مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۷۱/هفته چهارم اسفند ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۳۰

اثر محافظتی سیر بر سمیت ناشی از استرس اکسیداتیو آمینوگلیکوزیدها

دکتر حمید نصری[۱]، دکتر محمود رفیعیان کوپایی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: نفروتوکسیسیتی ناشی از مصرف آمینوگلیکوزیدها به تولید گونه‌های آزاد اکسیژنی (ROS یا Reactive oxygen species) در کلیه نسبت داده شده است. سیر دارای خواص آنتی اکسیدانی است و هدف از این مطالعه، بررسی اثر سیر بر بهبود نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین بود.

روش‌ها: در یک تحقیق مداخله‌ای، ۵۰ رت نر نژاد ویستار در ۵ گروه با تعداد مساوی بدین شرح تقسیم شدند: گروه I بدون دریافت دارو، گروه II دریافت کننده‌ی جنتامایسین (۱۰۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز)، گروه III گروه عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز)، گروه IV گروهی که ابتدا جنتامایسین و سپس عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز) دریافت کرد و گروه V گروه جنتامایسین و عصاره‌ی سیر به طور همزمان (۱۰ روز). نیتروژن اوره‌ی خون (BUN یا Blood urea nitrogen) و کراتینین (Cr یا Creatinine) سرم اندازه‌گیری و کلیه‌ها از نظر معیارهای مورفولوژیکی درگیر کننده‌ی سلول توبولی بررسی و با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته‌ها: مصرف سیر پس از مصرف جنتامایسین سطوح BUN و Cr را به طور قوی کاهش داد ($P < ۰/۰۵۰$). مصرف ۱۰ روزه‌ی سیر پس از درمان با جنتامایسین، درجه‌ی آسیب پاتولوژی را نیز به طور معنی‌داری برگشت داد.

نتیجه‌گیری: سیر یک داروی نفروپروتکتیو است که شاید بتوان به منظور کاهش آسیب توبولی ایجاد شده توسط جنتامایسین از آن استفاده کرد.

واژگان کلیدی: سیر، جنتامایسین، نفروتوکسیسیتی

ارجاع: نصری حمید، رفیعیان کوپایی محمود. **اثر محافظتی سیر بر سمیت ناشی از استرس اکسیداتیو آمینوگلیکوزیدها.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۷۱): ۲۴۲۲-۲۴۱۲

مقدمه

جنتامایسین یکی از آنتی بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی است که در درمان عفونت‌ها، به خصوص علیه باکتری‌های گرم منفی استفاده می‌شود (۳-۱). نفروتوکسیسیتی یکی از عوارض جانبی جدی ناشی از مصرف جنتامایسین است و اعتقاد بر این است که این اثر، ناشی از تولید گونه‌های آزاد اکسیژنی (ROS یا Reactive oxygen species) در کلیه می‌باشد (۵-۲).

گونه‌های آزاد اکسیژنی منجر به وازوکانستریکشن و کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی می‌شود. ROS همچنین از طریق پراکسیداسیون لیپید و تغییرات پروتئینی باعث آسیب سلولی و نکروز می‌گردد (۸-۵).

در حالی که بیشترین میزان دارو در ادرار دفع می‌شود، مقداری از آن در کورتکس کلیه تجمع پیدا می‌کند (۹-۷) و منجر به آسیب سلولی در کلیه

۱- استاد، گروه نفروپاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمود رفیعیان کوپایی
Email: rafieian@yahoo.com

می‌گردد. جنتامایسین، منجر به تولید آنیون سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل در میتوکندری‌های کلیه می‌شود (۱۱-۷). علاوه بر این، کورتکس کلیه‌ی موش‌های درمان شده با جنتامایسین، تولید هیدروژن پراکسید، لیپوپراکسیداسیون و محتوای نیتروتیروزین کربونیل پروتئین افزایش و گلوتاتیون کاهش می‌یابد (۱۵-۱۰). از این رو، استفاده از ترکیباتی که اجزای آنتی اکسیدان دارند، یا آنزیم‌های آنتی اکسیدان، می‌تواند شدت آسیب کلیوی ناشی از جنتامایسین را بهبود بخشد (۱۸-۱۵). به علاوه، کلیه‌ی رت‌های درمان شده با جنتامایسین نسبت به اثرات ROS حساس‌تر است؛ چرا که کلیه‌ی آن‌ها دچار کمبود آنزیم آنتی اکسیدان سوپر اکسید دسموتاز (۱۳-۷)، گلوتاتیون پراکسیداز (۱۳)، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز (۲۱-۱۹) است.

بیشتر مردم بر این باورند که با مصرف سیر می‌توان از بیماری‌های مختلف پیشگیری کرد (۱۹-۱۴). در حالی که مطالعات کلینیکی و تجربی تأیید می‌کنند که تجربیات باستان در ارتباط با اثرات سودمند سیر، اعتبار خودش حتی در پیشگیری از اختلالات متعدد را حفظ نموده است (۲۵-۲۰)، بیشتر گزارش‌های گذشته به طور متقاعد کننده‌ای اشاره بر این دارند که سیر، لیپیدهای نامتناسب پلاسما و اکسیداسیون لیپوپروتئین با دانسیته‌ی پایین (LDL یا Low-density lipoprotein) را کم می‌کند و تجمع نامناسب پلاکتی و فشار خون بالا را تنظیم می‌کند (۳۱-۲۶).

