

اثر گلوکاتینون بر نفروتوکسیسیته حاصل از اکستازی در موش صحرائی

معصومه احمدی زاده^{۱*}، فرشته جیواد^۲، اسماء سیاوش پور^۳

چکیده

۱- استاد سم شناسی و میکروآناتومی.
۲- دانشجوی دکترای سم شناسی.
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی.

زمینه و هدف: (3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) یا اکستازی ماده‌ای است اعتیادآور که عمدتاً توسط جوانان مورد استفاده قرار می‌گیرد. اکستازی موجب نارسایی کلیه می‌شود. مطالعات نشان داده است این ترکیب تحت تأثیر آنزیم‌های سیتوکروم P450 متابولیزه و به متابولیت‌های الکتروفیل واکشنر تبدیل می‌شود و پس از کنژوگیت با گلوکاتینون سم‌زدایی می‌گردد. بررسی‌های به‌عمل‌آمده نشان داده است اثر گلوکاتینون (آنتی-اکسیدان) بر آسیب‌های حاصل از اکستازی در کلیه به‌صورت *in vivo* گزارش نشده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر گلوکاتینون بر نفروتوکسیسیته ناشی از اکستازی در موش‌های صحرائی می‌باشد.

روش بررسی: به موش‌های صحرائی نر بالغ از گونه‌ی N-MRI، گلوکاتینون به‌صورت تزریق داخل صفاقی با دوز ۳۰۰ mg/kg و حجم معادل آن از سرم فیزیولوژی (۵/۱ میلی‌لیتر) به موش‌های صحرائی گروه کنترل داده شد. نیم‌ساعت بعد، حیوانات اکستازی در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg و یا حلال آن از طریق تزریق داخل صفاقی را دریافت نمودند. ۲۴ ساعت بعد، حیوانات با استفاده از دوز اضافی سدیم پنتو باربیتال کشته شدند و از خون حیوانات جهت اندازه‌گیری میزان ازت اوره‌ی خون (Blood Urea Nitrogen, BUN) و کراتینین استفاده گردید. بافت‌های کلیه جدا و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و پس از انجام مراحل تهیه‌ی بافت و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین وائوزین با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها: اکستازی به‌صورت وابسته به دوز موجب افزایش غلظت BUN و کراتینین در مقایسه با گروه کنترل گردید. آسیب سلولی نیز به‌صورت وابسته به دوز در کلیه‌ی حیوانات دریافت‌کننده‌ی اکستازی ملاحظه گردید. گلوکاتینون اثر قابل ملاحظه‌ای بر روی BUN و کراتینین و همچنین بر روی بافت کلیه نداشت، در حالی که این ترکیب موجب محافظت کلیه در مقابل آسیب‌های ناشی از اکستازی گردید.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، به‌نظر می‌رسد گلوکاتینون می‌تواند موجب محافظت کلیه در مقابل نفروتوکسیسیته حاصل از اکستازی شود.

کلید واژگان: اکستازی، گلوکاتینون، کلیه، موش صحرائی

۱- گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده‌ی بهداشت و مرکز تحقیقات فیزیولوژی و مرکز تحقیقات سم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۲ و ۳- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران.

* نویسنده‌ی مسؤل:

معصومه احمدی‌زاده؛ گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۳۱۳۲۷۹۲

Email:
ahmadizadeh_m@ajums.ac.ir

مقدمه

گزارش شده است (۸ و ۹). کاهش گلو تاتیون و کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سلول‌های ایزوله‌شده از کبد انسان و موش‌های صحرایی دریافت‌کننده‌ی اکستازی گزارش شده است (۱۰). کاروالو (Carvalho) و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعات *In vitro* نشان دادند اکستازی باعث آسیب به سلول‌های ایزوله‌شده از قلب موش صحرایی و کاهش گلو تاتیون می‌شود (۱۱). پوارتا (Puerta) و همکاران گزارش دادند نفروتوکسیسیته حاصل از اکستازی در موش صحرایی با کاهش گلو تاتیون همراه است (۵). اگرچه دفع اکستازی از طریق کلیه صورت می‌گیرد، ولی گزارشات در مورد اثر این ترکیب در بافت کلیه بسیار محدود است (۱۶-۱۲). نارسایی کلیه در مصرف‌کنندگان اکستازی توسط برنی-می‌یر (Berney-Meyer) و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است (۱۳). کاروالو و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعات *In vitro* نشان دادند اکستازی باعث آسیب در سلول‌های ایزوله‌شده از کلیه‌ی انسان و موش صحرایی می‌شود (۱۲). کاروالو و همکاران در مطالعات *In vitro* نشان دادند متابولیت‌های ناشی از زیست‌دگرگونی اکستازی موجب آسیب در بافت ایزوله‌شده از کلیه‌ی موش صحرایی می‌شود (۱۲). اثر گلو تاتیون بر نفروتوکسیسیته اکستازی به صورت *in vivo* تاکنون گزارش نشده است. به منظور شناخت بهتر مکانیسم اثر اکستازی بر بافت کلیه، هدف از این مطالعه، بررسی اثر گلو تاتیون بر نفروتوکسیسیته ناشی از اکستازی به صورت *in vivo* در موش صحرایی با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژی می‌باشد.

