

## اثر محافظتی سیر بر سمیت ناشی از استرس اکسیداتیو آمینوگلیکوزیدها

دکتر حمید نصری<sup>۱</sup>، دکتر محمود رفیعیان کوپایی<sup>۲</sup>

### 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 آنتی‌اکسیدانی 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 کننده 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 ( $P < 0/05$ ). 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

می‌باشد (۵-۲).

گونه‌های آزاد اکسیژنی منجر به واژوکانستریکشن 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

### مقدمه

جنتامایسین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های 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

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

التهایی را به واسطه‌ی سیتوکین‌ها در خون انسان گسترش دهد (۳۲-۳۴). 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 (۳۲-۳۵).

هدف اولیه از انجام مطالعه‌ی حاضر، یافتن پاسخ این سؤال بود که آیا عصاره‌ی سیر اثر بهبود یابنده بر روی نفروتوکسیسیته 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

می‌گردد. جنتامایسین، منجر به تولید آنیون سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل در میتوکندری‌های کلیه می‌شود (۷-۱۱). 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 (۱۵-۱۸). 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 (۷-۱۳)، گلوتاتیون پراکسیداز (۱۳)، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز (۱۹-۲۱) است.

بیشتر مردم بر این باورند که با مصرف سیر می‌توان از بیماری‌های مختلف پیشگیری کرد (۱۴-۱۹). 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 (۲۰-۲۵)، بیشتر گزارش‌های گذشته به طور متقاعد کننده‌ای اشاره بر این دارند که سیر، لیپیدهای نامناسب پلازما 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 (۲۶-۳۱).

به نظر می‌رسد که مکانیسم حفاظتی گیاه، تحریک تولید نیتریک اکسید در سلول‌های اندوتلیال باشد (۳۱، ۲۱). سیر همچنین ممکن است یک محیط ضد

### تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی

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

در یک ویال مناسب،  $500 \mu\text{g}$  از عصاره‌ی سیر در اتانول حل و به یک ترکیب شامل  $2/88 \text{ ml}$  لینولئیک اسید  $2/5$  درصد و  $9 \text{ ml}$  بافر فسفات  $40 \text{ mM}$  اضافه گردید. ویال برای مدت  $96$  ساعت در  $40^\circ\text{C}$  انکوبه شد.  $0/1 \text{ ml}$  از محتوای ویال با  $9/7$  اتانول  $75$  درصد،  $0/1 \text{ ml}$  آمونیوم تیوسیانات و  $0/1 \text{ ml}$  کلرید آهن رقیق شد. میزان جذب نمونه در  $500 \text{ nm}$  اندازه‌گیری و درصد بازدارندگی (ظرفیت جلوگیری از تولید پراکسید در لینولئیک اسید) با فرمول زیر محاسبه شد:

$100 \times [(\text{مقدار جذب کنترل} / \text{مقدار جذب نمونه})$

$-1] =$  درصد بازدارندگی

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  $50$  رت نر نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی  $250-200 \text{ g}$  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  $60-50$  درصد و  $3 \pm 25^\circ\text{C}$  بود. علاوه بر این، آن‌ها در یک سیکل  $12$  ساعته تاریک- روشن (روشنایی در ساعت  $7$  صبح) نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. در طول مدت آزمایش، سلامت کلی و

گردید. سپس به مدت  $48$  ساعت با اتانول  $96$  درصد خیسانده شد. مواد باقی مانده توسط سانتریفیوژ به مدت  $5$  دقیقه در  $200 \text{ g}$  برداشته شد. مایع رویی فیلتر گردید و سپس با دستگاه تقطیر در خلأ چرخان در  $40^\circ\text{C}$  تبخیر شد. عصاره در دمای  $20^\circ\text{C}$  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،  $0/5 \text{ ml}$  از عصاره‌ی سیر و یا روتین (استاندارد فلاونوئید) با  $1/5 \text{ ml}$  متانول،  $0/1 \text{ ml}$  آلومینیم کلراید  $10$  درصد،  $0/1 \text{ ml}$  پتاسیم استات و  $2/8 \text{ ml}$  آب مقطر مخلوط شد و به مدت  $30$  دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس میزان جذب در طول موج  $415 \text{ nm}$  اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های  $500-25$  قسمت در میلیون روتین در متانول تهیه شد.

### اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولیک

مقدار ترکیبات فنولیک موجود در عصاره‌ی سیر به روش کلری-متری و با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu اندازه‌گیری شد (۳۸). به طور خلاصه،  $5 \text{ ml}$  از عصاره‌ی سیر و یا گالیک اسید (ترکیب استاندارد فنولی) به نسبت  $1:10$  با معرف Folin-Ciocalteu و  $4 \text{ ml}$  محلول  $0/1$  مولار کربنات کلسیم مخلوط شد. مخلوط برای  $15$  دقیقه نگهداشته شد و مقدار فنول کل به روش رنگ سنجی در  $675 \text{ nm}$  اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های  $250-0 \text{ mg/ml}$  از محلول گالیک اسید در متانول:آب ( $50:50 \text{ vol/vol}$ ) تهیه شد. مقدار کل فنول بر حسب گالیک اسید مشخص گردید ( $\text{mg/g}$ ).

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 (۴۳-۴۶).

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 واکنش‌های 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 ۰-۵ تقسیم‌بندی شد؛ به طوری که درجه‌ی ۰ اختصاص به بافت طبیعی بدون آسیب داشت (۴۳-۴۶).

### آنالیز آماری

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

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.

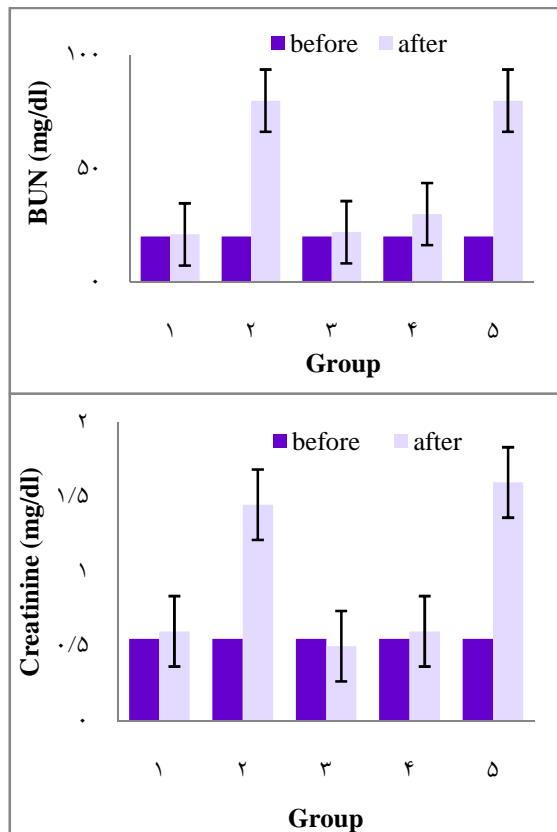
گروه II (شاهد مثبت): رت‌ها در این گروه ۱۰۰ mg/kg جنتامایسین از طریق تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز متوالی دریافت کردند و سپس کشته شدند.

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 (Cr یا Creatinine) و (Blood urea nitrogen) BUN از تمامی رت‌ها نمونه‌ی سرم تهیه شد. رت‌ها به وسیله‌ی تزریق کتامین (داخل صفاقی) و تحت



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 ( $P < 0/05$ ).

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

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  $P < 0/05$  نیز از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد.

### یافته‌ها

میزان فلاونوئید در عصاره‌ی سیر  $6/1 \pm 0/5$  mg/g (معادل روتین) و مقدار ترکیبات فنولی  $12/9 \pm 0/8$  mg/g (معادل گالیک اسید) بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد بازدارندگی یا ظرفیت گیاه در جلوگیری از تولید پراکسید در لینولئیک اسید) برابر با  $52/6$  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 ( $P < 0/05$ ).

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 ( $P < 0/05$ ). این یافته‌ها نشان می‌دهد که درمان با عصاره‌ی سیر پس از درمان با جنتامایسین به طور مؤثری سطوح BUN و Cr را کاهش می‌دهد.

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).