به نظر می‌رسد که مکانیسم حفاظتی گیاه، تحریک تولید نیتریک اکسید در سلول‌های اندوتلیال باشد (۳۱، ۲۱). سیر همچنین ممکن است یک محیط ضد التهابی را به واسطه‌ی سیتوکین‌ها در خون انسان گسترش دهد (۳۴-۳۲). اثرات سیر از طریق تولید هیدروژن سولفید در بخش بزرگی میانجی‌گری می‌شود. پلی سولفیدهای مشتق شده از سیر، به وسیله‌ی اریتروسیت‌ها به هیدروژن سولفید تبدیل می‌گردند که موجب شل شدن عضلات صاف عروق می‌شود و به طور مشهودی فشار خون را کاهش می‌دهد. مشخص شده است که خواص سیر ناشی از وجود اجزایی مانند ارگانوسولفورهای محلول در آب، اس-اللیل سیستئین و اجزای محلول در چربی مانند دی اللیل سولفید می‌باشد (۳۵-۳۲).

هدف اولیه از انجام مطالعه‌ی حاضر، یافتن پاسخ این سؤال بود که آیا عصاره‌ی سیر اثر بهبود یابنده بر روی نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین دارد یا نه؟ از سوی دیگر، اغلب مطالعات پیشین جهت اثر داروها قبل یا هنگام آسیب طراحی شده‌اند. از این رو، هدف ثانویه‌ی مطالعه‌ی حاضر، شناسایی احتمال اثر درمانی سیر، بر روی آسیب کلیوی در رت‌ها، پس از ایجاد آسیب بود.

روش‌ها

داروها و روش‌های شیمیایی

پروتکل درمانی جنتامایسین که در این مطالعه استفاده شد، از قبل گزارش شده بود که شامل ۱۰۰ mg/kg جنتامایسین روزانه به روش تزریق داخل صفاقی بود (۳۶).

ترکیب عصاره‌ی سیر

سیر تازه در اوج رشد خود از یک پرورشگاه محلی گیاه در استان همدان در اردیبهشت ماه خریداری شد. سیر خریداری شده تمیز و به طور جداگانه خرد و له

گردید. سپس به مدت ۴۸ ساعت با اتانول ۹۶ درصد خیسانده شد. مواد باقی مانده توسط سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۲۰۰ g برداشته شد. مایع رویی فیلتر گردید و سپس با دستگاه تقطیر در خلأ چرخان در ۴۰ °C تبخیر شد. عصاره در دمای ۲۰- °C ذخیره و موقع نیاز با محلول نرمال سالین غلظت‌های نهایی آماده شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل

مقدار کل فلاونوئیدهای عصاره‌ی سیر با روش رنگ سنجی تعیین شد (۳۷). در این روش، ۰/۵ ml از عصاره‌ی سیر و یا روتین (استاندارد فلاونوئید) با ۱/۵ ml متانول، ۰/۱ ml آلومینیم کلراید ۱۰ درصد، ۰/۱ ml پتاسیم استات و ۲/۸ ml آب مقطر مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس میزان جذب در طول موج ۴۱۵ nm اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های ۲۵-۵۰۰ قسمت در میلیون روتین در متانول تهیه شد.

اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولیک

مقدار ترکیبات فنولیک موجود در عصاره‌ی سیر به روش کلری‌متری و با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu اندازه‌گیری شد (۳۸). به طور خلاصه، ۵ ml از عصاره‌ی سیر و یا گالیک اسید (ترکیب استاندارد فنولی) به نسبت ۱:۱۰ با معرف Folin-Ciocalteu و ۴ ml محلول ۰/۱ مولار کربنات کلسیم مخلوط شد. مخلوط برای ۱۵ دقیقه نگهداشته شد و مقدار فنول کل به روش رنگ سنجی در ۶۷۵ nm اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های ۰-۲۵۰ mg/ml از محلول گالیک اسید در متانول:آب (۵۰:۵۰ vol/vol) تهیه شد. مقدار کل فنول بر حسب گالیک اسید مشخص گردید (mg/g).

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی

روش فریک- تیوسیانات جهت تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی سیر به کار گرفته شد (۴۱-۳۹).

