Journal of Gorgan University of Medical Sciences

e-ISSN: 2008-4080 p-ISSN: 1562-4765

2025 / Vol 27 / No 4

Determining the Protective Effect of L-Arginine Against Amikacin-Induced Nephrotoxicity in Normal African Green Monkey Kidney Epithelial Cells by Evaluating Oxidative Stress Parameters

Elahe Gharehkhani (Ph.D)[1], Marzieh Megharad[2], Mahboube Rahmati Kukandeh (Ph.D)[3]

Mohammad Shokrzadeh (Ph.D)[4,5]

1 Ph.D in Toxicology, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. 2 Pharmacy Student, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran. 3 Ph.D in Toxicology, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. 4 Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. 5 Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

Research Article

Abstract

Background and Objective: Due to high metabolic activity and rich blood supply, the kidneys are exposed to high levels of reactive oxygen species (ROS) under pathological conditions, making them highly vulnerable to oxidative stress. Nephrotoxic agents, such as cisplatin, aminoglycosides, and radiocontrast agents induce the production of ROS in renal tubular cells, leading to lipid peroxidation, protein oxidation, and mitochondrial dysfunction. This study was conducted to determine the protective effect of L-arginine against amikacin-induced nephrotoxicity in normal African green monkey kidney epithelial cells (Vero) by evaluating oxidative stress parameters.

Methods: This descriptive-analytical in vitro study was conducted on Vero cell lines purchased from the National Genetic Resources Cell Bank. For all assays, the amount of cultured calls was 10^5. Prior to the induction of nephrotoxicity with amikacin (653.2 µg/mL), the cells were pre-treated for 24 hours with various concentrations of L-arginine (108, 216, 430, and 860 µM). Subsequently, to evaluate the effect of L-arginine on oxidative stress status, the variables of malondialdehyde (MDA), cell viability, and ROS were measured.

Results: In the assays for ROS levels and cell viability, all tested concentrations of L-arginine (108, 216, 430, and 860 µM) resulted in a significant reduction in ROS levels (30±1.5, 28±1.4, 25±1.2, and 21±1.0, respectively) and a significant increase in cell viability (55±5.2, 64±3.8, 72±2.9, and 84±4.7, respectively) ($P<0.05$). Regarding measurement tests of lipid peroxidation, L-arginine at 108 µM did not significantly reduce MDA levels; however, other concentrations (216, 430, and 860 µM) significantly decreased MDA levels to 0.80±0.02, 0.74±0.03, and 0.66±0.01, respectively ($P<0.05$).

Conclusion: The findings of this study demonstrate the ability of L-arginine to improve kidney cell viability parameters and increase glutathione (GSH) levels at all tested concentrations (108, 216, 430, and 860 µM). Furthermore, L-arginine at concentrations of 216, 430, and 860 µM significantly reduced lipid peroxidation.

Keywords: Oxidative Stress; Vero Cells; Amikacin; Arginine

***Corresponding Author:** Mohammad Shokrzadeh (Ph.D), **E-mail:** mslamuk@yahoo.com **and** mshokrzadeh@mazums.ac.ir

Received 3 Nov 2024 **Received in revised form** 12 Sep 2025 **Accepted** 22 Sep 2025 **Available Online** 31 Dec 2025

Cite this article as: Gharehkhani E, Megharad M, Rahmati Kukandeh M, Shokrzadeh M. [Determining the Protective Effect of L-Arginine Against Amikacin-Induced Nephrotoxicity in Normal African Green Monkey Kidney Epithelial Cells by Evaluating Oxidative Stress Parameters]. J Gorgan Univ Med Sci. 2025; 27(4): 63-72. [Article in Persian]

© The author(s)

Owned: Golestan University of Medical Sciences **Publisher:** Deputy of Research and Technology

Journal of Gorgan University of Medical Sciences

Extended Abstract

2025 / Vol 27 / No 4

Introduction

The pathophysiology of nephrotoxicity is complex and multifactorial, involving processes such as oxidative stress, inflammation, apoptosis, and impaired renal hemodynamics. These mechanisms are exacerbated by underlying conditions, such as hypertension, diabetes, and cardiovascular diseases.

Oxidative stress represents a pivotal pathophysiological mechanism in nephrotoxicity, playing a central role in the initiation and progression of renal injury. Due to high metabolic activity and rich blood supply, the kidneys are highly vulnerable to oxidative stress. Nephrotoxic agents, such as cisplatin, aminoglycosides, and radiocontrast agents induce the production of reactive oxygen species (ROS) in renal tubular cells, leading to lipid peroxidation, protein oxidation, and mitochondrial dysfunction, ultimately stimulating apoptosis and contributing to the decline in renal function observed in nephrotoxicity.

Among the most well-known nephrotoxic agents are aminoglycosides (e.g., amikacin), non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), cisplatin, and radiocontrast agents.

Once established, renal damage-particularly in cases of chronic kidney disease-can be irreversible. Therefore, there is a pressing need to develop therapeutic interventions capable of preventing the onset of nephrotoxicity or, at the very least, mitigating its severity and long-term impact on renal function. Consequently, despite the discovery of various antioxidant agents, the search for novel nephroprotective antioxidants remains a critical necessity.

L-arginine is a semi-essential amino acid that serves as a vital precursor for various metabolic pathways, most notably the synthesis of nitric oxide-a key signaling molecule in numerous physiological processes. Following ingestion, L-arginine is absorbed in the small intestine and transported via the bloodstream to various tissues, where it plays a fundamental role in protein synthesis and the urea cycle. The levels of L-arginine-nitric oxide pathway derivatives, such as nitrite, nitrate, and potentially L-citrulline, in biological fluids may serve as clinical biomarkers for monitoring specific pathological conditions and their therapeutic progression.

Nitric oxide is a highly reactive molecule with a short biological half-life. Within the vasculature, nitric oxide diffuses from endothelial cells into adjacent vascular smooth muscle cells (VSMCs). In these cells, it activates soluble guanylate cyclase (sGC), leading to the synthesis of cyclic guanosine monophosphate (cGMP). The elevation of cGMP levels induces vasodilation and subsequently increases blood flow. Furthermore, nitric oxide exerts potent anti-inflammatory and anti-atherogenic effects by inhibiting leukocyte and platelet adhesion and activation, reducing oxidative stress, and preventing the proliferation of vascular smooth muscle cells.

Nitric oxide serves as a critical modulator of the tubuloglomerular feedback (TGF) response. Nitric oxide synthesized in the macula densa, mediated by neuronal nitric oxide synthase, attenuates TGF-induced afferent arteriolar constriction. Furthermore, elevated nitric oxide production may account for the impaired autoregulatory efficiency of medullary blood flow during volume expansion. Consequently, L-arginine may be considered a nephroprotective agent.

This study was conducted to determine the protective effect of L-arginine against amikacin-induced nephrotoxicity in normal African green monkey kidney epithelial cells (Vero) by evaluating oxidative stress parameters.

Methods

This descriptive-analytical in vitro study was conducted on Vero cell lines purchased from the National Genetic Resources Cell Bank at the Cell Culture Laboratory of the Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences.

For each cell line, the classification consisted of 7 groups as follows:

1. Control group: No treatment.
2. Amikacin (653.2 µg/mL) group.
3. L-arginine (108 µM) + Amikacin (653.2 µg/mL) group.
4. L-arginine (216 µM) + Amikacin (653.2 µg/mL) group.
5. L-arginine (430 µM) + Amikacin (653.2 µg/mL) group.
6. L-arginine (860 µM) + Amikacin (653.2 µg/mL) group.
7. L-arginine (860 µM) group.