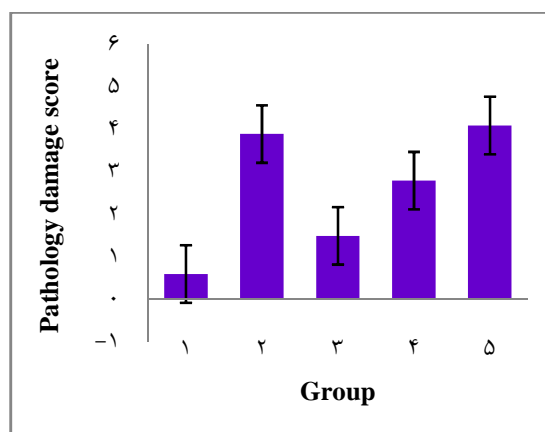
دارو ممکن است در سلول‌های اپی تلیال توبولی جمع شود و منجر به تغییراتی شود که با کاهش حاشیه‌ی مسواکی سلول اپی تلیال شروع و به نکرز توبولی آشکار، فعال شدن آپوپتوز و پروتئولیز وسیع منتهی می‌گردد. جنتامایسین همچنین با تولید رادیکال‌های آزاد، تحریک رسپتورهای حساس به کلسیم خارج سلولی و کاهش جریان خون کلیه و التهاب، باعث مرگ سلولی می‌شود (۴۰). داروهای آنتی‌اکسیدان 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 آنتی‌باکتریال، ضد سرطان‌زایی، کاهنده‌ی چربی خون، کاهنده‌ی قند خون، ضد قارچ و خواص ضد آترواسکلروز و آنتی‌اکسیدانی علیه رادیکال‌های آزاد شناخته شده است (۴۸-۴۴).

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

مقایسه با گروه‌های II و V، آسیب سلولی به طور مشهودی کمتر بود ( $P < 0.05$ ).

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 آنتی‌بیوتیک‌های

که اس-آلیل مرکاپتوسیسستین (یکی از ترکیبات ارگانو-سولفورهای محلول در آب که در عصاره‌ی سیر کهنه یافت می‌شود)، رادیکال‌های هیدروکسیل را در محیط آزمایشگاهی برمی‌دارد و استرس اکسیداتیو و نیتروزاتیو و آسیب کلیوی ناشی از جنتامایسین را در بافت زنده کاهش می‌دهد (۱۴).

جنتامایسین، اغلب به‌طور سریع توسط فیلتراسیون گلومرولی دفع می‌شود و باز جذب مجدد دارو به مقدار کم اما جالب توجه از طریق توبول پروگزیمال منجر به تجمع آن در کورتکس کلیه می‌شود که توجیه‌کننده‌ی نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین است (۵۴-۵۰).

مکانیسمی که جنتامایسین به وسیله‌ی آن منجر به نفروتوکسیسیتی می‌شود، ناشناخته باقی مانده است؛ هر چند این فرضیه وجود دارد که استرس اکسیداتیو و نیتروزاتیو در این فرایند دخیل هستند (۵۲، ۵). مشخص شده است که OH، O<sub>۲</sub> و H<sub>۲</sub>O<sub>۲</sub> در آسیب کلیوی ناشی از جنتامایسین درگیرند (۵۳-۵۲). از این گذشته، جنتامایسین به وسیله‌ی میتوکندری منجر به تولید H<sub>۲</sub>O<sub>۲</sub> می‌شود (۵۳-۵۲).

جهت یافتن اثر دی-آلیل سولفید (DAS یا Diallyl sulfide)، یکی از مشتقات سیر با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، 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 به صورت زیر جلدی با جنتامایسین (۱۲۵ mg/kg/day) برای ۴ روز درمان شدند. III، DAS که از طریق داخل معده‌ای با دی-آلیل سولفید (۵۰ mg/kg/day) برای ۴ روز درمان شدند و IV، جنتامایسین و DAS.

نفروتوکسیسیتی در این مطالعه به این شکل مطرح شد: I افزایش در سطح BUN و Cr سرم، II افزایش ترشح ادراری ان استیل بتا دی گلوکز آمینیداز و افزایش پروتئین کلی ادرار، III نکروز سلول‌های توبول پروگزیمال. همچنین مشاهده شد که این تغییرات عملکردی و ساختمانی توسط DAS پیشگیری یا اصلاح شدند. علاوه بر این، نشانگرهای استرس اکسیداتیو کلیه شامل نیتروتیروزین و های کربونیل پروتئین که در گروه جنتاماسین تولید شده بود، توسط DAS در گروه DAS و جنتامایسین اصلاح شد. نتیجه این شد که مکانیسمی که توسط آن DAS اثر حفاظتی بر روی نفروتوکسیسیتی ناشی از جنتامایسین ایجاد می‌کند، حداقل تا حدودی با کاهش استرس اکسیداتیو در کورتکس کلیه مرتبط است (۵۶-۵۵، ۵۲).