روش بررسی

برای انجام این طرح از موش صحرایی نر بالغ از نژاد N-MRI در محدوده‌ی وزنی ۱۷۰-۲۰۰ گرم استفاده گردید. حیوانات از مرکز تکثیر و تهیه‌ی حیوانات آزمایشگاهی در دانشگاه علوم پزشکی اهواز تهیه و در قفس‌های پلی‌کربنات به‌طور سه‌تایی نگهداری شدند. دمای

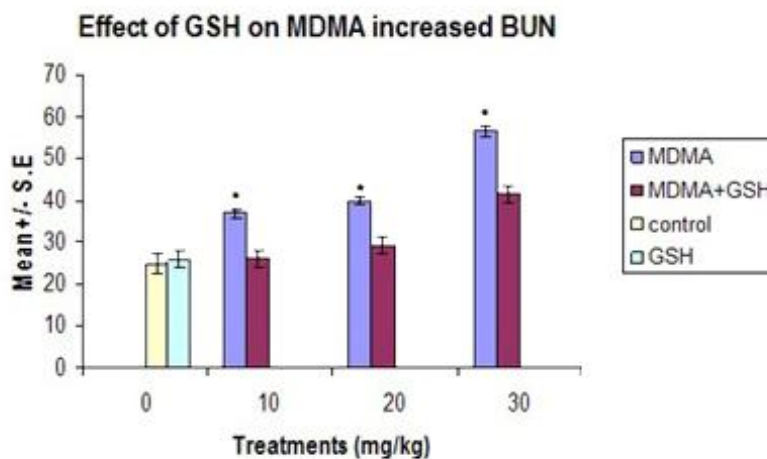
۳، ۴- متیلن دی‌اکسی‌مت‌آمفتامین و یا اکستازی، ماده‌ای اعتیادآور از مشتقات آمفتامین‌ها است که متأسفانه مصرف آن به‌طور فزاینده‌ای در بین جوانان گسترش پیدا کرده است. مصرف ماده‌ی غیر قانونی مذکور عوارض ناگوار و غیر قابل جبرانی را به‌دنبال دارد. آثار نامطلوب اکستازی عمدتاً در سیستم اعصاب مرکزی و کبد مورد بررسی قرار گرفته است (۱-۴). شواهد نشان داده است اکستازی تحت تأثیر آنزیم‌های سیتوکروم p450 تبدیل به محصولات سمی واکشنگر از جمله N-methyl-alpha-methyldopamine (N-me-alpha-MeDA), alphas-methyldopamine(alpha-MeDA), 3,4-methylenedioxyamphetamine, (MDA) می‌شود. و از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد باعث آسیب در بافت مغز و کبد می‌شود (۴-۶). افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع و رادیکال‌های سوپراکسید و کاهش سوپراکسید دیسموتاز و گلو تاتیون در مغز موش‌های صحرایی دریافت‌کننده‌ی اکستازی ملاحظه شده است (۳ و ۶). گلو تاتیون به‌عنوان بزرگترین منبع تیول غیر پروتئینی از سه اسید آمینه‌ی اسید گلو تامیک، سیستین و گلیسین تشکیل شده است. این ترکیب در سیستم دفاعی بدن نقش مهمی دارد. بسیاری از زینوبیوتیک‌ها شامل آلاینده‌های محیط زیست پس از زیست‌دگرگونی به ترکیبات الکتروفیل تبدیل می‌شوند و پس از اتصال با ماکرومولکول‌های حیاتی از جمله گروه‌های تیول در پروتئین‌ها آسیب در سلول‌ها را ایجاد می‌نمایند. گلو تاتیون از طریق مزدوج شدن با ترکیبات الکتروفیل باعث محافظت سلول‌ها و تسریع در دفع مواد سمی می‌گردد (۶ و ۷). ریزو (Riezzo) و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند اکستازی موجب کاهش گلو تاتیون و ایجاد آسیب در بافت مغز موش صحرایی می‌شود (۳). کاهش گلو تاتیون و آسیب در سلول‌های کبد موش‌های صحرایی دریافت‌کننده‌ی اکستازی