The cell line was cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% penicillin-streptomycin. The cultures were maintained in an incubator at 37°C with adequate humidity and 5% carbon dioxide (CO_2). For implementing various tests, once the cells reached at least 70-80% cell growth, they were detached using trypsin-ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) without any mechanical agitation or shaking of the flask. The cell suspension was then centrifuged at 2000 rpm for 5 minutes. The resulting cell pellet was resuspended in 1 mL of culture medium. Cell viability was determined by mixing equal volumes of the cell suspension and Trypan blue dye, followed by counting using a hemacytometer under an optical microscope. After ensuring the absence of contamination, cells with a viability of over 80–90% were utilized for the test. Cell viability was assessed using the 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay. To measure intracellular ROS levels, cells were cultured at a density of 10 cells in 6-well plates. Following a 24-hour incubation period, the cells were treated with various concentrations of L-arginine (108, 216, 430, and 860 µM) and subsequently exposed to Amikacin. After 4 hours, the cells were washed with phosphate-buffered saline (PBS) and treated with a lysis buffer. Following this, dichloro-dihydro-fluorescein diacetate (DCFH-DA) was added, and the samples were incubated for 30 minutes at 37°C in the dark. Finally, the fluorescence intensity was measured using a microplate reader at an excitation wavelength of 485 nm and an emission wavelength of 530 nm.

To evaluate lipid peroxidation levels, cells were cultured at a density of 10 cells in 6-well plates and incubated for 24 hours. Subsequently, the cells were treated with various concentrations of L-arginine (108, 216, 430, and 860 µM) and then exposed to Amikacin. Following a 4-hour incubation period with the aforementioned compounds, lipid peroxidation levels were quantified using the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay.

Results

The Effect of L-arginine on the Viability of the Vero Cell Line in Amikacin-Induced Cytotoxicity: The viability of cells treated solely with amikacin (at the IC50 concentration) was significantly reduced compared to the control group ($P<0.001$). Subsequently, treatment of the toxicity-induced cells with L-arginine (at concentrations of 108, 216, 430, and 860 µM) resulted in a significant increase in cell viability ($P<0.001$). Furthermore, cell viability increased with higher L-arginine concentrations.

The Effect of L-arginine on Amikacin-Induced Peroxidation in the Vero Cell Line: Malondialdehyde (MDA) levels in cells

Journal of Gorgan University of Medical Sciences

Extended Abstract

2025 / Vol 27 / No 4

treated with Amikacin (at IC50 concentration) significantly increased compared to the control group (P<0.001). The reduction in MDA levels in the the group receiving 108 µM of L-arginine was not significant compared to the group receiving Amikacin alone. However, MDA levels in cells treated with 216 µM (P<0.050), 430 µM (P<0.001), and 860 µM (P<0.001) of L-arginine showed a significant decrease compared to the group receiving Amikacin alone. Furthermore, MDA levels decreased with higher concentrations of L-arginine.

The Effect of L-Arginine on Amikacin-Induced Cellular Reactive Oxygen Species Production in the Vero Cell Line: ROS levels in cells treated solely with Amikacin (at the IC50 concentration) exhibited a significant increase compared to the control group (P<0.001). Moreover, ROS production in toxicity-induced cells treated with L-arginine at concentrations of 108, 216, 430, and 860 µM showed a significant reduction compared to cells receiving Amikacin alone (P<0.001). The concentration of produced ROS decreased with higher concentrations of L-arginine.

Conclusion

According to the results of this study, in assays measuring ROS levels and cell viability, all tested concentrations of L-arginine (108, 216, 430, and 860 µM) culminated in a significant reduction in ROS levels and a significant increase in cell viability. Regarding the lipid peroxidation assay, while the cells receiving 108 µM of L-arginine produced no significant decrease in MDA levels, all other concentrations (216, 430, and 860 µM) led to a significant reduction in MDA.

The significant protective effects of L-arginine in acute kidney injury (AKI) are primarily mediated through mechanisms involving nitric oxide synthesis, as well as the regulation of oxidative stress and inflammation. In the context of ischemia-reperfusion injury-a leading cause of AKI-the pre-injury administration of L-arginine improves renal outcomes by increasing the bioavailability of nitric oxide. Nitric oxide, synthesized from L-arginine by nitric oxide synthase, is a vital mediator of vasodilation that enhances renal blood flow, thereby mitigating ischemic injury. Furthermore, L-arginine upregulates the expression of heme oxygenase-1 (HO-1) and nuclear factor erythroid 2–related factor 2 (Nrf2), both of which serve protective roles against oxidative stress by bolstering antioxidant defenses, such as superoxide dismutase (SOD) and glutathione (GSH).

Chronic nitric oxide deficiency, a hallmark of chronic kidney disease (CKD), leads to the exacerbation of hypertension, glomerulosclerosis, and tubular atrophy-all of which are detrimental to long-term renal function. L-arginine helps ameliorate these conditions by serving as a substrate for nitric oxide synthesis. Studies have demonstrated that L-arginine supplementation in CKD models reduces the expression of profibrotic factors, such as transforming growth factor-beta (TGF-β) and fibronectin, which are critical drivers of renal fibrosis. Moreover, L-arginine upregulates the expression of endothelial nitric oxide synthase, which is essential for maintaining the equilibrium between vasodilatory and vasoconstrictive forces within the renal vasculature. This restoration of nitric oxide levels not only improves hemodynamic flow but also inhibits the activation of fibrotic pathways, thereby slowing the progression of CKD.

Ethical Statement

This study was approved by the Ethics Committee at Mazandaran University of Medical Sciences (IR.MAZUMS.RIB.REC.1402.061).

Funding

This article has been derived from the doctoral dissertation (approval code: 17917) by Marzieh Megharad in Doctor of Pharmacy (Pharm.D) at Ramsar Self-Governing Campus, Mazandaran University of Medical Sciences.

Authors' Contributions

Elahe Gharehkhani (Ph.D): Project execution, Data analysis, Interpretation of the results, Drafting of the initial manuscript.

Marzieh Megharad: Project execution, Data collection.

Mahboube Rahmati Kukandeh (Ph.D): Data analysis, Interpretation of the results.

Mohammad Shokrzadeh (Ph.D): Project administration and design, Approval of the final manuscript.

Conflicts of Interest

No conflicts of interest.

Acknowledgement

The authors would like to thank the research authorities of the Faculty of Pharmacy at Mazandaran University of Medical Sciences and the thesis examination committee for their invaluable support and guidance in conducting and improving the quality of this study.

L-arginine was effective in improving renal cell viability parameters and increasing GSH levels across all tested concentrations (108, 216, 430, and 860 µM). Furthermore, at concentrations of 216, 430, and 860 µM, L-arginine significantly reduced lipid peroxidation.

