیزان ACE در یک فرد در اندازه‌گیریهای مکرر تغییری را نشـان نمی‌دهد و ثابت است(۳٦و ۳۷). هیچ رابطـه و همبسـتگی بیـن هورمونـها و پارامترهـای محیطـی نتوانسـته اسـت مـیزان تغییرات زیاد بین افراد را بیان کند(۲۷و ۳۸).

البته بررسـیهای مـا نشـان داد کـه مـیزان ACE رابطـه معنی‌داری با مصرف سیگار دارد و میزان ACE سرمی در افراد سیگاری بطور معنی‌داری پـایین‌تر از جمعیـت طبیعـی است(۳۸).

ACE درون کلیـه روی سـلولهای حاشـیه مسـواکی توبولهای پروکسیمال تغلیظ می‌شود و نقش ACE توبولـی در فیزیولوژی کلیه هنوز ناشناخته است.

جایگاه فعال آنزیم به سوی لومن توبولـی قـرار گرفتـه و احتمالا نقش آن هیدرولیز پپتیدهـای فیلـتره شـده از طریـق گلومرولها است. با ایـن حـال رابطـه‌ای بیـن مـیزان فعـالیت ACE کلیوی و مـیزان فشـار خـون در موشـهای SHR و همچنین موشهای درمان شده با کاپتوپریل مشاهده گردیـده است(۳۹). کارهای انجام شده در این مقاله در جهت بررسـی تغییرات اعمـال شـده بـر مـیزان ACE بـافتی و سـرمی در موشهای صحرایی توسط داروی جنتامایسین است.

فعـالیت ACE در بـافت کلیـه، بخصـوص توبولـهای پروکسیمال بالا است و جنتامایسین این قسمت از کلیـه‌ها را هدف قرار می‌دهد. همان طور که در بخش نتایج آورده شده است، کلیرانس کراتینین، نسبت BUN بـه کراتینیـن، نسـبت کراتینیـن ادرار بـه سـرم، فعـالیت آنزیـم NAG ادراری و کلیوی، میزان پروتئینوری و مشاهدات بافت شناسی همگـی تـأیید کننـده آسـیب پیشـرونده بـافت کلیـه هسـتند و ثـابت می‌کنند که با مصرف روزانه جنتامایسین داخل صفـاقی بـه مـیزان ۱۰۰mg/kg، تخریـب بـافتی سـیری صعـودی و پیشرونده را طی می‌کند. فعالیت ACE در بافت کلیه در روز اول کاهش معنی‌داری را قبل از تغییرات معنی‌دار کراتینین و فعالیت آنزیم NAG نشان می‌دهد که نشانگر حساس بـودن این آنزیم است اما با پیشرفت ضایعات و آسـیب کلیـوی در روز هفتم فعالیت این آنزیم به حالت عادی باز می‌گـردد کـه احتمـالاً نشـان‌دهنده از فعـال شـدن مکانیسـمهای جـبرانی می‌باشد.

با توجه به عدم تغیـیر ACE سـرمی و ACE ریـوی در روزهای ۱ تا ٥ می‌توان با ۲ احتمال نتایج را تفسیر کـرد:

۱) مشخص شده است که نیتریک اکسـید می‌توانـد بـاعث کـاهش سـنتز گیرنده‌هـای AT_1(Angiotensin reseptor subtype I) و آنزیـم ACE گـردد(٤۰). چـون در آسـیب توبولی ناشی از جنتامایسین تولید NO در بافت کلیـه آغـاز می‌گردد (٤٤-٤۱)، بنابراین به نظر می‌رسد که به دنبال آسیب توبولی ناشی از جنتامایسین، میزان نیتریک اکسید در محیط افزایش یافتـه و ایـن امـر منجـر بـه کـاهش سـنتز ACE و آنژیوتانسین II بافتی می‌شود که کاهـش ACE کلیوی در این صورت قابل توجیه است. می‌دانیـم کـه سیسـتم رنیـن ـ آنژیوتانسـین بـا تولیـد آنژیوتانسـینII و آلدوسـترون به

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

ترتیب باعث بازجذب سدیم از توبولهای پروکسیمال و دیستال می‌گردد و در نتیجه سدیم ادرار کاهش می‌یابد(٤٥). بنابراین کاهش ACE در بافت کلیه منجر به افزایش FES می‌شود که این امر در روز سوم بخوبی قابل مشاهده است(جدول شماره١).