کنترل به صورت وابسته به دوز ملاحظه گردید ($p < 0.05$). غلظت BUN و کراتینین در حیوانات دریافت کننده گلو تاتیون مشابه گروه کنترل بود. گلو تاتیون به طور معنادار ($p < 0.05$) موجب کاهش BUN و کراتینین در حیوانات دریافت کننده ی اکستازی گردید (نمودارهای ۱ و ۲). بافت کلیه در حیوانات دریافت کننده ی حلال اکستازی (به عنوان کنترل) دست نخورده و فاقد آسیب سلولی ملاحظه گردید (شکل ۱). آسیب سلولی به صورت تورم سیتوپلاسم و هسته، کاهش قدرت رنگ پذیری، ایجاد واکوئل در بافت کلیه ی حیوانات دریافت کننده ی اکستازی ملاحظه گردید (شکل ۲). شدت آسیب وابسته به دوز بوده است؛ به طوری که در دوز ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن آسیب در سلول های کلیه در مقایسه با حیوانات دریافت کننده ۱۰ و ۲۰ میلی گرم اکستازی مشاهده شد. آسیب سلولی عمدتاً در سلول های پروکسیمال ملاحظه گردید. گلو تاتیون اثر قابل ملاحظه ای بر روی بافت کلیه ایجاد نموده است و بافت کلیه به صورت دست نخورده و مشابه گروه کنترل فاقد آسیب سلولی ملاحظه گردید. گلو تاتیون موجب کاهش آسیب های حاصل از اکستازی در سلول های کلیه گردیده است. شدت آسیب بافت کلیه در حیوانات دریافت کننده ی این ترکیب و اکستازی در مقایسه با موش های صحرایی که فقط اکستازی دریافت نموده اند به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافته است (شکل ۳). از نظر هیستوپاتولوژی بافت کلیه در حیوانات دریافت کننده ی گلو تاتیون و اکستازی، مشابه گروه کنترل بود.

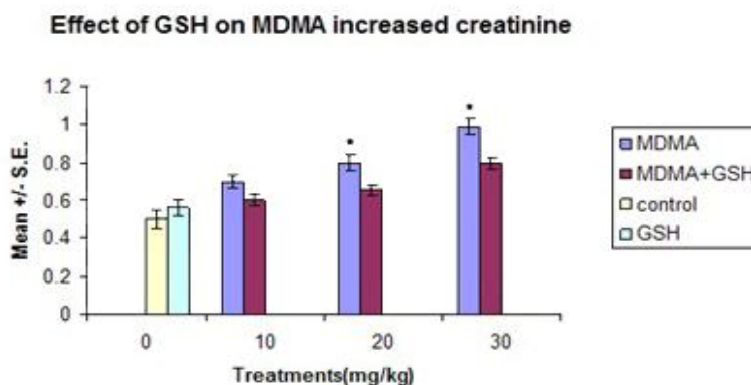
اتاق حیوانات در حدود ۲۵ درجه ی سانتی گراد و میزان رطوبت بین ۴۰-۷۰ درصد بود. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. موش های صحرایی از غذای فشرده ی کارخانه ی پارس تهران و آب تصفیه شده ی لوله کشی شهر تغذیه گردیدند. حیوانات ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن گلو تاتیون حل شده در سرم فیزیولوژی (۱۷) و یا هم حجم آن (۵/ میلی لیتر) حلال به عنوان کنترل دریافت نمودند. نیم ساعت بعد به موش های صحرایی اکستازی در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و یا حلال آن (۱۴) از طریق تزریق داخل صفاقی داده شد. ۲۴ ساعت بعد حیوانات با استفاده از دوز بالای سدیم پنتوباریتال کشته شدند و از خون حیوانات به منظور انجام آزمایش های بیوشیمیایی کلیه شامل اندازه گیری ازت اوره ی خون (BUN) و کراتینین جهت عملکرد کلیه مورد بررسی قرار گرفت. برای مطالعه ی ستوپاتولوژی بافت های کلیه جدا و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید و پس از مراحل تهیه بافت و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش های بیوشیمیایی خون پس از جمع آوری توسط روش آنالیز واریانس با طرح کاملاً تصادفی بررسی گردید. به منظور تعیین تفاوت معنادار ($p < 0.05$) میان زوج میانگین های گروه های دریافت کننده ی حلال گلو تاتیون و اکستازی در دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و حیوانات دریافت کننده ی گلو تاتیون و اکستازی در دوزهای مختلف (مشابه گروه های فوق الذکر) از آزمون حمایتی توکی استفاده گردید. در این تحقیق، ۱۰ حیوان به طور تصادفی برای هر گروه آزمایش انتخاب گردید.