دارای رتبه علمی -پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

e-ISSN: ۲۰۰۸-۴۰۸۰ p-ISSN: ۱۵۶۲-۴۷۶۵

با دسترسی آزاد

مجله دانشگاه علوم پزشکی گرگان

زمستان ۱۴۰۴ / دوره ۲۷ / شماره ۴ (پی در پی ۹۶)

تحقیقی

تعیین اثر حفاظتی ال آرژنین بر سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین در رده نرمال سلول کلیوی (Vero) با ارزیابی پارامترهای استرس اکسیداتیو

دکتر الهه قره‌خانی[۱]، مرضیه مجرد[۲]، دکتر محبوبه رحمتی کوکنده[۳]، دکتر محمد شکرزاده*[۴و۵]

۱ دکتری تخصصی سم‌شناسی، گروه سم شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ۲ دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران. ۳ دکتری تخصصی سم شناسی، گروه سم شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ۴ استاد، گروه سم شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ۵ مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: *کلیه‌ها به‌دلیل فعالیت متابولیکی بالا و خون‌رسانی غنی، در شرایط پاتولوژیک در معرض سطوح بالایی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن قرار می‌گیرند و به همین دلیل نسبت به استرس اکسیداتیو آسیب‌پذیر هستند. عوامل نفروتوکسیک مانند سیس پلاتین، آمینوگلیکوزیدها و عوامل رادیوکنتراست، باعث تولید رادیکال‌های اکسیژن آزاد در سلول‌های لوله کلیوی می‌شوند که منجر به پراکسیداسیون لیپیدی، اکسیداسیون پروتئین و اختلال عملکرد میتوکندری می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر حفاظتی ال آرژنین بر سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین در رده نرمال سلول کلیوی (Vero) با ارزیابی پارامترهای استرس اکسیداتیو انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه توصیفی تحلیلی در محیط In Vitro بر روی رده نرمال سلول‌های کلیوی (Vero) خریداری شده از بانک سلولی ذخایر ملی ژنتیک انجام شد. میزان سلول‌های کشت داده شده برای تمامی تست‌ها برابر با ۱۰^۵ سلول بود. پیش از القای سمیت با آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)، به مدت ۲۴ ساعت با غلظت‌های مختلف ال – آرژنین (۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰ و ۸۶۰ میکرومولار) پیش تیمار شدند. سپس برای ارزیابی اثر ال – آرژنین بر وضعیت استرس اکسیداتیو، متغیرهای مالون‌دی‌آلدئید، زنده‌مانی سلولی و گونه‌های فعال اکسیژن اندازه‌گیری شدند.*

یافته‌ها: *در آزمایشات مربوط به اندازه‌گیری سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن و زنده‌مانی سلولی تمامی غلظت‌های مورد استفاده ال – آرژنین (۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰، ۸۶۰ میکرومولار) باعث کاهش معنی‌دار سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن به ترتیب با مقادیر ۱/۵ ± ۳۰، ۱/۴ ± ۲۸، ۱/۲ ± ۲۵ و ۱/۰ ± ۲۱ و افزایش زنده‌مانی سلول‌ها به ترتیب با مقادیر ۰/۵ ± ۵۵، ۳/۸ ± ۶۴، ۲/۹ ± ۷۲ و ۴/۷ ± ۸۴ گردید (P<۰/۰۵). در آزمایش مربوط به اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی، تنها سلول‌های دریافت کننده ال آرژنین ۱۰۸ میکرومولار کاهش معنی‌داری در سطح مالون دی آلدئید نداشتند و باقی غلظت‌های ال – آرژنین (۲۱۶، ۴۳۰، ۸۶۰ میکرومولار) باعث کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید به ترتیب با مقادیر ۰/۰۲ ± ۰/۸۰، ۰/۰۳ ± ۰/۷۴ و ۰/۰۱ ± ۰/۶۶ شدند (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *نتایج این مطالعه نشان‌دهنده توانایی ال-آرژنین در پارامترهای زنده‌مانی سلول کلیوی و افزایش گلوتاتیون (GSH) در تمامی غلظت‌ها (۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰ و ۸۶۰ میکرومولار) بود. ال-آرژنین در غلظت‌های ۲۱۶، ۴۳۰ و ۸۶۰ میکرومولار توانست به‌طور معنی‌داری باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی شود.*

واژه‌های کلیدی: *استرس اکسیداتیو ، رده سلولی Vero ، آمیکاسین ، ال-آرژنین*

* نویسنده مسؤول: دکتر محمد شکرزاده ، پست الکترونیکی: mslamuk@yahoo.com و mshokrzadeh@mazums.ac.ir

نشانی: ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی، گروه سم شناسی و داروشناسی، تلفن ۰۱۱-۳۳۰۴۴۰۰۰ داخلی ۲۰۳۸

وصول ۱۴۰۳/۸/۱۳ اصلاح نهایی ۱۴۰۴/۶/۲۱ پذیرش ۱۴۰۴/۶/۳۱ انتشار ۱۴۰۴/۱۰/۱۰

مقدمه

سمیت کلیوی، اصطلاحی است که به‌طور گسترده برای توصیف آسیب کلیه ناشی از قرار گرفتن در معرض مواد سمی استفاده می‌شود که یک مسأله حیاتی در پزشکی بالینی است. کلیه‌ها به دلیل نقشی که در فیلتر کردن خون و تمرکز مواد دفعی دارند؛ به شدت مستعد حملات سمی هستند که احتمال تجمع ترکیبات سمی را افزایش می‌دهد.[۱] سمیت کلیوی بسته به ماهیت و مدت قرار گرفتن در معرض سم می‌تواند به‌صورت آسیب حاد کلیه یا بیماری مزمن کلیوی ظاهر شود. معمولاً مشخصه آسیب حاد کلیه کاهش سریع در عملکرد کلیه است که اگر علت زمینه‌ای به سرعت شناسایی و مدیریت شود؛ اغلب قابل برگشت است. برعکس، بیماری مزمن کلیوی شامل از دست دادن پیشرونده عملکرد کلیه در طول ماه‌ها یا

سال‌ها است که اغلب منجر به بیماری کلیوی مرحله نهایی می‌شود. پاتوفیزیولوژی سمیت کلیوی پیچیده و چند عاملی است و شامل فرآیندهایی مانند استرس اکسیداتیو، التهاب، آپوپتوز و اختلال در همودینامیک کلیوی است. این مکانیسم‌ها نه تنها به‌هم مرتبطند؛ بلکه با شرایط زمینه‌ای مانند فشارخون بالا، دیابت و بیماری‌های قلبی عروقی که در جمعیت در معرض خطر سمیت کلیوی شایعند؛ تشدید می‌شوند.[٢]

استرس اکسیداتیو یک مکانیسم پاتوفیزیولوژیکی کلیدی در سمیت نفروتوکسیک است که نقش اصلی را در شروع و پیشرفت آسیب کلیوی ناشی از عوامل نفروتوکسیک مختلف ایفا می‌کند. استرس اکسیداتیو زمانی اتفاق می‌افتد که بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول، عدم تعادل وجود داشته باشد که منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آسیب بعدی به اجزای سلولی از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌شود.[٣] کلیه‌ها به‌دلیل فعالیت متابولیکی بالا و خون‌رسانی غنی که آنها را در معرض سطوح بالایی از رادیکال‌های اکسیژن آزاد تحت شرایط پاتولوژیک قرار می‌دهد؛ در برابر استرس اکسیداتیو آسیب‌پذیرند. عوامل نفروتوکسیک، مانند سیس‌پلاتین، آمینوگلیکوزیدها و عوامل رادیوکنتراست، باعث تولید رادیکال‌های اکسیژن آزاد در سلول‌های لوله کلیوی می‌شوند که منجر به پراکسیداسیون لیپیدی، اکسیداسیون پروتئین و اختلال عملکرد میتوکندری می‌شود. این تغییرات اکسیداتیو هموستاز سلولی را مختل نموده؛ آپوپتوز را تحریک و به از دست دادن عملکرد کلیه مشاهده شده در سمیت کلیوی؛ کمک می‌کند.[٤]