در یک ویال مناسب، ۵۰۰ µg از عصاره‌ی سیر در اتانول حل و به یک ترکیب شامل ۲/۸۸ ml لینولئیک اسید ۲/۵ درصد و ۹ ml بافر فسفات ۴۰ mM اضافه گردید. ویال برای مدت ۹۶ ساعت در دمای ۴۰°C انکوبه شد. ۰/۱ ml از محتوای ویال با ۹/۷ اتانول ۷۵ درصد، ۰/۱ ml آمونیوم تیوسیانات و ۰/۱ ml کلرید آهن رقیق شد. میزان جذب نمونه در ۵۰۰ nm اندازه‌گیری و درصد بازدارندگی (ظرفیت جلوگیری از تولید پراکسید در لینولئیک اسید) با فرمول زیر محاسبه شد:

درصد بازدارندگی = [۱- (مقدار جذب نمونه/ مقدار جذب کنترل) × ۱۰۰]

درصد بالای بازدارندگی، دلالت بر یک فعالیت آنتی اکسیدانی بالا دارد. اتانول در داخل نمونه و بدون معرف به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

حیوانات

نمونه‌های مطالعه شامل ۵۰ رت نر نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۰۰ g بودند که از دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز خریداری شدند. همه‌ی حیوانات در شرایط مشابه در لانه‌ی حیوانات مرکز تحقیقات نگهداری شدند و دسترسی کافی به آب و غذا داشتند. محیط نگهداری حیوانات دارای رطوبت و دمای کنترل شده به ترتیب ۶۰-۵۰ درصد و ۲۵ ± ۳ °C بود. علاوه بر این، آن‌ها در یک سیکل ۱۲ ساعته تاریک- روشن (روشنایی در ساعت ۷ صبح) نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. در طول مدت آزمایش، سلامت کلی و

فعالیت آن‌ها نیز به طور کامل بررسی شد. آزمایش بر روی حیوانات طبق راهنمای انجمن ملی سلامت در ارتباط با استفاده با از حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت (۴۲).

طراحی آزمایش

حیوانات به طور تصادفی در ۵ گروه با تعداد مساوی رت به شکل زیر تقسیم شدند:

گروه I (شاهد): بدون دریافت دارو و با شرایط یکسان با سایر گروه‌ها برای مدت ۱۰ روز نگهداری و سپس کشته شدند.

گروه II (شاهد مثبت): رت‌ها در این گروه ۱۰۰ mg/kg جنتامایسین از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز متوالی دریافت کردند و سپس کشته شدند.

گروه III (سیر): رت‌ها در این گروه ۲۰ mg/kg عصاره‌ی سیر از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز دریافت کردند و سپس کشته شدند.

گروه IV (سیر و جنتامایسین، ۲۰ روز): رت‌های این گروه به مدت ۱۰ روز جنتامایسین دریافت کردند (۱۰۰ mg/kg) سپس عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg) را برای ۱۰ روز بعد دریافت نمودند و سپس کشته شدند.

گروه V (سیر و جنتامایسین، ۱۰ روز): رت‌های این گروه ترکیب جنتامایسین (۱۰۰ mg/kg) و عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg) را برای مدت ۱۰ روز دریافت کردند و سپس کشته شدند.

در اولین روز (قبل از شروع آزمایش) و در روز آخر (روز کشتن موش‌ها) جهت اندازه‌گیری کراتینین (Creatinine یا Cr) و (Blood urea nitrogen) BUN از تمامی رت‌ها نمونه‌ی سرم تهیه شد. رت‌ها به وسیله‌ی تزریق کتامین (داخل صفاقی) و تحت بیهوشی عمومی کشته شدند و کلیه‌ی آن‌ها به طور سریع جهت بررسی‌های بافت‌شناسی برداشته شد.

تعیین سطوح BUN و Cr سرم

میزان BUN و Cr با روش رنگ سنجی و با استفاده از کیت‌های تجاری توسط یک اتوآنالیزر اندازه‌گیری شد.

ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک

کلیه‌ی هر کدام از حیوانات در فرمالین به مدت ۱۲ ساعت فیکس شد و سپس جهت بررسی هیستوپاتولوژیک پردازش گردید. بعد از قرار دادن در محلول پارافین، برش‌های عرضی به ضخامت ۳ میکرون تهیه شد و جهت بررسی با میکروسکوپ نوری به روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شدند (۴۶-۴۳).

مطالعات هیستوپاتولوژیک تحت میکروسکوپ نوری انجام شد. اسلایدها کدگذاری و توسط پاتولوژیستی که از گروه‌های درمانی اطلاعی نداشت، بررسی شدند. همه‌ی نمونه‌ها از نظر شش معیار مورفولوژیک شامل واکوئلیزاسیون سلول توبولی، دژنراسیون، ریزش سلول توبولی، کست هیالن، اتساع توبولی و مواد باقی مانده در لومن توبول بررسی شدند و میزان آسیب نیز به صورت نیمه کمی به درجات ۵-۱ تقسیم‌بندی شد؛ به طوری که درجه‌ی ۰ اختصاص به بافت طبیعی بدون آسیب داشت (۴۶-۴۳).

آنالیز آماری

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شد. از آزمون Paired t جهت مقایسه‌ی سطوح BUN و Cr قبل و بعد از آزمایش استفاده شد. آزمون (ANOVA) Analysis of vaeiance نیز جهت

مقایسه‌ی سطوح BUN و Cr در گروه‌های مختلف به کار گرفته شد. جهت مقایسه‌ی درجه‌ی آسیب پاتولوژی در بین گروه‌ها، از آزمون Mann-Whitney و Kruskal-Wallis استفاده شد و P < ۰/۰۵۰ نیز از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد.