احتمالا در ادامه با افزایش دفع سدیم، سیستم رنین ـ آنژیوتانسین بافتی فعال شده و دفع سدیم کاهش می‌یابد که این مسئله در روز پنجم قابل مشاهده است(جدول شماره١). از سوی دیگر به علت افزایش پلی اوری در روز هفتم، موشها دچار افزایش غلظت شده بودند که در نتیجه موجب افزایش میزان سدیم خون گردیده بود. ثابت شده است که در نکروز حاد توبولی باز جذب توبولی سدیم مختل شده و FES افزایش می‌یابد (٤٦) که به ترتیب در روزهای ٣و ٧ شاهد این افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل بودیم(جدول شماره١).

٢) از آنجائیکه محل آسیب جنتامایسین توبولهای پروکسیمال است و این آنزیم در این قسمت تغلیظ می‌شود (١٣، ٤٧و ٤٨)، بنابراین آسیب این قسمت باعث ریزش این آنزیم به درون توبولها و ادرار می‌گردد. در تأیید این مطلب در مطالعه‌ای دیگر(٤٩)، جنتامایسین با مقدار روزانه ١٠٠mg/kg از طریق داخل صفاقی تا ٦ روز به موشهای نر نژاد Sprague-Dawley تزریق گردید. آمینوپپتیداز N کورتکس کلیه به میزان معنی‌داری در روزهای ٣ و ٦ کاهش یافت و آنژیوتانسیناز A نیز بعد از ٣ روز کاهش معنی‌داری پیدا کرده بود و بعد از ٦ روز کاهش بیشتری را نشان داد. همچنین دی‌پپتیدیل‌پپتیداز IV بعد از ٦ روز کاهش معنی‌داری را نشان داد. نتایج این مقاله نشان داد که تجویز طولانی مدت جنتامایسین در دوزهای بالا باعث ازوتمی و کاهش فعالیت اکتوپپتیدازهای کلیه می‌شود.

این اکتوآنزیمها در حالت طبیعی پپتیدهای وازوکتیو و دیگر پپتیدهایی را که احتمالاً در تنظیم رشد و تمایز سلولی موثر هستند، بی‌اثر می‌سازند(٤٩). به دنبال اثر جنتامایسین و در نتیجه کاهش اکتوپپتیدازها، عملکرد پپتیدهای وازواکتیو و دیگر پپتیدها به مخاطره افتاده و باعث تغییر عملکرد و متابولیسم کلیه‌ها می‌شود. با توجه به تغییرات ACE در کلیه در می یابیم که تغییرات ACE با آسیب بافتی و یا میزان جنتامایسین رابطه خطی ندارد.

در تأیید این مطلب در مطالعه‌ای در موشهای صحرایی(١٦)، جنتامایسین با دوز mg/kg ٥٠ به مدت ٨ روز تزریق گردید. فعالیت آنزیم γ- گلوتامیل ترانسپپتیداز که آنزیم حاشیه مسواکی است بطور معنی‌داری کاهش یافت.

نکته جالب اینکه این اثر با دوز mg/kg ٤ و بمدت ٨ روز مشاهده شد و افزایش دوز اثر بیشتری نداشت(١٦). علاوه بر γ- گلوتامیل ترانسپپتیداز، فعالیت آنزیم آلانین آمینوپپتیداز نیز که آنزیم حاشیه مسواکی است کاهش یافت. همزمان با این کاهش، فعالیت ادراری این آنزیمها افزایش پیدا کرد(١٦).

معنی دار بودن این تغییرات در مسمومیت با جنتامایسین واضح نبود، زیرا این اثرات وابسته به دوز نبودند. در نهایت تغییر چشمگیری در میزان پروتئین بافتی حاصل نگردید(١٦).

متأسفانه به دلایل تکنیکی و وجود موارد مداخله گر موفق به اندازه‌گیری آنزیم ACE ادرار نشدیم، در نتیجه نتوانستیم همراه با کاهش ACE کلیوی، افزایش ACE ادراری را مشاهده کنیم.

در مطالعه مذکور (١٦) کراتینین خون از روز ٤ بالا رفت و ١٥ روز بعد از خاتمه درمان به حد طبیعی خود بازگشت. معاینات بافتی نواحی بزرگی از نکروز را در قشر کلیه نشان داد.