نفروتوکسین‌ها به دو دسته کلی عوامل داخلی و عوامل خارجی تقسیم می‌شوند. در میان عوامل خارجی، داروها جایگاه ویژه‌ای دارند. با طیف وسیعی از داروها می‌توانند از طریق مکانیسم‌های مختلف باعث ایجاد سمیت کلیوی شوند. از جمله شناخته‌شده‌ترین داروهای نفروتوکسیک می‌توان به آمینوگلیکوزیدها (مانند آمیکاسین)، داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی، سیس‌پلاتین و عوامل رادیوکنتراست اشاره کرد. آمینوگلیکوزیدها، دسته‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که معمولاً برای درمان عفونت‌های شدید استفاده می‌شوند و به‌دلیل پتانسیل نفروتوکسیک خود شناخته شده‌اند و عمدتاً از طریق تجمع آنها در قشر کلیه ایجاد شده و منجر به استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد میتوکندری و آپوپتوز سلولی لوله‌ای می‌شوند.[٥] این آنتی‌بیوتیک‌ها مانند جنتامایسین، توبرامایسین و آمیکاسین، به‌طور فعال توسط سلول‌های لوله پروگزیمال از طریق اندوسیتوز با واسطه مگالین جذب شده و اثرات سمی خود را با اختلال در عملکرد میتوکندری، القای تشکیل رادیکال‌های اکسیژن آزاد و تحریک آپوپتوز از طریق فعال‌سازی کاسپازها اعمال می‌کنند. سمیت کلیوی آمینوگلیکوزیدها وابسته به دوز است و دوزهای بالاتر و طول مدت درمان به‌طور قابل توجهی خطر آسیب حاد کلیه را افزایش می‌دهند.[٦]

سمیت کلیوی به‌دلیل شیوع آن، به‌ویژه در بیمارانی که در معرض عوامل نفروتوکسیک مانند شیمی‌درمانی، رسانه‌های کنتراست رادیویی و آنتی‌بیوتیک‌های خاص قرار دارند؛ یک چالش بالینی قابل توجه است. اهمیت بررسی مداخلات درمانی برای سمیت کلیوی در این واقعیت نهفته است که درمان‌های کنونی اغلب به مراقبت‌های حمایتی و قطع عامل خاطی محدود می‌شود که ممکن است برای جلوگیری از آسیب طولانی‌مدت کلیوی کافی نباشد. آسیب حاد کلیوی و بیماری مزمن کلیوی، هر دو پیامد بالقوه سمیت کلیوی، با عوارض و مرگ و میر بالا همراه هستند و بر نیاز به استراتژی‌های مؤثرتر برای پیشگیری یا کاهش آسیب کلیوی تأکید می‌کنند. علاوه بر این، بار سمیت کلیوی احتمالاً با افزایش استفاده از داروهای بالقوه نفروتوکسیک، پیری جمعیت و افزایش شیوع بیماری‌های همراه مانند دیابت و فشار خون بالا که افراد را مستعد آسیب کلیوی می‌کند؛ افزایش می‌یابد. این عوامل نیاز حیاتی به تحقیق در مورد رویکردهای درمانی جدید را برجسته می کند که می تواند از کلیه ها در برابر آسیب‌های سمی محافظت کند و نتایج بالینی را برای بیماران در معرض خطر سمیت کلیوی بهبود بخشد.[٧]

استراتژی‌های مدیریت فعلی برای سمیت کلیوی در درجه اول بر پیشگیری از آسیب کلیوی با به حداقل رساندن قرار گرفتن در معرض عوامل نفروتوکسیک، بهینه‌سازی وضعیت هیدراتاسیون و نظارت دقیق بر عملکرد کلیه در بیماران پرخطر متمرکز است. با این حال، این استراتژی‌ها اغلب واکنشی هستند تا فعال و تنها پس از آسیب کلیوی به سمیت کلیوی رسیدگی می‌کنند. این رویکرد مشکل‌ساز است؛ زیرا آسیب کلیوی، پس از ایجاد، به‌ویژه در موارد بیماری مزمن کلیوی ممکن است غیرقابل برگشت باشد. بنابراین نیاز مبرمی به توسعه مداخلات درمانی وجود دارد که بتواند از شروع سمیت کلیوی جلوگیری کند یا حداقل از شدت آن و تأثیر طولانی مدت آن بر عملکرد کلیوی بکاهد. در نتیجه، با وجود یافتن عوامل آنتی‌اکسیدانی جدید همچنان نیاز به یافتن آنتی‌اکسیدان‌های محافظ جدید نفروپروتکتیو وجود دارد.[٨]

ال-آرژنین یک آمینواسید نیمه ضروری است. به این معنی که اگرچه می‌توان آن را به صورت درون‌زا سنتز کرد؛ سنتز آن ممکن است همیشه نیازهای بدن را تحت شرایط خاصی مانند استرس، بیماری یا رشد سریع برآورده نکند. این یک پیش‌ساز حیاتی برای مسیرهای متابولیک مختلف، به‌ویژه سنتز نیتریک اکسید است که یک مولکول سیگنال‌دهنده کلیدی در فرآیندهای فیزیولوژیکی متعدد، از جمله اتساع عروق، انتقال عصبی و پاسخ ایمنی است.[٩]

ال-آرژنین عمدتاً از طریق مصرف رژیم غذایی، با منابع غنی از جمله گوشت، محصولات لبنی و برخی از غذاهای گیاهی مانند آجیل و دانه‌ها به‌دست می‌آید. پس از مصرف، ال-آرژنین در روده کوچک جذب شده و از طریق جریان خون به بافت‌های مختلف منتقل می‌شود و در ادامه نقش اساسی در سنتز پروتئین و چرخه اوره ایفا می‌کند که دومی برای سم‌زدایی آمونیاک ضروری است.[۱۰] سنتز ال-آرژنین در بدن عمدتاً از طریق محور روده-کلیه اتفاق می‌افتد. در این محور، سیترولین که یک واسطه در چرخه اوره است؛ در کلیه‌ها به آرژنین تبدیل می‌شود. این سنتز به‌شدت توسط آنزیم‌هایی مانند آرژنینوسوکسینات سنتاز و آرژنینوسوکسینات لیاز تنظیم می‌شود که تشکیل آرژنین از سیترولین و آسپارتات را کاتالیز می‌کنند.[۱۱] سطوح محصولات مسیر اکسید نیتریک ال-آرژنین مانند نیتریت، نیترات و احتمالاً ال سیترولین در مایعات بیولوژیکی ممکن است به نشانگرهای بالینی برای نظارت بر شرایط پاتولوژیک خاص و پیشرفت درمان آنها تبدیل شوند.[۱۲]