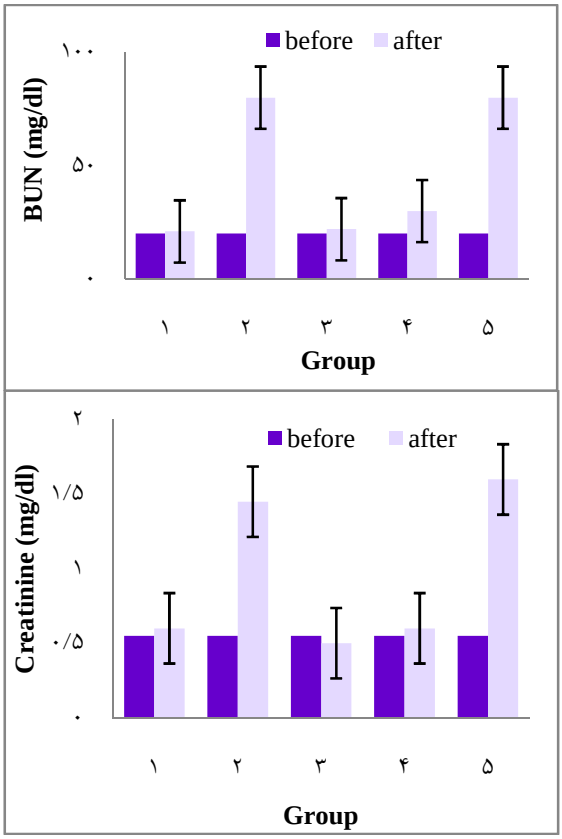
یافته‌ها

میزان فلاونوئید در عصاره‌ی سیر ۰/۵ ± ۶/۱ mg/g (معادل روتین) و مقدار ترکیبات فنولی ۰/۸ ± ۱۲/۹ mg/g (معادل گالیک اسید) بود. فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد بازدارندگی یا ظرفیت گیاه در جلوگیری از تولید پراکسید در لینولئیک اسید) برابر با ۵۲/۶ بود.

اثر عصاره‌ی سیر بر روی سطح BUN و Cr

اطلاعات مربوط به سطوح BUN و Cr در شکل ۱ موجود است. هیچ اختلاف معنی‌داری قبل از مطالعه وجود نداشت. سطوح این اجزا در گروه شاهد (I) و گروه درمان شده با عصاره‌ی سیر تنها (III) پس از مداخله نیز اختلاف معنی‌داری نداشت. گروه درمان شده با جنتامایسین (II) پس از مداخله طبق انتظار، افزایش معنی‌دار در سطح BUN و Cr را نشان می‌داد (P < ۰/۰۵۰).

سطح این پارامترها در گروه تحت درمان ۱۰ روزه‌ی عصاره‌ی سیر پس از درمان ۱۰ روزه‌ی جنتامایسین (IV)، به طور معنی‌داری کمتر از مقادیر این پارامترها در گروه‌های II و V گزارش شد (P < ۰/۰۵۰). این یافته‌ها نشان می‌دهد که درمان با عصاره‌ی سیر پس از درمان با جنتامایسین به طور مؤثری سطوح BUN و Cr را کاهش می‌دهد.



شکل ۱. سطوح سرمی BUN و Cr قبل و بعد از مداخله در گروه‌های مورد مطالعه

گروه I: بدون دریافت دارو، گروه II: گروه جنتامایسین (۱۰۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز)، گروه III: گروه عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز)، گروه IV: گروه جنتامایسین سپس عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز)، گروه V: گروه جنتامایسین و عصاره‌ی سیر.

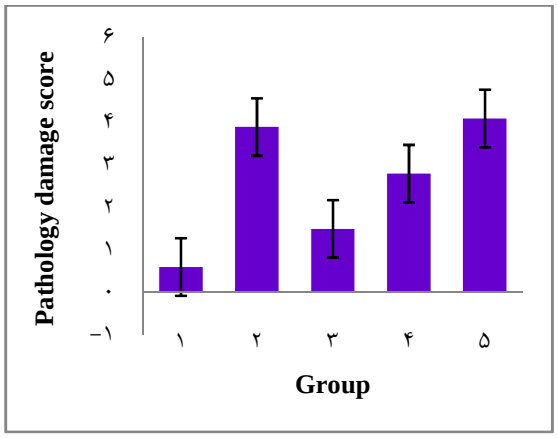
اثر عصاره‌ی سیر بر روی درجه‌ی آسیب

بررسی پاتولوژیک کلیه‌ی موش‌ها نشان داد که درجات بالاتر آسیب برای تمامی گروه‌های درمان شده با جنتامایسین به طور مشهودی نسبت به گروه‌هایی که با جنتامایسین درمان نشدند، وجود دارد (P < ۰/۰۵۰).

در گروه تحت درمان ۱۰ روزه‌ی عصاره‌ی سیر پس از مصرف ۱۰ روزه‌ی جنتامایسین (IV) در

مقایسه با گروه‌های II و V، آسیب سلولی به طور مشهودی کمتر بود ($P < ۰/۰۵۰$).

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، مصرف همزمان جنتامایسین و سیر نتوانست از ایجاد آسیب سلولی توسط جنتامایسین جلوگیری کند.