یافته ها

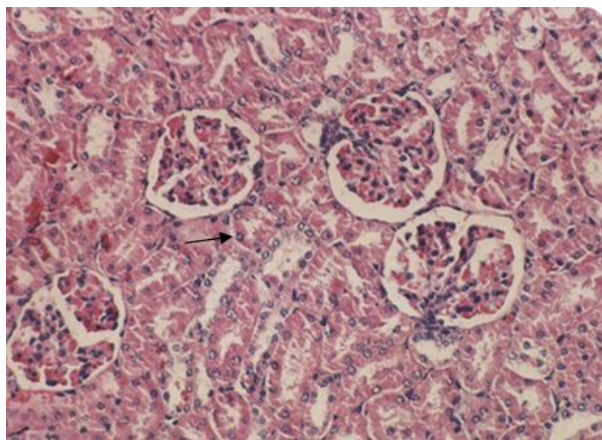
افزایش معنادار در میزان BUN و کراتینین در موش های صحرایی دریافت کننده ی اکستازی در مقایسه با گروه



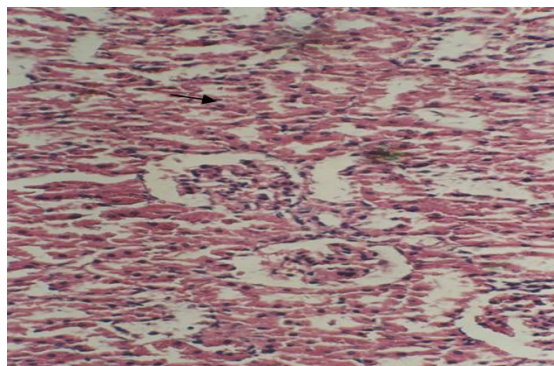
نمودار ۱: مقایسه‌ی غلظت BUN در حیوانات دریافت‌کننده‌ی ۳۰۰ mg/kg گلوتاتیون و اکستازی دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg با موش-های صحرائی دریافت‌کننده‌ی حلال گلوتاتیون و اکستازی در دوزهای مشابه. تعداد حیوانات هر گروه ۱۰ سر است. *تفاوت معنادار ($p < 0.05$) با گروه دریافت‌کننده‌ی گلوتاتیون و اکستازی در دوزهای مشابه



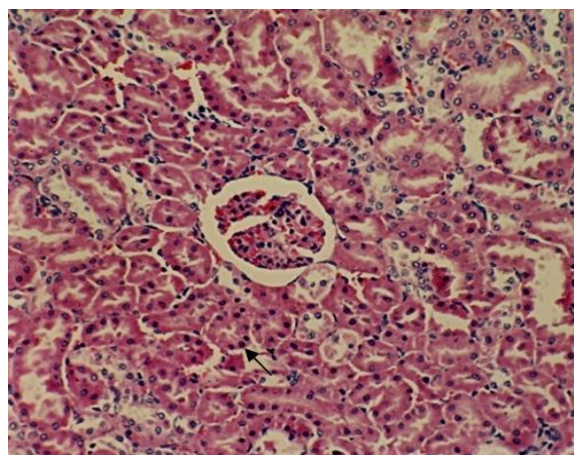
نمودار ۲: مقایسه‌ی غلظت کراتینین در حیوانات دریافت‌کننده‌ی ۳۰۰ mg/kg گلوتاتیون و اکستازی دوزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ mg/kg با موش-های صحرائی دریافت‌کننده‌ی حلال گلوتاتیون و اکستازی در دوزهای مشابه. تعداد حیوانات هر گروه ۱۰ سر است. *تفاوت معنادار ($p < 0.05$) با گروه دریافت‌کننده‌ی گلوتاتیون و اکستازی در دوزهای مشابه