در این مطالعه نیز مشابه یافته‌های ما میزان جنتامایسین بافتی تا روز چهارم یعنی روزی که کراتینین شروع به بالا رفتن نمود بطور خطی افزایش یافت و از آن به بعد در سطح ثابتی قرار گرفت.

دلیل این امر این است که هنگام نکروزه شدن سلولها، جنتامایسین داخل لیزوزومها آزاد می‌شود و در قسمتهای دیگر بطور غیر اختصاصی باز جذب می‌گردد. این اشباع ظاهری جذب جنتامایسین ممکن است بازتاب یک تعادل

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

پیچیده بین کاهش باز جذب به خاطر کاهش فیلتراسیون گلومرولی و دفع جنتامایسین از کلیه‌ها به خاطر حذف سلولهای نکروز یافته باشد(۱۶).

در مورد افزایش ACE ریوی (به عنوان مهمترین منبع ACE بدن) در روز هفتم و همزمانی آن با افزایش فشار خون، احتمالاً مکانیسمهای جبرانی دخیل بوده و افزایش فشار خون همزمان با آن در جهت جبران افت فیلتراسیون گلومرولی است.

با نگاه به فعالیت ACE کلیوی و سرمی نیز شاهد افزایش فعالیت آنزیم در روز هفتم بودیم که احتمالاً در اثر ظهور ماده‌ای به عنوان تحریک کننده سنتز این آنزیم در سراسر بدن است.

با مراجعه به فعالیت آنزیم NAG در ریه ها و سرم و عدم تغییر فعالیت آنها در این ۲ قسمت می توان اظهار کرد که آسیبی به ریه ها وارد نشده است و افزایش فعالیت ACE ریه ها در جهت افزایش فشار خون و جبران افت فیلتراسیون گلومرولی است.

در تحقیقی دیگر نیز مشاهده شد که (۱۹) مصرف همزمان پریندوپریل و جنتامایسین باعث تشدید اثرات سمی جنتامایسین روی کلیه‌ها شده است. یعنی مهار ACE با کاهش فشارخون باعث بدتر شدن اختلال در فیلتراسیون گلومرولی می‌شود.

در مطالعه‌ای دیگر(۵۰)، اثرات جنتامایسین و سیکلوسپورین A روی فعالیت ACE بررسی شد. سیکلوسپورین A باعث افزایش فعالیت ACE سرم و ریه و کاهش ACE کلیه‌ها شده بود.

در موشهایی که در معرض جنتامایسین قرار گرفته بودند، فقط افزایش فعالیت ACE ریه مشاهده شد (مشابه یافته‌های ما).

این محققین پیشنهاد کردند که افزایش ACE درپلاسما و ریه با تسهیل متابولیسم کینینهای شل کننده عروق ممکن است نقشی در اثرات فشار خونی سیکلوسپورین A داشته باشند اما هیچ اشاره‌ای به تغییرات فشار خون به دنبال مصرف جنتامایسین نکردند.

با بررسی روی موشهای ACE.2 که فاقد ACE ریوی بودند و فقط ACE سرمی تولید می‌کردند، مشاهده گردید که این موشها دچار فشار خون بسیار پایینی هستند(۵۱).

بنابراین با توجه به اهمیت نقش ACE اندوتلیومی در کنترل فشار خون نسبت به ACE سرمی(۵۱)، با افزایش ACE ریوی شاهد افزایش فشار خون هستیم. با مطالعه‌ای که توسط ما بر روی افراد سالم و بدون فشار خون بالا انجام شده بود، مشاهده گردید که رابطه اندک اما معنی‌داری بین میانگین فشار خون و فعالیت ACE سرمی وجود دارد (۵۲) و احتمالا آنچه که در فشار خون از اهمیت بیشتری برخوردار است ACE ریوی می‌باشد.

تقدیر و تشکر

قسمتی از هزینه‌های این پروژه از محل طرح تحقیقاتی شماره ۲۸۱ معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران تامین گردیده است که بدین وسیله از ریاست محترم و پرسنل آن معاونت قدردانی می‌گردد. همچنین نویسندگان این مقاله از مرکز تحقیقات مرکز علوم پایه دانشگاه علوم پزشکی ایران و آزمایشگاه رفرانس بیمارستان بوعلی کمال تشکر را دارند.