شکل ۲. درجه‌ی آسیب پاتولوژی در گروه‌های مورد مطالعه
گروه I: بدون دریافت دارو، گروه II: گروه جنتامایسین (۱۰۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز)، گروه III: گروه عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز)، گروه IV: گروه جنتامایسین سپس عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg به مدت ۱۰ روز)، گروه V: گروه جنتامایسین و عصاره‌ی سیر.

بحث

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، احتمال می‌رود که درمان با عصاره‌ی سیر پس از مصرف جنتامایسین، سطح سرمی BUN و Cr را کاهش دهد. همچنین درجات آسیب پاتولوژی نشان می‌دهد که درمان با سیر پس از مصرف ۱۰ روزه‌ی جنتامایسین، درجه‌ی آسیب را به طور مشهودی کاهش می‌دهد. در حالی که درمان همزمان با جنتامایسین و سیر برای مدت ۱۰ روز، نمی‌تواند آسیب ایجاد شده توسط جنتامایسین را کاهش دهد.

جنتامایسین یکی از آنتی بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی است که هنوز علیه عفونت‌های ناشی از باکتری‌های هوازی گرم منفی استفاده می‌شود. هر چند استفاده از آن به علت ایجاد اختلال در کلیه که در ۳۰ درصد بیماران تحت درمان با آن ایجاد می‌شود، محدود شده است (۴۷).

دارو ممکن است در سلول‌های اپی تلیال توبولی جمع شود و منجر به تغییراتی شود که با کاهش حاشیه‌ی مسواکی سلول اپی تلیال شروع و به نکروز توبولی آشکار، فعال شدن آپوپتوز و پروتئولیز وسیع منتهی می‌گردد. جنتامایسین همچنین با تولید رادیکال‌های آزاد، تحریک رسپتورهای حساس به کلسیم خارج سلولی و کاهش جریان خون کلیه و التهاب، باعث مرگ سلولی می‌شود (۴۰). داروهای آنتی اکسیدان به علت اثر مصونیت نسبی که دارند، موارد مناسبی برای بررسی بر روی انسان هستند.

سیر، یک ماده‌ی غذایی شایع در سراسر جهان است و اثرات دارویی آن در زمان‌های گذشته و باستان به خوبی شناسایی شده است. سیر به علت خواص آنتی باکتریال، ضد سرطان‌زایی، کاهنده‌ی چربی خون، کاهنده‌ی قند خون، ضد قارچ و خواص ضد آترواسکلروز و آنتی اکسیدانی علیه رادیکال‌های آزاد شناخته شده است (۴۸-۴۴).

اثر محافظتی که آنتی اکسیدان سیر و مواد مشابه، یعنی اس-آللیل سیستئین بر روی آسیب کلیوی و استرس اکسیداتیو تولید شده توسط ایسکمی و نیز برقراری جریان مجدد خون کلیوی دارد، از قبل اثبات شده است (۴۹-۴۸). در یک مطالعه، نفروتوکسیسیتی ناشی از به کار بردن دی کرومات پتاسیم، با استفاده از پودر سیر ۲ درصد برای مدت یک ماه در رت‌ها اصلاح شد (۳۲). در مطالعه‌ی دیگری نشان داده شد

کـه اس-آلیـل مرکاپتوسیسـتئین (یکـی از ترکیبـات ارگانو- سولفوره‌ی محلـول در آب کـه در عصـاره‌ی سیر کهنه یافت می‌شود)، رادیکال‌های هیدروکسیل را در محیط آزمایشگاهی برمی‌دارد و استرس اکسـیداتیو و نیتروزاتیو و آسیب کلیوی ناشـی از جنتامایسـین را در بافت زنده کاهش می‌دهد (۱۴).

جنتامایسـین، اغلـب بـه طـور سـریع توسـط فیلتراسیون گلومرولی دفع می‌شود و باز جذب مجـدد دارو به مقدار کم امـا جالـب توجـه از طریـق توبـول پروگزیمـال منجـر بـه تجمـع آن در کـورتکس کلیـه می‌شود که توجیه کننـده‌ی نفروتوکسیسـیتی ناشـی از جنتامایسین است (۵۴-۵۰).

مکانیسمی که جنتامایسین به وسیله‌ی آن منجر بـه نفروتوکسیسیتی می‌شود، ناشناخته باقی مانـده اسـت؛ هر چند این فرضیه وجود دارد که استرس اکسـیداتیو و نیتروزاتیـو در ایـن فراینـد دخیـل هسـتند (۵۲، ۵). مشخص شده است کـه OH، O_2 و H_2O_2 در آسـیب کلیوی ناشی از جنتامایسین درگیرند (۵۳-۵۲). از این گذشته، جنتامایسین به وسیله‌ی میتوکندری منجـر بـه تولید H_2O_2 می‌شود (۵۳-۵۲).