نیتریک اکسید خود یک مولکول بسیار واکنش‌پذیر با نیمه‌عمر کوتاه است که به آن اجازه می‌دهد به‌سرعت در غشاهای سلولی پخش شده و اثرات خود را در ریزمحیط محلی اعمال کند. در عروق، نیتریک اکسید از سلول‌های اندوتلیال به سلول‌های عضله صاف مجاور منتشر می‌شود. در این سلول‌ها نیتریک اکسید، گوانیلات سیکلاز محلول را فعال می‌کند و منجر به تولید cGMP می‌شود. cGMP، به نوبه خود عضلات صاف را ریلکس نموده و در نتیجه باعث اتساع عروق و افزایش جریان خون می‌شود. نیتریک اکسید علاوه بر نقشی که در اتساع عروق دارد؛ با مهار چسبندگی و فعال‌شدن لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها، کاهش استرس اکسیداتیو و جلوگیری از تکثیر سلول‌های عضله صاف عروق، اثرات ضدالتهابی و ضدآتروژنیک نیز دارد.[۱۳]

مطالعاتی که با استفاده از مهارکننده‌های نیتریک اکسید سنتاز مانند نیترو-ال-آرژنین و-نیترو-ال-آرژنین متیل استر (L-NAME) انجام شده؛ نشان داده است که نیتریک اکسید عمدتاً بر گردش خون مدولاری تأثیر تونیک دارد. اگرچه جریان خون به بصل‌النخاع داخلی کمتر از یک درصد از کل جریان کلیوی را تشکیل می‌دهد؛ تغییرات آن می‌تواند بر هموستاز سدیم و آب و کنترل طولانی‌مدت فشار شریانی اثر گذارد. انفوزیون داخل مدولاری مهارکننده‌های نیتریک اکسید سنتاز، جریان خون کلیوی، فشار مایع بینابینی کلیوی، حجم ادرار و دفع سدیم را کاهش می‌دهد؛ بدون اینکه تغییر قابل توجهی در میزان فیلتراسیون گلومرولی، دفع کسری سدیم و آب، فشارخون یا اسمولالیته ادرار ایجاد کند. علاوه بر این، انفوزیون داخل وریدی آنژیوتانسین II، نوراپی‌نفرین یا وازوپرسین در دوزهایی که معمولاً تحت فشارند؛ در حضور انفوزیون داخل مدولاری L-NAME باعث افزایش فشارخون می‌شود. از سوی دیگر، نیتریک اکسید یک تعدیل کننده مهم پاسخ به TGF است. نیتریک اکساید سنتز شده در ماکولا دنسا با اثر نیتریک اکسید سنتاز نورونی، انقباض شریان‌های آوران با واسطه TGF را کاهش می‌دهد. افزایش تولید اکسید نیتریک همچنین ممکن است مسؤول اختلال در کارایی خودتنظیمی در جریان خون مدولاری در طول افزایش حجم باشد.[۱۴] در نتیجه ال – آرژنین می‌تواند به عنوان یک عامل نفروپروتکتیو مطرح شود.

این مطالعه به منظور تعیین اثر حفاظتی ال آرژنین بر سمیت کلیوی ناشی از آمیکاسین در رده نرمال سلول کلیوی (Vero) با ارزیابی پارامترهای استرس اکسیداتیو انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی تحلیلی در محیط In Vitro بر روی رده نرمال سلول‌های کلیوی (Vero) خریداری شده از بانک سلولی ذخایر ملی ژنتیک در آزمایشگاه کشت سلولی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران طی سال‌های ۱۴۰۲-۱۴۰۱ انجام شد.

گروه‌بندی برای هر رده سلولی به صورت ۷ گروه به‌شرح زیر بود.

گروه کنترل: فاقد تیمار.

گروه دریافت کننده آمیکاسین (۶۵۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر).

گروه دریافت کننده ال – آرژنین (۱۰۸ میکرومولار) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر).

گروه دریافت کننده ال – آرژنین (۲۱۶ میکرومولار) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر).

گروه دریافت کننده ال – آرژنین (۴۳۰ میکرومولار) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر).

گروه دریافت کننده ال – آرژنین (۸۶۰ میکرومولار) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر).

گروه دریافت کننده ال – آرژنین (۸۶۰ میکرومولار).

رده سلولی در محیط کشت DMEM با افزودن ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین – استرپتومایسین کشت داده شد و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت کافی و میزان ۵ درصد دی‌اکسید کربن نگهداری گردید. برای انجام تست‌های مختلف، زمانی که سلول‌ها حداقل به ۸۰-۷۰ درصد رشد سلولی رسیدند؛ توسط تریپسین-اتیلن دی‌آمین تتراستیک اسید (EDTA) از ته فلاسک بدون هیچگونه shake و ضربه به فلاسک حاوی سلول، جدا شدند. سپس در دور ۲۰۰۰ rpm به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب سلولی در یک میلی‌لیتر محیط کشت به حالت سوسپانسیون تهیه شد و درصد زنده بودن سلول‌های موجود در سوسپانسیون سلولی با مخلوط شدن نسبت مساوی از تریپان‌بلو با استفاده از لام هموسایتومتر و بررسی با میکروسکوپ نوری تعیین گردید. پس از حصول اطمینان از عدم

آلودگی سلول‌ها، از سلول‌های با درصد زنده بودن بالای ۹۰-۸۰ درصد برای انجام تست استفاده شد.[۱۵] میزان حیات سلولی به روش MTT اندازه‌گیری شد. برای انجام روش MTT ابتدا تعداد 10^5 سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف ال – آرژنین (۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰ و ۸۶۰ میکرومولار) به مدت ۴ ساعت تیمار شده و سپس به مدت ۲۴ ساعت در معرض آمیکاسین قرار گرفتند. سپس ۱۰ میکرولیتر محلول MTT (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به هر چاهک اضافه گردید و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر DMSO جایگزین محیط کشت رویی سلول‌های انکوبه شده با MTT گردید و جذب نوری آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر سنجیده شد.[۱۶] برای اندازه‌گیری میزان گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) داخل سلولی پس از کشت سلول‌ها با تراکم 10^5 در پلیت ۶ خانه و ۲۴ ساعت انکوباسیون، تریت سلول با غلظت‌های مختلف ال - آرژنین (۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰ و ۸۶۰ میکرومولار) انجام شد و پس از آن در مجاورت آمیکاسین قرار گرفته و بعد از ۴ ساعت، پس از شستشو با PBS، محلول لیز کننده به آن اضافه و سپس DCFH-DA به آن اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه و به دور از نور انکوبه شد.

در نهایت میزان فلورسنس توسط میکروپلیت ریدر (Excitation: 485 nm, emission: 530 nm) اندازه‌گیری شد.[۱۷]

برای اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی، پس از کشت سلول‌ها با تراکم 10^5 در پلیت ۶ خانه و ۲۴ ساعت انکوباسیون، تریت سلول با غلظت‌های مختلف ال – آرژنین (۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰ و ۸۶۰ میکرومولار) انجام شد و پس از آن در مجاورت آمیکاسین قرار گرفته و بعد از ۴ ساعت انکوباسیون سلول‌ها با ترکیبات به ترتیب مذکور میزان پراکسیداسیون لیپیدی براساس روش تیوبابیتوریک اسید اندازه‌گیری شدند. بدین ترتیب که به ۰/۲ml از سوسپانسیون سلولی و ۰/۱ml از معرف TBA شامل HCl 0.5 نرمال، TCA 15% و TBA 0.3% اضافه شد و به خوبی مخلوط و در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید و بعد از سرد شدن به آن ۰/۲ ml n-بوتانل اضافه کرده و خوب تکان داده و سپس در ۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده لایه n- بوتانل برای سنجش در طول موج ۵۳۲ nm جدا شده و مقدار TBARs از روی منحنی استاندارد محاسبه گردید.[۱۸]

همه محاسبات آماری برای مقایسه IC50 ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Prism Ver.8 و به روش رگرسیون غیرخطی (nonlinear Regression) انجام شد. مقایسه داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و Post test مربوطه (Tukey- Kramer multiple comprehension test) انجام شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر ال-آرژنین بر زنده‌مانی رده سلولی Vero در سمیت سلولی ناشی از آمیکاسین: زنده‌مانی سلول‌هایی که صرفاً آمیکاسین را (در غلظت IC50) دریافت کردند؛ نسبت به سلول‌های گروه کنترل به شدت کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). در ادامه تیمار سلول‌های القای سمیت شده با ال – آرژنین (در غلظت‌های ۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰، ۸۶۰ میکرومولار) باعث افزایش معنی‌دار میزان زنده‌مانی سلول‌ها شد (P<۰/۰۰۱). زنده‌مانی سلول‌ها با افزایش غلظت ال – آرژنین افزایش یافت (جدول یک).