منابع

1- Edwards C. R. W., and Padfield P. L. Angiotensin converting Enzyme Inhibitors: Past, present and bright future. Lancet 1985, 1(8419): 30-34.

2- Letizia C., Picarelli A., De Ciocchis A., et al., Angiotensin-converting enzyme activity in stools of healthy subjects and patients with celiac disease. Digest. Dis. Sci.1996, 41:2268-2271.

3- Stewart T. A., Weare J. A., and Erdos E. G. Purification and characterization of human converting enzyme (kininase II). Peptides 1981, 2:145-l52.

4- Campbell D. J. The site of angiotensin production. J. Hypertens. 1985, 3:199-207

5- Takada Y., Hiwada K., and Kokubu T. Isolation and characterization of angiotensin

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

converting enzyme from human kidney. J. Biochem. 1981, 90:1309-1319.

6- Ward P. E., Sheridan M. A., Hammon K. J., et al., Angiotensin I converting enzyme (kininase II) of the brush border of human and swine intestine. Biochem. Pharmacol. 1981, 29:1525-1529.

7- Picarelli A., Greco M., Di Giovanbattista F., et al., Quantitative determination of fecal fat, nitrogen and water by means of a spectrophotometric technique: Near infrared reflectance analysis (NIRA). Assessment of its accuracy and reproducibility compared with chemical methods. Clin. Chim. Acta 1995, 234:147-156.

8- Johnson A. R., Skidgel R. A., Gafford J. T. et al., Enzymes in placental microvilli: Angiotensin I converting enzyme, angiotensinase A, carboxipeptidase and neutral endopeptidase ("enkephalinase"). Peptides 1984, 5:789-796.

9- Shuler C. L., and Bennett W. M. Nephropathies caused by drugs, chemicals or physical agents. 1. Antimicrobial nephrotoxicity. In: Massry S. G., Glassock . editors. textbook of nephrology. Baltimore, Williams & Wilkins. 1995, PP: 930-935.

10- Zager R. A. , and Prior R. B. Gentamicin and gram-negative bacteremia. A Synergism for the development of experimental nephrotoxic acute renal failure. J Clin Invest. 1986, 78:196-204.

11- Alfthan O., Renkonen O. V., and Sivonen A. Concentration of gentamicin in serum, urine and urogenital tissue in man. Acta Pathol. Microbiol. Scand. (B)1973, (Suppl 241) 81:92.

12- Luft F. C., and Kleit S. A. Renal parenchymal accumulation of aminoglycoside antibiotics in rats. J. Infct. Dis. 1974, 130:656.

13- Luft F. C., Patel V., Yum M. N., et al., Experimental aminoglycoside nephrotoxicity. J. Lab. Clin. Med. 1975, 86:213-220.

14- Abramowics M., and Edelman C. M. Nephrotoxicity of anti-infective drugs. Clin. Pediatr. 1968, 7:389.

15- Falco F. g., Smith H. M., and Acieri G. M. Nephrotoxicity of aminoglycosides and gentamicin. J. Infect. Dis. 1969, 119:406-409.

16- Morin J. P., Viotte G., Vandewalle A., et al., Gentamicin-induced nephrotoxicity: A cell biology approach. Kidney Int. 1980, 18:583-590.

17- De Broe M. E., Paulus G. J., Verpooten G. A., et al., Early effects of gentamicin, tobramycin, and amikacin on the human kidney. Kidney Int. 1984, 25:643-652.

18- Olier B., Morin J. P., Grancher G., et al., Regenerating tubular cell process in rat kidney: influence of gentamicin treatment. Int. J. Tiss. React. 1987, 9:241.

19- Morin J. P., Thomas N., Toutain H., et al., Modulation of gentamicin nephrotoxicity by chronic inhibition of angiotensin I-converting enzyme in rat. Arch. Toxicol. 1989, 63:47-53.

20- Carlier M. B., Laurent P., Claes P. J., et al., Inhibition of lysosomal phospholipases by aminoglycoside ntibiotics: in itro omparative studies. Antimicrob. Agents Chemother. 1983, 23: 440.

21- Plummer D. T., Noorazar S., and Haslam J. D. The effect of gentamicin and coenzymea on the excretion of enzymes and ions in rat urine. In: Fillastre J. P. editor. Nephrotoxicity ototoxcity of drugs. Colloque INSERM, Universite de Rouen. 1982, PP:178-194.