در حالی که اثر قابل قبول بهبود یابنده‌ای در درمان همزمان جنتامایسین (۱۰۰ mg/kg) و عصاره‌ی سیر (۲۰ mg/kg) مشاهده نشد، در نفروتوکسیسیتی جنتاماسین به وسیله‌ی عصاره‌ی سیر هنگامی که رت‌ها ابتدا ۱۰ روز جنتامایسین را دریافت کردند و سپس برای ۱۰ روز بعدی تحت درمان با عصاره‌ی سیر به مقدار ۲۰ mg/kg از طریق داخل صفاقی قرار گرفتند، کاهش واضحی مشاهده شد.

با بررسی انجام شده، این اولین مطالعه‌ای بود که یک پروتکل بعد درمان را اجرا می‌کند. در این مطالعه رت‌ها به مدت ۱۰ روز پس از مصرف جنتامایسین، با عصاره‌ی سیر درمان شدند. به نظر می‌رسد که در ۱۰ روز اول، ضایعات توبولی ایجاد شده توسط جنتامایسین گسترش پیدا کرده است و در ۱۰ روز بعدی درمان با عصاره‌ی سیر، ضایعات اصلاح شدند و بهبود یافتند.

## نتیجه گیری

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

- 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.
- Rafieian-Kopaei M, Nasri H, Nematbakhsh M, Baradaran A, Gheissari A, Rouhi H, et al. Erythropoietin ameliorates gentamicin-induced renal toxicity: A biochemical and histopathological study. *J Nephrothol* 2012; 1(2): 109-16.
- 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.
- Kadkhodae M. Erythropoietin; bright future and new hopes for an old drug. *J Nephrothol* 2012; 1(2): 81-2.
- Tavafi M. Protection of renal tubules against gentamicin induced nephrotoxicity. *J Ren Inj Prev* 2013; 2(1): 5-6.
- Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. *J Nephrothol* 2013; 2(2): 152-3.
- Tavafi M. Inhibition of gentamicin-induced renal tubular cell necrosis. *J Nephrothol* 2012; 1(2): 83-6.
- Nasri H. Renoprotective effects of garlic. *J Ren Inj Prev* 2013; 2(1): 27-8.
- 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.
- Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Silymarin and Kidney. *J Ren Inj Prev* 2012; 1(1): 3-6.
- 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.
- 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.
- Gheissari A, Mehrasa P, Merrikhi A, Madihi Y. Acute kidney injury: A pediatric experience over 10 years at a tertiary care center. *J Nephrothol* 2012; 1(2): 101-8.
- Nasri H. The awareness of chronic kidney disease and aging; the focus of world kidney day in 2014. *J Nephrothol* 2014; 3(1): 1-2.
- Walker PD, Barri Y, Shah SV. Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity. *Ren Fail* 1999; 21(3-4): 433-42.
- 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.
- Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Herbal medicine and diabetic kidney disease. *J Nephrothol* 2013; 2(1): 1-2.
- Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. *J Res Med Sci* 2013; 18(7): 628.
- Gheshlaghi F. Malignant drug-induced rhabdomyolysis. *J Nephrothol* 2012; 1(1): 59-60.
- Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Metformin improves diabetic kidney disease. *J Nephrothol* 2012; 1(1): 1-2.
- Nasri H. Acute kidney injury and beyond. *J Ren Inj Prev* 2012; 1(1): 1-2.
- Asgari A. Herbal medicines and kidney; friends or foes? *J Nephrothol* 2014; 3(1): 5-6.
- 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 Nephrothol* 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. Kadkhodae 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-Kopaei 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.

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

Hamid Nasri MD<sup>1</sup>, Mahmoud Rafeian-Kopaei PhD<sup>2</sup>

### 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 20<sup>th</sup>. 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, Rafeian-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 Rafeian-Kopaei PhD, Email: rafeian@yahoo.com