شکل ۱- بافت کلیه‌ی گروه کنترل دریافت‌کننده‌ی حلال اکستازی. بافت کلیه به صورت دست‌نخورده و فاقد آسیب سلولی می‌باشد. پیکان سلول‌های پروکسیمال را نشان می‌دهد (H & E x200).



تصویر ۲- بافت کلیه‌ی گروه حیوانات دریافت‌کننده‌ی اکستازی (۳۰ mg/kg). آسیب سلولی شامل تورم سیتوپلاسم و هسته، ایجاد واکنش و کاهش قدرت رنگ‌پذیری (پیکان) در سلول‌های پروکسیمال ملاحظه می‌گردد (H & E x200).



تصویر ۳- بافت کلیه‌ی گروه دریافت‌کننده‌ی گلوکوتایون و اکستازی در دوز ۳۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن. آسیب سلولی در مقایسه با حیواناتی که فقط اکستازی دریافت نموده‌اند (شکل ۲) به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر مشاهده شده است. سلول‌های پروکسیمال فاقد آسیب سلولی ملاحظه می‌شود (پیکان) H&E (x200).

بحث

متیلندی اکسی مت-آمفتامین و یا اکستازی، ماده‌ی محرکی است که عوارض زیادی بر روی سیستم عصبی، قلب و عروق، کبد، کلیه و سیستم ایمنی بر جای می‌گذارد. اگرچه دفع این ترکیب عمدتاً از طریق کلیه صورت می‌گیرد، ولی مطالعات در زمینه‌ی اثر این ماده بر روی بافت کلیه به صورت بسیار محدود گزارش شده است (۱۲-۱۶). اختلالات کلیوی شامل پولی‌اور، گلیکوزوری و کاهش بازجذب الکترولیت‌ها از طریق لوله‌های کلیه در افراد معتاد به اکستازی گزارش شده است (۱۲). نتایج تحقیق حاضر نشان داد تزریق داخل صفاقی اکستازی در موش صحرایی موجب افزایش غلظت BUN و کراتینین به صورت وابسته به دوز می‌گردد. اسپراگو (Sprague) و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند تزریق زیر جلدی ۴۰ میلی-گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن اکستازی موجب افزایش غلظت BUN و کراتینین می‌شود (۱۸). مشاهدات هیستوپاتولوژی تحقیق حاضر نشان داد اکستازی به صورت وابسته به دوز باعث آسیب در بافت کلیه می‌گردد. آسیب سلولی عمدتاً در سلول‌های پروکسیمال ملاحظه گردید. کاروالو و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعات *in vitro* نشان دادند اکستازی موجب آسیب در سلول‌های پروکسیمال جداشده از بافت کلیه در انسان و موش صحرایی گردید (۱۲). بنابراین یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج *in vitro* همخوانی دارد.

مطالعات نشان داده است فرم اصلی اکستازی اثر نامطلوبی بر سلول‌های پروکسیمال ایزوله شده در انسان و حیوانات آزمایشگاهی ایجاد نمی‌نماید، ولی ترکیبات حاصل از زیست‌دگرگونی این ترکیب موجب آسیب در این سلول‌ها می‌شود (۱۲) با توجه به اینکه جایگاه آنزیم-های سیتوکروم p450 عمدتاً در این سلول‌ها می‌باشد (۱۹) بنابراین به نظر می‌رسد سلول‌های کلیه، قدرت زیست‌دگرگونی اکستازی را دارند. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و گزارشات ارائه شده به نظر می‌رسد کلیه یکی از بافت‌های هدف برای اکستازی می‌باشد.

