



Potential role of Chloroquine and Trolox in Attenuating Renal Injury in Mice Model

Ahmed Nasser KAFTAN¹, Nasser Ghaly YOUSIF^{2*}, Farah Hassoon NASER³,
Najah R. HADI³, & Ahmed ALTIMIMI⁴

¹ Department of Biochemistry, Kufa Medical College, Kufa University, Iraq

² Department of Medicine, Al Muthanna Medical College, Al Muthanna University, Iraq

³ Department of Pharmacology and therapeutic, Kufa Medical College, Kufa University, Iraq

⁴ MOH, AL Najaf, Iraq

SUMMARY. Ischemia reperfusion injury (IRI) was a major issue with high mortality rate; more in critically ill, renal IRI is a common complication in circumstances such as partial nephrectomies and renal transplantation. Renal IRI activate an inflammatory response within the kidney tissue by synthesis of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β and MCP-1. P2X7 receptor is a cation channel stimulated by extracellular ATP at high concentrations. Chloroquine is an anti-malarial agent and reports demonstrated that chloroquine suppress production of proinflammatory cytokine. Trolox, a water-soluble analogue of vitamin E, is a strong scavenger of frees radicals and has higher antioxidant activity in relation to vitamin E. The purpose of this study was to test the acute outcomes of a single-dose *i.p.* chloroquine and trolox administered in the experimental model of IRI in mice. The procedure would include certain histological and biochemical markers of renal function and reperfusion injury. Thirty Swiss albino adult male mice (12 weeks age, 25-45 g weight) were randomized to five groups, $n = 6$ for each group: IRI (control) group, sham group, vehicle (normal saline) group, chloroquine treated group, and trolox treated group. Mice undergo to bilateral renal ischemia (half an hour) followed by 2 hours reperfusion. Chloroquine was injected in doses of 0.3 mg/kg and trolox at dose 10 mg/kg administered *i.p.* 30 min before IRI. Selected biochemical and morphological markers then followed in the sham group and mice undergo IRI and administered with saline, chloroquine or trolox which include: 1) ELISA: IL-1 β , MCP-1 estimation in both serum and homogenization of frozen kidney tissues and P2X7, 2) Serum urea and creatinine, and 3) histopathologic analysis. Renal IRI causes significant ($p < 0.05$) increase in both serum and tissue level of IL-1 β , MCP-1 and serum level of P2X7, urea and creatinine, also cause significant tissue damage when compared with sham group. Pretreatment with chloroquine and trolox causes significant ($p < 0.05$) reduction in both serum and tissue level of IL-1 β , MCP-1 and serum level of P2X7, urea and creatinine, and also cause significant reversal of tissue damage when compared with IRI group. In conclusion, pretreatment with chloroquine and trolox in mice model cause significant attenuation of renal IRI.

RESUMEN. La lesión de reperfusión por isquemia (IRI) fue un problema importante con una alta tasa de mortalidad; más en pacientes críticos; la IRI renal es una complicación común en circunstancias como nefrectomías parciales y trasplante renal. La IRI renal activa una respuesta inflamatoria dentro del tejido renal mediante la síntesis de citocinas proinflamatorias como IL-1 β y MCP-1. El receptor P2X7 es un canal de cationes estimulado por ATP extracelular a altas concentraciones. La cloroquina es un agente antipalúdico y los informes demostraron que la cloroquina suprime la producción de citocinas proinflamatorias. Trolox, un análogo soluble en agua de la vitamina E, es un fuerte eliminador de radicales libres y tiene una mayor actividad antioxidante en relación con la vitamina E. El propósito de este estudio fue probar los resultados agudos de una dosis única *i.p.* de cloroquina y trolox administrados en el modelo experimental de IRI en ratones. El procedimiento incluyó ciertos marcadores histológicos y bioquímicos de la función renal y la lesión por reperfusión. Treinta ratones macho adultos albinos suizos (12 semanas de edad, 25-45 g de peso) se asignaron al azar a cinco grupos, $n = 6$ para cada grupo: grupo IRI (control), grupo simulado, grupo con vehículo (solución salina normal), grupo tratado con cloroquina y grupo tratado con trolox. Los ratones sufren isquemia renal bilateral (media hora) seguida de reperfusión de 2 horas. Se inyectó cloroquina en dosis de 0,3 mg/kg y trolox en dosis de 10 mg/kg administrada *i.p.* 30 min antes del IRI. A continuación, se siguieron marcadores bioquímicos y morfológicos seleccionados en el grupo simulado y los ratones se sometieron a IRI y se administraron con solución salina, cloroquina o trolox que incluyen: 1) ELISA: estimación de IL-1 β , MCP-1 tanto en suero como en homogeneización de tejidos renales congelados y P2X7, 2)

KEY WORDS: chloroquine, renal injury, trolox.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: yousif_ghaly@yahoo.com

urea y creatinina séricas y 3) análisis histopatológico. La IRI renal causa un aumento significativo ($p < 0.05$) en el nivel sérico y tisular de IL-1 β , MCP-1 y el nivel sérico de P2X7, urea y creatinina, también causan daño tisular significativo en comparación con el grupo simulado. El pretratamiento con cloroquina y trolox causa una reducción significativa ($p < 0.05$) en el nivel sérico y tisular de IL-1 β , MCP-1 y el nivel sérico de P2X7, urea y creatinina, y también causa una reversión significativa del daño tisular en comparación con el grupo IRI. En conclusión, el pretratamiento con cloroquina y trolox en el modelo de ratones causa una atenuación significativa de la IRI renal.