اثر ال-آرژنین بر پراکسیداسیون القا شده توسط آمیکاسین بر رده سلولی Vero: سطح مالون‌دی‌آلدئید در سلول‌های دریافت کننده آمیکاسین (در غلظت IC50) نسبت به گروه کنترل به‌طرز معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید در گروه دریافت کننده ال – آرژنین در غلظت ۱۰۸ میکرومولار نسبت به گروه صرفاً دریافت کننده آمیکاسین معنی‌دار نبود. سطح مالون‌دی‌آلدئید سلول‌های دریافت کننده ال – آرژنین ۲۱۶ میکرومولار (P<۰/۰۵۰)، ۴۳۰ میکرومولار (P<۰/۰۰۱) و ۸۶۰ میکرومولار (P<۰/۰۰۱) به‌طرز معنی‌داری نسبت به گروه صرفاً دریافت کننده آمیکاسین کاهش یافت. سطح مالون دی آلدئید با افزایش غلظت ال – آرژنین کاهش یافت (جدول یک).

اثر ال-آرژنین بر میزان ROS سلولی تولید شده توسط آمیکاسین در رده سلولی Vero: سطح تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سلول‌هایی که صرفاً آمیکاسین (در غلظت IC50) دریافت کردند؛ نسبت به گروه کنترل به‌طرز معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). همچنین سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده سلول‌های القای سمیت شده‌ای که ال – آرژنین را در غلظت‌های ۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰ و ۸۶۰ میکرومولار دریافت کردند؛ نسبت به سلول‌هایی که صرفاً آمیکاسین دریافت کردند؛ به‌طرز معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). غلظت رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده با افزایش غلظت ال – آرژنین کاهش یافت (جدول یک).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، در آزمایشات مربوط به اندازه‌گیری سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن و زنده‌مانی سلولی تمامی غلظت‌های مورد استفاده ال - آرژنین (۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰، ۸۶۰ میکرومولار) باعث کاهش معنی‌دار سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش زنده‌مانی سلول‌ها شدند. در آزمایش مربوط به اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی، تنها سلول‌های دریافت کننده ال-آرژنین ۱۰۸ میکرومولار کاهش معنی‌داری در سطح مالون‌دی‌آلدئید نداشتند و باقی غلظت‌های ال - آرژنین (۲۱۶، ۴۳۰، ۸۶۰ میکرومولار) باعث

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار زنده‌مانی، پراکسیداسیون القاء شده و میزان ROS رده سلولی Vero در سمیت سلولی ناشی از آمیکاسین دریافت کننده ال-آرژنین در غلظت‌های مختلف

متغیرها	گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار
زنده‌مانی	کنترل	۱۰۰±۲/۵
	آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۴۹±۴/۳ *
	ال – آرژنین (۱۰۸ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۵۵±۵/۲ **
	ال – آرژنین (۲۱۶ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۶۴±۳/۸ **
	ال – آرژنین (۴۳۰ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۷۲±۲/۹ **
	ال – آرژنین (۸۶۰ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۸۴±۴/۷ **
	ال – آرژنین (۸۶۰ µM)	۹۲±۲/۴ **
پراکسیداسیون القاء شده	کنترل	۰/۵۵±۰/۰۲
	آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۰/۹۱±۰/۰۴ *
	ال – آرژنین (۱۰۸ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۰/۸۵±۰/۰۱
	ال – آرژنین (۲۱۶ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۰/۸۰±۰/۰۲ #
	ال – آرژنین (۴۳۰ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۰/۷۴±۰/۰۳ **
	ال – آرژنین (۸۶۰ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۰/۶۶±۰/۰۱ **
	ال – آرژنین (۸۶۰ µM)	۰/۶۰±۰/۰۲ **
میزان ROS سلولی	کنترل	۱۵±۱/۰
	آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۳۶±۱/۸ *
	ال – آرژنین (۱۰۸ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۳۰±۱/۵ **
	ال – آرژنین (۲۱۶ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۲۸±۱/۴ **
	ال – آرژنین (۴۳۰ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۲۵±۱/۲ **
	ال – آرژنین (۸۶۰ µM) + آمیکاسین (۶۵۳/۲ µg/ml)	۲۱±۱/۰ **
	ال – آرژنین (۸۶۰ µM)	۱۸±۰/۸ **

* دارای اختلاف معنی دار با گروه کنترل (P<۰/۰۰۱)، ** دارای اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین در غلظت IC50 (P<۰/۰۰۱)

دارای اختلاف معنی‌دار با گروه آمیکاسین در غلظت IC50 (P<۰/۰۵).

کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید شدند. به‌طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه با مطالعات پیشین در یک راستا بود. به عنوان مثال، Zhang و همکاران در مطالعه‌ای به منظور ارزیابی اثر محافظتی ال-آرژنین بر استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از لیپوپلی‌ساکاریدها در سلول‌های اپیتلیال روده گوسفند IOECs نشان دادند که ال-آرژنین به‌طور قابل توجهی زنده ماندن سلولی را افزایش داد و باعث کاهش انتشار لاکتات دهیدروژناز و تولید مالون‌دی‌آلدئید در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید شد که نشان‌دهنده کاهش آسیب اکسیداتیو بود. علاوه بر این، تیمار ال-آرژنین منجر به افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون پراکسیداز-۱، کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز-۲ و همچنین آنزیم‌های سم‌زدایی فاز II مانند NADPH دهیدروژناز و هم اکسیناژ-۱ شد. همچنین ال-آرژنین با تنظیم مثبت پروتئین ضدآپوپتوز Bcl-2 و کاهش نشانگرهای طرفدار آپوپتوز مانند Bax و Caspase-3، میزان آپوپتوز را کاهش داد.[۱۹]

در مطالعه Hanusch و همکاران تغییرات مسیر ال-آرژنین / نیتریک اکسید و استرس اکسیداتیو در کودکان مبتلا به بیماری‌های آتوپیک ارزیابی و نتایج نشان داد که سطوح پلاسمایی مالون‌دی‌آلدئید ادراری بین گروه‌ها تفاوتی نداشت که نشان‌دهنده عدم تأثیر استرس اکسیداتیو بر مسیر آرژنین / نیتریک اکسید در بیماری‌های آتوپیک بود.[۱۲]