جهـت یـافتن اثـر دی-آلیـل سـولفید (DAS یـا Diallyl sulfide)، یکی از مشتقات سـیر بـا ترکیبـات آنتی اکسیدانی، مطالعه‌ی دیگری بر روی ۴ گروه رت انجام شد. گروه‌های مورد مطالعه بدین شرح بودند: I، گروه شاهد که از طریق داخل معده‌ای با روغن زیتون به عنوان یک ناقل درمان شدند. II، جنتامایسین که بـه صورت زیر جلدی با جنتامایسـین (۱۲۵ mg/kg/day برای ۴ روز) درمـان شـدند. III، DAS کـه از طریـق داخل معده‌ای با دی-آلیل سـولفید (۵۰ mg/kg/day برای ۴ روز) درمان شدند و IV، جنتامایسین و DAS. نفروتوکسیسیتی در این مطالعه به ایـن شـکل مطـرح شد: I افزایش در سطح BUN و Crسـرم، II افـزایش ترشـح ادراری ان اسـتیل بتـا دی گلوکزآمینیـداز و افزایش پـروتئین کلـی ادرار، III نکـروز سـلول‌هـای توبول پروگزیمـال. همچنـین مشـاهده شـد کـه ایـن تغییـرات عملکـردی و سـاختمانی توسـط DAS پیشگیری یا اصلاح شدند. علاوه بر این، نشـانگرهای استرس اکسیداتیو کلیـه شـامل نیتروتیـروزین و هـای کربونیل پروتئین که در گروه جنتاماسـین تولیـد شـده بـود، توسـط DAS در گـروه DAS و جنتامایسـین اصلاح شد. نتیجه این شد که مکانیسمی که توسط آن DAS اثر حفاظتی بر روی نفروتوکسیسـیتی ناشـی از جنتامایسین ایجاد می‌کند، حداقل تا حدودی با کاهش استرس اکسـیداتیو در کـورتکس کلیـه مـرتبط اسـت (۵۶-۵۵، ۵۲).

در حالی کـه اثـر قابـل قبـول بهبـود یابنـده‌ای در درمان همزمان جنتامایسین (۱۰۰ mg/kg) و عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg) مشـاهده نشـد، در نفروتوکسیسـتی جنتاماسین بـه وسـیله‌ی عصـاره‌ی سـیر هنگـامی کـه رت‌ها ابتدا ۱۰ روز جنتامایسین را دریافـت کردنـد و سپس برای ۱۰ روز بعدی تحت درمـان بـا عصـاره‌ی سیر به مقدار ۲۰ mg/kg از طریق داخل صفاقی قـرار گرفتند، کاهش واضحی مشاهده شد.

با بررسی انجام شده، این اولـین مطالعـه‌ای بـود کـه یک پروتکل بعد درمان را اجرا می‌کنـد. در ایـن مطالعـه رت‌ها به مدت ۱۰ روز پس از مصـرف جنتامایسـین، بـا عصاره‌ی سیر درمان شدند. به نظـر مـی‌رسـد کـه در ۱۰ روز اول، ضایعات توبولی ایجاد شده توسط جنتامایسـین گسترش پیدا کرده است و در ۱۰ روز بعـدی درمـان بـا عصاره‌ی سیر، ضایعات اصلاح شدند و بهبود یافتند.

نتیجه‌گیری

به کار بردن عصاره‌ی سیر پس از جنتامایسین، برای نارسایی حاد کلیه ناشی از جنتامایسین مؤثر است. بنابراین می‌توان فرض را بر این داشت که سیر یک داروی نفروپروتکتیو جهت کاهش آسیب توبولی ایجاد شده توسط جنتامایسین یا داروهای نفروتوکسیک دیگری است که با مکانیسمی شبیه آمینوگلیکوزیدها فعالیت می‌کنند.

تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بخاطر تأمین هزینه‌های طرح سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Nagai J, Takano M. Molecular aspects of renal handling of aminoglycosides and strategies for preventing the nephrotoxicity. Drug Metab Pharmacokinet 2004; 19(3): 159-70.
2. Rafieian-Kopaei M, Nasri H, Nematbakhsh M, Baradaran A, Gheissari A, Rouhi H, et al. Erythropoietin ameliorates genetamicin-induced renal toxicity: A biochemical and histopathological study. J Nephropathol 2012; 1(2): 109-16.
3. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Preventive role of erythropoietin against aminoglycoside renal toxicity induced nephropathy; current knowledge and new concepts. Journal of Renal Injury Prevention 2013; 2(1): 29-30.
4. Kadkhodaee M. Erythropoietin; bright future and new hopes for an old drug. J Nephropathol 2012; 1(2): 81-2.
5. Tavafi M. Protection of renal tubules against gentamicin induced nephrotoxicity. J Ren Inj Prev 2013; 2(1): 5-6.
6. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. J Nephropathol 2013; 2(2): 152-3.
7. Tavafi M. Inhibition of gentamicin-induced renal tubular cell necrosis. J Nephropathol 2012; 1(2): 83-6.
8. Nasri H. Renoprotective effects of garlic. J Ren Inj Prev 2013; 2(1): 27-8.
9. Nasri H, Nematbakhsh M, Ghobadi Sh, Ansari R, Shahinfard N, Rafieian-kopaei M. Preventive and curative effects of ginger extract against histopathologic changes of gentamicin-induced tubular toxicity in rats. Int J Prev Med 2013; 4(3): 316-21.
10. Rafieian-Kopaie M, Nasri H. Silymarin and Kidney. J Ren Inj Prev 2012; 1(1): 3-6.
11. Kabiri N, Ahangar-Darabi M, Setorki M, Rafieian-kopaei M. The effect of silymarin on liver injury induced by Thioacetamide in rats. J Herb Med Pharmacol 2013; 2(2): 29-33.
12. Nasri H. On the occasion of the world diabetes day 2013; diabetes education and prevention; a nephrology point of view. J Ren Inj Prev 2013; 2(2): 31-2.
13. Gheissari A, Mehrasa P, Merrikhi A, Madihi Y. Acute kidney injury: A pediatric experience over 10 years at a tertiary care center. J Nephropathol 2012; 1(2): 101-8.
14. Nasri H. The awareness of chronic kidney disease and aging; the focus of world kidney day in 2014. J Nephropharmacol 2014; 3(1): 1-2.
15. Walker PD, Barri Y, Shah SV. Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity. Ren Fail 1999; 21(3-4): 433-42.
16. Yang CL, Du XH, Han YX. Renal cortical mitochondria are the source of oxygen free radicals enhanced by gentamicin. Ren Fail 1995; 17(1): 21-6.
17. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Herbal medicine and diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2013; 2(1): 1-2.
18. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. J Res Med Sci 2013; 18(7): 628.
19. Gheshlaghi F. Malignant drug-induced rhabdomyolysis. J Nephropathol 2012; 1(1): 59-60.
20. Nasri H, Rafiean-Kopaie M. Metformin improves diabetic kidney disease. J Nephropharmacol 2012; 1(1): 1-2.
21. Nasri H. Acute kidney injury and beyond. J Ren Inj Prev 2012; 1(1): 1-2.
22. Asgari A. Herbal medicines and kidney; friends or foes? J Nephropharmacol 2014; 3(1): 5-6.
23. Gobe GC, Morais C, Vesey DA, Johnson DW. Use of high-dose erythropoietin for repair after injury: A comparison of outcomes in heart and kidney. J Nephropathol 2013; 2(3): 154-65.

24. Nasri H. Comment on: Serum cholesterol and LDL-C in association with level of diastolic blood pressure in type 2 diabetic patients. J Ren Inj Prev 2012; 1(1): 13-4.
25. Baradaran-Ghahfarokhi M. Radiation-induced kidney injury. J Ren Inj Prev 2012; 1(2): 49-50.
26. Ardalan MR. Is the safety of herbal medicines for kidneys under question? J Nephropharmacol 2013; 2(2): 5-6.
27. Gheshlaghi F. Toxic renal injury at a glance. J Ren Inj Prev 2012; 1(1): 15-6.
28. Nematbakhsh M, Pezeshki Z, Moaeidi BA, Eshraghi-Jazi F, Talebi A, Nasri H, et al. Protective role of silymarin and deferoxamine against iron dextran-induced renal iron deposition in male rats. Int J Prev Med 2013; 4(3): 286-92.
29. Gheissari A. Acute kidney injury and renal angina. J Ren Inj Prev 2013; 2(2): 33-4.
30. Nasri H, Sahinfard N, Rafieian M, Rafieian S, Shirzad M, Rafieian-kopaei M. Effects of Allium sativum on liver enzymes and atherosclerotic risk factors. J HerbMed Pharmacol 2013; 2(2): 23-8.
31. Tavafi M. Complexity of diabetic nephropathy pathogenesis and design of investigations. J Ren Inj Prev 2013; 2(1): 59-62.
32. Pedraza-Chaverri J, Yam-Canul P, Chirino YI, Sanchez-Gonzalez DJ, Martinez-Martinez CM, Cruz C, et al. Protective effects of garlic powder against potassium dichromate-induced oxidative stress and nephrotoxicity. Food Chem Toxicol 2008; 46(2): 619-27.
33. Kadkhodaee M, Sedaghat Z. Novel renoprotection methods by local and remote conditioning. J Ren Inj Prev 2014; 3(2).
34. Chung LY. The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide. J Med Food 2006; 9(2): 205-13.
35. Sener G, Sakarcan A, Yegen BC. Role of garlic in the prevention of ischemia-reperfusion injury. Mol Nutr Food Res 2007; 51(11): 1345-52.
36. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Merrikhi A, Nematbakhsh M, Madihi Y, Nasri H. Efficacy of Co-administration of Garlic Extract and Metformin for Prevention of Gentamicin-Renal Toxicity in Wistar Rats: A Biochemical Study. Int J Prev Med 2013; 4(3): 258-64.
37. Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis 2002; 10(3): 178-82.
38. Kim D, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chemistry 2003; 81(3): 321-6.
39. Ardalan MR, Rafieian-Kopaie M. Antioxidant supplementation in hypertension. J Ren Inj Prev 2014; 3(2).
40. Nasri H, Ahmadi A, Baradaran A, Nasri P, Hajian S, Pour-Arian A, et al. A biochemical study on ameliorative effect of green tea (Camellia sinensis) extract against contrast media induced acute kidney injury. J Ren Inj Prev 2014; 3(1).
41. Shirzad H, Taji F, Rafieian-Kopaei M. Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. J Med Food 2011; 14(9): 969-74.
42. Tamadon MR, Ardalan MR, Nasri H. World Kidney Day 2013; acute renal injury; a global health warning. J Parathyroid Dis 2013; 1(2):27-8.
43. Nasri H, Behradmanesh S, Ahmadi A, Baradaran A, Nasri P, Rafieian-Kopaei M. Association of serum lipids with level of blood pressure in type 2 diabetic patients. J Ren Inj Prev 2014; 3(2).
44. Tamadon MR, Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant and kidney protection; differential impacts of single and whole natural antioxidants. J Ren Inj Prev 2014; 3(2).
45. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A. Teucrium polium and kidney. J Ren Inj Prev 2013; 2(1): 3-4.
46. Nasri H. Atypical presentations of the sarcoidosis with kidney involvement. J Ren Inj Prev 2014; 3(2).
47. Ali BH, Al ZM, Blunden G, Nemmar A. Experimental gentamicin nephrotoxicity and agents that modify it: a mini-review of recent research. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2011; 109(4): 225-32.
48. Segoviano-Murillo S, Sanchez-Gonzalez DJ, Martinez-Martinez CM, Cruz C, Maldonado PD, Pedraza-Chaverri J. S-allylcysteine ameliorates ischemia and reperfusion induced renal damage. Phytother Res 2008; 22(6): 836-40.
49. Mardani S, Nasri H, Hajian S, Ahmadi A, Kazemi R, Rafieian-Kopaei M. Impact of Momordica charantia extract on kidney function and structure in mice. J Nephropathol 2014; 3(1): 35-40.
50. Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. Histopathological study of the combination of metformin and garlic juice for the attenuation of gentamicin renal toxicity in rats. J Ren Inj Prev 2013; 2(1): 15-21.
51. Behradmanesh S, Nasri P. Serum cholesterol and LDL-C in association with level of diastolic blood pressure in type 2 diabetic patients. J Ren Inj Prev 2012; 1(1): 23-6.
52. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A. Combination of metformin with other antioxidants may