مکانیسم اثر اکستازی کاملاً مشخص نمی‌باشد. مطالعات در این زمینه نشان داده است اکستازی عمدتاً تحت تأثیر آنزیم‌های سیتوکروم p450 در کبد، زیست‌دگرگونی می‌یابد و تبدیل به محصولات سمی الکترفیل N-methyl-alpha-methyldopamine (N-me-alpha-MeDA), alphas-methyldopamine (alpha-MeDA), 3,4-methylenedioxyamphetamine, MDA می‌شود و از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد موجب کاهش گلوتاتیون و در نتیجه باعث آسیب در بافت‌های مختلف بدن می‌شود (۳، ۶، ۸، ۲۰ و ۲۱). گلوتاتیون یک تری‌پپتید است که به علت دارا بودن گروه گوگردی (SH) موجود در اسید آمینه‌ی سیستین، قادر به احیای ترکیبات اکسیدکننده می‌باشد (۶). گلوتاتیون نقش مهمی در کاهش ضایعات سلولی ناشی از محصولات حاصل از زیست-دگرگونی مواد مختلف دارد. تاکنون گزارشات بسیار محدودی در مورد اثر محافظتی گلوتاتیون در مقابل اثرات سمی اکستازی و متابولیت‌های آن در دسترس است. نتایج تحقیق حاضر نشان داده است نفروتوکسیسیته اکستازی در حیوانات دریافت‌کننده‌ی گلوتاتیون به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته است. بیشیا (Beitia) و همکاران نشان دادند که اکستازی سبب کاهش گلوتاتیون و افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع غشای سلولی می‌گردد. این یافته‌ها مشخص می‌کند که کاهش گلوتاتیون می‌تواند آسیب در سلول را به دنبال داشته باشد (۲۱).

فرانزیس (Franzese) و همکاران گزارش دادند ترکیبات آنتی‌اکسیدان از جمله گلوتاتیون باعث محافظت سلول‌های عصبی در مقابل آثار سمی اکستازی در سلول‌های عصبی گردیده است (۲۲). سیمیک (Simic) و همکاران نشان دادند اکستازی از طریق ایجاد اکسیداتیو استرس و پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع موجب کاهش میزان گلوتاتیون در سلول‌های عصبی شده است (۲۳). مطالعات نشان داده است اکستازی موجب کاهش گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون اس‌ترانسفراز (glutathione S-transferase) در بافت ایزوله‌ی

از آنجا که اکستازی عمدتاً از راه کلیه دفع می شود (۱۵) و (۲۵) بنابراین انتقال متابولیت های این ترکیب به بافت کلیه در تشدید نفروتوکسیسیته این ماده دخالت دارد.

نتیجه گیری

یافته های این مطالعه نشان می دهد اکستازی به صورت وابسته به دوز موجب نفروتوکسیسیته می شود. از نظر هیستوپاتولوژی، آسیب عمدتاً در سلول های پروکسیمال که جایگاه آنزیم های سیتوکروم p450 می باشد، ملاحظه گردید. بنابراین به نظر می رسد متابولیت های سمی حاصل از زیست دگرگونی این ترکیب موجب نفروتوکسیسیته می شود و گلوکاتایون می تواند موجب محافظت کلیه در مقابل آثار سمی این ترکیب شود.

تشکر و قدردان ی

بدینوسیله از ریاست محترم کمیته تحقیقات دانشجویی و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز جهت تصویب و تامین اعتبار این پژوهش (S-87) تشکر و سپاسگزاری می گردد.

کبد گردیده است (۹). کاروالو و همکاران نشان دادند ویتامین C و ان استیل سیستین موجب محافظت سلول- های کبد در مقابل آثار سمی حاصل از اکستازی گردید (۹). زو (Zhou) و همکاران نشان دادند اکستازی موجب کاهش غلظت ویتامین C و ویتامین E و بتا کاروتن (beta-carotene) در پلاسما و کاهش فعالیت آنزیم- های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گلبول های قرمز انسان گردیده است (۲۴). بررسی اکستازی و متابولیت های آن در بافت قلب ایزوله شده از موش صحرایی نشان داده است متابولیت های اکستازی شامل ۳،۴- متیلن دی اکسی آمفتامین، ان متیل- آلفامتیل دوپامین و آلفا متیل دوپامین موجب کاردیوتوکسیسیته در موش صحرایی می شود (۱۰). با توجه به گزارشات محدود ارائه شده در زمینه ی نفروتوکسیسیته اکستازی همراه با یافته های این پژوهش به نظر می رسد بافت کلیه مشابه سایر بافت های بدن تحت تأثیر متابولیت های سمی حاصل از زیست دگرگونی اکستازی قرار می گیرد. مشاهده ی اینکه گلوکاتایون موجب کاهش نفروتوکسیسیته ناشی از این ترکیب می شود مؤید این نظریه می باشد.