22- Kaloyanides G. J., and Pastoriza-Munoz E. Aminoglycoside nephrotoxicity. Kidney Int. 1980, 18:571.

23- Smith C. R., Lipsky J. J., Laskin O. L., Double blind comparison of the nephrotoxicity and auditory toxicity of gentamicin and tobramycin.N. Engl. J.Med.1980,302:1106-1109.

24- Fong I. W., Fenton R. S., and Bird R. Comparative toxicity of gentamicin versus tobramycin: a randomized prospective study. J. Antimicrob. Chemother. 1981, 7:81-88.

25- Venkatachalam M. A. Pathology of acute renal failure, In: Brenner B. M., and Stein J. R., editor. Contemporary Issues in Nephrology, Acute Renal Failure. New York, Churchill Livingstone. 1980, PP: 79-107.

26- Marchewka Z., Kuzniar J., Lembas-Bogaczyk J., et al., N-acetyl-B-D-glucosaminidase isoenzymes in the diagnosis of poisoning and kidney disease. Int. Urol. Nephrol. 1994, 26:229-236.

27- Costerousse O., Jaspard E., Wei L., et al., The angiotensin I-converting enzyme (Kininase II): molecular organisation and regulation of its expression in humans. J. Cardiovas. Pharmacol. 1992, (Supll. 9), 20:S10-S15.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

28- Horiuchi M., Fujimura K., Trashima T., et al., Method for determination of angiotensin-converting enzyme activity in blood and tissue by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 1982, 233:123-130.

29- Schnaith E., Beyrau R., Buckner B., et al., Optimized determination of angiotensin I-converting enzyme activity with hippuryl-L-histidyl-L-leucine as substrate. Clin. Chim. Acta 1994, 227:145-158.

30- Horak E., Hopfer S. M., and Sunderman F. W. Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl-γ-D-glucosaminidase activity. Clin. Chem. 1981, 27:1180-1185.

31- Mirkhani H., Omrani G. R., Ghiaee S., et al., Effects of mebudipine and dibudipine, two new calcium channel blockers, on rat left atrium, rat blood pressure and human internal mammary artery. J. Pharm. Pharmacol. 1999, 51:617-622.

32- Whelton A., Watson A. J., and Rock R. C. Nitrogen metabolites and renal function.In: Burtis C.A.,and Ashwood E. R.editors.Tietz textbook of clinical chemistry.2nd ed, Philadelphia.W.B.Saunders Co.1994, PP:1528-1539.

33- Silverman L. M., and Christenson R. H. Amino acids and proteins. In: Burtis C. A., and Ashwood E. R. editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia. W. B. Saunders Co. 1994, PP: 719-726.

34- Corvol P., Williams T. A., and Soubrier F. Peptidyl dipeptidase A: angiotensin I-converting enzyme. Methods. Enzymol. 1995, 248:283-305.

35- Beldent V., Michaud A., Wei L., et al., Proteolytic release of human angiotensin-converting enzyme. Localization of cleavage site. J. Biol. Chem. 1993, 268:26428-26434.

36- Alhenc-Gelas F., Weare J. A., Johnson R. L., et al., Measurement of human converting enzyme level by direct radioimmunoassay. J. Lab. Clin. Med. l983, l0l:83-96.

37- Alhenc-Gelas F., Richard J., Courbon D., et al., Distribution of plasma angiotensin I-converting enzyme in healthy men. Relationship to enviromental and hormonal parameters. J. Lab. Clin. Med. 1991, 117:33-39.

38- Ziai S. A., Sadeghian T., Soltani-Arabshahi S. K., et al., Determination of angiotensin converting enzyme (ACE) activity in healthy Iranian population: relationship to paraclinical parameters and cigarette smoking. Res. Commun. Alcoh. Subst. Abuse. 1999, 20:99-111.

39- Ikemoto F., Song G., Tominaga M., et al., Angiotensin converting enzyme in the rat kidney activity, distribution and response to angiotensin converting enzyme inhibitors. Nephron 1990, (Suppl I) 55:3-9.

40- Adam A., and Raij L. Nitric oxide angiotensin II axis in renal and cardiovascular injury. J. Nephrol. 2000, 13:211-220.