در مطالعه Saka و همکاران اثر ال-آرژنین بر سرکوب استرس اکسیداتیو در سمیت بیضه موش‌های صحرایی نر ویستار ارزیابی و نتایج نشان داد که ال-آرژنین باعث کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید و افزایش GSH و سوپراکسید دسموتاز در بافت بیضه موش‌ها و همچنین افزایش پارامترهای مرتبط با کیفیت اسپرم گردید.[۲۰]

در مطالعه شکی و همکاران اثر ال-آرژنین بر آسیب اکسیداتیو میتوکندری در کلیه موش‌ها ارزیابی و نتایج نشان داد که ال-آرژنین باعث کاهش مالون‌دی‌آلدئید، بازیابی پتانسیل زتای میتوکندری، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش گلوتاتیون و کاهش پروتئین کربونیل در بافت کلیه موش‌ها گردید. در نتیجه ال-آرژنین اثرات مفیدی بر سمیت کلیوی و آسیب اکسیداتیو ناشی از کادمیوم در موش نشان داد.[۲۱]

Saka و همکاران اثر ال-آرژنین بر سرکوب تولید اسیداوریک و رفع اختلال در تنظیم گلوتاتیون توسط آسیب اکسیداتیو کبدی در موش‌ها را بررسی و نتایج نشان داد که دی کلوروروس از طریق افزایش مالون‌دی‌آلدئید و کاهش فعالیت های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون و پراکسیداز کاهش مقدار گلوتاتیون کبدی و کلیوی باعث القای سمیت می‌شود و ال-آرژنین تا حد زیادی باعث بازیابی عملکرد فیزیولوژیک این اندام‌ها می‌شود.[۲۲]

در مطالعه Qiu و همکاران اثر ال-آرژنین بر التهاب و استرس اکسیداتیو ناشی از لیپوپلی‌ساکارید در سلول‌های IPEC-J2 ارزیابی و نتایج نشان داد که تیمار سلول‌ها با ال-آرژنین باعث افزایش زنده‌ماندن سلولی، کاهش بیان نشانگر التهابی، کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز

شد و در نتیجه انتقال سلول‌ها به فاز S چرخه سلولی را ارتقا داد. اثرات محافظتی ال-آرژنین به‌طور مشخص توسط مسیر سیگنالینگ آنزیم آرژیناز – ۱ انجام شد؛ زیرا مهار آرژیناز-۱ اثرات مفید ال-آرژنین را بلاک کرد.[۲۳]

در مطالعه Zhao و همکاران اثر محافظتی ال-آرژنین بر استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از لیپوپلی‌ساکارید در سلول‌های میوتوب C2C12 ارزیابی و نتایج نشان داد که درمان با ال-آرژنین به‌طور قابل توجهی این اثرات را با کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن، بازیابی MMP و افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز کاهش داد. همچنین ال-آرژنین بیان SIRT1 را افزایش داد که برای فعال کردن مسیرهای محافظ Akt-Nrf2 و FOXO3a بسیار مهم بود. مهارکننده SIRT1، EX527، اثرات مفید ال-آرژنین را معکوس کرد و نقش SIRT1 را در میانجیگری اقدامات حفاظتی ال-آرژنین تأیید کرد.[۲۴]

اثرات محافظتی قابل توجه ال-آرژنین در آسیب حاد کلیوی عمدتاً از طریق مکانیسم‌هایی شامل سنتز نیتریک اکسید، تنظیم استرس اکسیداتیو و التهاب صورت می‌گیرد. در زمینه آسیب ایسکمی - پرفیوژن که یکی از دلایل اصلی آسیب حاد کلیوی است؛ تجویز ال-آرژنین قبل از آسیب، نتایج کلیوی را بهبود می‌بخشد که این امر از طریق افزایش دسترسی زیستی نیتریک اکسید صورت می‌گیرد. نیتریک اکسید که از ال-آرژنین توسط نیتریک اکسید سنتاز سنتز می‌شود؛ یک واسطه حیاتی برای گشادشدن عروق است که جریان خون کلیوی را افزایش می‌دهد و به این ترتیب از آسیب ایسکمیک جلوگیری می‌کند. علاوه بر این ال-آرژنین بیان هم‌اکسیژناز-۱ و Nrf2 را افزایش می‌دهد که هر دو نقش محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو دارند و از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون فعالیت می‌کنند.[۲۵]

کمبود مزمن نیتریک اکسید که مشخصه بیماری مزمن کلیوی است؛ به تشدید فشارخون، گلومرولواسکلروز و آتروفی توبول‌های کلیوی منجر می‌شود که همه اینها برای عملکرد کلیه در طولانی‌مدت مضرند. ال-آرژنین با تأمین پیش‌ماده برای نیتریک اکسید به بهبود این شرایط کمک می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که مکمل ال-آرژنین در مدل‌های بیماری مزمن کلیوی بیان فاکتورهای پیش‌فیبروتیک مانند TGF-β و فیبرونکتین را کاهش می‌دهد که اینها عوامل حیاتی در فیبروز کلیوی هستند. علاوه بر این، ال-آرژنین بیان نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیال را افزایش می‌دهد که برای حفظ تعادل بین نیروهای گشادکننده و تنگ‌کننده عروق در عروق کلیوی ضروری است. این بازگشت سطح نیتریک اکسید نه تنها جریان خون را بهبود می‌بخشد؛ بلکه از فعال شدن مسیرهای فیبروتیک نیز جلوگیری می‌کند که سبب کند شدن پیشرفت بیماری مزمن کلیوی می‌شود.[۲۶]

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده توانایی ال-آرژنین در پارامترهای زنده‌مانی سلول کلیوی و افزایش GSH در تمامی غلظت‌ها (۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۰ و ۸۶۰ میکرومولار) بود. ال-آرژنین در غلظت‌های ۲۱۶، ۴۳۰ و ۸۶۰ میکرومولار توانست به‌طور معنی‌داری باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی شود.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران (IR.MAZUMS.RIB.REC.1402.061) قرار گرفت.

حمایت مالی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (کد مصوب ۱۷۹۱۷) خانم مرضیه مجرد کفاش برای اخذ درجه دکتری حرفه‌ای در رشته داروسازی از پردیس خودگردان رامسر دانشگاه علوم پزشکی مازندران بود.

مشارکت نویسندگان

دکتر الهه قره‌خانی: انجام پروژه، آنالیز داده‌ها، تفسیر نتایج و نوشتن نسخه اولیه مقاله.

مرضیه مجرد: انجام پروژه و جمع‌آوری داده‌ها.

دکتر محبوبه رحمتی کوکنده: آنالیز داده‌ها و تفسیر نتایج.

دکتر محمد شکرزاده: مدیریت و طراحی پروژه و تایید نسخه نهایی مقاله.

تعارض منافع

بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از مسؤولان پژوهشی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و هیئت داوران پایان‌نامه که ما را در انجام و ارتقای کیفی این مطالعه یاری نمودند؛ اعلام نمایند.

References

1. Bian Y, Dong J, Zhou Z, Zhou H, Xu Y, Zhang Q, et al. The spatiotemporal and paradoxical roles of NRF2 in renal toxicity and kidney diseases. Redox Biol. 2025 Feb;79:103476. https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103476.
2. de Almeida Araújo S, Faria BCD, Vasconcelos JC, da Cruz AF, de Souza VS, Wanderley DC, et al. Renal toxicity caused by diethylene glycol: an overview. Int Urol Nephrol. 2023 Nov;55(11):2867-75. https://doi.org/10.1007/s11255-023-03604-2.
3. Küçükler S, Çomaklı S, Özdemir S, Çağlayan C, Kandemir FM. Hesperidin protects against the chlorpyrifos-induced chronic hepato-renal toxicity in rats associated with oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and up-regulation of PARP-1/VEGF. Environ Toxicol. 2021 Aug;36(8):1600-617.

https://doi.org/10.1002/tox.23156.