منابع

- 1-Pourahmad J, Eskandari MR, Nosrati M, Kobarfard F, Khajeamiri AR. Involvement of mitochondrial/lysosomal toxic cross-talk in ecstasy induced liver toxicity under hyperthermic condition. *Eur J Pharmacol* 2010;643(2-3):162-9.
- 2-Barbosa DJ, Capela JP, Oliveira JM, Silva R, Ferreira LM, Siopa F, et al. Pro-oxidant effects of Ecstasy and its metabolites in mouse brain synaptosomes. *Br J Pharmacol* 2012; 165(4b):1017-33.
- 3-Riezzo I, Cerretani D, Fiore C, Bello S, Centini F, D'Errico S, et al. Enzymatic-nonenzymatic cellular antioxidant defense systems response and immunohistochemical detection of MDMA, VMAT2, HSP70, and apoptosis as biomarkers for MDMA (Ecstasy) neurotoxicity. *J Neurosci Res* 2010; 88(4):905-16.
- 4-Antolino-Lobo I, Meulenbelt J, Molendijk J, Nijmeijer SM, Scherpenisse P, van den Berg M, et al. Induction of glutathione synthesis and conjugation by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-dihydroxymethamphetamine (HHMA) in human and rat liver cells, including the protective role of some antioxidants. *Toxicology* 2011; 289(2-3):175-84.
- 5-Puerta E, Hervias I, Goni-Allo B, Zhang SE, Jordan J, Starkov AA, et al. Methylenedioxymethamphetamine inhibits mitochondrial complex I activity in mice: a possible mechanism underlying neurotoxicity. *Br J Pharmacol* 2010; 160 (2):233-45.
- 6-Capela JP, Macedo C, Branco PS, Ferreira LM, Lobo AM, Fernandes E, et al. Neurotoxicity mechanisms of thioether ecstasy metabolites. *Neuroscience* 2007; 146(4):1743-57.
- 7-Meister A. Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem* 1988;263(33):17205-8.
- 8-Cerretani D, Bello S, Cantatore S, Fiaschi AI, Montefrancesco G, Neri M, et al. Acute administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) induces oxidative stress, lipoperoxidation and TNF α -mediated apoptosis in rat liver. *Pharmacol Res* 2011;64(5):517-27.