increase its renoprotective efficacy. J Ren Inj Prev 2013; 2(2): 35-6.
53. Behradmanesh S, Derees F, Rafieian-Kopaei M. Effect of Salvia officinalis on diabetic patients. J Ren Inj Prev 2013; 2(2): 51-4.
54. Nasri H, Behradmanesh S, Ahmadi A, Rafieian-Kopaei M. Impact of oral vitamin D (cholecalciferol) replacement therapy on blood pressure in type 2 diabetes patients; a randomized, double- blind, placebo controlled clinical trial. J Nephropathol 2014; 3(1): 29-33.
55. Ghorbani A, Baradaran A. Magnesium and diabetes mellitus. J Ren Inj Prev 2012; 1(2): 46-7.
56. Pedraza-Chaverri J, Maldonado PD, Barrera D, Ceron A, Medina-Campos ON, Hernandez-Pando R. Protective effect of diallyl sulfide on oxidative stress and nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. Mol Cell Biochem 2003; 254(1-2): 125-30.

Journal of Isfahan Medical School Received: 19.12. 2013

Vol. 31, No. 271, 4th Week, March 2014 Accepted: 19.02.2014

Preventive and Curative Activity of Garlic Extract on Gentamicin-Induced Oxidative Stress

Hamid Nasri MD[1], Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD[2]

Original Article

Abstract

Background: Nephrotoxicity is a serious side effect of using gentamicin. Garlic is an important component in the complementary medicine. The aim of this study was to find out whether garlic has ameliorative effects on gentamicin-induced nephrotoxicity.

Methods: 50 male Wistar rats were divided into 5 groups of 10; I: They kept in the same condition as others without receiving any drug for 10 days and then sacrificed. II: Rats in this group were injected intraperitoneally (i.p.) with 100 mg/kg of gentamicin for 10 consecutive days and then sacrificed. Group III: Rats in this group received garlic juice 20 mg/kg intraperitoneally for 10 days and then sacrificed. IV: Rats in this group received gentamicin for 10 days, then received 20 mg/kg garlic intraperitoneally for the next 10 days and then sacrificed on day 20th. V: Rats in this group received a combination of intraperitoneal gentamicin and garlic 20 mg/kg for 10 days and then sacrificed. Serum blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cr) were measured and the kidneys were processed for histopathological examinations. All specimens were examined for morphologic parameters involving tubular cells.

Findings: The post administration of garlic after gentamicin treatment potentially attenuated the serum levels of BUN and Cr. The pathology damage scores indicated that post administration of garlic after 10 days of gentamicin treatment attenuated the damage score significantly.

Conclusion: We concluded that garlic is a nephroprotective drug to attenuate tubular injury by gentamicin.

Keywords: Garlic, Gentamicine, Nephrotoxicity

Citation: Nasri H, Rafieian-Kopaei M. **Preventive and Curative Activity of Garlic Extract on Gentamicin-Induced Oxidative Stress.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(271): 2412-22

1- Professor, Department of Nephrology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Professor, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
Corresponding Author: Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD, Email: rafieian@yahoo.com