4. Le TA, Hiba T, Chaudhari D, Preston AN, Palowsky ZR, Ahmadzadeh S, et al. Aminoglycoside-Related Nephrotoxicity and Ototoxicity in Clinical Practice: A Review of Pathophysiological Mechanism and Treatment Options. Adv Ther. 2023 Apr;40(4):1357-65. https://doi.org/10.1007/s12325-023-02436-x.

5. Campbell RE, Chen CH, Edelstein CL. Overview of Antibiotic-Induced Nephrotoxicity. Kidney Int Rep. 2023 Aug;8(11):2211-25. https://doi.org/10.1016/j.ekir.2023.08.031.

6. Chou CL, Chuang NC, Chiu HW, Liao CT, Hsu YH, Chang TH. Aminoglycosides use has a risk of acute kidney injury in patients without prior chronic kidney disease. Sci Rep. 2022 Oct;12(1):17212. https://doi.org/10.1038/s41598-022-21074-x.

7. Dobrek L. A Synopsis of Current Theories on Drug-Induced Nephrotoxicity. Life (Basel). 2023 Jan;13(2):325. https://doi.org/10.3390/life13020325.

8. Kellum JA, Romagnani P, Ashuntantang G, Ronco C, Zarbock A, Anders HJ. Acute kidney injury. Nat Rev Dis Primers. 2021 Jul;7(1):52. https://doi.org/10.1038/s41572-021-00284-z.

9. Student J, Sowers J, Lockette W. THIRSTY FOR FRUCTOSE: Arginine Vasopressin, Fructose, and the Pathogenesis of Metabolic and Renal Disease. Front Cardiovasc Med. 2022 May;9:883365. https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.883365.

10. Knol MGE, Wulfmeyer VC, Müller RU, Rinschen MM. Amino acid metabolism in kidney health and disease. Nat Rev Nephrol. 2024 Dec;20(12):771-88. https://doi.org/10.1038/s41581-024-00872-8.

11. Ye YT, Zhang H, Deng JL, Li MZ, Chen ZX. l-Arginine inhibits the activity of α-amylase: Rapid kinetics, interaction and functional implications. Food Chem. 2022 Jun;380:131836. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131836.

12. Hanusch B, Sinningen K, Brinkmann F, Dillenhöfer S, Frank M, Jöckel KH, et al. Characterization of the L-Arginine/Nitric Oxide Pathway and Oxidative Stress in Pediatric Patients with Atopic Diseases. Int J Mol Sci. 2022 Feb;23(4):2136. https://doi.org/10.3390/ijms23042136.

13. Amini-Khoei H, Nasiri Boroujeni S, Maghsoudi F, Rahimi-Madiseh M, Bijad E, Moradi M, et al. Possible involvement of L-arginine-nitric oxide pathway in the antidepressant activity of Auraptene in mice. Behav Brain Funct. 2022 Feb;18(1):4. https://doi.org/10.1186/s12993-022-00189-1.

14. Ene CD, Penescu M, Nicolae I, Capusa C. The Role of the L-Arginine-Nitric Oxide Molecular Pathway in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. J Pers Med. 2024 Mar;14(3):299. https://doi.org/10.3390/jpm14030299.

15. Das S, Garg T, Chopra S, Dasgupta A. Repurposing disulfiram to target infections caused by non-tuberculous mycobacteria. J Antimicrob Chemother. 2019 May;74(5):1317-22. https://doi.org/10.1093/jac/dkz018.

16. Kuhestani S, Shokrzadeh M, Aghajanshakeri S, Shokrzadeh S. [Protective Effects of Simvastatin on Cytotoxicity and Oxidative Stress in Human Gingival Fibroblasts Cells Exposed to Venlafaxine]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2022;31(205):81-88.

17. Zamani E, Shokrzadeh M, Modanloo M, Shaki F. In Vitro Study Towards Role of Acrylamide-Induced Genotoxicity in Human Lymphocytes and the Protective Effect of L- Carnitine. Braz Arch Biol Technol. 2018;61:e18160685. https://doi.org/10.1590/1678-4324-20181600685.

18. Motafeghi F, Mortazavi P, Salman Mahiny AH, Abtahi MM, Shokrzadeh M. The role of ginger's extract and N-acetylcysteine against docetaxel-induced oxidative stress and genetic disorder. Drug Chem Toxicol. 2023 Nov;46(4):617-24. https://doi.org/10.1080/01480545.2022.2075377.

19. Zhang H, Peng A, Yu Y, Guo S, Wang M, Wang H. l-Arginine Protects Ovine Intestinal Epithelial Cells from Lipopolysaccharide-Induced Apoptosis through Alleviating Oxidative Stress. J Agric Food Chem. 2019 Feb;67(6):1683-90. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06739.

20. Saka WA, Adeogun AE, Adisa VI, Olayioye A, Igbayilola YD, Akhigbe RE. L-arginine attenuates dichlorvos-induced testicular toxicity in male Wistar rats by suppressing oxidative stress-dependent activation of caspase 3-mediated apoptosis. Biomed Pharmacother. 2024 Sep;178:117136. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.117136.

21. Shaki F, Teymoori M, Motafeghi F S, Hemmati N, Arab-Nozari M. [L-arginine Ameliorated Mitochondrial Oxidative Damage Induced by Sub-chronic Exposure to Cadmium in Mice Kidney]. Pharm Biomed Res 2021;7(2):79-86. http://dx.doi.org/10.18502/pbr.v7i2.7360.

22. Saka WA, Akhigbe RE, Abidoye AO, Dare OS, Adekunle AO. Suppression of uric acid generation and blockade of glutathione dysregulation by L-arginine ameliorates dichlorvos-induced oxidative hepatorenal damage in rats. Biomed Pharmacother. 2021 Jun;138:111443. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111443.

23. Qiu Y, Yang X, Wang L, Gao K, Jiang Z. L-Arginine Inhibited Inflammatory Response and Oxidative Stress Induced by Lipopolysaccharide via Arginase-1 Signaling in IPEC-J2 Cells. Int J Mol Sci. 2019 Apr;20(7):1800. https://doi.org/10.3390/ijms20071800.

24. Zhao Y, Jiang Q, Zhang X, Zhu X, Dong X, Shen L, et al. l-Arginine Alleviates LPS-Induced Oxidative Stress and Apoptosis via Activating SIRT1-AKT-Nrf2 and SIRT1-FOXO3a Signaling Pathways in C2C12 Myotube Cells. Antioxidants (Basel). 2021 Dec;10(12):1957. https://doi.org/10.3390/antiox10121957.

25. Kurhaluk N, Tkaczenko H. L-Arginine and Nitric Oxide in Vascular Regulation-Experimental Findings in the Context of Blood Donation. Nutrients. 2025 Feb;17(4):665. https://doi.org/10.3390/nu17040665.

26. Huang J, Ladeiras D, Yu Y, Ming XF, Yang Z. Detrimental Effects of Chronic L-Arginine Rich Food on Aging Kidney. Front Pharmacol. 2021 Jan;11:582155. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.582155.