



Serelaxin Protects the Kidney from Ischaemia Reperfusion Injury by Down Regulation of Toll-4 Signaling

Maryam A. AL-ISSA ¹, Thu-Alfeqar R. TWEIJ ², Rihab H. AL-MUDHAFAR ³,
Dhefah H. AL-MUDHAFAR ³ & Najah R. HADI ⁴ *

¹ Department of Pharmacology and Therapeutics, Faculty of Medicine,
Jabir Ibn Hayyan Medical University, Al Najaf Al-Ashraf, Iraq

² University of Kufa, College of Dentistry, Iraq

³ Middle Euphrates Unit for Cancer Researches, Faculty of Medicine,
University of Kufa, Al Najaf Al-Ashraf, Iraq

⁴ Department of Pharmacology and Therapeutics, College of Medicine, University of Kufa, Iraq

SUMMARY. Ischemia reperfusion injury (IRI) is the net result of an inflammatory process which occurred when an organ suffered a transient decrease or cessation of the blood flow, followed by restoration of perfusion. The kidney is considered as one of the most susceptible organs to IRI. IRI is considered one of the major challenges of organ transplantation, because it directly correlates to the graft rejection. Oxidative stress is an important pathway that participates in the pathogenesis of IRI through enhancing of ROS production. ROS react with cellular component leading to lipid peroxidation, inactivation of enzymes, oxidation of glutathione, formation of organic radical, and destruction of the cell. The inflammation and immune system play a serious function in the pathogenesis of renal IRI; renal IR upregulates the gene expression of TLR in parts of kidney. Activation of these receptors leads to enhancement of inflammatory mediators which induce inflammatory responses, resulting in tubulointerstitial injury. Serelaxin has anti-inflammatory, antifibrotic, antihypertrophic, and cytoprotective effects. Serelaxin decrease infiltration of the inflammatory cells such as neutrophils, basophils, mast cells and macrophages to several injured or damaged tissues and decrease the cytokines and chemokine released by these cells. This research aimed to investigate the renoprotective effect of serelaxin on renal IRI in rat model by targeting TLR signaling pathway. Twenty adult Sprague Dawley male rats were randomized into four equal groups: sham group (underwent laparotomy but without IR, N = 5), control group (rats subjected to 30 min ischemia and 2 h reperfusion, N = 5), vehicle group (same as in control group + distilled water, N = 5), serelaxin group (as in control + 5 µg/kg SLX, N = 5). The kidney and blood were harvested after 2 h of reperfusion. Blood sample used to assessment SU and Scr. Kidney used to assessed tissue 8-iso PGF2α, HMGB1, IL-1β, and TLR4 as well as the histological examination. Rats in control and vehicle groups observed a significant increase in SU, Scr, 8-iso PGF2α, IL-1β, HMGB1, and TLR4 comparing with sham group. Histopathological study showed a significant elevation in injury score. Kidneys of serelaxin pre-treated rats demonstrated histological and functional improvement as evidenced by significant decreased in SU and Scr, and there were a significant diminishing in 8-iso PGF2α, HMGB1, IL-1β, and TLR4 in pre-treated group appeared significantly reduced compared with control and vehicle groups. Serelaxin diminished the kidney damage mediated by renal ischemia and reperfusion. This renoprotective effect may be achieved by modulation of inflammatory response through inhibition of HMGB1-TLR4 signaling pathway and reduce its downstream IL-1β protein expression in addition to antioxidant effect.

RESUMEN. La lesión por isquemia-reperusión (IRI) es el resultado neto de un proceso inflamatorio que se produce cuando un órgano sufrió una disminución o cese transitorio del flujo sanguíneo, seguido de la restauración de la perfusión. El riñón se considera uno de los órganos más susceptibles a IRI. El IRI se considera uno de los principales desafíos del trasplante de órganos, porque se correlaciona directamente con el rechazo del injerto. El estrés oxidativo es una vía importante que participa en la patogénesis de IRI mediante la mejora de la producción de ROS. Los ROS reaccionan con el componente celular provocando peroxidación lipídica, inactivación de enzimas, oxidación del glutatión, formación de radicales orgánicos y destrucción de la célula. La inflamación y el sistema inmunológico desempeñan una función importante en la patogenia de la IRI renal; la IRI renal regula al alza la expresión génica de TLR en partes del riñón. La activación de estos receptores conduce a una potenciación de los mediadores inflamatorios que inducen respuestas inflamatorias, lo que da como resultado una lesión tubulointerstitial. La serelaxina tiene efectos antiinflamatorios, antifibróticos, antihipertróficos y citoprotectores. La

KEY WORDS: HMGB1, IL-1β, inflammation, ischemia reperfusion injury, 8-Iso prostaglandin F2α, oxidative stress, serelaxin, TLR4.

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

serelaxina disminuye la infiltración de las células inflamatorias como los neutrófilos, basófilos, mastocitos y macrófagos a varios tejidos lesionados o dañados y disminuye las citocinas y quimiocinas liberadas por estas células. Esta investigación tuvo como objetivo investigar el efecto renoprotector de la serelaxina en el IRI renal en un modelo de rata dirigiéndose a la vía de señalización de TLR. Se aleatorizaron veinte ratas macho Sprague Dawley adultas en cuatro grupos iguales: grupo simulado (sometido a laparotomía pero sin IR, N = 5), grupo de control (ratas sometidas a 30 min de isquemia y 2 h de reperfusión, N = 5), grupo de vehículo (mismo como en el grupo de control + agua destilada, N = 5), grupo de serelaxina (como en el control + 5 μ g/kg SLX, N = 5). El riñón y la sangre se recogieron después de 2 h de reperfusión. Muestras de sangre fueron utilizadas para evaluar SU y Scr. El riñón fue utilizado para evaluar tejido 8-iso PGF2 α , HMGB1, IL-1 β y TLR4, así como el examen histológico. Las ratas en los grupos de control y vehículo observaron un aumento significativo en SU, Scr, 8-iso PGF2 α , IL-1 β , HMGB1 y TLR4 en comparación con el grupo simulado. El estudio histopatológico mostró una elevación significativa en la puntuación de la lesión. Los riñones de las ratas pretratadas con serelaxina demostraron una mejoría histológica y funcional como se evidencia por una disminución significativa en SU y Scr, y hubo una disminución significativa en 8-iso PGF2 α , HMGB1, IL-1 β y TLR4 en el grupo pretratado, que fueron significativamente reducidos en comparación con los grupos control y vehículo. La serelaxina disminuyó el daño renal mediado por isquemia renal y reperfusión. Este efecto renoprotector puede lograrse mediante la modulación de la respuesta inflamatoria a través de la inhibición de la vía de señalización HMGB1-TLR4 y reducir su expresión de la proteína IL-1 β cadena abajo, además del efecto antioxidante.