- 9-Lourenco TC, Bosio GC, Cassiano NM, Cass QB, Moreau RL. Chiral separation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) enantiomers using batch chromatography with peak shaving recycling and its effects on oxidative stress status in rat liver. *J Pharm Biomed Anal* 2012.
- 10- Carvalho M, Remião F, Milhazes N, Borges F, Fernandes E, Carvalho F, et al. The toxicity of N-methyl-alpha-methyldopamine to freshly isolated rat hepatocytes is prevented by ascorbic acid and N-acetylcysteine. *Toxicology* 2004; 200(2-3):193-203.
- 11-Carvalho M, Remiao F, Milhazes N, Borges F, Fernandes E, Monteiro Mdo C, et al. Metabolism is required for the expression of ecstasy-induced cardiotoxicity in vitro. *Chem Res Toxicol* 2004; 17(5):623-32.
- 12-Carvalho M, Hawksworth G, Milhazes N, Borges F, Monks TJ, Fernandes E, et al. Role of metabolites in MDMA (ecstasy)-induced nephrotoxicity: an in vitro study using rat and human renal proximal tubular cells. *Arch Toxicol* 2002; 76(10):581-8.
- 13-Berney-Meyer L, Putt T, Schollum J, Walker R. Nephrotoxicity of recreational party drugs. *Nephrology (Carlton)* 2012;17(2):99-103.
- 14-Ninković M, Selaković V, Dukić M, Milosavljević P, Vasiljević I, Jovanović M, et al. Oxidative stress in rat kidneys due to 3,4-methylenedioxymetamphetamine (ecstasy) toxicity. *Nephrology (Carlton)* 2008;13(1):33-7.
- 15 -Campbell GA, Rosner MH. The agony of ecstasy: MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine) and the kidney. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3(6):1852-60.
- 16-Fahal IH, Sallomi DF, Yaqoob M, Bell GM. Acute renal failure after ecstasy. *BMJ* 1992;305(6844):29
- 17-Tredici G, Cavaletti G, Petruccioli MG, Fabbrica D, Tedeschi M, Venturino P. Low-dose glutathione administration in the prevention of cisplatin-induced peripheral neuropathy in rats. *Neurotoxicology* 1994;15(3):701-4.
- 18-Sprague JE, Brutcher RE, Mills EM, Caden D, Rusyniak DE. Attenuation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy)-induced rhabdomyolysis with alpha1- plus beta3-adrenoreceptor antagonists. *Br J Pharmacol* 2004;142(4):667-70.
- 19-Endou H. Distribution and some characteristics of cytochrome P-450 in the kidney. *J Toxicol Sci* 1983; 8(3):165-76.
- 20-Antolino-Lobo I, Meulenbelt J, Nijmeijer SM, Scherpenisse P, van den Berg M, van Duursen MB. Differential roles of phase I and phase II enzymes in 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced cytotoxicity. *Drug Metab Dispos* 2010; 38(7):1105-12.
- 21- Beitia G, Cobreros A, Sainz A, Cenarruzabeitia E. 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy)-induced hepatotoxicity: effect on cytosolic calcium signal in isolated hepatocytes. *Liver* 1999; 19(3):234-41.
- 22- Franzese S, Capasso A. The effects of the 3,4-methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy) in some cerebral areas: role of the oxidative stress. *Drug Metab Lett* 2008;2(2):90-5.
- 23-Simić I, Malicević Z. [The acute effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on oxidative stress in rat brain]. *Med Pregl* 2008;61(5-6):222-5. [Article in Serbian]
- 24- Zhou JF, Chen P, Zhou YH, Zhang L, Chen HH. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine(MDMA)abuse may cause oxidative stress and potential free radical damage. *Free Radic Res* 2003; 37(5):491-7.
- 25-de la Torre R, Farré M, Roset PN, Pizarro N, Abanades S, Segura M, et al. Human pharmacology of MDMA: pharmacokinetics, metabolism, and disposition. *Ther Drug Monit* 2004; 26(2):137-44.

The effect of glutathione on nephrotoxicity, induced from 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in mice

Masoumeh Ahmadizadeh ^{1*}, Fereshteh Jeivad ², Asma Siavashpour ³

1-Professor of Toxicology and Microanatomy.

2-PhD student of Toxicology.

3-Msc student of Toxicology.

1-Department of Occupational Health, physiology Research Center and Toxicology Research Center, School of Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
3,2- School of Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author:
Masoumeh Ahmadizade; Department of Occupational Health, School of Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel: +989163132792
Email: ahmadizadeh_m@ajums.ac.ir

Abstract

Introduction: 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) or ecstasy, has had a widely spread popularity among young adults in recent years. Kidney toxicity is one of the consequences of ecstasy. The studies have shown that ecstasy is metabolized by cytochrome p450 to reactive electrophil metabolites which detoxify by glutathione (GSH) conjugation. To our knowledge *in vivo* study of the effect of glutathione on ecstasy –induced nephrotoxicity has not been reported previously. The aim of the present study was to investigate the effect of glutathione (as antioxidant agent) on ecstasy induced renal damage.

Methods: Adult male N-MRI rats were pretreated with 300 mg/kg glutathione (ip). The Control group received vehicle was only (0.5 ml. normal saline). 30 min later, the animals were given ecstasy at doses of 10, 20 or 30 mg/kg. Control rats received vehicle only after 24 hours, animals were killed with over dose of sodium pentobarbital. Blood was collected for determination of blood urea nitrogen (BUN) and creatinine. The kidney tissues were removed, fixed and processed for light microscopy, using hematoxyline and eosine) H&E) staining method.

Results: Ecstasy induced dose related increased in BUN and creatinine concentration when compared to those in control group. Dose- dependent histopathological damage was also noted in rats treated with ecstasy. Glutathione had no effect on BUN and creatinine when compared to control animals. Similarly, GSH had no effect on kidney cells. However, this agent protected rat kidney against ecstasy-induced nephrotoxicity.

Conclusion: The results of the present study suggested that GSH has the ability to protect kidney against ecstasy-induced toxicity.

Key words: ecstasy, glutathione, kidney, rat.

Received: July 14, 2012

Revised: Sep 5, 2012

Accepted: Oct 10, 2012