41- Rivas-Cabagero L., Rodriguez-Lopez A. M., Martinez-Salgado C., et al., Gentamicin treatment increases mesangial cell nitric oxide production. Exp. Nephrol. 1997, 5:23-30

42- Rivas-Cabagero L., Montero A., Lopez-Novoa J. M. Increased glomerular nitric oxide synthesis in gentamicin- induced renal failure. Eur. J. Pharmacol. 1994, 270:119-121.

43- Can C., Sen S., Boztok N., et al., Protective effect of oral L-arginine administration on gentamicin-induced renal failure in rats.Eur.J.Pharmacol. 2000,390:327-34.

44- Rivas-Cabagero L., Rodriguez-Barbero A., Arevalo M., et al., Effec of NG-nitro-L- arginine methyl ester on nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. Nephron 1995, 71:203-207.

45- Badr K. F., Ichikawa I., Prerenal failure: A deleterious shift from renal compensation to decompensation. N. Eng. J. Med. 1998, 319:623-629.

46- Kribben A., Edelstein C. L., Schrier R. W. Pathophysiology of acute renal failure. J. Nephrol. 1999, 12 (suppl 2) S142-S151.

47- Caldwell P. R. B., Seegal B. C., and Hsu K. C. Angiotensin-converting enzyme: vascular endothelial localization. Science 1976, 191:1050-1051.

48- Hall E. R., Kato J., and Erdos E. G. Angiotensin I-converting enzyme in the nephron. Life Sci. 1976, 18:1299-1304.

49- Stefanovic V., Vlahovic P., Savic V., et al., Kidney ectopeptidases in gentamicin and mercuric chloride-induced acute renal failure. Cell Physiol. Biochem. 1998, 8:278-284.

50- Erman A., Chen-Gal B., Zabludowski J., et al., Cyclosporin A treatment enhances angiotensin converting enzyme activity in lung

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

and serum of rats. J.Pharm . Pharmacol. 1990, 42: 525-527.

51- Krege J. H., John S. W. M., Langenbach L. L., et al., Male-female differences in fertility and blood pressure in ACE-deficient mice. Nature (Lond.). 1995, 375:146-148.

52- Ziai S. A., Seyedhosseini D., Taiebi L., et al., Correlation between ACE activity and mean blood pressure in healthy normotensive subjects after oral administration of a single dose of enalapril.. Acta Physiol. Hungrica. In press 2000, 87: 153-159.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

STUDY OF RELATION SHIP BETWEEN TOXICITY OF GENTAMICIN AND ACTIVITY OF SERUM AND TISSUE ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME IN RAT

S. A. Ziai, Ph.D [I] **M. Mahmoudian, Ph.D* [II] *P. Salehian, MD* [III]

ABSTRACT

Angiotensin I-converting enzyme (ACE) converts the inactive angiotensin I molecule to the active angiotensin II. ACE is abundant in epithelium, endothelium and neuroepithelial cells so it found largely on the brush border of intestine and kidney proximal tubules. ACE also presents in the serum. Some pulmonary and renal toxic drugs change the serum and tissue ACE contents.

In this study changesin ACE activity was studied in gentamicin induced renal failure of rats. Rats were sacrificed 1, 3, 5 and 7 days after intrapritoneal injection of 100 mg/kg of Gentamicin and ACE activity was measured in serum, kidney and lung. These data were compared with vehicle-treated rats. Rats with acute renal failure had proteinuria, polyuria, and decreased creatinin clearance. The damage to the proximal tubule of kindy was evident by (a) the histological analysis at light microscopy and (b) the augmentation in the urinary excretion of NAG. (N-acetyl β-D-glucosaminidase) Kidney ACE activity significantly decreased and lung and serum ACE activity didn't change until 7 th day. Then lung ACE activity increased significantly at 7 th day as well as kidney and serum ACE activity. Blood pressure increased significantly on the 7 th day correspond with the increment in lung ACE activity. These data support the idea that kidney ACE activity decrease are due to local nitric oxide release in damaged kidney, and this effect reversed by an universal signal which increase ACE contents in the body probably to increase systemic blood pressure and subsequently increase glomerular filtration rate (GFR).

Key Words: 1) Angiotensin converting enzyme(ACE) 2) Blood pressure 3) Gentamicin 4)Rat.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

This article is recorded in undersecretary of research of Iran University of Medical Sciences and Health Services (No:281)

I) *Ph.D, Assistant professor of Reaserch center of Medical planets, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*

II) *Ph.D, Professor of farmacology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.(*Corresponding author)*

III) *Assistant professor of pathology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*